

اثرات تزریق داخل بطن مغزی و داخل صفاقی لیپوپلی ساکارید بر اخذ غذا و سطح کورتیزول خون در جوجه‌های گوشتی

سعید قیاسی^۱، مرتضی زنده دل^۲، هادی حق‌بین نظریاک^۳، احمد اصغری^۴، نریمان شیخی^۵

۱- دانش آموخته، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- استاد، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران ایران. نویسنده مسئول zendedel@ut.ac.ir

۳- استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران.

۴- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۵- استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: هدف از مطالعه کنونی، بررسی اثرات تزریق داخل بطن مغزی (ICV) و داخل صفاقی (IP) لیپوپلی ساکارید (LPS) بر اخذ غذا و سطح کورتیزول خون در جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر مجموعاً چهار آزمایش (آزمایش یک و دو مربوط به اخذ غذا و آزمایش سه و چهار مربوط به سطح کورتیزول پلاسما) بر روی جوجه‌های گوشتی اجرا شدند. در آزمایش اول محلول کنترل و LPS با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم به صورت ICV تجویز شد. در آزمایش دوم نیز محلول کنترل و LPS با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم به صورت IP تزریق گشت. سپس، جوجه‌ها به قفس‌هایشان بازگردانده شدند و میزان اخذ غذای آن‌ها تا سه ساعت پس از تزریق ثبت شد. ترتیب تزریقات در آزمایش‌های سه و چهار به ترتیب مشابه دو آزمایش اول بود. در این آزمایش‌ها دو ساعت پس از تزریق، با بردن سیاهرگ گردنی، خونگیری انجام و سطح کورتیزول پلاسما در تمامی گروه‌ها سنجیده شد.

نتایج: بر اساس یافته‌ها، تزریق ICV ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم و تزریق IP ۲۰۰ میکروگرم از LPS به طور معنی‌داری مصرف غذا را در ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از تزریق سرکوب کرد ($P \leq 0.05$). همچنین، تزریق ICV ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم و تزریق IP ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم از LPS منجر به افزایش معنی‌دار سطح کورتیزول پلاسما شد ($P \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان می‌دهند که هم تجویز مرکزی و هم محیطی LPS می‌تواند مصرف غذا و پاسخ به استرس را در جوجه‌های گوشتی تعدیل کند.

کلمات کلیدی: لیپوپلی ساکارید، اخذ غذا، کورتیزول، جوجه‌های گوشتی

سنجش میزان اخذ غذای جوجه‌های گوشتی به منظور درک عملکرد رشدی و سلامت عمومی آن‌ها بسیار حائز اهمیت است. مصرف غذا به‌طور مستقیم بر افزایش وزن بدن و بازدهی تبدیل خوراک تأثیر می‌گذارد که هر دو از عوامل کلیدی اثرگذار بر پرورش جوجه‌های گوشتی هستند (۱). علاوه بر این، استرس که اغلب با افزایش سطح کورتیزول همراه است، می‌تواند به‌طور قابل توجهی بر رفتار تغذیه‌ای و وضعیت متابولیک پرندگان تأثیر بگذارد (۲، ۳). کورتیزول، هورمونی گلوکوکورتیکوئیدی است که نقشی مرکزی در پاسخ به استرس ایفا می‌کند و بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف از جمله تنظیم اشتها و متابولیسم مواد مغذی تأثیر می‌گذارد (۴). افزایش سطح کورتیزول می‌تواند منجر به کاهش مصرف غذای جوجه‌ها و تغییر در استفاده از مواد مغذی شود که ممکن است به سلامت و بهره‌وری جوجه‌های گوشتی لطمه بزند (۵). بنابراین، درک رابطه بین اخذ غذای جوجه‌ها و سطح کورتیزول برای بهینه‌سازی سلامت و افزایش بهره‌وری جوجه‌های گوشتی ضروری به نظر می‌رسد.

لیپوپلی‌ساکاریدها (LPSها) مولکول‌های پیچیده‌ای هستند که به عنوان جزء اصلی غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی عمل می‌کنند (۶). LPSها در طی دوره های تکثیر سریع یا باکتریولیز آزاد می‌شوند و چندین واکنش فاز حاد را تحریک می‌کنند (۷). همچنین، نقشی حیاتی در حفظ ساختار غشای سلولی باکتریایی و حفاظت آن در برابر استرس‌های محیطی دارند. از نظر ساختاری، LPSها از سه بخش اصلی تشکیل می‌شوند: آنتی‌ژن O، اولیگوساکارید مرکزی و لیپید A (۸). بخش لیپید A از نظر ساختاری ثابت است و مسئول فعالیت اندوتوکسینی LPS است. لیپید A یک جزء لیپیدی است که LPS را در غشای خارجی باکتری مستقر می‌کند و جزء اصلی است که توسط سیستم ایمنی میزبان شناخته می‌شود. اولیگوساکارید مرکزی تا حدودی در بین باکتری‌های گرم منفی مختلف ثابت است و به عنوان پل بین لیپید A و آنتی‌ژن O عمل می‌کند. در نهایت، آنتی‌ژن O متغیرترین قسمت LPS است و برای هر سروتیپ باکتری اختصاصی است. این زنجیره در حدت باکتری و فرار از پاسخ ایمنی میزبان نقش دارد (۹). LPS توسط سیستم ایمنی میزبان از طریق گیرنده‌های شناسایی الگو (PRRs)، به ویژه کمپلکس گیرنده 4 Toll-like (TLR4) که شامل CD14 و MD-2 است، شناخته می‌شود (۱۰). پس از شناسایی، LPS یک سلسله از پاسخ‌های ایمنی را فعال می‌کند، از جمله فعال شدن ماکروفاژها و آزاد شدن سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند فاکتور نکروز توموری-آلفا (TNF- α)، اینترلوکین-1 (IL-1)، IL-6، IL-10 و IL-1 β (۱۱). این فرایند منجر به ایجاد التهاب می‌شود که یک مکانیسم دفاعی حیاتی در برابر عفونت‌های باکتریایی است، اما می‌تواند در صورت شدت بیش از حد به بافت‌ها آسیب بزند.

مطالعات صورت گرفته پیرامون بررسی نقش‌های فیزیولوژیک نشان داده‌اند که LPSها بر سیستم عصبی مرکزی پرندگان و موش‌ها تأثیر می‌گذارند و در بروز اختلالات مختلف مانند بی‌اشتهایی، القای تب و فعال‌سازی سیستم نورواندوکرین نقش دارند (۱۲، ۱۳). با این حال، این موضوع که چگونه این عوامل بر تنظیم مرکزی اشتها تأثیر می‌گذارند، هنوز ناشناخته باقی مانده است. در این راستا، مشخص شده است که LPSها مصرف اختیاری رژیم غذایی را تنظیم می‌کنند (۱۴، ۱۵). علاوه بر این، نشان داده شده است که تزریق محیطی LPS باعث ایجاد هیپوفاژی و افزایش سطح mRNA پرواپیوملانوکورتین (POMC) و رونوشت تنظیم شده توسط کوکائین و آمفتامین (CART) در هیپوتالاموس رت‌ها می‌شود (۱۶). همچنین به نظر می‌رسد LPS به‌طور قابل توجهی بر سطح کورتیزول با فعال کردن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) تأثیر گذارد. این فعال‌سازی منجر به افزایش تولید هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین (CRH) و هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH) می‌شود که به نوبه خود غدد فوق کلیوی را برای ترشح کورتیزول تحریک می‌کند (۱۷).

با توجه به مطالب قید شده در خصوص اثرگذاری LPS ها بر اخذ غذا و سطح کورتیزول و با نظر به این امر که تاکنون مطالعه‌ای با هدف بررسی این اثرات بر روی مدل‌های پرنده صورت نگرفته است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات تزریق داخل بطن مغزی (ICV) و داخل صفاقی (IP) LPS بر اخذ غذا و سطح کورتیزول خون در جوجه‌های گوشتی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

شرایط نگهداری جوجه‌ها

به منظور انجام مطالعه حاضر، مجموعاً تعداد ۱۷۶ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس-۳۰۸ از شرکت مرغک (ایران) خریداری شد. جوجه‌ها یک روزه، ابتدا به مدت دو روز در قفس‌های مشترک نگهداری شدند و سپس به قفس‌های جداگانه منتقل شدند و تا پنج روزگی (روز تزریق) در این قفس‌ها باقی ماندند. در طول آزمایش، جوجه‌ها به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. جیره غذایی آنها شامل یک رژیم استاندارد استارتر با ۲۱ درصد پروتئین خام و ۲۸۵۰ کیلوکالری انرژی قابل متابولیسم از شرکت چینه (ایران) بود. شرایط محیطی نیز از نظر دما 30 ± 1 درجه سانتیگراد، رطوبت 50 ± 2 درصد و برنامه نوری با ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی به صورت کنترل شده حفظ شد. شایان ذکر است تمامی مراحل مطالعه بر اساس اصول راهنمای مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه ملی سلامت ایالات متحده و همچنین با رعایت قوانین کمیته اخلاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی صورت گرفت.

طراحی آزمون‌ها

جوجه‌ها به طور تصادفی برای انجام چهار آزمایش، هر یک شامل چهار گروه آزمایشی (الف-د، تعداد جوجه در هر گروه آزمایشی = ۱۱ قطعه) تقسیم شدند. پیش از تقسیم‌بندی، تمامی جوجه‌ها وزن شدند تا میانگین وزن بدن در گروه‌های آزمایشی مختلف از حداقل تفاوت برخوردار باشد. در آزمایشات مربوط به سنجش اخذ غذا، جوجه‌ها در پنج روزگی به ترتیب در آزمایش اول: محلول کنترل، LPS (۲۵ نانوگرم)، LPS (۵۰ نانوگرم) و LPS (۱۰۰ نانوگرم) را از طریق تزریق ICV و در آزمایش دوم: محلول کنترل، LPS (۵۰ میکروگرم)، LPS (۱۰۰ میکروگرم) و LPS (۲۰۰ میکروگرم) را از طریق تزریق IP دریافت کردند. ترتیب تزریق داروها در آزمایش سه و چهار (سنجش سطح کورتیزول خون) نیز به ترتیب مشابه دو آزمایش قبلی بود. در جدول ۱ ترتیب آزمایشات و داروهای تزریقی نمایش داده شده است. تمامی داروهای مورد استفاده در این مطالعه از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شدند. لازم به ذکر است در تمامی آزمایشات، از سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو ۰/۱ درصد (نشانگر) به عنوان گروه کنترل استفاده شد. همچنین سایر داروها نیز با سرم فیزیولوژی ۰/۸۵ درصد حاوی اوانس بلو ۰/۱ درصد رقیق شدند و حجم داروهای تزریقی در تمامی گروه‌ها برابر با ۱۰ میکرو لیتر بود. تعیین دوزهای تجویزی نیز بر پایه یافته‌های مطالعات پیشین صورت گرفته است (۱۸).

جدول ۱- ترتیب آزمایشات و داروهای تزریق شده در گروه‌های آزمایشی مختلف

داروهای تزریقی				نوع تزریق	شماره آزمایش	
گروه د	گروه ج	گروه ب	گروه الف		یک	دو
LPS (۱۰۰ نانوگرم)	LPS (۵۰ نانوگرم)	LPS (۲۵ نانوگرم)	سرم فیزیولوژی + اوانس بلو ۰/۱ درصد	ICV		
LPS (۲۰۰ میکروگرم)	LPS (۱۰۰ میکروگرم)	LPS (۵۰ میکروگرم)	سرم فیزیولوژی + اوانس بلو ۰/۱ درصد	IP	دو	سطح کورتیزول
LPS (۱۰۰ نانوگرم)	LPS (۵۰ نانوگرم)	LPS (۲۵ نانوگرم)	سرم فیزیولوژی + اوانس بلو ۰/۱ درصد	ICV	سه	
LPS (۲۰۰ میکروگرم)	LPS (۱۰۰ میکروگرم)	LPS (۵۰ میکروگرم)	سرم فیزیولوژی + اوانس بلو ۰/۱ درصد	IP	چهار	

روش تزریق

سرانجام در پنج روزگی جوجه‌ها تزریق‌های ICV و IP انجام شدند. جوجه‌ها پیش از انجام هر دو شکل تزریق به مدت سه ساعت محرومیت غذایی را تجربه کردند اما همچنان دسترسی آن‌ها به آب آشامیدنی برقرار بود. ذکر این نکته ضروریست که هر جوجه تنها یک بار مورد تزریق گرفت. به منظور انجام تزریق ICV در آزمایش‌های ۱ و ۳، سر جوجه‌ها توسط یک وسیله آکرلیک با زاویه نوک ۴۵ درجه، ثابت نگه داشته شد. در این شرایط سر جوجه‌ها به موازات میز کار قرار داشت. سپس سوراخی بر روی یک کلیشه ایجاد و کلیشه مذکور روی سر جوجه‌ها در منطقه تزریق قرار داده شد. آن‌گاه با استفاده از سرنگ همیلتون (سوئیس) و از طریق منفذ موجود در کلیشه دارو در بطن راست مغزی جوجه تزریق شد (۱۹). بایستی توجه داشت که این روش تزریق استرس فیزیولوژیکی در جوجه‌ها ایجاد نمی‌کند و سر سوزن تنها به اندازه ۴ میلی متر به پوست و جمجمه وارد می‌گردد (۲۰). به منظور انجام تزریق IP در آزمایش‌های ۲ و ۴ نیز از سرنگ‌های یکبار مصرف انسولین استفاده شد و داروهای مذکور با حجم ۱۰ میکرولیتر در محوطه شکمی جوجه‌ها تزریق شدند (۲۱).

سنجش اخذ غذای تجمعی

پس از انجام تزریقات جوجه‌های شرکت‌کننده در آزمایش‌های ۱ و ۲ بلافاصله به قفس‌های انفرادی خود بازگردانده شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا برای آن‌ها فراهم شد. سپس در طول بازه‌های زمانی ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از تزریق میزان اخذ غذای تجمعی جوجه‌ها اندازه‌گیری و به عنوان درصدی از وزن بدن ثبت شد تا تأثیر وزن بر میزان مصرف خوراک به حداقل میزان ممکن برسد. پس از اتمام اندازه‌گیری‌ها، جوجه‌ها با رعایت اصول اخلاقی یوتانایز شدند. مغز جوجه‌های دریافت‌کننده تزریق ICV به منظور تأیید صحت تزریق و مشاهده رنگ نشانگر اوانس بلو در ناحیه تزریق، مورد بررسی قرار گرفتند.

سنجش سطح کورتیزول خون

در آزمایش ۳ و ۴، دو ساعت پس از انجام تزریقات، از جوجه‌ها با قطع سیاهرگ گردن و در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA خونگیری شد. خون جمع‌آوری شده، در تیوپ‌های مخصوص منتقل شدند. آنگاه نمونه‌ها با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس در دمای ۲۰- سانتیگراد نگهداری شدند. سنجش سطح کورتیزول پلاسما با استفاده از دستورالعمل

کالیچاران و هال (۱۹۸۱) به روش رادیوایمونواسی (Radioimmunoassay) و بر اساس پروتکل سازنده کیت سنجش کورتیزول (New England Nuclear، آمریکا) صورت پذیرفت (۲۲).

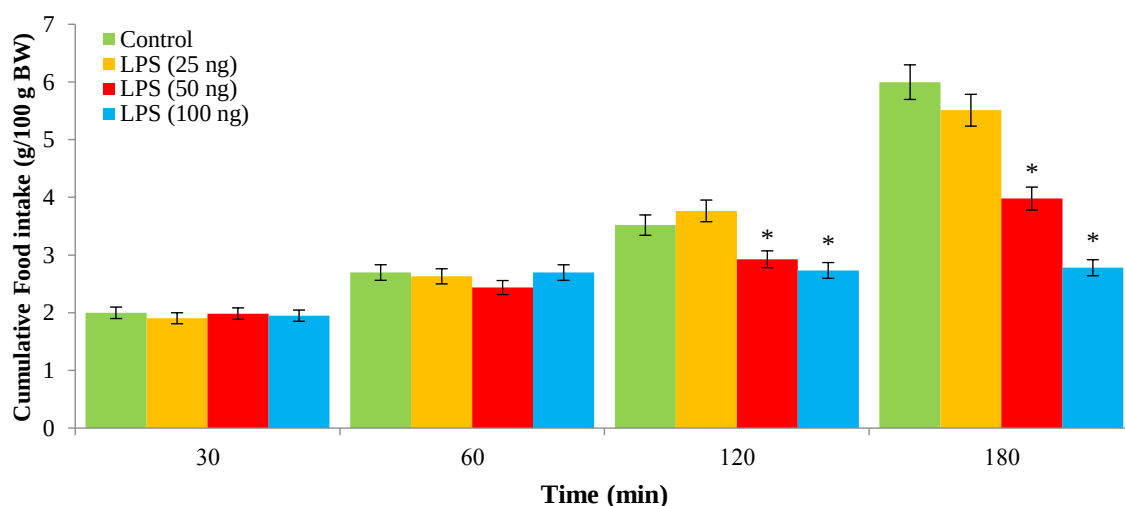
ارزیابی آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده، با استفاده از نرم افزار (نسخه ۱۶/۰۰) برای تمامی گروه‌ها و در تمامی بازه‌های زمانی انجام شد. همچنین از روش تحلیل واریانس دوطرفه و تست تعقیبی توکی به منظور سنجش اختلاف معنادار بین گروه‌های آزمایشی استفاده گشت. در نهایت، نمودارها با استفاده از نرم‌افزار سیگما (نسخه ۱۴/۰۰) پلات ترسیم شدند. لازم به ذکر است، $P \leq 0.05$ به عنوان سطح معنی داری تغییرات در نظر گرفته شد.

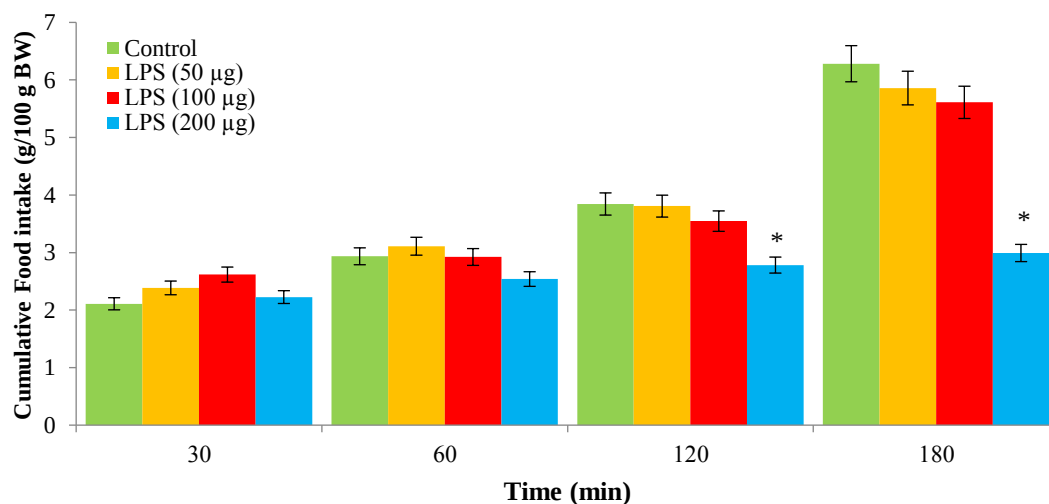
نتایج

اخذ غذا

اثرات تزریق ICV و IP لیپوپلی ساکارید بر میزان اخذ غذا در جوجه‌های گوشتی پنج روزه مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل از آن در نمودارهای ۱ و ۲ نمایش داده شد. در آزمایش اول، تزریق ICV لیپوپلی ساکارید با دوز ۲۵ نانوگرم در هیچ یک از زمان‌های سنجش اثر معنی داری بر اخذ غذا بر جای نگذاشت ($P > 0.05$)، درحالیکه تجویز آن با دوزهای ۵۰ نانوگرم و ۱۰۰ نانوگرم سبب سرکوب معنادار مصرف غذای جوجه‌ها در زمان‌های ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از تزریق شد ($P \leq 0.05$). در آزمایش دوم نیز تجویز IP لیپوپلی ساکارید با دوزهای ۵۰ میکروگرم و ۱۰۰ میکروگرم تغییر معنی داری در میزان اخذ غذای تجمعی جوجه‌ها در تمامی زمان‌های سنجش ایجاد ننمود ($P > 0.05$)، اما تزریق LPS با دوز ۲۰۰ میکروگرم در زمان‌های ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از تزریق موجب کاهش معنی دار اخذ غذای جوجه‌های گوشتی شد ($P \leq 0.05$).



نمودار ۱- اثر تزریق ICV لیپوپلی ساکارید بر اخذ غذای تجمعی در جوجه‌های گوشتی. علامت (*) نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف در هر زمان است ($P \leq 0.05$).



نمودار ۲- اثر تزریق IP لیپوپلی ساکارید بر اخذ غذای تجمعی در جوجه‌های گوشتی. علامت (*) نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف در هر زمان است ($P \leq 0.05$).

سطح کورتیزول پلاسما

در جدول ۲، نتایج حاصل از تزریق ICV دوزهای مختلف LPS بر سطح کورتیزول پلاسما ارائه شده است. بر اساس یافته‌ها، تزریق LPS با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم سبب افزایش معنی‌دار سطح کورتیزول پلاسما در دو ساعت پس از تزریق شد ($P \leq 0.05$)، درحالی‌که تجویز ۲۵ نانوگرم از آن تغییر معنی‌داری در سطح پلاسمای جوجه‌ها ایجاد ننمود ($P > 0.05$). نتایج حاصل از تزریق IP دوزهای مختلف LPS بر سطح کورتیزول پلاسما نیز در جدول ۳ نشان داده شده است. در این شیوه تزریق نیز، اگرچه تزریق دوز ۵۰ میکروگرم از LPS اثر معنی‌داری بر سطح کورتیزول پلاسما نداشت ($P > 0.05$)، اما تجویز دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم از آن سبب افزایش معنی‌دار سطح کورتیزول پلاسما در دو ساعت پس از تزریق شد ($P \leq 0.05$).

جدول ۲- سطح کورتیزول پلاسما (نانوگرم/میلی‌لیتر) در گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده LPS دو ساعت پس از تزریق ICV

گروه‌های آزمایشی	سطح کورتیزول پلاسما (نانوگرم/ میلی‌لیتر)
کنترل	0.71 ± 0.24
LPS (۲۵ نانوگرم)	0.77 ± 0.31
LPS (۵۰ نانوگرم)	$1.42 \pm 0.35^*$
LPS (۱۰۰ نانوگرم)	$1.86 \pm 0.38^*$
* بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل ($P \leq 0.05$)	

جدول ۳- سطح کورتیزول پلاسما (نانوگرم/میلی لیتر) در گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده LPS دو ساعت پس از تزریق IP

گروه‌های آزمایشی	سطح کورتیزول پلاسما (نانوگرم/ میلی لیتر)
کنترل	0.18 ± 0.68
LPS (۵۰ میکروگرم)	0.24 ± 0.75
LPS (۱۰۰ میکروگرم)	$0.28 \pm 0.17^*$
LPS (۲۰۰ میکروگرم)	$0.34 \pm 0.49^*$
* بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل ($P \leq 0.05$)	

بحث

مطالعه حاضر به بررسی اثرات تزریق ICV و IP لیپوپلی ساکارید بر میزان اخذ غذا و سطح کورتیزول خون در جوجه‌های گوشتی پرداخته است. یافته‌های ما نشان می‌دهند که تزریق مرکزی LPS در دوزهای ۵۰ نانوگرم و ۱۰۰ نانوگرم به طور قابل توجهی مصرف غذا را سرکوب می‌کند. همچنین تزریق IP آن در دوز ۲۰۰ میکروگرم سبب کاهش اخذ غذا و در دوزهای ۱۰۰ میکروگرم و ۲۰۰ میکروگرم سبب افزایش سطح کورتیزول پلاسما می‌گردد. این یافته‌ها هم‌سو با مطالعات پیشین بوده است.

بر اساس مستندات موجود، LPS که در طی شرایط تکثیر سریع یا باکتریولیز آزاد می‌شود، چندین واکنش فاز حاد را با القای تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند $TNF-\alpha$ ، IL-1، IL-6، IL-10 و IL-1 β تحریک می‌کند (۲۳). سیتوکین‌های پیش‌التهابی از فعالیت اورکسینیک (افزاینده اشتها) جلوگیری می‌کنند و نوروپپتیدهای کاهنده اشتها را در مغز تحریک می‌کنند (۲۴، ۲۵). علاوه بر این، درمان سیستمیک با لیپوپلی ساکارید، آزادسازی CART را تقویت می‌کند (۱۶). CART یک پپتید بیان شده در نورون‌های حاوی POMC/بتا-اندورفین در هسته کمائی است که در صورت فعال‌سازی، تغذیه را سرکوب می‌کند (۲۶).

علاوه بر این، محققان نشان داده‌اند که هیپوفازای ناشی از LPS در صورت مسدود شدن گیرنده‌های فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین (CRF)، کاهش می‌یابد (۲۷). پیش‌تر نشان داده شده است که بسیاری از عوامل سرکوب‌کننده اشتها اثرات خود را از طریق نورون‌های کورتیکوتروپین‌ریزیک در جوجه‌ها اعمال می‌کنند (۲۸). بر اساس نتایج حاصل از مطالعات گذشته تصور می‌شود که LPS در تنظیم مصرف غذا نقش داشته و سبب کاهش اخذ غذا گردد (۲۹، ۳۰). این مشاهدات هم‌راستا با یافته‌های مطالعه حاضر و بیانگر اثرات هیپوفازیک LPS در جوجه‌ها بوده است.

از سوی دیگر، چندین مطالعه به بررسی نقش LPS در ترجیحات غذایی پرداخته‌اند. در این راستا، گزارش شده است که تزریق محیطی LPS (۴۰۰-۱۰۰ میکروگرم) در جوجه‌ها مصرف غذا و مقدار مطلق اسیدهای آمینه مورد نیاز را کاهش می‌دهد اما بر مصرف لیزین و ترئونین برای افزایش پروتئین تأثیری نداشته است (۳۱). در مطالعات انسانی نیز، افزایش اندوتوکسمی پس از یک وعده غذایی پرچرب گزارش شده است (۳۲). علاوه بر این، مشخص شده است که یک رژیم غذایی با کمبود پروتئین باعث کاهش پاسخ‌های متابولیکی به اندوتوکسین و توانایی مونوسیت‌ها برای تولید سیتوکین می‌شود (۳۳).

افزایش سطح کورتیزول متعاقب تجویز LPS مشاهده شده در مطالعه حاضر نیز با اثرات شناخته شده LPS بر پاسخ به استرس در حیوانات سازگار است. افزایش سطح کورتیزول یک پاسخ رایج به تغییرات سطح LPS است که نشان دهنده فعال شدن محور

HPA است (۳۴). همانطور که در مطالعه ما و نیز تحقیقات پیشین مشاهده شد، این پاسخ استرس با کاهش وزن بدن و مصرف خوراک مرتبط است. به عنوان مثال، یک مطالعه نشان داد که تزریق LPS باعث افزایش غلظت کورتیزول سرم و در نتیجه منجر به کاهش عملکرد رشدی می‌شود (۳۵).

مکانیسم‌های اساسی سرکوب رشد ناشی از LPS نه تنها فعال شدن مسیرهای التهابی، بلکه تأثیرات بالقوه بر سلامت روده را نیز شامل می‌شوند. تحقیقات نشان داده است که LPS می‌تواند ساختار و عملکرد روده کوچک در جوجه‌های گوشتی را مختل کند، ارتفاع پرز و عمق کریپت‌ها را کاهش دهد و از غلظت دی-گزیلوز پلاسما بکاهد. این تغییرات می‌تواند بیشتر به کاهش جذب مواد مغذی و عملکرد رشد کمک کند (۳۶، ۳۷). علاوه بر این، LPS می‌تواند باعث آتروفی بورس فابریسیوس شود که نشان دهنده وقوع پاسخ ایمنی است (۳۸). مکمل‌های غذایی مانند فلاونوئیدها به عنوان تعدیل کننده‌های بالقوه این پاسخ ایمنی مورد بررسی قرار گرفتند و به طور بالقوه اثرات منفی LPS را کاهش دادند (۳۹).

در مقایسه با سایر مطالعات، یافته‌های ما اهمیت مکانیسم‌های مرکزی و محیطی را در میانجی‌گری اثرات LPS بر سلامت طیور نشان می‌دهد. در حالی که تزریق ICV مستقیماً بر مسیرهای تنظیمی مرکزی تأثیر می‌گذارد، تزریق IP بر پاسخ‌های ایمنی محیطی نیز تأثیر می‌گذارد، که در نهایت هر دو به کاهش مصرف غذا و افزایش نشانگرهای استرس منجر می‌شوند. این اقدام دوگانه بر پیچیدگی استرس ناشی از LPS در طیور تأکید می‌کند و نشان می‌دهد که مداخلاتی که هم مسیرهای مرکزی و هم مسیرهای محیطی را هدف قرار می‌دهند، ممکن است در کاهش این اثرات مؤثر باشند.

نتیجه‌گیری

در نهایت، مطالعه حاضر اثرات مرکزی و محیطی LPS بر دریافت غذا و پاسخ به استرس در جوجه‌های گوشتی را برجسته می‌سازد. یافته‌های به دست آمده از این ایده حمایت می‌کنند که LPS می‌تواند با سرکوب اشتها و افزایش سطح کورتیزول بر عملکرد رشد تأثیر منفی بگذارد. طراحی و اجرای تحقیقات بیشتری برای روشن کردن مسیرهای مولکولی دقیق درگیر در این اثرات و کشف استراتژی‌های بالقوه برای کاهش استرس ناشی از LPS در پرورش طیور ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان، از همکاری آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در به انجام رساندن این پژوهش تشکر و قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله تعارضی در منافع ندارند.

1. Tallentire CW, Leinonen I, Kyriazakis I. Breeding for efficiency in the broiler chicken: a review. *Agronomy for Sustainable Development*. 2016;36:1-16.
2. Sadler JR, Thapaliya G, Jansen E, Aghababian AH, Smith KR, Carnell S. COVID-19 stress and food intake: protective and risk factors for stress-related palatable food intake in US adults. *Nutrients*. 2021;13(3):901.
3. Hill D, Conner M, Clancy F, Moss R, Wilding S, Bristow M, et al. Stress and eating behaviours in healthy adults: A systematic review and meta-analysis. *Health Psychology Review*. 2022;16(2):280-304.
4. Kuckuck S, van Der Valk ES, Scheurink AJ, van Der Voorn B, Iyer AM, Visser JA, et al. Glucocorticoids, stress and eating: The mediating role of appetite-regulating hormones. *Obesity Reviews*. 2023;24(3):e13539.
5. Cline MA. Corticotrophin Releasing Hormone Modulation of Feed Intake, Gastric Motility, and Behavior in Low and High Body Weight Selected Lines of Chickens. 2005.
6. Mazgaeen L, Gurung P. Recent advances in lipopolysaccharide recognition systems. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(2):379.
7. Schultz C. Lipopolysaccharide, structure and biological effects. *Gen Intern Med Clin Innov*. 2018;3(1):1-2.
8. Di Lorenzo F, Duda KA, Lanzetta R, Silipo A, De Castro C, Molinaro A. A journey from structure to function of bacterial lipopolysaccharides. *Chemical reviews*. 2021;122(20):15767-821.
9. Holst O. Chemical structure of the core region of lipopolysaccharides. *Endotoxin in health and disease: CRC Press*; 2020. p. 115-54.
10. Zamyatina A, Heine H. Lipopolysaccharide recognition in the crossroads of TLR4 and caspase-4/11 mediated inflammatory pathways. *Frontiers in Immunology*. 2020;11:585146.
11. Di Liddo R, Valente S, Taurone S, Zwergel C, Marrocco B, Turchetta R, et al. Histone deacetylase inhibitors restore IL-10 expression in lipopolysaccharide-induced cell inflammation and reduce IL-1 β and IL-6 production in breast silicone implant in C57BL/6J wild-type murine model. *Autoimmunity*. 2016;49(3):155-65.
12. Yousefvand S, Hamidi F, Parham A. Effect of lipopolysaccharide on body physiological responses. *Veterinaria México OA*. 2025;12.
13. Matsuwaki T, Shionoya K, Ihnatko R, Eskilsson A, Kakuta S, Dufour S, et al. Involvement of interleukin-1 type 1 receptors in lipopolysaccharide-induced sickness responses. *Brain, behavior, and immunity*. 2017;66:165-76.
14. Volkoff H, Peter RE. Effects of lipopolysaccharide treatment on feeding of goldfish: role of appetite-regulating peptides. *Brain research*. 2004;998(2):139-47.
15. Zendejdel M, Baghbanzadeh A, Aghelkohan P, Hassanpour S. Central histaminergic system interplay with suppressive effects of immune challenge on food intake in chicken. *British Poultry Science*. 2016;57(2):271-9.
16. Sergeev V, Broberger C, Hökfelt T. Effect of LPS administration on the expression of POMC, NPY, galanin, CART and MCH mRNAs in the rat hypothalamus. *Molecular brain research*. 2001;90(2):93-100.
17. Grinevich V, Ma XM, Herman J, Jezova D, Akmayev I, Aguilera G. Effect of repeated lipopolysaccharide administration on tissue cytokine expression and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in rats. *Journal of neuroendocrinology*. 2001;13(8):711-23.
18. Ghiasi S, Zendejdel M, Haghbinazarpak H, Asghari A, Sheikhi N. Central and peripheral effects of lipopolysaccharide on food choice and macronutrient selection in meat-type chick. *Archives of Razi Institute*. 2023;78(3):843.
19. van Tienhoven At, Juhasz L. The chicken telencephalon, diencephalon and mesencephalon in stereotaxic coordinates. *Journal of Comparative Neurology*. 1962;118(2):185-97.
20. Davis JL, Masuoka DT, Gerbrandt LK, Cherkin A. Autoradiographic distribution of L-proline in chicks after intracerebral injection. *Physiology & Behavior*. 1979;22(4):693-5.

21. Zendehtdel M, Hassanpour S, Movahedi N. Central and peripheral methylamine-induced hypophagia is mediated via nitric oxide and TAAR1 in neonatal layer-type chicken. *Neuroscience Letters*. 2020;739:135408.
22. Kalliecharan R. The influence of exogenous ACTH on the levels of corticosterone and cortisol in the plasma of young chicks (*Gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology*. 1981;44(2):249-51.
23. Otvos Jr L. Immunomodulatory effects of anti-microbial peptides. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. 2016;63(3):257-77.
24. Dalton B, Leppanen J, Campbell IC, Chung R, Breen G, Schmidt U, et al. A longitudinal analysis of cytokines in anorexia nervosa. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2020;85:88-95.
25. Malla J, Zahra A, Venugopal S, Selvamani TY, Shoukrie SI, Selvaraj R, et al. What role do inflammatory cytokines play in cancer cachexia? *Cureus*. 2022;14(7).
26. Smith KL, Gardiner JV, Ward HL, Kong WM, Murphy KG, Martin NM, et al. Overexpression of CART in the PVN increases food intake and weight gain in rats. *Obesity*. 2008;16(10):2239-44.
27. Kooshki R, Abbasnejad M, Jonaidi H, Soltaninejad M, Sharifimehr A, Yosoufi M, et al. Interactive effects of peripheral and central administration of LPS with inhibition of CRF receptors on food intake in neonatal chicks. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*. 2019;11(1):19-25.
28. Mahdavi K, Zendehtdel M, Zarei H. The role of central neurotransmitters in appetite regulation of broilers and layers: similarities and differences. *Veterinary Research Communications*. 2024;48(3):1313-28.
29. Zendehtdel M, Baghbanzadeh A, Yeganeh B, Hassanpour S. The role of cyclooxygenase inhibitors in lipopolysaccharide-induced hypophagia in chicken. 2015.
30. Zendehtdel M, Taati M, Jonaidi H, Amini E. The role of central 5-HT_{2C} and NMDA receptors on LPS-induced feeding behavior in chickens. *The Journal of Physiological Sciences*. 2012;62(5):413-9.
31. Webel DM, Johnson RW, Baker DH. Lipopolysaccharide-induced reductions in food intake do not decrease the efficiency of lysine and threonine utilization for protein accretion in chickens. *The Journal of nutrition*. 1998;128(10):1760-6.
32. Laugerette F, Vors C, G  lo  n A, Chauvin M-A, Soulage C, Lambert-Porcheron S, et al. Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2011;22(1):53-9.
33. Takahashi K, Yodogawa S, Akiba Y, Tamura K. Effect of dietary protein concentration on responses to *Escherichia coli* endotoxin in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*. 1995;74(2):173-82.
34. Vakharia K, Hinson J. Lipopolysaccharide directly stimulates cortisol secretion by human adrenal cells by a cyclooxygenase-dependent mechanism. *Endocrinology*. 2005;146(3):1398-402.
35. Li R, Song Z, Zhao J, Huo D, Fan Z, Hou DX, He X. Dietary L-theanine alleviated lipopolysaccharide-induced immunological stress in yellow-feathered broilers. *Animal nutrition*. 2018 Sep 1;4(3):265-72.
36. Hu X, Guo Y, Li J, Yan G, Bun S, Huang B. Effects of an early lipopolysaccharide challenge on growth and small intestinal structure and function of broiler chickens. *Canadian Journal of Animal Science*. 2011;91(3):379-84.
37. Kamboh AA, Zhu WY. Individual and combined effects of genistein and hesperidin on immunity and intestinal morphometry in lipopolysaccharide-challenged broiler chickens. *Poultry science*. 2014 Sep 1;93(9):2175-83.
38. Ansari AR, Li NY, Sun ZJ, Huang HB, Zhao X, Cui L, Hu YF, Zhong JM, Karrow NA, Liu HZ. Lipopolysaccharide induces acute bursal atrophy in broiler chicks by activating TLR4-MAPK-NF-  B/AP-1 signaling. *Oncotarget*. 2017 Aug 5;8(65):108375.
39. Martínez G, Mijares MR, De Sanctis JB. Effects of flavonoids and its derivatives on immune cell responses. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*. 2019 Oct 1;13(2):84-104.

Effects of intracerebroventricular and intraperitoneal lipopolysaccharide injection on food intake and blood cortisol levels in broiler chickens

Saeed Ghiasi¹, **Morteza Zendedel**², Hadi Haghbinnazarpak³, Ahmad Asghari⁴, Nariman Sheikhi⁵

1-Phd, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2-Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
Corresponding author: zendedel@ut.ac.ir

3-Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran.

4-Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

5- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Background & Aim: The present study aimed to investigate the effects of intraventricular (ICV) and intraperitoneal (IP) injections of lipopolysaccharide (LPS) on food intake and blood cortisol levels in broiler chickens.

Materials and Methods: In the present study, a total of four experiments (experiments one and two related to food intake and experiments three and four related to plasma cortisol levels) were performed on broiler chickens. In the first experiment, the control solution and LPS at doses of 25, 50, and 100 ng were administered ICV. In the second experiment, the control solution and LPS at doses of 50, 100, and 200 µg were injected IP. Then, the chickens were returned to their cages and their food intake was recorded for three hours after injection. The order of injections in experiments three and four was the same as in the first two experiments, respectively. In these experiments, two hours after injection, blood was collected by cutting the jugular vein, and plasma cortisol levels were measured in all groups.

Results: Based on the findings, ICV injection of 50 and 100 ng and IP injection of 200 µg of LPS significantly suppressed food intake at 120 and 180 minutes after injection ($P \leq 0.05$). Also, ICV injection of 50 and 100 ng and IP injection of 100 and 200 µg of LPS resulted in a significant increase in plasma cortisol levels ($P \leq 0.05$).

Conclusion: These results suggest that both central and peripheral administration of LPS can modulate food intake and stress responses in broiler chickens.

Key words: Lipopolysaccharide, Food Intake, Cortisol, Broiler Chickens