

تغییر پارامترهای لیپیدی سرم خون و کبد گاو میش در پاسخ به محرومیت غذایی

میرحامد شکریان^۱، محمد نوری^{۱*}، محمد رحیم حاجی حاجیکلایی^۱، علی شهریاری^۲، بابک محمدیان^۳، مهدی پورمهدی بروجنی^۴، علیرضا غدیری^۱

۱) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز - اهواز - ایران

۲) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز - اهواز - ایران

۳) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز - اهواز - ایران

۴) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز - اهواز - ایران

(دریافت مقاله: ۷ آبان ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱۴ دی ماه ۱۳۹۳)

چکیده

زمینه مطالعه: بالانس منفی انرژی درگا و بدلیل محرومیت غذایی، بیماریهای زایمانی، دوره گذر و... سبب آزادسازی شدید اسیدهای چرب آزاد از ذخایر بافت چربی و ورود آنها به خون می شود. در حالات فوق، انتظار کاهش گلوکز، افزایش اسیدهای چرب آزاد و کتون بادیها و اختلال در وضعیت لیپید و لیپوپروتئین خون وجود دارد. اینکه آیا گاو میش هم همانند گاو از الگوی فوق پیروی میکند بخوبی معلوم نیست. **هدف:** مطالعه حاضر با هدف آگاهی از تأثیر محرومیت غذایی بر پارامترهای لیپیدی کبد و سرم در این حیوان تدوین گردید. **روش کار:** در این تحقیق ۵ راس گاو میش نر به مدت ۸ هفته با جیره حاوی کنستانتیره یونجه، کاه، جو و ذرت پرور شدند. در دوره ۸ روزه محرومیت غذایی فقط آب و کاه داده شد. نمونه خون در سه نوبت (با فاصله زمانی هر ۱۸ روز) و روزانه به مدت ۸ روز بترتیب در زمان پرور مرحله اول یا قبل محرومیت غذایی ۸ روزه و در دوره محرومیت غذایی ۸ روزه اخذ گردید. بعد از محرومیت غذایی، گاو میش ها مجدداً ۸ هفته پرور شدند، در این مرحله نمونه خون به فاصله زمانی هر ۱۸ روز اخذ شد. در سرم ها گلوکز، NEFA، BHBA توسط کیت های استاندارد اندازه گیری شدند. بیوپسی کبد، در روزهای اول و آخر محرومیت غذایی، جهت استخراج TG از نمونه های کبدی انجام شد. آنالیز نتایج توسط آزمون آنالیز واریانس با اندازه گیری تکراری انجام شد. نتایج: میانگین غلظت سرمی، BHBA و NEFA در مرحله محرومیت غذایی ۸ روزه در مقایسه با دوره قبل و بعد از آن تغییر معنی داری نکرد و میزان TG کبد در دوره محرومیت غذایی با دوره قبل و بعد آن اختلاف معنی داری نداشت ($p > 0.05$). اما میانگین غلظت سرمی گلوکز در دوره محرومیت غذایی با دوره قبل و بعد آن اختلاف معنی داری تغییرات معنی دار داشت ($p \leq 0.05$). **نتیجه گیری نهایی:** به نظر میرسد گاو میش در شرایط نوسانات شدید دریافت مواد غذایی، دارای توانایی ذاتی خاص و ساز و کار طبیعی برای کنترل لیپولیز و گلوکونئوزن با هدف جلوگیری از بروز بیماریهای متابولیکی و عدم تغییرات عمده در پارامترهای لیپیدی سرم خون و کبد است. که دلالت بر مقاومت ذاتی آن به شرایط استرس در مقایسه با گاو، دارد.

واژه های کلیدی: گاو میش، محرومیت غذایی، پارامترهای لیپیدی، کبد، سرم

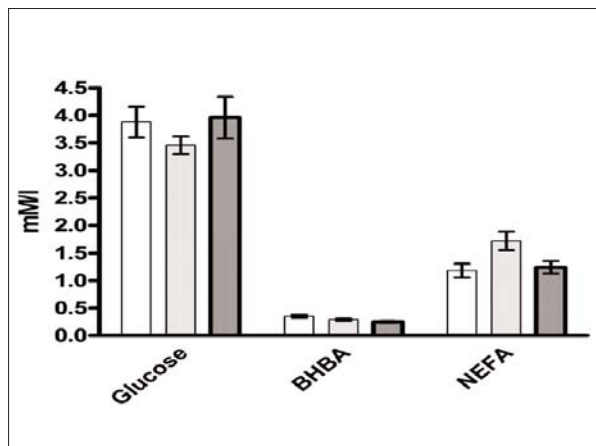
(۱۹، ۳). بنابراین انتظار می رود سیمای متابولیکی پلاسمای یک حیوان در حالت بالانس منفی انرژی به صورت کاهش گلوکز، افزایش اسیدهای چرب آزاد، افزایش کتون بادیها و اختلال در وضعیت لیپید و لیپوپروتئین خون باشد. از سوی دیگر شواهد نشان می دهد که تفاوت های گونه ای زیادی در سیمای متابولیکی خون در پاسخ به بحران انرژی وجود دارد. پژوهش ها نشان می دهند که در میش های گرسنه کاهش سطح گلوکز خون آهسته تر از افزایش اسیدهای چرب آزاد صورت میگیرد، به عبارت دیگر افزایش اسیدهای چرب بطور مستقیم ناشی از هیپوگلیسمی نیست (۱)، در حالیکه در گاو و بز افزایش سطوح پلاسمایی NEFA و کتون بادیها ارتباط مستقیم و همزمان با کاهش گلوکز دارد (۱۵) همچنین ثابت شده که گرسنگی طولانی مدت در شتر هیچ گونه تغییری در سطح سرمی کتون بادی ها و گلوکز ایجاد نکرده است ولی میزان NEFA را افزایش داده است (۲۰).

گاو میش یکی از نشخوارکنندگان بومی استان خوزستان دارای خصوصیات بارزی از قبیل، قدرت جسمانی زیاد برای کار در اقلیم گرمسیری و توانایی حیاتی بیشتر برای استفاده از مواد خشبی کم ارزش نسبت به سایر گونه ها و شیر پر چرب است و برخی از محققین گاو میش را به

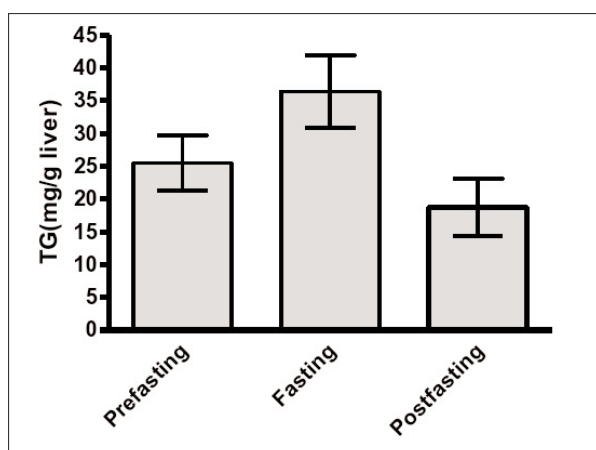
مقدمه

خون به عنوان محیطی برای انتقال همه مواد غذایی به سلول ها و همچنین راهی برای توزیع لیپیدها به محل های ذخیره ای مختلف است. بنابراین یافتن اطلاعات بر روی سطوح لیپیدی و نیز ارتباط بین فاکتورهای محیطی و سطوح لیپیدی در پلاسمای میتواند در پیش بینی و پیشگیری بیماریهای متابولیکی مفید باشد. تعدادی از مطالعات به بررسی اثرات گرسنگی بر سطح لیپیدی پلاسمای در گونه های مختلف حیوانی پرداختند. شواهد متعدد نشان میدهند که بالانس منفی انرژی در نشخوارکنندگان تحت اثر عوامل مختلف نظیر محرومیت غذایی، بیماریها و همچنین در روزهای اولیه پس از زایمان، سبب آزادسازی بیش از حد اسیدهای چرب آزاد غیر استریفیه شده از ذخایر بافت چربی و ورود آنها به گردش خون می شود (۲، ۳، ۱۰). در چنین حالاتی ظرفیت کبد برای برداشت و متابولیزه کردن اسیدهای چرب در روندهای بتا اکسیداسیون و کتونئوز افزایش می یابد و مازاد اسیدهای چرب با استریفیه شدن مجدد و تشکیل تری گلیسرید به صورت لیپوپروتئین ترشحی با چگالی بسیار پائین وارد گردش خون می شود





نمودار ۱. تغییرات پارامترهای سرمی (Mean±SEM) گاو میش‌ها در دوره قبل از محرومیت غذایی (□)، محرومیت غذایی (▒) و بعد از محرومیت غذایی (■).



نمودار ۲. تغییرات میزان TG کبد (Mean±SEM) گاو میش در دوره محرومیت غذایی و دوره‌های قبل و بعد از آن.

آمده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه، میانگین غلظت سرمی BHBA و NEFA در مرحله محرومیت غذایی ۸ روزه در مقایسه با دوره قبل از محرومیت غذایی تغییر معنی داری نکرده است. ($p > 0.05$) اما میانگین غلظت سرمی گلوکز در دوره محرومیت غذایی با دوره قبل و بعد از آن اختلاف معنی داری تغییرات معنی دار داشت ($p \leq 0.05$).

نمودار ۲ نشان می‌دهد که میزان TG کبد در دوره محرومیت غذایی (۳۶/۴۱±۵/۵) با دوره قبل از محرومیت غذایی (۲۵/۴۸±۴/۲) و بعد از آن (۲۳/۹۳±۵/۴۵) هیچگونه اختلاف معنی داری ندارد ($p > 0.05$).

بحث

بنا بر مطالعات گذشته در مورد اکثر حیوانات سیمای متابولیسمی پلاسمای یک حیوان در حالت بالانس منفی انرژی به صورت کاهش گلوکز، افزایش اسیدهای چرب آزاد، افزایش کتون بادیها و اختلال در وضعیت لیپید و لیپوپروتئین خون می‌باشد (۵، ۷، ۱۳، ۱۴، ۱۶، ۱۷). اما در

عنوان "دام آینده" در اقتصاد جهانی دامپروری معرفی کرده‌اند (۴، ۸). با توجه به ویژگی‌های شمرده شده برای گاو میش و عدم وجود اطلاعات کافی در مورد وضعیت متابولیسمی آن در حالات بحرانی نظیر بیماریها، شرایط پس از زایمان و نیز گرسنگی و آیا اینکه همانند گاو این حیوان در اینگونه موارد به سمت بالانس منفی انرژی سوق داده شده و به لیپیدوز کبدی و در نهایت کبد چرب دچار گشته. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر محرومیت غذایی بر پارامترهای لیپیدی کبد و سرم گاو میش پایه ریزی گردید.

مواد و روش کار

در این تحقیق ۵ سراس گاو میش نری با سن تقریبی ۲ سال و میانگین وزنی 210 ± 25 kg تحت مطالعه قرار گرفتند. در مرحله پروار اول (قبل از محرومیت غذایی)، گاو میش‌های تحت مطالعه به مدت ۸ هفته با جیره کاملاً مخلوط حاوی کنستانتره یونجه، کاه، جو، ذرت، سویا، تخم پنبه و مکمل و مینرال‌ها تغذیه و پروار شده و به نمره بدنی مطلوب ۳/۷۵-۴ رسیدند، طی این مرحله به فاصله هر ۱۸ روز و در مجموع سه نوبت خونگیری به عمل آمد.

در مرحله دوم، گاو میش‌های تحت مطالعه به مدت ۸ روز فقط با کاه تغذیه شدند و همواره در تمام طول دوره مطالعه آب در اختیار آنها قرار گرفت. در طول این مدت نیز روزانه ۲۰ cc خون وریدی اخذ گردید، در مرحله سوم بلافاصله بعد از محرومیت غذایی ۸ روزه، حیوانات به مدت ۸ هفته مانند مرحله اول تغذیه و پروار شدند. در این مرحله نیز به فاصله هر ۱۸ روز و در مجموع ۳ بار خون وریدی اخذ گردید. شایان ذکر است که در تمام مراحل آزمایش معاینه بالینی و ثبت علائم حیاتی از قبیل درجه حرارت، تعداد ضربان قلب و تنفس و حرکات شکمبه نیز انجام می‌شد. در آزمایشگاه از نمونه‌های خون اخذ شده و سرم‌ها تا انجام آزمایشات لازم جهت اندازه‌گیری گلوکز، NEFA، BHBA در فریزر 20°C - نگهداری شدند. برای تهیه بیوپسی از کبد، در روزهای اول و آخر دوره محرومیت غذایی، از تکنیک نمونه برداری با هدایت اولتراسونوگرافی به روش دست آزاد استفاده شد. نمونه‌های اخذ شده از کبد جهت استخراج TG کبدی به روش فولچ به کار رفتند (۱۱).

TG استخراج شده از کبد و گلوکز به روش آنزیمی و با استفاده از کیت‌های ساخت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. NEFA و BHBA با استفاده از کیت راندوکس و باروش آنزیمی اندازه‌گیری شدند. در این تحقیق برای اطلاع حاصل نمودن از معنی دار بودن اختلاف مقادیر میانگین متغیرها در روزهای پروار و محرومیت غذایی از آزمون آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری استفاده گردید.

نتایج

همانگونه که در نمودار ۱ نشان داده شده است بر طبق نتایج بدست



دهی مجدد بدون اینکه منجر به کبد چرب شود به سطح عادی برمیگردد. بر اساس مطالعات گذشته در مورد گاوهای گرسنه (۱۶، ۱۸) افزایش نفوذ لیپید به کبد و در نهایت بروز کبد چرب، ناشی از افزایش ورود اسیدهای چرب به کبد و ترشح ناکافی TG از کبد می باشد، به عبارت دیگر سطح TG کبدی تابعی از اسیدهای چرب جذب شده و ترشح شده است. بر این اساس شاید بتوان پایین بودن NEFA سرم و به موازات آن نرمال بودن سطح لیپید کبدی را در مطالعه حاضر به جذب بیشتر اسیدهای چرب توسط کبد و توانایی بیشتر آن برای ترشح TG ربط داد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می دانند که مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران جهت حمایت مالی در انجام این مطالعه اعلام نمایند.

References

1. Annison, E.F. (1960) Plasma non-esterified fatty acids in sheep. *Aust J Agric Res.* 11: 58-64.
2. Bauchart, D. (1992) Lipid Absorption and Transport in Ruminants. *J Dairy Sci.* 75: 3864-3881.
3. Boren, L., Wettsten, M., Sjoberg, A., Thorlin, T., Bondjers, G., Wiklund, O. (1990) The assembly and secretion of ApoB 100 containing lipoproteins in HepG2 cells. Evidence for different sites for protein synthesis and lipoprotein assembly. *J Biol Chem.* 265: 10556-10564.
4. Borghese, A. (2005) Buffalo Production and Research. (2nd ed.) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.
5. Bowden, D.M. (1971) Non-esterified fatty acids and ketone bodies in blood as indicators of nutritional status in ruminants: a review. *Can J Anim Sci.* 51: 1-13.
6. Bradford, P.S. (2009) Large Animal Veterinary Medicine. (4th ed.) Mosby Inc. St. Louis, Missouri, USA.
7. Brumby, P.E., Malcolm, A., Brian, T., Storry, J.E. (1974) Lipid Metabolism in the Cow during Starvation-induced Ketosis. *Biochem J.* 146: 609-615.
8. Fahimuddin, M. (1989) Domestic Water Buffalo. Oxford & IBH Publishing Co. New Delhi, India.

پژوهش حاضر، طی ۸ روز گرسنگی در گاومیش، سطح سرمی BHBA در مقایسه با وضعیت سیری تغییری نکرده است. در توجیه این یافته احتمالات زیادی مطرح است، از جمله این که، افزایش پلاسمایی کتون بادیها در وضعیت گرسنگی در بخشی به دلیل کمبود متابولیت چهار کربنه اگزوالوستات و در نتیجه، ناتوانی چرخه کربس برای دریافت استیل کوآنزیم آ می باشد، بنا بر این پایین بودن سطح سرمی BHBA در این پژوهش می تواند ناشی از این احتمال باشد که گاومیش توانایی تامین اگزوالوستات را برای حفظ فعالیت چرخه کربس نسبت به دیگر نشخوارکنندگان بیشتر دارا می باشد، یا اینکه از متابولیت های چهار کربنه دیگری استفاده می کند و یا حداقل به متابولیت های چهار کربنه به میزان کمتری نسبت به نشخوارکنندگان دیگر احتیاج دارد. نکته دیگر اینکه ممکن است پایین بودن سطح کتون بادی ها ناشی از توانایی زیاد بافتهای خراج کبدی گاومیش در متابولیزه کردن کتون بادی ها به واسطه فعالیت آنزیم های متابولیزه کننده آنها باشد.

افزایش کمتر سطح سرمی NEFA همراه با کاهش کمتر گلوکز سرم در گاومیش در شرایط محرومیت غذایی (پژوهش حاضر) و پس از زایمان (پژوهش قبلی) نسبت به نشخوارکنندگان دیگر اهمیت عمده ای در جلوگیری از افزایش کتون بادیها در گاومیش دارد. در ارتباط با این یافته ها، Soveri و همکاران در یافتند که میزان BHBA سرم در گوساله های گوزن شمالی گرسنه (۰/۴mmol/L) حدود ۰/۱ گاوهای گرسنه (۴mmol/L) می باشد (۱۸). از سوی دیگر Wonswoort و همکاران در سال ۲۰۰۱ در پژوهشی بر روی شتر، گاو و گوسفند به این نتیجه رسیدند که در شرایط گرسنگی در شتر بر خلاف گاو و گوسفند، تغییری در میزان BHBA و گلوکز بوجود نیامده و فقط یک افزایش مختصری در میزان اسیدهای چرب پدید آمده است (۲۰). با توجه به این که بین NEFA سرم و شدت لیپولیز و همچنین بین گلوکز سرم و شدت گلوکونئوز (به خصوص در نشخوارکنندگان) رابطه مستقیمی برقرار است، و با توجه به گزارشهای ذکر شده و نتایج حاصل از پژوهش حاضر، شاید بتوان نتیجه گیری کرد که در نشخوارکنندگانی نظیر گاومیش در شرایط نوسانات شدید دریافت مواد غذایی یک توانایی ذاتی خاص و یک ساز و کار طبیعی باهدف کنترل لیپولیز و گلوکونئوز برای جلوگیری از بروز بیماریهای متابولیکی نظیر کتوز و کبد چرب بوجود آمده باشد. که این می تواند دلالت بر مقاومت ذاتی گاومیش در مقایسه با گاو، در برابر شرایط استرس داشته باشد. به هر حال بر خلاف گزارشات دیگران در مورد تأثیر گرسنگی بر افزایش NEFA در گوسفند (۱۰، ۱۲)، گاو (۱۵) و گوساله های نر (۱۰) گرسنگی نتوانست میزان NEFA را در گاومیش افزایش دهد و در این ارتباط لازم است که مطالعات دقیق تری در مورد شدت تولید و مصرف اسیدهای چرب در این حیوان بهنگام استرس های غذایی صورت پذیرد. نتایج حاصل از استخراج و اندازه گیری TG کبدی در این مطالعه نشان داد اگرچه افزایش مختصری در میزان TG کبدی در دوران گرسنگی نسبت به مرحله قبل بوجود آمد ولی پس از غذا



9. Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, GH. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biochem.* 226: 497-509.
10. Grummer, R.R. (1995) Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci.* 73: 2820 - 2833.
11. Hawkins, G.E., Davis, W.E. (1970) Changes in plasma free fatty acids and triglycerides in dairy cattle after dosing with coffee or caffeine. *J Dairy Sci.* 53: 52-55.
12. Jackson, H.D., Winkiffr, V.W. (1970) Effects of starvation on the fatty acid composition of adipose tissue and plasma lipids of sheep. *J Nutr.* 100: 201-207.
13. Kawashima, T., Sumamal, W., Pholsen, P., Chaithiang, R., Kurihara, M. (2006) Comparative study on energy and nitrogen metabolisms between brahman cattle and swamp buffalo fed with low quality diet, *JARQ.* 40: 183 - 188.
14. Mohamed, T., Oikawa, S. Iwasaki, Y., Mizunuma, Y., Takehana, K., D. Kurosawa, T. (2004) Metabolic profiles and bile acid extraction rate in the liver of cows with fasting-induced hepatic lipidosi. *J Vet Med. A* 51: 113-118.
15. Radloff, H.D., Schultz, L.H., Hoekstra, W.G., (1966) Relationship of plasma free fatty acids to other blood components in ruminants under various physiological conditions. *J Dairy Sci.* 49: 179-182.
16. Reid, I.M., Collins, R.A., Baird, G.D., Roberts, C.J., Symonds, H.W. (1979) Lipid production rates and the pathogenesis of fatty liver in fasted cows. *J Agric Sci Camb.* 93: 253-250.
17. Rule, D.C., Beitz, D.C., Boer, G.De., Lyle, R.R., Trenkle, A.H., Young, J.W. (1985) Changes in hormone and metabolite concentrations in plasma of steers during a prolonged fast. *J Anim Sci.* 61: 868-875.
18. Soveri, T., Sankari, S., Nieminen, M. (1992) Blood chemistry of reindeer (*Rangifer. tarandus*) during winter season. - *Comp Biochem Physiol.* 102A: 191-196.
19. Van den Top, A.M., Van Tol, A., Jansen, H., Geelen, M.J., Beynen A.C. (2005) Fatty liver in dairy cows postpartum is associated with decreased concentration of plasma triacylglycerols and decreased active of lipoprotein lipase in adipocytes (Abstract). *J Dairy Sci.* 72: 129-137.
20. Wensvoort, J., Kyle, D.J., Qorskov, E.R., Burke, D.A. (2001) Biochemical adaptation of camelids during periods where feed is withheld. *Rangifer.* 21: 45-48.



Changes in buffalo serum and hepatic lipid parameters in response to food restriction

Shekarian, M.H.¹, Nouri, M.^{1*}, Haji Hajikolaie, M.R.¹, Shahriari, A.², Mohammadian, B.³, Pourmahdi Borujeni, M.⁴, Ghadiri, A.¹

¹Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran

²Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran

³Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran

⁴Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran

(Received 29 October 2014, Accepted 4 January 2015)

Abstract:

BACKGROUND: Negative energy balance in cow occurs in transitional period, high-yielding dairy cows immediately after calving and feed restriction. In response to energy demand cow mobilizes fatty acids from adipose tissue causing an increase in the circulation of NEFA. Increased blood NEFA is associated with low glucose, high free fatty acids and ketone bodies as well as lipid and lipoprotein disturbances in the blood. Does buffalo follows the same as cow, is not yet cleared. **OBJECTIVES:** The purpose of the present study was to investigate the effects of starvation on some lipid parameters in serum and liver of buffalos in Ahwaz. **METHODS:** Five two-year-old male buffalos with average body weight of 200 kg were fattened with a diet containing alpha, barely, wheat, and maze for 8 weeks and then they were fastened for 8 days. During fasting period the animals had free access to barely and water. After fasting period the buffalos were again fattened for 8 weeks. Blood samples were collected from the coccygeal vein during the first and second fattening period with 20 days intervals and every day in the fasting period. Plasma samples were obtained, stored, and analyzed for glucose, BHBA and NEFA using standard kits. The liver of each buffalo was sampled at the beginning and end of feed restriction period and sent to the laboratory for the measurement of the liver TG content. Analyses of variance were carried out to compare mean values in fed and fasted periods. **RESULTS:** The results of present study revealed that there were no significant differences in plasma NEFA, BHBA and liver TG concentration before and after feed restriction ($p > 0.05$), but there was significant difference in plasma glucose ($p \leq 0.05$). **CONCLUSIONS:** It appears that in the period of food deprivation, buffalos are essentially able to cope with these hard conditions probably through control of lipolysis and gluconeogenesis at the aim of preventing metabolic disorders particularly fatty liver. The results of the present research reveal probably for the first time, this inheritance phenomenon with the emphasis of further research.

Key words: buffalo, food restriction, lipid parameters, liver, serum

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Changes in buffalo's serum parameters (Mean \pm SEM) before, during and after feed restriction.

Figure 2. Changes in buffalo's liver TG (Mean \pm SEM) before, during and after feed restriction.



*Corresponding author's email: m.nouri@scu.ac.ir, Tel: 0611-3921490, Fax: 0611-3360807

J. Vet. Res. 70, 1:73-77, 2015