Archive of SID

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۶۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵

صفحات ۲۶۳-۲۵۳

اثر سطوح مختلف نیاسین در جیره بر بافت شناسی کبد، روده و فعالیت برخی آنزیم های کبدی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

خیری محمدی[۱]، حمید محمدی آذرم[۲]*، امیر پرویز سلاطی[۲]، ابراهیم رجب زاده قطرمی[۲]

۱. کارشناسی ارشد رشته تکثیر و پرورش، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

۲. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۴/۱۵

چکیده

در مطالعه حاضر تغذیه با سطوح مختلف نیاسین به منظور بررسی اثرات آن بر بافت شناسی کبد، روده و فعالیت برخی آنزیم های کبدی سرم ماهی کپور معمولی انجام گرفت. جیره گروه شاهد (جیره تجاری حاوی ۳۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم) و ۴ جیره آزمایشی اسپری شده توسط مقادیر مختلف نیاسین شامل ۵۰، ۷۰، ۹۰، ۱۱۰میلی گرم در کیلوگرم غذا آماده شد. برای این منظور ماهیان با میانگین وزن اولیه ۳۵ گرم در ۱۵ تانک ۳۰۰ لیتری به تعداد ۱۲ عدد در هر تانک به مقدار ۳ بار در روز در حد سیری به مدت ۵۰ روز تغذیه شدند. نتایج نشان داد با افزایش سطح نیاسین میزان فعالیت آنزیم های کبدی شامل آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز دارای کاهشی بدون اختلاف معنی دار بوده است ($P>0/05$). همچنین با افزایش سطوح نیاسین به طور معنی داری طول پرز روده افزایش یافت ($P<0/05$) که بیشترین مقدار آن ۴۰/۹۳ ±۱۲۰۸/۱۰ میکرومتر در تیمار ۹۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا در مقایسه با گروه شاهد۳۴/۴۲ ± ۳۰۸/۹۸ میکرومتر بود. از طرفی ضخامت پرز روده نیز به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0/05$) که کمترین مقدار آن ۱/۰۵±۴۹/۴۹ میکرومتر در تیمار ۹۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا در مقایسه با گروه شاهد ۲/۷۹±۱۱۱/۲۷ میکرومتر بود. بر اساس مطالعات مشاهده ای، مقدار واکوئل های چربی در روده و کبد با استفاده از سطوح مختلف نیاسین کاهش یافت و سلول های کبدی دارای ساختار نرمال بودند. لذا با توجه به نتایج استفاده از نیاسین به مقدار ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا برای ماهی جوان کپور معمولی توصیه می شود.

واژگان کلیدی: نیاسین، بافت شناسی، کبد ، آنزیم ، انتروسیت، کپور معمولی

* نویسنده مسئول مکاتبه تلفن: ۰۹۱۶۵۸۱۰۶۴۲ Email: azarmhamid@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

امروزه نقش تغذیه در سلامت و متابولیسم ماهی به خوبی شناخته شده و بیشترین تلاش برای درک ارتباطات بین سطوح مواد مغذی جیره، هضم و جذب مواد مغذی، رشد و سلامت ماهی پرورشی در آبزی پروری به کار برده شده است (Halver, 2001). نیاسین برای رشد بهینه و سلامت ماهی ضروری است (Ng *et al.*, 1997). نیاسین (ویتامینB_3) یکی از موثرترین ویتامین ها به علت نقش آن در رشد طبیعی و عملکردهای متابولیکی است (Imtiaz, 2010). دو ترکیب اسید نیکوتینیک و نیکوتین آمین تحت عنوان نیاسین در بافتهای گیاهی و جانوری به ترتیب شناخته می شوند. اسید نیکوتینیک و نیکوتین آمید پس از مصرف سریعا به طریقه انتشار از روده کوچک جذب می شود. این ترکیبات بخش اصلی سیستم آنزیمی را تشکیل می دهد که وجود آن برای متابولیسم پروتئین ها، چربیها و کربوهیدراتها ضروری است. در بافتها، اسید نیکوتینیک به شکل فعال نیکوتین آمید در می آید که به نوبه خود قسمت فعال کوآنزیم های نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD) و نیکوتین آمید آدنین دی نوکائوتید فسفات (NADP) را تشکیل می دهد. نیاسین در هیچ عضوی از بدن ذخیره نمی شود اما کوآنزیم های نیاسین به طور گسترده ای در تمامی قسمتهای بدن توزیع می شود. همچنین برای تشکیل پلی و منو ADP-ribose به منظور ترمیم و سنتز DNA مورد نیاز است. نیاسین به طور گسترده در بافت های گیاهی و جانوری وجود دارد اما در بسیاری از مواد گیاهی دارای قابلیت دسترسی محدود برای ماهیان و سخت پوستان است (NRC, 2011). در بدن نیاسین از تریپتوفان ساخته می شود اما سنتز آن بسیار کم بوده و به طور متوسط برای تولید نیاسین ۶۰ میلی گرم تریپتوفان مورد نیاز می باشد (NRC,1989). توانایی ماهیان در این خصوص محدود بوده و لذا برای بدست آوردن حداکثر رشد و جلوگیری از اختلالات متابولیکی باید مکمل نیاسین به جیره غذایی آن اضافه گردد(Halver, 2002; Mousavi *et al.*, 2007).

آنزیم های سرمی در حالت طبیعی در غشای سلولی، میتوکندری ها و سیتوپلاسم سلول های بافت‌های بدن فعالیت می کنند و در سرم خون به مقدار ناچیزی وجود دارند. هنگامی که سلول دچار آشفتگی شود، آنزیم ها به مایعات بین بافت و از آنجا به سرم خون و مایع مغزی- نخاعی وارد می شوند و باعث افزایش فعالیت این آنزیم ها در سرم می شوند (Shahsavani *et al.*, 2007). همچنین از طرفی مطالعات دستگاه گوارش و ترشحات آن در ماهیان می تواند جنبه های مشخصی از فیزیولوژی تغذیه را روشن نموده و به حل مشکلات تغذیه ای و همچنین متعادل سازی جیره غذایی با قابلیت های تغذیه ای برای هر گونه خاص از ماهی ها، کمک نماید. برخی محققین معتقدند که امکان پیش بینی توانایی هر گونه از ماهی ها برای استفاده از مواد مغذی مناسب و مختلف از طریق بررسی وضعیت ساختاری دستگاه گوارش وجود دارد. یکی از مشکلات اساسی که در پرورش آبزیان مطرح بوده و بایستی راه حل های آن بررسی و یافت شود، مسئله تغذیه ای آن ها می باشد که این امر با شناخت ویژگی های گونه ای دستگاه گوارش آبزیان میسر است (Furne *et al.*, 2001; Domezain *et al.*, 2005). لذا تاکنون در خصوص اثر سطوح مختلف نیاسین جیره بر بافت شناسی کبد، روده و برخی آنزیم های سرم خونی این گونه مطالعه ای صورت نگرفته است. همچنین ماهی کپور معمولی به دلیل رشد سریع، هزینه های پایین غذا، امکان تکثیر مصنوعی و نگهداری به صورت متراکم و دارا بودن مقاومت در مقابل عوامل فیزیکی و شیمیایی آب از جمله ماهیان مهم و در زمره ۳ گونه مهم پرورشی جهان قرار دارد (Tokur *et al.*, 2006; FAO, 2008). افزایش پرورش ماهی کپور معمولی می تواند یک بخش تعیین کننده در تلاش جهت تولید پروتئین حاصل از آبزی پروری در امنیت غذایی جهان باشد (Liao and Chao, 2009). تولیدات آبزی پروری در سال ۲۰۱۲ بالغ بر ۳۸/۳ میلیون تن (۶۶,۳٪) بوده است که از این مقدار ۳/۷۹میلیون تن متعلق به گونه کپور معمولی می باشد (FAO, 2014). بنابراین در این تحقیق سعی شده است تا به تاثیر جیره های غذایی متفاوت از نظر مقادیر مختلف نیاسین بر بافت شناسی کبد و روده و برخی آنزیم های سرم خونی کپور معمولی پرداخته شود.

www.SID.ir

Archive of SID

۲. مواد و روشها

این تحقیق در آزمایشگاه خیس دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام گردید. تعداد ۱۸۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی ۳۵ گرم از مرکز پرورش ماهی آزادگان واقع در حومه شهرستان اهواز خریداری گردید و به طور تصادفی با تراکم ۱۲ عدد ماهی در هر تانک ۳۰۰ لیتری جمعا در ۱۵ تانک ذخیره سازی گردیدند. تانکها در فضای سرپوشیده و کنترل شده که مجهز به سیستم هوادهی بود قرار گرفته بودند. فاکتورهای فیزیک و شیمیایی آب مانند دما و شوری در تمام طول دوره ثبت شدند که میانگین دما به طور متوسط ۳۰ درجه سانتی گراد و شوری ppt ۱/۵ ثبت گردید. تیمارها به مدت ۲ هفته با غذای تجاری شرکت ۲۱ بیضا برای سازگاری تغذیه شدند. در طول دوره، تغذیه ماهیان ۳ بار در روز در ساعت های ۸ صبح و ۱۳ و ۱۷ بعد از ظهر تا حد سیری تغذیه شدند. در این مطالعه برای تغذیه ماهیان کپور معمولی از ۵ جیره غذایی شامل جیره تجاری شرکت ۲۱ بیضا حاوی ۳۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا (به عنوان گروه شاهد) و سایر جیره های آزمایشی با اسپری کردن مقادیر۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم جیره تجاری بیضا، جهت بدست آوردن مقادیر نهایی ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۱۱۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا استفاده شد (جدول۱و۲).

جدول ۱. تعداد تیمارها و سطوح مختلف نیاسین در جیره

تیمار	جیره غذایی
تیمار (۳۰)	غذای کنسانتره به عنوان تیمار شاهد+ ۱۰۰ccآب
تیمار (۵۰)	غذای کنسانتره + ۱۰۰ccآب + ۲۰mg/kg نیاسین
تیمار (۷۰)	غذای کنسانتره + ۱۰۰ccآب + ۴۰mg/kg نیاسین
تیمار (۹۰)	غذای کنسانتره + ۱۰۰ccآب + ۶۰mg/kg نیاسین
تیمار (۱۱۰)	غذای کنسانتره + ۱۰۰ccآب + ۸۰mg/kg نیاسین

جدول۲. آنالیز بیوشیمیای ترکیب جیره پایه مورد استفاده

مواد مغذی	درصد
رطوبت	۱۰
پروتئین خام	۳۲-۳۸
انرژی قابل هضم(kcal/kg)	۳۶۰۰-۳۸۰۰
فیبر خام	۵/۵
چربی	۵-۸
خاکستر	۱۲
TVN(mg/100g)	۵۰
لیزین	۱/۶-۱/۸
متیونین	۰/۴۲-۰/۴۸
ترئونین	۱/۰۵-۱/۲۵

بر اساس کاتالوگ محصول شرکت ۲۱ بیضا

www.SID.ir

Archive of SID

۱.۲. سنجش آنزیم های کبدی

یک روز قبل از نمونه برداری، به جهت کاهش استرس غذادهی قطع شد. سپس ماهیان با محلول ۲٪، ۲ فنوکسی اتانول بیهوش و خونگیری از ماهیان به وسیله سرنگ ۵/۲ سی سی از طریق ورید ساقه دمی انجام شد بخشی از نمونه های خون در میکروتیوپ های موجود ریخته شد و نهایتا در سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه برای جداسازی سرم از خون قرار داده شدند و سپس سرم به وسیله سر سمپلر از خون جدا شد (Acerete etal., 2004) و نمونه ها تا زمان انجام آزمایشات بعدی به فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پارامترهای بیوشیمیایی مورد مطالعه آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST،ALT) به وسیله دستگاه اتوآنالیز Mindery (BS-200,china) با استفاده از کیت های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون ساخت ایران به روش رنگ سنجی انجام گرفت.

۲.۲. بافت شناسی کبد و روده

جهت نمونه برداری از هر تانک تعداد ۴ عدد ماهی برداشته شد. سپس محوطه شکمی ماهی شکافته شده و بافت های روده و کبد ماهی برداشته شده و به منظور تثبیت به درون محلول ۱۰ درصد فرمالین انتقال یافت. پس از فیکس کامل نمونه ها، به منظور انجام مراحل تهیه مقاطع بافتی شامل آبگیری، شفاف سازی و آغشتگی با پارافین، نمونه ها به دستگاه هیستوکنیت انتقال داده شدند. پس از انجام این مراحل، از نمونه ها قالب های پارافینی تهیه گردید. سپس از هر نمونه برش هایی با ضخامت ۵-۳ میکرومتر توسط میکروتوم دوار تهیه شد. برشها بر روی لام قرار گرفته و به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی و در زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه بافت شناسی قرار گرفتند.

۳.۲. آنالیز آماری

آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPPS نسخه ۱۶ انجام شد. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد (Mean ± SE) بیان شده است. نرمال بودن داده ها به وسیله آزمون شاپیرو-ویلک (Shapiro-wilk) مورد بررسی قرار گرفت. شاخص‌های آنزیم های کبدی سرم و طول و ضخامت پرز براساس آزمون واریانس یک طرفه ارزیابی شد و درصورت معنی دار بودن توسط پس‌آزمون دانکن(Duncans)، جهت مقایسه میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت ($P< 0.05$).

۳. نتایج

۱.۳. فعالیت آنزیم های کبدی

اندازه گیری فعالیت آنزیم های کبدی سرم خونی ماهی کپور معمولی نشان داد که میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز در سرم خون ماهیان با افزایش سطح نیاسین جیره غذایی در طی مدت آزمایش یک روند کاهشی داشته است اما اختلاف معنی داری در بین تیمارها مشاهده نشد ($P >$ ۰/۰۵، جدول ۳).

جدول۳. تغییرات فعالیت آنزیم های کبدی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف نیاسین(میانگین ± خطای استاندارد)

	تیمارها				
شاخص ها	شاهد	تیمار۵۰	تیمار۷۰	تیمار۹۰	تیمار۱۱۰
آلانین آمینو ترانسفراز[1]	۱۰۴/۷۵±۱۵/۲۷n.s	۹۷/۲۵±۴/۶۰	۹۴/۲۵±۳/۴۲	۹۳/۵۰±۱۰/۵۵	۱۰۱/۷۵±۹/۳۶
آسپارتات آمینو ترانسفراز[1]	۱۴۱/۰۰±۲۶/۱۰n.s	۱۳۴/۷۵±۲۵/۹۷	۱۳۲/۰۰±۱۷/۱۴	۱۳۱/۵۰±۲۴/۱۸	۱۳۳/۵۰±۱۲/۵۰

[1] واحد سنجش (U/mg protein)

www.SID.ir

Archive of SID

۲.۳. نتایج هیستومتری در روده

طی اندازه گیری طول و ضخامت قاعده پرز روده در تیمارهای مختلف (جدول ۲)، مشاهده شد که با افزایش سطح نیاسین تا ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا طول پرز روده روند افزایشی داشته و در تیمار ۱۱۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا کاهش یافت که از لحاظ آماری با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی داری بودند ($P < ۰/۰۵$). از طرفی استفاده از سطوح بالای نیاسین تا مقدار ۱۱۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا در مقایسه با تیمار شاهد (۳۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم جیره) باعث کاهش معنی دار ضخامت پرز روده شد که در این بین تیمار ۹۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا به طور معنی داری کمترین ضخامت پرز روده را در بین سایر تیمارها داشت ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۴. مقایسه طول و ضخامت پرز روده در جیره های غذایی مختلف (میانگین ± خطای استاندارد)

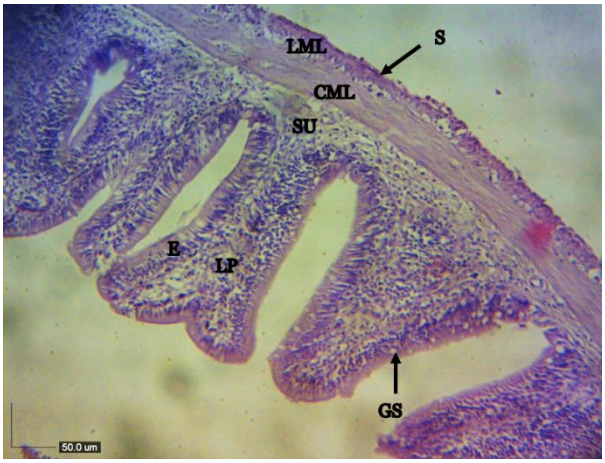
شاخص ها	تیمارها				
	شاهد	تیمار۵۰	تیمار۷۰	تیمار۹۰	تیمار۱۱۰
طول پرز روده[۱]	^{a}۳۰۸/۹۸±۳۲/۴۲	^{b}۴۲۹/۴۱±۶/۱۹	^{c}۵۹۴/۵۴±۳۳/۹۰	^{e}۱۲۰۸/۱۰±۴۰/۹۳	^{d}۱۰۰۱/۹۰±۳۸/۷۱
ضخامت پرز روده[۱]	^{d}۱۱۱/۲۷±۲/۷۹	^{c}۸۰/۹۱±۴/۴۷	^{b}۶۵/۲۵±۲/۰۵	^{a}۴۹/۴۹±۱/۰۵	^{b}۶۷/۳۱±۳/۱۱

* حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار بین گروه ها آزمایشی می باشد ($P < ۰/۰۵$) (میانگین±خطای استاندارد)

[۱] واحد سنجش (میکرومتر)

۳.۳. مطالعات بافت شناسی روده

مطالعات بافت شناسی روده در سه قسمت جلویی و میانی و انتهایی نشان داد که سازماندهی پایه ای دیواره روده این ماهی در هر سه قسمت ساختمان مشابهی داشت و از طبقه مخاطی، طبقه زیرمخاطی، طبقه عضلانی و سروز تشکیل شده بود. پوشش مخاطی از یک لایه سلول استوانه ای به نام سلول های جذبی یا انتروسیت ها تشکیل شده که لبه مسواکی را ایجاد کرده اند و سلول های گابلت یا جامی شکل در میان اپی تلیوم پراکنده شده اند. (شکل ۱).



شکل ۱. تصویر میکروسکوپی از روده، S : طبقه سروزی، LML : طبقه عضلانی طولی ، CML : طبقه عضلانی حلقوی ، SU : طبقه زیر مخاطی، E : اپی تلیوم، LP : لامینا پروپریا و GS سلولهای جامی را نشان می دهد. H&E، مقیاس ۵۰ میکرومتر.

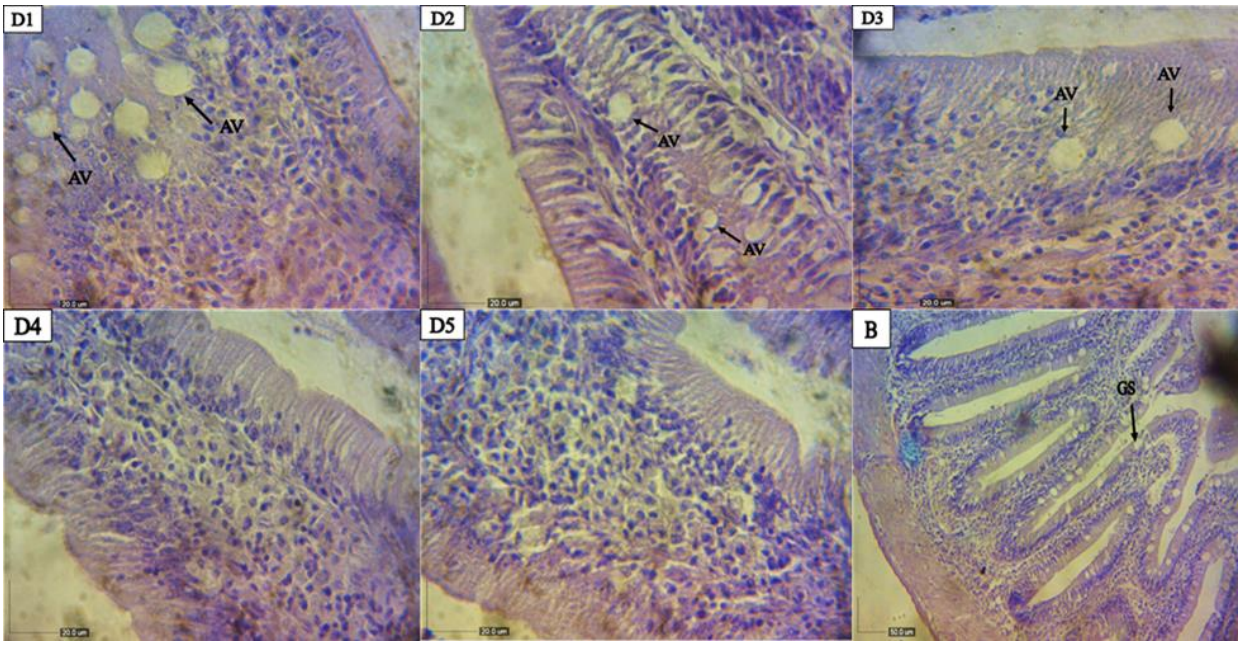
۴.۳. مطالعه مشاهداتی تغییرات ساختار بافتی روده

بر اساس مطالعات مشاهده ای (شکل ۲) واکوئل های جذبی(لیپیدی) درون سلولهای روده ای ماهیانی که با جیره های غذایی حاوی مقادیر مختلف نیاسین تغذیه شدند با افزایش مقدار نیاسین کاهش یافت و بهترین وضعیت، در ماهیان تغذیه شده با

www.SID.ir

Archive of SID

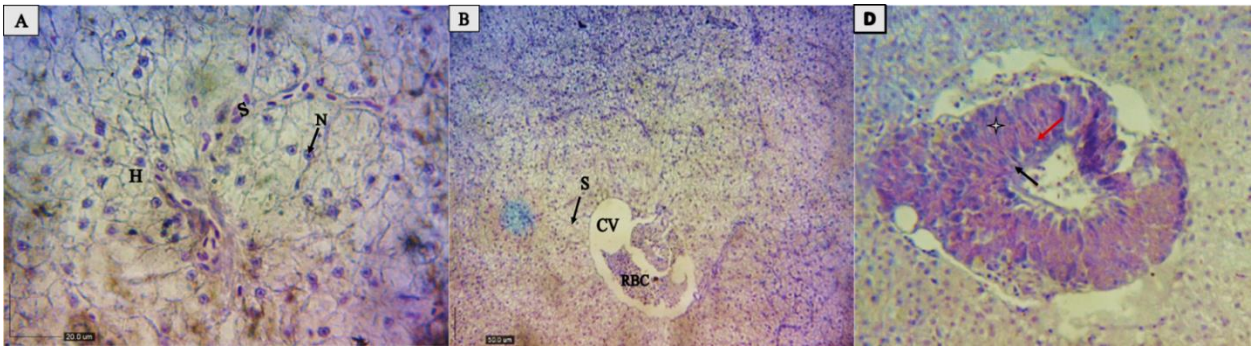
مقدار ۹۰ و ۱۱۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا مشاهده شد. همچنین در برخی از این دو تیمار افزایش تعداد سلول های جامی مشاهده شد.



شکل ۲. تصویر میکروسکوپ نوری از روده ماهی کپور معمولی (H&E): در شکل D1 (۳۰) , D2 (۵۰), D3 (۷۰), D4 (۹۰), D5 (۱۱۰)، AV نشان دهنده واکوئل جذبی (واکوئل لیپیدی) می باشد. در مقیاس ۲۰ میکرومتر. شکل B نشان دهنده بالاترین طول پرز و تعداد سلولهای جامی در تیمار ۹۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا می باشد. در مقیاس ۵۰ میکرومتر.

۵.۳. مطالعات بافت شناسی کبد

سلول های پارانشیم کبدی یا هپاتوسیت فضای سینوزئیدی را احاطه کرده اند و طناب های کبدی را ایجاد کرده اند. هپاتوسیت ها دارای اشکال چند ضلعی هستند و هسته ها گرد و در مرکز هپاتوسیت وجود دارند و هستک ها در مرکز هسته هستند(شکل ۳، A). سینوزئیدها که برخی حاوی گلبول های قرمز هستند به سیاهرگ مرکزی هر لوبول کبدی تخلیه می شوند(شکل ۳، B). همچنین پانکراس به صورت منتشر و به همراه عروق خونی به درون بافت کبد نفوذ کرده است(شکل ۳،D).



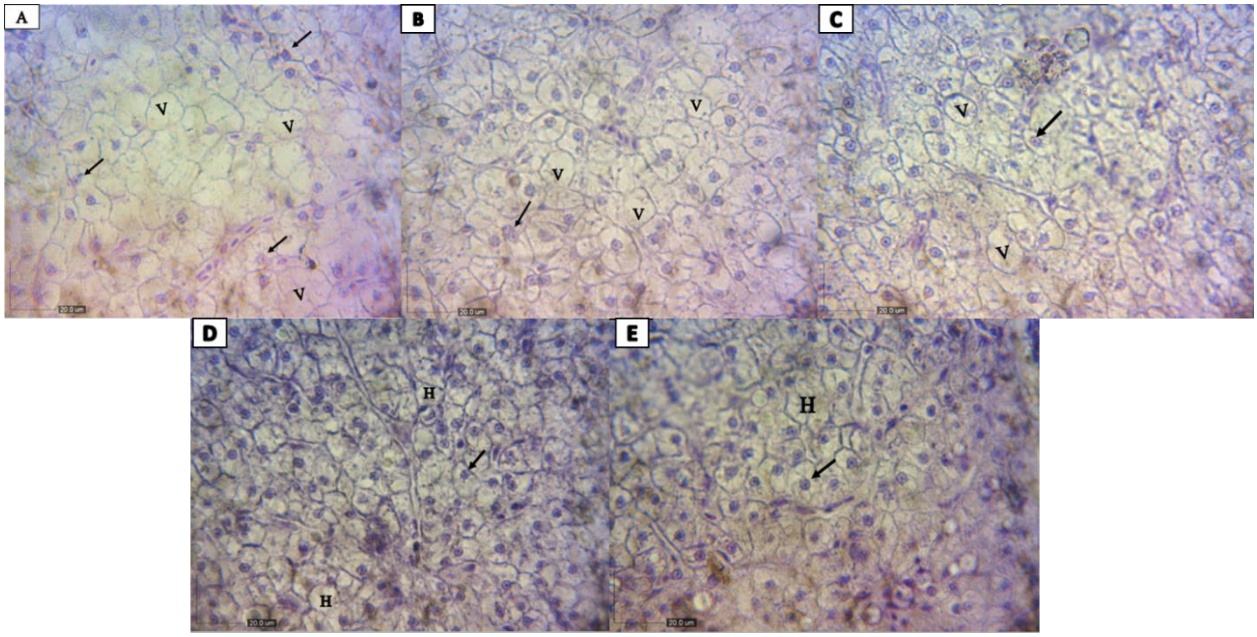
شکل ۳. تصویر میکروسکوپ نوری از کبد ماهی کپور معمولی (H&E). در شکل A: هپاتوسیت ها، S سینوزئیدها و N هسته هپاتوسیتها. شکل B: CV مجرای مرکزی و پیکان سیاه سینوزئید را که به مجرای مرکزی می ریزد (S) و RBC گلبول های قرمز را نشان می دهد. شکل D در این شکل بخش برون ریز پانکراس را نشان می دهد، که ستاره بخش راسی سلول های ترشحی ، پیکان سیاه بخش قاعده ایی سلول های برون ریز و پیکان قرمز هسته سلول سروزی پانکراس را نشان می دهد. شکل A در مقیاس ۲۰ میکرومتر وشکلB, D در مقیاس ۵۰میکرومتر.

www.SID.ir

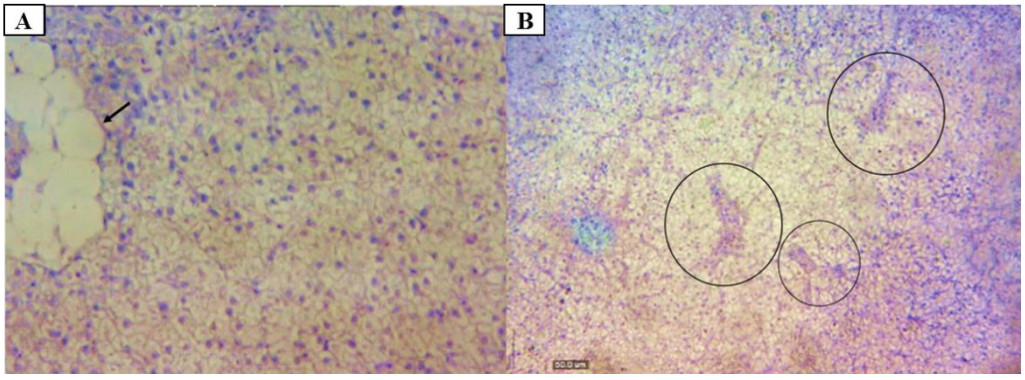
Archive of SID

۶.۳. تغییرات بافت شناسی کبد

بر اساس مطالعات مشاهده ای درکبد ماهیان تغذیه شده در تیمار ۳۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا تعداد بسیاری واکوئل در هپاتوسیت ها مشاهده شد و تعدادی از هسته ها به اطراف سلول‌های هپاتوسیت انتقال یافته بودند و برخی هم در مرکز بودند (شکل A،۴). همچنین در تیمار ۵۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا تعدادی واکوئل در هپاتوسیت‌ها مشاهده، اما از تعداد آنها کاسته شد و تعداد بیشتری از هسته ها در مرکز هپاتوسیت وجود داشتند (شکل ۴ ،B). در تیمار ۷۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا تعداد واکوئل ها کمتر شد (شکل ۴ ،C). در تیمارهای ۹۰ و ۱۱۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا هپاتوسیت ها بهترین وضعیت را داشتند و تقریبا فاقد واکوئل بودند که این وضعیت در تیمار ۹۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا بهتر بوده (شکل۴ D) اما در تیمار ۱۱۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا کبد برخی از ماهیان چرب شده بود (شکل ۴،E). با افزایش مقدار نیاسین اختلاف در اندازه ی سلول های هپاتوسیت به حداقل رسید. همچنین در در تیمارهای ۹۰ و ۱۱۰ میلی‌گرم نیاسین در کیلوگرم غذا اتساع سینوزئیدها مشاهده شد. یکی از موارد پاتولوژی در تیمارهای ۳۰ و ۵۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا، احتقان رگ های خونی و پرخونی شدید بود (شکل ۵).



شکل ۴. تصویر میکروسکوپ نوری از تغییرات بافتی کبد ماهی کپور معمولی (H&E): در شکل A (۳۰)، B (۵۰)، C (۷۰)، D (۹۰)، E (۱۱۰)، V واکوئل ها و H هپاتوسیت و پیکان سیاه هسته هپاتوسیت. در مقیاس ۲۰ میکرومتر.



شکل ۵. تصویر میکروسکوپ نوری از تغییرات بافتی کبد ماهی کپور معمولی (H&E). شکل A تیمار ۱۱۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا، پیکان سیاه چرب شدن کبد را نشان می دهد. شکل B تیمار ۳۰میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا، دایره نشان دهنده پرخونی کبد است. در مقیاس ۵۰ میکرومتر.

www.SID.ir

Archive of SID

۴. بحث و نتیجه گیری

در ماهیان مورد مطالعه میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی موجود در سرم با افزایش سطح نیاسین جیره روند کاهشی و غیر معنی داری داشت که نشان دهنده کارکرد طبیعی کبد و چرخه ی کربس در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف نیاسین می‌باشد. نیاسین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده که می‌تواند سبب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول‌ها با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی (Yousef *et al.*, 2009) و افزایش پایداری غشای سلول ها گردد. به این ترتیب از نشت آنزیم ها ی درون سلول به داخل خون جلوگیری می کند (Soltan *et al.*, 2008 ; Sadighara *et al.* 2012). همچنین اثر دارویی نیاسین توسط محققین مختلفی مانند Knopp و همکاران (1998) بر بیماران هیپرلیپیدمی، Reimund و همکاران (1994) و Henkin و همکاران (1990) بر بیماران دیابتی و Shahbazian و همکاران(2011) بر بیماران همودیالیزی مورد بررسی قرار گرفت که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

از طرفی دستگاه گوارش به واسطه اهمیت آن در هضم و جذب مواد غذایی در مطالعات تغذیه ای حائز اهمیت است (Sheibani, 1996). در ماهی، روده نقش مهمی در حفظ هموستاز ایمنی (Lokesh *et al.*, 2012)، هضم و جذب مواد مغذی را بر عهده دارد (Deng *et al.*, 2010). در مطالعه حاضر، بررسی هیستومتریک قاعده پرزهای قسمت ابتدایی و انتهایی روده نشان دادکه با افزایش سطح نیاسین ارتفاع پرزها افزایش و ضخامت پرزها کاهش می یابد. طویل شدن پرزها در روده نشان دهنده این است که پرزهای روده از نظر عملکردی فعال می‌باشند (Yasar, 1999). ارتفاع پرزها تحت تاثیر نوع غذا و هضم پذیری قرار دارند (Mekbungwan *et al.*,2004). نوکلئوتیدها در ساختار بسیاری از کوآنزیم ها از جمله نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD) که در بسیاری از مسیرهای متابولیکی نقش دارند، شرکت دارند که از جمله مزایای آن شامل افزایش سطح جذب در روده (Li and Gatlin, 2006) و افزایش ارتفاع پرزهای روده، اثرات مثبت بر سلامت روده (Burrells *et al.*, 2001) و بهبود میکروفلور مخاط روده (Gil, 2002) می باشد که با مطالعه ای که توسط Johnstox و Weitz در سال 1952 بر موش صحرایی انجام گرفت، مطابقت دارد. همچنین در مطالعه حاضر بر اساس مطالعات مشاهده ای در ماهیان تغذیه شده با مقادیر ۳۰ تا ۷۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا، واکوئل های لیپیدی در روده مشاهده شد. تجمع اضافی واکوئل لیپیدی در انتروسیت ها، می تواند ناشی از نامتعادل بودن جذب لیپیدها و سنتز لیپوپروتئین ها در نتیجه تغییر در عملکرد انتروسیت‌ها باشد (Olsen et al ., 2000) از طرفی می تواند بیانگر مقادیر ناکافی ویتامین ها مانند نیاسین و سایر مواد موثره در جیره غذایی باشد (Moon *et al.*, 1985). محققان نشان دادند که نیاسین بر متابولیسم چربی خون تاثیر دارد و می‌تواند محتوای چربی خون را کاهش دهد (Zak *et al.*, 2006). در واقع نیاسین به متابولیسم چربی کمک می کند و در نتیجه مانع از تجمع قطرات چربی می‌شود، بدین صورت که باعث مهار شدن بخشی از آزاد شدن اسیدهای چرب آزاد از بافت چربی و افزایش فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز می شود که ممکن است میزان حذف کیلومیکرون لیپیدهای پلاسما را افزایش دهد که با نتایج مطالعه ای که توسط Gries و Scott درسال 1972 بر جوجه گوشتی انجام گرفت مطابقت دارد. همچنین بر اساس مطالعات مشاهده ای، تیمار ۹۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذا دارای تعداد زیادی سلول های جامی بود که این سلولها موسین و اسید گلیکوپروتئین ترشح می کنند که مخاط را نرم و روان می کند و عمل حفاظتی و ایمنی و روغن مالی روده را بر عهده دارد (Rojhan, 2005). به نظر می رسد افزایش ویسکوزیته موجب ماندگاری بیشتر مواد در روده باریک می شود و بر جذب مواد تاثیر می گذارد و با توجه به اینکه نیاسین ایمنی مخاط روده را افزایش می دهد، سیتم ایمنی را تقویت می کند.

کبد به عنوان یک شاخص مناسب آسیب شناسی تغذیه با توجه به عملکرد آن در متابولیسم مواد مغذی محسوب می شود. لذا تغییرات بافتی در کبد ناشی از اثر گذاری مواد غذایی به راحتی قابل

www.SID.ir

Archive of SID

تشخیص است (Tacon , 1992). در تحقیق حاضر واکوئله شدن در سلولهای کبدی ماهیان جوان کپور معمولی با شدت متفاوتی رخ داده به طوری که در کبد ماهیان تغذیه شده با جیره های حاوی سطوح پایین تر نیاسین، واکوئله شدن به وضوح و با شدت بیشتری مشاهده شد. همچنین هسته برخی از هپاتوسیت ها به گوشه سلول انتقال یافته بود و در واقع هپاتوسیت ها به شکل هسته کناری مشاهده شدند که البته این جا به جایی هسته ها به دلیل رشد چربی در سلول های هپاتوسیت می باشد. همان طور که در قسمت بافت شناسی روده ذکر شد نیاسین نقش چربی سوزی دارد و باعث متابولیسم چربی می‌شود. با این حال مقدار بالای نیاسین باعث چرب شدن کبد می شود. در کبد چرب، چربی انباشته شده عمدتا ناشی از عدم تعادل بین ساخت و میزان استفاده از چربی در کبد است. نیاسین از طریق مهار $DGAT_2$ کبدی (آنزیم درگیر در سنتز چربی) باعث کاهش تجمع چربی در کبد می شود و از استئوز کبدی جلوگیری می کند. همچنین نیاسین از طریق مهار تجزیه چربی در بافت چربی، کاهش حمل و نقل اسیدهای چرب آزاد به کبد و کاهش تولید VLDL از تجمع قطرات چربی در کبد جلوگیری می کند. از طرفی تغییرات بافتی کبد مانند وجود واکوئل ها، پرخونی و غیره می تواند نشان دهنده ی کاهش عملکرد متابولیکی و سوخت وسازی سلول ها باشد و واضح است کمبود نیاسین با توجه به نقش سوخت و سازی آن باعث این اتفاق می افتد. لذا درمان با نیاسین باعث از بین بردن واکوئل ها و در نتیجه بازسازی سلول های کبدی می شود و اختلاف اندازه در سلول ها را کاهش می دهد. همچنین دیواره سینوزئیدی کبد دارای نقش بیولوژیکی تعادل مواد بین خون و سلول های پارانشیمی چند ضلعی کبد است (Aterman., 1958) که به نظر می رسد نیاسین می تواند باعث عملکرد بهتر سینوزئیدها برای خون رسانی به سلول های کبدی از طریق اتساع سینوزئیدها شود که با نتایج مطالعات Poston و همکاران (1969) بر قزل آلای انگشت قد، Bolkent و همکاران(2004) بر موش صحرایی هیپرلیپیدمی، Safaei و همکاران (2011) بر موش صحرایی و Ganji و همکارن (2013) بر روی بیماران دارای عارضه کبد چرب مطابقت دارد.

بنابراین با توجه به مطالعات بافت شناسی صورت گرفته به جهت بهبود شرایط فیزیولوژیک و در نتیجه افزایش رشد در ماهیان جوان کپور معمولی، استفاده از ۹۰ میلی گرم نیاسین در کیلوگرم غذای کنسانتره توصیه می گردد.

۵. تقدیر و تشکر

در این قسمت از مسئولین محترم دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به لحاظ حمایت مالی این پروژه در غالب پایان نامه کارشناسی ارشد قدردانی می گردد.

References

Acerete, L., Balasch, J.,Espinosa, E., Josa, A., Tort, L., 2004. Physiological responses in eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture* 237, 167-178.

Aterman, K.,1958. Some observation on the sinusoidal cells of the liver. *Acta Anatomica* 32, 193-213.

Bolkent, S., Yanardag, R., Bolkent,S., Doger,M.M., 2004. Beneficial effects of combined treatment with niacin and chromium on the liver of hyperlipemic rats. *Biological Trace Element Research* 101, 219-229.

Burrells, C., William, P.D., Southage, P.J., Wadsworth, S.L., 2001. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rate and physiology of Atlantic salmon. *Aquaculture* 199, 171 - 184.

Deng, J., Mai, K. , Ai, Q., Zhang, W., Tan, B., Xu, W., 2010.Alternative protein sources in diets for Japanese flounder Paralichthys olivaceus (Temminck and Schlegel): II. Effects on nutrient digestibility and digestive enzyme activity. *Aquaculture Research* 41 ,861-870.

Domezain A., Domezaine J., Sanz A., 2005. Digestive enzyme activities in adriatic sturgeon acipenser naccarii and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture* 250, 391- 398.

FAO, 2010. FAO year books, fishery and aquaculture statistics. http://www.fao.org.

FAO, 2014. The State of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

www.SID.ir

Archive of SID

Furne M., Hidalgo M.C., Lopez A., Garcia- Gallego M., Morales A.E., Kolkovski S., 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles. implications and applications to formulated diets. *Aquaculture* 200, 181– 201.

Ganji, S.H., Kukes, G.D., Lambrecht, N., Kashyap, M.L., Kamanna, V.S., 2013. Therapeutic role of niacin in the prevention and regression of hepatic steatosis in rat model of nonalcoholic fatty liver disease. *Americal Journal Physiology Gastrointestinal Liver Physiology* 306, 320–327.

Gil, A., 2002. Modulation of immune response mediated by dietary nucleotides. The *European Journal of Clinical Nutrition* 56(3), S1-S4.

Gries, C.L., Scott, M.L., 1972. The Pathology of thiamin, riboflavin, pantothenic acid and niacin deficiencies in the chick. *Journal of Nutrition* 102, 1269-1286.

Halver, J.E., 2001. My 50 years in fish nutrition, 1949–99. *Aquaculture Research* 32, 615–622.

Halver, J.E., 2002. The vitamins. In: Halver JE, Hardy RW (eds) Fish nutrition, 3rd ed. Academic Press, San Diego, CA, pp. 61–141.

Henkin, Y., Johnson, K.C., Segrest, J.P.,1990. Re challenge with crystalline niacin after drug-induced hepatitis from sustained-release niacin. *The journal of American Medical Association* 264, 241-243.

Imtiaz, A., 2010. Effect of dietary niacin on growth and body composition of two Indian major carps rohu, *Labeo rohita*, and mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton), fingerlings based on dose–response study. *Aquaculture International* 19, 567–584.

Johnstox, P.M., Weitz, E, M., 1952. The effect of niacin deficiency on the appearance of the Golgi apparatus in the columnar absorbing cells of the duodenum of the albino rat. *Journal of Morphology* 91(1), 79-109.

Knopp, R.H., Alagona, P., Davidson,M., Goldberg,A.C., Kafonek,S.D., Kashyap, M., Sprecher, D., Superko, H.R., Jenkins, S., Marcovina, S., 1988. Equivalent efficacy of a time-release form of niacin (Niaspan) given once-a-night versus plain niacin in the management of hyperlipidemia. *Metabolism* 47(9), 1097-1104.

Li, P., Gatlin III, D. M., 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. *Aquaculture* 251, 141– 152.

Liao, I.C., N.H. Chao., 2009. Aquaculture and food crisis: opportunities and constraints. Asia *Pacific Journal of Clinical Nutrition* 18, 564-569.

Lokesh, J., Fernandes, J.M., Korsnes, K., Bergh, O., Brinchmann, M.F., Kiron, V., 2012. Transcriptional regulation of cytokines in the intestine of atlantic cod fed yeast derived mannan oligosaccharide or b-glucan and challenged with *Vibrio anguillarum*, Fish *Shellfish Immunology* 33 ,626-631.

Mekbungwan ,A., Yamauchi, K., 2004. Growth performance and histological intestinal alterations in piglets fed diet raw and heated pigeon pea seed meal. *Histology and Histopathology* 19(2), 381-389.

Moon, T.W., Walsh, P.J., Mommsen, T.P., 1985.Fish hepatocytes: a model metabolic system. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42, 1772-1782.

Mousavi, H., 2007. Principles of feeding fish (warm water, cold water, shrimp, caviar, ornamental), Sanam Press, Tehran, 482 p. (in Persian)

National Research Council (NRC), 1989. Recommended dietary allowances, 10th ed . Washington 88 D.C.: National Academy Press.

National Research Council (NRC), 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies Press, Washington, D. C., 57–95p.

Ng, W-K., Serrini, G., Zhang, Z., Wilson, R.P.,1997. Niacin requirement and inability of tryptophan toact as a precursor of NAD+ in channelcatfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 152, 273-282.

Olsen, R.E., Myklebust, R., Ring O, E., Mayhew, T.M., 2000.The influence of dietary linseed oil and saturated fatty acids on caecal enterocytes in artic char (*Salvelinus alpinus* L): a quantitative ultra structural study. Fish *Physiology and Biochemistry* 22, 207-216.

Poston, H.A., Livingston, D.L. (eds)., 1969. Effects of massive doses of dietary E on fingerling brook trout. In: Fisheries Research Bulletin. State of New York Conservation Department, Albany, NY. 33, 6–12.

Reimund, E., Ramos, A., 1994. Niacin- induced hepatitis and thrombocytopenia after 10 years of niacin use. *Journal of Clinical Gastroenterology* 18, 270-271.

Rojhan, M.S., 2005, basic human histology or tissue for medical studies, Cher Press, Tehran, 576 p. (in Persian)

Sadighara, P., Gharibi, S., Moghadam Jafari, A., Jahed Khaniki, G.R., Salari, S., 2012. The antioxdant and flavonoids contents of *Althaea officinalis* L. flowers based on their color. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 2(3), 113-117.

Safaei, N., Shomali, T., Taherianfard, M., 2011. Niacin ameliorates lipid disturbances due to glucocorticoid administration in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 15, 997-1002.

Soltan, M.A., Hanafy, M.A., Wafa, M.I.A., 2008. Effect of replacing fish meal by a mixture of

www.SID.ir

Archive of SID

different plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. *Global Veterinaria* 2, 157-164.

Shahbazian, H., Mohtashami, A.Z., Ghorbani, A., Abbaspour, M.R., Belladi Musavi, S.S., Hayati, F., Lashkarara, G.R., 2011. Oral nicotin amide reduces serum phosphorus, increases HDL, and induces thrombocytopenia in hemodialysis patients: a double-blind randomized clinical trial. *Nefrologia* 31(1), 58-65.

Shahsavani, D., Mohri, M., Taghvaeimoghadam, E., 2007. Determination of concentration of some blood serum enzymes of *Huso huso*. Journal of Veterinary Research 62(3), 130-127 (in Persian).

Sheibani, M. T., 1996. Check the microscopic gastrointestinal tract of Persian sturgeon (A. persicus). PhD thesis. Veterinary faculty. Ferdowsi University of Mashhad, VE VET 492 (in Persian).

Tacon, A.G.J., 1992. Nutritional fish pathology: morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. No 330, 75 p.

Tokur, B., Ozkutuk, S., Atici, E., Ozyurt, G., Ozyurt, C. E., 2006. Chemical and sensory quality changesof fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio*), during frozen storage (-18 °C). *Food Chemictry* 99,335- 341.

Yasar, S., J.M. Forbes.,1999. Performance and gastrointestinal response of broiler chicks fed on cereal gain-based foods soaked in water. *British Poultry Science* 40,65-76.

Yousef, M.I., Saad, A.A., El-Shennawy, L.K., 2009. Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. Food and *Chemical Toxicology* 47, 1176-83.

Zak, A., M. Zeman, M. Vecka., E. Tvrzicka., 2006. Nicotinic acid: an unjustly neglected remedy. *Casopis ceskeho lekarnictva* 145,825–831.

www.SID.ir