مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال یازدهم، شماره اول، پیاپی چهل و یکم، تابستان ۱۴۰۱ (۵۴-۴۵)

DOI: 10.30473/eab.2021.57585.1839

مقاله پژوهشی:

بررسی اثرات آرژنین و گوانیدینواستیک اسید بر فعالیت آنزیمی، فراسنجه‌های خونی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در پرندگان درگیر با سندرم افزایش فشار خون ریوی

مختار فتحی[1*]، شهریار سعیدیان[2]
۱. گروه علوم دامی، گروه کشاورزی. دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
۲. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۵ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۳)

چکیده

با توجه به نقش آرژنین در انبساط پذیری عروق و کاهش فشار خون و امکان جایگزینی این اسید آمینه با گوانیدینواستیک اسید، آزمایشی با استفاده از ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی، در قالب ۵ تیمار (شاهد، دو سطح ۰/۵ و ۱ درصد آرژنین و دو سطح ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد گوانیدینواستیک) در چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پرندگان برای القای سندرم افزایش فشارخون ریوی، تحت برنامه دمایی سرد قرار گرفتند. فراسنجه‌های خونی (گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و هتروفیل/ لنفوسیت)، فراسنجه‌های بیوشیمایی (لاکتات، اوره، اسیداوریک و نیتریک اکسید)، فراسنجه‌های آنزیمی (LDH، AST، ALT و CK) و فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی (TAS، MDA، GPX و SOD) پلاسما در پایان دوره آزمایش (۴۲ روزگی) اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که مکمل‌سازی ۱ درصد آرژنین و ۰/۱۵ درصد گوانیدینواستیک اسید شاخص هتروفیل/ لنفوسیت، درصد هماتوکریت، اوره و اسید اوریک را کاهش و نیتریک اکسید پلاسما را افزایش دادند (P<۰/۰۵). تیمارهای ۱ درصد آرژنین و ۰/۱۵ درصد گوانیدینواستیک اسید سبب کاهش مالون‌دی‌آلدهید و افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کراتین کیناز در پلاسما شدند (P<۰/۰۵). سطح ۱ درصد آرژنین نیز سبب افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در پلاسما شد. سایر فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (P>۰/۰۵). به‌طورکلی، نتایج این آزمایش نشان داد با توجه به قیمت کمتر گوانیدینواستیک اسید در مقایسه با آرژنین، می‌توان به‌طور مؤثری سطح ۰/۱۵ درصد گوانیدینواستیک اسید را جهت جایگزین ۱ درصد آرژنین برای کاهش تنش اکسیداتیو استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آرژنین، فراسنجه‌های خونی، فعالیت آنزیمی، گوانیدینواستیک اسید، وضعیت آنتی‌اکسیدانی.

Effects of Arginine and Guanidinoacetic Acid on Enzymatic Activity, Blood Parameters and Antioxidant Status in Birds Involved with Pulmonary Hypertension (PHS)

Mokhtar Fathi[1*], Shahriyar Saeidian[2]
1. Department of Animal Science, Payam Noor University, Tehran, Iran.
2. Department of Biology, Payam Noor University, Tehran, Iran.

(Received: Jul. 06, 2021- Accepted: Sep. 14, 2021)

Abstract

Regarding the role of arginine in vasodilatation and reduction of blood pressure and the possibility of replacing this amino acid with guanidinoacetic acid, a test was conducted with 400 chicks in 5 treatments (control, two levels of 0.5 and 1% arginine, and two levels of 0.15 And 0.3% Guanidininostech) in four replications in a completely randomized design. Birds were subjected to a cold temperature program for induction of pulmonary hypertension syndrome. Blood parameters (RBC, hemoglobin, hematocrit and heterophile / lymphocyte), biochemical parameters (lactate, urea, uric acid and nitric oxide), enzymatic parameters (LDH, AST, ALT, CK) and antioxidant TAS, MDA, GPX, SOD) in plasma were measured at the end of the experiment (day 42). The results showed that supplementation of 1% arginine and 0.15% guanidinoacetic acid significantly decreased the heterophilic/ lymphocyte index, hematocrit, urea and uric acid, and increased nitric oxide (P<0.05). Treatment with 1% arginine and 0.15% guanidinoacetic acid reduced malondialdehyde and increased activity of superoxide dismutase and creatine kinase in plasma (P<0.05). The level of 1% of arginine also significantly increased the activity of glutathione peroxidase enzyme in the plasma. Other measured parameters were not significantly affected by experimental treatments (P> 0.05). In general, the results of this experiment showed that, given the lower price of guanidinoacetic acid compared to arginine, it is possible to effectively use 0.15% guanidinoacetic acid to replace arginine supplementation in preventing reduce stress.

Keywords: Antioxidant status, arginine, blood parameters, enzymatic activity, guanidinoostatic acid.

* نویسنده مسئول: مختار فتحی Email: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir

مقدمه

به موازات افزایش تقاضای اکسیژن و عدم رشد و توسعه سیستم قلبی- عروقی، قلب و شش‌ها برای جبران این مشکل، دچار پرکاری شدید خواهند شد. کار شدید سیستم قلبی- عروقی می‌تواند سبب تغییرات آناتومیکی و فیزیولوژیکی در آن‌ها شود و نهایتا عارضه سندرم افزایش خون ریوی[1] (آسیت) رخ می‌دهد (Wideman *et al*., 2013).

پیشنهاد شده که احتمالاً تنش اکسیداتیو نیز در آسیب‌شناسی سندرم، آسیت و نارسایی‌های قلبی- عروقی نقش داشته باشد. تنش اکسیداتیو زمانی رخ می‌دهد که وجود اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد مشتق‌شده از اکسیژن در سلول‌ها بیش از توان ضد اکسیدانی آنها باشد (Iqbal *et al*., 2002). رادیکال‌های آزاد مشتق‌شده از اکسیژن از طریق کاهش نیمه‌عمر برای نیتریک‌اکسید (عامل گشادکننده عروق)، سبب کاهش توان انبساط‌پذیری عروق شده و زمینه را برای بروز آسیت فراهم می‌سازند (Lorenzoni & Ruiz-Feria, 2006).

بنابراین توجه به راه‌کارهای مناسب تغذیه‌ای جهت کاهش مشکلات ناشی از سندرم آسیت، گزارش‌هایی متعددی وجود دارد که پیشنهاد می‌کنند استفاده از مکمل‌های تغذیه‌ایی از قبیل ویتامین E، ال-آرژنین (Lorenzoni & Ruiz-Feria, 2006)، اسید اوریک (Stinefelt, 2003)، کوانزیم کیو ۱۰ (Geng *et al*., 2004)، آسپرین (Fathi *et al*., 2016)، داروی کاهنده فشار خون آنالاپریل (Fathi *et al*., 2015)، آتنولول (Fathi *et al*., 2016) و اخیراً گوانیدینواستیک اسید (Ahmadipour *et al*., 2018; Nasiroleslami *et al*., 2018) می‌تواند از مشکلات ناشی از سندرم آسیت جلوگیری نماید.

آرژنین یک اسید آمینه غیرضروری در پستانداران است که در پرندگان به‌دلیل کامل‌نبودن چرخه اوره، ضروری محسوب شده و پیش‌ساز نیتریک اکساید می‌باشد که فعالیت منبسط‌کنندگی قوی عروق را داشته و سبب تعدیل فشار خون ریوی می‌شود (Wideman *et al*., 2013). با وجود تأثیرات سودمندی که آرژنین بر کاهش سندرم فشار خون ریوی، تأمین شکل مصنوعی آن برای مکمل‌کردن در پر هزینه می‌باشد. پژوهش‌های اخیر نشان داده که گوانیدینو استیک اسید (GAA)[2] می‌تواند به‌طور مؤثری جایگزین آرژنین در پرندگان شود (Dilger *et al*., 2013). علاوه بر این، دلیل این‌که این ترکیب دارای ثبات و پایداری بالا و همچنین قیمت پایین‌تری نسبت به آرژنین و کراتین می‌باشد، مکمل خوراکی مناسب‌تری برای جایگزینی آرژنین است (Ringel *et al*., 2008; Michiels *et al*., 2012; Dilger *et al*., 2013).

تاکنون پژوهشی در مورد مقایسه اثرات آرژنین و گوانیدینواستیک اسید صورت نگرفته است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثرات آرژنین و گوانیدینواستیک اسید و ارزیابی امکان جایگزینی آرژنین با گوانیدینواستیک اسید به‌عنوان یک مکمل خوراکی در جلوگیری از بروز سندرم آسیت در پرندگان بوده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تعداد ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸، در یک طرح کاملاً تصادفی به ۵ تیمار، هر تیمار در چهار تکرار دارای ۲۰ جوجه یک‌روزه نر، اختصاص داده شدند. پرندگان در قفس‌های فلزی با پوشش توری در ابعاد ۱×۱×۲ متر با بستر تراشه چوب نگهداری شدند. پرندگان در طول آزمایش، دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند. جوجه‌هادر دوره‌های مختلف پرورش از جیره‌های تمام آردی مطابق جدول ۱ تغذیه شدند.

1. Pulmonary Hypertension syndrome (PHS)

2. Guanidinoacetic acid (GAA)

جدول ۱. ترکیب و میزان مواد مغذی جیره غذایی پایه در دوره های مختلف پرورش (درصد)

مواد خوراکی (درصد)	جیره آغازین (۱۰-۱ روزگی)	جیره رشد (۲۳-۱۱ روزگی)	جیره پایانی (۴۲- ۲۴روزگی)
ذرت	۵۱/۶۸	۵۳/۶۹	۵۵/۱۷
کنجاله سویا	۴۲/۴۶	۴۰/۲۹	۳۷/۸۷
روغن سویا	۲	۵/۴۶	۴/۷۲
سنگ آهک	۱/۳۰	۱/۰۵	۱/۰۳
دی‌کلسیم فسفات	۱/۹۵	۱/۷۳	۱/۵۰
نمک	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰
دی ال متیونین	۰/۳۶	۰/۲۶	۰/۱۹
ال لیزین	۰/۲۴	۰/۰۵	۰
مکمل معدنی و معدنی[1]	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری برکیلوگرم ماده خشک)	۲۹۰۰	۳۱۰۰	۳۱۰۰
پروتئین خام	۲۲/۵	۲۱/۵۰	۲۰/۴۴
کلسیم	۱/۰۶	۰/۸۹	۰/۸۵
فسفر قابل دسترس	۰/۴۹	۰/۴۵	۰/۴۳
متیونین + سیستئین	۰/۹۰	۰/۸۶	۰/۸۱
لیزین	۱/۳۹	۱/۲۷	۱/۱۸
ترئونین	۰/۸۷	۰/۸۳	۰/۷۸

۱. هر کیلوگرم حاوی: ۱۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۹۷۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۲ میلی‌گرم ویتامین K_2، ۲۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۴ میلی‌گرم تیامین، ۴/۴ میلی گرم ریبوفلاوین، ۴ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۲۲ میلی‌گرم نیاسین، ۰/۰۳ میلی‌گرم بیوتین، ۱ میلی‌گرم اسید فولیک، ۸۴۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۰/۰۲ میلی‌گرم B_{12}، ۰/۱۲۵ میلی‌گرم اتوکسی کوین، ۷۵ میلی‌گرم منگنز، ۶۵ میلی‌گرم روی، ۹۵ میلی‌گرم منیزیوم، ۷۵ میلی گرم آهن، ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم، ۶ میلی‌گرم مس بود.

تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از ۱- تیمار شاهد ۲- تیمار سطح ۰/۵ درصد آرژنین، ۳- تیمار سطح ۱ درصد آرژنین)، ۴- تیمار سطح ۰/۱۵ درصد گوانیدینواستیک اسید، ۵- تیمار سطح ۰/۳ درصد گوانیدینواستیک اسید. آرژنین مورد استفاده ساخت کشور کانادا و شرکت لین آسا[1] بود. گوانیدینواستیک اسید مورداستفاده نیز از شرکت Evonik تهیه شد.

برنامه القای سندرم افزایش فشار خون ریوی

تمامی پرندگان با اجرای برنامه تنظیم شده سرمایی، (Fathi *et al*., 2015, 2016) پرورش یافتند به‌طوری که، هفته اول و دوم، دمای سالن، به ترتیب ۳۲ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد بود و در طول هفته سوم، روزانه ۲ درجه از دمای سالن کاسته شد و در روز ۲۱ام، دمای سالن به ۱۵ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت و تا پایان آزمایش (هفته ششم) دمای سالن بین ۱۵-۱۰ درجه سانتی گراد نگه داشته شد.

نمونه‌گیری و اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی پلاسما

در روز آخر آزمایش (۴۲)، پس از سه ساعت گرسنگی چهار پرنده از هر قفس به‌طور تصادفی انتخاب و از هرکدام دو نمونه خونی ۳ میلی‌متری از سیاهرگ بال گرفته شد. برای تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، نسبت هتروفیل به لنفوسیت، لاکتات، اوره، اسیداوریک، نیتریک اکسید، آنزیم‌های کبدی و غیرعملکردی پلاسما از قبیل لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل وضعیت آنتی‌اکسیدان تام پلاسما، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و سطح

1. Lyn Asa

مالون‌دی‌آلدهید پلاسما، نمونه‌های خونی به داخل لوله‌های حاوی K_2EDTA انتقال یافتند. یکی از نمونه‌ها بلافاصله به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۵۰۰۰rpm سانتریفیوژ و پلاسمای به‌دست‌آمده در دمای ۲۰- تا زمان تعیین فراسنجه‌های بیوشیمیایی نگهداری شدند.

تعیین نیتریک اکساید براساس روش Behrooj *et al.* (2012) انجام شد، این روش بر پایه احیای نیترات به نیتریت به‌وسیله کادمیوم می‌باشد. با اضافه‌کردن محلول‌های سولفات روی (۷۵ میلی‌مول در لیتر) و سدیم هیدروکسید (۵۵ میلی‌مول در لیتر) به نمونه‌های سرم از آنها پروتئین‌زدایی شده و با انجام سانتریفیوژ و جمع‌آوری مایع رویی در نهایت غلظت نیتریک اکساید با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

غلظت اسید اوریک بر طبق روش Fossati *et al.* (1980) بود. اساس آزمایش بدین صورت بود که اسیداوریک پلاسما در نمونه سرمی با معرف خاص خود وارد واکنش شده و تغییر رنگ می‌دهد و شدت رنگ حاصله نسبت مستقیم با مقدار فراسنجه مورد نظر دارد. میزان غلظت اوریک اسید با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۴۰ نانومتراندازه‌گیری شد.

برای تعیین غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) سرم به‌روش اسپکتوفتومتری تیوباربیتوریک اسید (TBARs) محصول پراکسیداسیون لیپیدها بر اساس روش Nair & Turner (1984) اندازه‌گیری شد. بر اساس این روش مالون‌دی‌آلدهید در نتیجه واکنش تیوباربیتوریک اسید با محصول پراکسیداسیون لیپیدها تحت درجه بالای دمایی (۹۰ تا ۱۰۰) درجه سانتی‌گراد شکل می‌گیرد. در این روش، ۵۰۰ میکرولیتر پلاسما با ۳ میلی‌لیتر اسیدفسفریک ۱ درصد مخلوط و بعد از ورتکس، ۱ میلی‌لیتر محلول تیو باربیتوریک اسید ۰/۶ درصد به لوله آزمایش اضافه شد و به‌مدت ۴۵ دقیقه در داخل یک بن ماری در حال جوش قرار داده شد. بعد از خنک کردن لوله آزمایش زیر آب سرد، به میزان ۳ میلی‌لیتر N– بوتانل به آن اضافه و به‌مدت یک الی دو دقیقه ورتکس شد. پس از جداکردن فاز آلی (محلول رویی)، اندازه‌گیری جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل بوتانل به‌عنوان بلانک انجام شد و پس از انتقال نتایج حاصل به منحنی استاندارد، غلظت مالون‌دی‌آلدیید سرمی نمونه‌ها تعیین شد.

برای تعیین هماتوکریت، از یک لوله مویینه مخصوص سنجش هماتوکریت استفاده شد که با حجم مشخصی خون پر شده سپس با خمیر مخصوص مسدود شدند و در ادامه لوله‌ها در میکروسانتریفیوژ به‌مدت ۱۰ دقیقه و در۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و در نهایت لوله‌های مویینه روی خط‌کش مخصوص سنجش هماتوکریت قرار داده شده و درصد هماتوکریت اندازه‌گیری به‌عمل آمد. اسلایدهای خونی تهیه و پس از رنگ‌آمیزی نسبت هتروفیل به لنفوسیت بر اساس روش Lucas & Jamroz (1961) تعیین شد. در این روش با استفاده از میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ شمارش تفریقی حدود ۱۰۰ گلبول سفید هتروفیل و لنفوسیت انجام شد و نسبت هتروفیل به لنفوسیت تعیین شد. اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی مربوط به آزمایش‌های فراسنجه‌های بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و توسط دستگاه اتوآنالایزر ساخت آمریکا مدل (RA1000) انجام شد.

فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از خون تام دارای ماده ضد انعقاد EDTA که با محلول درابکین رقیق شده بود و فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و وضعیت آنتی‌اکسیدان تام پلاسما، نیز با کاهش در جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتری (Jenway 6105 UV/VIS) اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی مربوط به آزمایش‌های فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی با استفاده از کیت‌های شرکت راندوکس- رانسود و توسط دستگاه اتوآنالایزر ساخت آمریکا مدل (RA1000) انجام شد.

تبدیل داده‌ها، طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های مربوط به تلفات و نسبت RV/TV قبل از آنالیز آماری توسط تبدیل آرک سین به صورت نرمال در آمد و سپس اعداد تبدیل شده با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS (نسخه 9.1) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه‌های مربوط به میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تأثیر سطوح مختلف آرژنین و گوانیدینواستیک اسید بر فراسنجه‌های خونی

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی از قبیل؛ تعداد گلبول قرمز، مقدار هموگلوبین، درصد هماتوکریت و نسبت گلبول‌های سفید هتروفیل به لنفوسیت در جدول ۲ آورده شده است. بر اساس این نتایج، سطوح مختلف آرژنین و گوانیدینواستیک اسید تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های تعداد گلبول قرمز، مقدار هموگلوبین و پرندگان نداشت(P>۰/۰۵) در حالیکه سطح ۱ درصد آرژنین و ۰/۱۵ درصد گوانیدینواستیک اسید به‌طور معنی‌داری سبب کاهش درصد هماتوکریت و نسبت گلبول‌های سفید هتروفیل به لنفوسیت شدند (P<۰/۰۵).

نتایج این تحقیق با گزارش‌های سایر محققین که پیشنهاد دادند درشرایط استرس‌های محیطی و سندرم افزایش فشار خون ریوی، نسبت هتروفیل به لنفوسیت افزایش می‌یابد و مکمل‌سازی سطوح پایین گوانیدینواستیک اسید (۰/۱۵ تا ۰/۰۰۵ درصد) سبب کاهش کورتیزول و متعاقب آن کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت می‌شود، مطابقت دارد (Khajali *et al*., 2008; Khajali & Fahimi, 2010; Faraji *et al*., 2019) علاوه بر این اعتقاد براین است که آرژنین می‌تواند از طریق افزایش تولید نیتریک اکسید، سبب افزایش انبساط پذیری عروق و کاهش تجمع پلاکت شده و به این ترتیب سبب کاهش فشار خون و کاهش استرس می‌شود که نتیجه بعدی آن کاهش نسبت هتروفیل به لنفوست خون است (Bautista-Ortega & Ruiz-Feria, 2010). Sharifi *et al*. (2016)، پیشنهاد دادند که مکمل‌سازی ۱ گرم گوانیدینو استیک اسید در جیره‌های کم آرژنین، می‌تواند از طریق افزایش سطح نیتریک اکسید و اسید اوریک هم‌زمان با افزایش توان آنتی‌اکسیدانی، سبب افزایش انبساط پذیری عروق شده و سبب کاهش هایپرتروفی بطن راست و کاهش مشکلات قلبی- عروقی در جوجه‌های گوشتی شد. این محققین دریافتند که گوانیدینواستیک اسید می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای آرژنین، سبب کاهش مشکلات قلبی و عروقی در پرندگان تحت استرس محیطی باشد.

جدول ۲. تأثیر آرژنین و گوانیدینواستیک اسید بر فراسنجه‌های خونی پرندگان تحت تحت سندرم افزایش خون ریوی (PHS)

تیمارهای آزمایشی	تعداد گلبول قرمز (میلیون درمیکرولیتر)	هموگلوبین (گرم در دسی بر لیتر)	هماتوکریت (درصد)	هتروفیل/ لنفوسیت (درصد)
کنترل	۲/۸۲	۱۲/۵۷	۴۰/۱۸ [a]	۱/۱۲ [a]
آرژنین				
۰/۵ درصد	۲/۷۹	۱۱/۷۹	۳۹/۲۸ [a]	۱/۱۸ [a]
۱درصد	۲/۴۳	۱۰/۴۳	۳۲/۲۵ [b]	۰/۹۳ [b]
گوانیدینواستیک اسید				
۰/۱۵ درصد	۲/۷۰	۱۲/۷۵	۳۱/۲۰ [b]	۰/۵۶ [c]
۰/۳ درصد	۲/۵۵	۱۰/۴۵	۳۹/۱۸ [a]	۱/۰۱ [ab]
SEM	۰/۲۴	۲/۱۷	۲/۱۹	۰/۱۰
P-value	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

تأثیر سطوح مختلف آرژنین و گوانیدینواستیک اسید بر سطح متابولیت‌های بیوشیمایی پلاسما

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی پلاسما از قبیل تعداد لاکتات، اوره، اسید اوریک و نیتریک اکسید در جدول ۳ نشان داده شده است. داده‌های این جدول نشان می‌دهد که این فراسنجه‌های بیوشیمیایی (به‌جز لاکتات) به‌طور

معنی‌داری تحت تأثیر مکمل‌سازی سطوح مختلف آرژنین و گوانیدینواستیک‌اسید قرار گرفته‌اند، به‌طوری‌که سطح ۱ درصد آرژنین و ۰/۱۵ درصد گوانیدینواستیک اسید به‌طور معنی‌داری سبب کاهش سطح اوره و اسید اوریک و افزایش نیتریک اکسید پلاسمایی پرندگان شدند (P<۰/۰۵).

در پرندگان، اسید اوریک محصول نهایی متابولیسم پروتئین است. پیشنهاد کرده‌اند که هم‌زمان با مکمل‌سازی گوانیدینواستیک اسید به‌عنوان پیش‌ساز آرژنین، ابقای اسیدهای آمینه افزایش یافته و تولید اسیداوریک کاهش می‌یابد (Ahmadipour *et al.*, 2018).

جدول ۳. تأثیر آرژنین و گوانیدینواستیک اسید بر سطح متابولیت‌های بیوشیمیایی پلاسمای پرندگان تحت تحت سندرم افزایش خون ریوی (PHS)

تیمارهای آزمایشی	لاکتات (نانومول بر لیتر)	اوره (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	اسید اوریک (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	نیتریک اکسید (نانومول بر لیتر)
کنترل	۶۵/۵	۷/۱۰ ^{a}	۷/۵۰ ^{a}	۹/۵۶ ^{bc}
آرژنین				
۰/۵ درصد	۵۹/۷	۶/۵۹ ^{ab}	۶/۹۰ ^{b}	۱۰/۵۵ ^{b}
۱درصد	۶۴/۷	۴/۴۵ ^{b}	۵/۱۵ ^{c}	۱۷/۵۰ ^{a}
گوانیدینواستیک اسید				
۰/۱۵ درصد	۶۶/۷	۴/۵۹ ^{b}	۵/۵۰ ^{c}	۱۸/۵۵ ^{a}
۰/۳ درصد	۶۹/۷	۶/۷۵ ^{a}	۶/۲۴ ^{bc}	۸/۵۰ ^{c}
SEM	۴/۵۰	۰/۵۵	۰/۸۵	۱/۰۵
P-value	۰/۳۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

تأثیر سطوح مختلف آرژنین و گوانیدینواستیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های عملکردی پلاسما

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های غیر عملکردی پلاسما از قبیل لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در جدول ۴ آورده شده است. نتایج این جدول نشان می‌دهد در حالی‌که تیمارهای آزمایشی مختلف تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز نداشت (P>۰/۰۵)، فعالیت پلاسمایی آنزیم کراتین کیناز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف آرژنین و گوانیدینواستیک اسید قرار گفت به‌طوری که سطح ۱ درصد آرژنین هر دو سطح گوانیدینواستیک‌اسید سبب افزایش معنی‌دار فعالیت کراتین کیناز در پلاسما شدند (P<۰/۰۵).

جدول ٤. تأثیر آرژنین و گوانیدینواستیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های غیرعمکلردی پلاسمای پرندگان تحت سندرم افزایش خون ریوی (PHS)

تیمارهای آزمایشی	لاکتات دهیدروژناز (واحد بر لیتر)	کراتین کیناز (واحد بر لیتر)	آسپارتات آمینو ترانسفراز (واحد بر لیتر)	آلانین آمینو ترانسفراز (واحد بر لیتر)
کنترل	۳۱۲۰	۴۶۸۰ ^{c}	۲۲۴/۵	۶/۵
آرژنین				
۰/۵ درصد	۲۸۳۰	۵۴۳۷ ^{c}	۲۲۸/۵	۵/۴۷
۱درصد	۲۴۰۰	۵۹۷۰ ^{b}	۲۳۱/۵	۴/۷۵
گوانیدینواستیک اسید				
۰/۱۵ درصد	۲۰۷۹	۷۵۴۰ ^{b}	۲۳۹/۵	۵/۵۰
۰/۳ درصد	۲۸۵۰	۹۷۳۶ ^{a}	۲۴۱/۵	۴/۹۷
SEM	۵۷	۲۵۴	۱۴/۵	۱/۱
P-value	۰/۳۴	۰/۰۰۱	۰/۰۹	۰/۱۹

گوانیدینواستیک اسید به‌عنوان یک پیش‌ساز برای آرژنین می‌تواند از طریق افزایش فاکتور رشد شبه انسولین، سبب افزایش کراتین سازی و توانایی رشد توده ماهیچه‌ای در بدن می‌شود و لذا سبب افزایش سطح کراتین کیناز در پلاسما شده است (Teixeira *et al.*, 2017). علاوه بر این Sharifi *et al.* (2016) گزارش کردند که مکمل‌سازی ۱ گرم در کیلوگرم خوراک جوجه‌های گوشتی، سبب افزایش معنی‌داری توده ماهیچه‌ای در این پرندگان شد. بنابراین پیشنهاد می‌شود که افزایش کراتین کیناز پلاسما نشانگر افزایش فعالیت کراتین‌سازی در

پرندگان باشد. محققین زیادی پیشنهاد کردند که گوانیدینواستیک اسید می‌تواند از طریق فاکتور رشد شبه انسولینی سبب تحریک سنتز پلی‌آمین‌هایی از قبیل اسپیرمین، اسپیرمیدین و پوتریسین شده و سبب القای پروتئین‌سازی و جذب اسیدهای آمینه توسط سلول می‌شود. برای تأمین انرژی این مسیرها سیستم کراتین/کراتین کیناز افزایش فعالیت پیدا خواهد کرد (Michiels *et al*., 2012; Khajali & Wideman, 2010; Dilger *et al*., 2013).

تأثیر سطوح مختلف آرژنین و گوانیدینواستیک اسید بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسما از قبیل وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز و سطح مالون‌دی‌آلدهید پلاسما در جدول ۵ آورده شده است. داده‌های این جدول نشان می‌دهند که سطوح مختلف آرژنین و گوانیدینواستیک اسید به‌طور معنی‌داری وضعیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای پرندگان مورد آزمایش را تحت تأثیر قرار دادند، به‌طوری‌که سطح ۱ درصد آرژنین و ۰/۱۵ گوانیدنیواستیک اسید به‌طور معنی‌داری سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و کاهش مالون‌دی‌آلدهید پلاسما شدند. علاوه بر این درحالی که گوانیدنیواستیک اسید تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم آنتیاکسیدان گلوتاتیون پراکسیداز پلاسما نداشت، سطح ۱ درصد آرژنین به‌طور معنی‌داری سبب افزایش فعالیت این آنزیم شد ($P<0/05$).

هم‌زمان با افزایش توان آنتی‌اکسیدانی، سطح نیتریک اکسید پلاسما در پرندگان افزایش می یابد که احتمالاً به‌دلیل اثرات محافظت کنندگی از فعالیت آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز بوده است (Han *et al*., 2005). علاوه بر این آرژنین می‌تواند عنوان سوبسترای مورد نیاز برای تولید نیتریک اکسید عمل نماید (Khajali & Wideman, 2010). گوانیدینواستیک اسید به‌دلیل داشتن گروهای گوانیدینیوم، می‌تواند به‌عنوان یک دهنده الکترون عمل کرده و سبب تولید مقادیر بالایی از رادیکال‌های هیدروکسیل شود و از این طرق اثرات اکسیدانی قوی از خود به جای بگذارد (Hiramatsu, 2003; Zugno *et al*., 2008). اما اعتقاد براین است که سطوح بالای گوانیدینواستیک اسید می‌تواند اثرات اکسیدانی داشته و سبب افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود (Ostojic *et al*., 2015; Faraji *et al*., 2019) و سطوح پایین آن می‌تواند اثرات آنتی‌اکسیدانی داشته و سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله گلوتاتیون پراکسیداز (Wang *et al*., 2012) و سوپراکسید دیسموتاز (Dilger *et al*., 2013; Ostojic *et al*., 2015) شود.

جدول ۵. تأثیر آرژنین و گوانیدینواستیک اسید بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای پرندگان تحت سندرم افزایش خون ریوی (PHS)

تیمارهای آزمایشی	وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل (میلی‌مول بر لیتر)	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد بر گرم هموگلوبین)	سوپراکسیددیسموتاز (واحد بر میلی‌لیتر)	مالون دی‌آلدئید (نانومول بر میلی‌لیتر)
کنترل	۱/۴۰	۳۰/۵۷[b]	۷۵/۵[bc]	۵/۵۰[a]
آرژنین				
۰/۵ درصد	۱/۶۵	۳۲/۵۷[b]	۸۰/۴[b]	۶/۱۰[a]
۱درصد	۱/۴۳	۴۵/۴۵[a]	۸۵/۵[a]	۳/۵۵[b]
گوانیدینواستیک اسید				
۰/۱۵ درصد	۱/۹۵	۳۵/۴۵[b]	۸۹/۴[a]	۳/۹۰[b]
۰/۳ درصد	۱/۲۳	۳۱/۳۵[b]	۷۰/۵[c]	۴/۵۵[ab]
SEM	۰/۲۵	۲/۱۵	۰/۲۵	۰/۵۰
P-value	۰/۲۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

با توجه به این‌که بیشتر نتایج حاصله از سطوح بالای آرژنین و پایین گوانیدینواستیک اسید در این تحقیق مشابه بودند، می‌توان نتیجه‌گیری نمود به‌طور موفقیت‌آمیزی می‌توان به جای ۱ درصد آرژنین از مقدار ۰/۱۵ درصد گوانیدواسیتک اسید که هزینه بسیار کمتری نسبت به آرژنین دارد، استفاده نمود و از اثرات مثبت این پیش‌ساز آرژنین در جهت کاهش تنش و مشکلات ناشی از آن جلوگیری نمود.

تشکر و قدردانی

از شرکت Evonik و جناب‌آقای‌مهندس علی افسر برای تأمین گوانیدینواستیک اسید، تقدیر و تشکر می‌گردد.

REFERENCES

Ahmadipour, B.; Zafari, N.S.H.; Sharifi, M.R.; Khajali, F. (2018). Growth performance and right ventricular hypertrophy responses hypobaric hypoxia. Journal Poultry Science; 55: 60-64.

Bautista-Ortega, J.; Ruiz-Feria, C.A. (2010). L-Arginine and antioxidant vitamins E and C improve the cardiovascular performance of broiler chickens grown under chronic hypobaric hypoxia. Poultry Science; 89: 2141-2146.

Behrooj, N.; Khajali, F.; Hassanpour, H. (2012). Feeding reduced protein diets to broilers subjected to hypobaric hypoxia is associated with development of pulmonary hypertension syndrome. British Poultry Science; 53: 658-664.

Braun, E.J.; Sweazea, K.L. (2008). Glucose regulation in birds. Comparative Biochemistry and Physiology B; 151: 1-9.

Dilger, R.N.; Bryant-Angeloni, K.; Payne, R.L.; Lemme, A.; Parsons, C.M. (2013). Dietary guanidine acetic acid is an efficacious replacement for arginine for young chicks. Poultry Science; 92: 171-177.

Faraji, M.; Saeid, K.; Dehkordi, A.; Karim, Z.; Behnam, A.; Fariborz K. (2019). Combined effects of guanidinoacetic acid, coenzyme Q10 andtaurine on growth performance, gene expression and ascites mortality in broiler chickens. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition; 103: 162-169.

Fathi, M.; Haydari, M.; Tanha, T. (2015). Effects of Enalapril on Performance growth, Ascites Mortality, Antioxidant Status and Blood Parameters in Broiler Chickens Under Cold-Induced Ascites. Poultry Science Journal; 3 (2): 121-127.

Fathi, M.; Haydari, M. (2016). Effects of Atenolol on Growth Performance, Mortality Due to Ascites, Antioxidant Status and Some Blood Parameters in Broilers under Induced Ascites. Iranian Journal of Animal Science Research; 2(2): 3239-339.

Fathi, M.; Haydari, M.; Tanha, T. (2016). Influence of Dietary Aspirin on Growth Performance, Antioxidant Status, and Mortality due to Ascites in Broiler Chickens. Poultry Science Journal. Poultry Science Journal; 4 (2): 139-146.

Fossati, P.; Principe, L.; Berti, G. (1980). Use of 3,5-dichloro-2 hydroxybenzene sulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in the direct enzymatic assay of uric acid in serum and urine. Clinical Chemistry; 26: 227-231.

Geng, A.L.; Guo, Y.; Yuan, J. (2004). Reduction of ascites mortality in broilers by coenzyme Q10. Poultry Science; 83: 1587-1593.

Han, Bo.; Soon-S, Y.; Hong-Ryul, Han.; Wei-jie, Q.; Fikru, N. (2005). Effect of Low Ambient Temperature on the Concentration of Free Radicals Related to Ascites in Broiler Chickens. -Asian Animal of Journal stralasianAu Sciences; 18(8) : 1182-1187.

Hiramatsu, M. (2003). A role for guanidino compounds in the brain. Cellular Biochemistry *and* Molecular; 244: 57-62.

Iqbal, M.; Cawthon, D.; Beers, K.; Wideman, F. and Bottje, W. G. (2002). Antioxidant enzyme activities and mitochondrial fatty acids in pulmonary hypertension syndrome (PHS) in broilers. Poultry Science; 81: 252-260.

Khajali, F.; Karimi, S.; Qujeq, D. (2008). Probiotics in drinking water alleviated stress of induced molting in feed-deprived laying hens. Asian-Australasian Journal of Animal Science; 21: 1196-1200.

Khajali, F.; Fahimi, S. (2010). Influence of dietary fat source and supplementary α-tocopheryl acetate on pulmonary hypertension and lipid peroxidation in broilers. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition; 94: 767-772.

Khajali, F.; Wideman, R. F. (2010). Dietary arginine: Metabolic, environmental, immunological and physiological interrelationships. World's Poultry Science Journal; 66: 751-766.

Lorenzoni, A.G.; Ruiz-Feria, C.A. (2006). Effects of vitamin E and L-arginine on cardiopulmonary function and ascites parameters in broilers chickens reared under sub-normal temperatures. Poultry Science; 85: 2241-2250.

Lucas, A.M.; Jamroz, C. (1961). Atlas of Avian Hematology. Agriculture Monograph 25. USDept. Agriculture Washington, DC.

Machin, M.; Simoyi, M.F.; Blemings, K.P.; Klandore, H. (2004). Increased dietary protein elevates plasma uric acid and is associated with decreased oxidative stress in rapidly- growing broilers. Comparative Biochemistry and Physiology (Part B); 137: 383-390.

Michiels, J.; Maertens, L.; Buyse, J.; Lemme, A.; Rademacher, M.; Dierick, N.A.; DeSmet, S. (2012). Supplementation of guanidinoacetic acid to broiler diets: Effects on performance, carcass characteristics, meat quality and energy metabolism. Poultry Science, 91: 402-412.

Nasiroleslami, M.; Torki, M.; Sakib, A.A.; Abdolmohammadi, A.R. (2018). Effects of dietary guanidinoacetic acid and betaine supplementation on performance, blood biochemical parameters and antioxidant status of broilers subjected to cold stress. Journal of applied animal research; 46 (1): 1016-1022.

Nair, V.; Turner, G.A. (1984). The thiobarbituric acid test for lipid peroxidation: structure of the adduct with malondialdehyde. Lipids; 19: 804-805.

Ostojica, S.; Marko, M.; Stojanovica, D.; Guillermo, O. (2015). Oxidant–Antioxidant Capacity of Dietary Guanidinoacetic Acid. Annals Nutrition Metabolism; 67(4): 243-6.

Ringel, J.; Lemme, A.; Araujo, L.F. (2008). The effect of supplemental guanidinoacetic acid in Brazilian type broiler diets at summer conditions. Poultry Science; 87: 154.

Sharifi, M.R.; Khawajali, F.; Ahmadi Junqani, B.; Hasanpour, H.; Abdul Rasool Safarpour, A. (2016). Effects of Guanidinoacetic Acid in Low Protein Diet on Growth Performance and the Incidence of Ascites in Broiler Chickens. Research On Animal Production; 7(14): 51-44

Stinefelt, M.S.C. (2003). Uric acid as an antioxidant and the effect of changes in plasma uric acid concentrations on broiler susceptibility to ascites. M. Sc. Thesis. Western Virginia University.

Teixeira, K.A.; Mascarenhas, A.G.; Carvalho, Mello H.H.; Arnhold, E.; Assunção, P.S.; Carvalho, D.P.; Lopes, S.G. (2017). Effect of diets with different levels of guanidinoacetic acid on newly weaned piglets Semina: Ciências Agrárias, Londrina; 38(6), 3887-3896.

Wang, L.S.; Shi, B.M.; Shan, A.S.; Zhang, Y.Y. (2012). Effects of guanidinoacetic acid on growth performance, meat quality and antioxidation in growing-finishing pigs. Journal of Animal Science and Veterinary Advanced; 11(5): 631-636.

Wideman, R.F.; Rhoads, D.D, Erf, G.F.; Anthony, N.B. (2013). Pulmonary arterial hypertension (ascites syndrome) in broilers: A review. Poultry Science; 92: 64-83.

Zugno, A. I.; Stefanello, F.; Scherer, E.; B., Mattos C., Pederzolli C. D., Andrade V. M.;Wyse, A.T. (2008). Guanidinoacetate decreases antioxidant defenses and total protein sulfhydryl content in striatum of rats. Neurochemical Research; 33: 1804-1810.

COPYRIGHTS
© 2022 by the authors. Lisensee PNU, Tehran, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY4.0) (http:/creativecommons.org/licenses/by/4.0)