Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

Print ISSN: 2345 - 4261
Online ISSN: 2345 - 4253

Effect of glutamine feeding on myogenic genes expression in muscle of Zell sheep under heat stress condition

Essa Dirandeh[1*], Zarbakht Ansari[1], Assadollah Teymoori[2], Azam Ghader[3]

[1] Associate professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, Email: Dirandeh@gmail.com
[2] Associate professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
[3] PhD student, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 01/02/2023
Revised: 03/17/2024
Accepted: 03/24/2024

Keywords:
Gene expression
Glutamine
Sheep
Real-time-PCR

ABSTRACT

Background and Objectives: Currently, sheep breeding in Iran aims to produce meat; therefore, increasing production in this part requires measures such as breeding and short-term solutions such as improving health and nutritional conditions. Understanding the growth and development of skeletal muscle is one of the most important goals in the animal breeding and meat production industry, which can be related to special aspects of human medicine. Therefore, the aim of this research was to determine the effect of glutamine feeding as a nutritional strategy on myogenic gene expression in the muscle of Zell sheep under heat stress conditions.

Materials and Methods: Zell sheep (n = 12) with an average weight of 25.0 ± 1 Kg randomly assigned to different glutamine levels (0 and 0.2 g/kg body weight. Diets were fed for 60 days under heat stress conditions. Sampling of the thigh muscle was taken at two different times (in the middle of the experiment and at the end of the experimental period) with a special biopsy gun with a 14-diameter needle from three sheep in each treatment. Then the samples were washed in physiological serum and kept at -96°C until total RNA extraction. RNA extraction was done with trizol and based on manufacture instructions (Invitrogen). The RNA was reversely transcribed in the presence of 1 mmol/L oligo (dT) primer and 4 U Omniscript RTase (Omniscript RT Kit; Qiagen, Mississauga, Ontario, Canada) according to the manufacturer's instructions. To ensure the amplification, they were tested using a cDNA and real-time PCR (model CORBETT 3000, Australia). Data were normalized to a calibrator sample using the 2ΔΔCt method with correction for amplification efficiency. Samples were expressed relative to YWHAZ as a housekeeping gene, which was stable under the culture conditions used. Data was analyzed using t-test (SAS 9/1).

Results: The results of the present study showed that glutamine feeding increased the expression of *Myf5* (2.75 times), *MyoD* (3.89 times), *MRF4* (2.16 times), *Myogenin* (4.76 times), and the expression of *Myostatin* gene (54 4 times) on the 21st day of the experiment. On the 42nd day of the experiment, glutamine feeding increased the expression of *Myf5* (2.10 times), *MyoD* (2.56 times),

MRF4 (2.78 times), and *Myogenin* (5.25 times) genes, like the 21st day of glutamine feeding. And it decreased the expression of the *Myostatin* gene (3.03 times) on the contrary.

Conclusion: The results of the present study showed, in general, that considering the effect of glutamine nutrition on the expression of myogenic genes in heat conditions, its use can be a solution to increase growth performance in heat stress conditions if the results are reproducible.

Cite this article: Dirandeh, E., Ansari, Z., Teymoori, A., Ghader, A. (2024). Effect of glutamine feeding on myogenic genes expression in muscle of Zell sheep under heat stress condition. *Journal of Ruminant Research*, 12(3), 107-118.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejrr.2024.22077.1933
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پژوهش در نشخوارکنندگان
شاپا چاپی: ۴۲۶۱-۲۳۴۵
شاپا الکترونیکی: ۴۲۵۳-۲۳۴۵

تأثیر تغذیه گلوتامین بر بیان ژن‌های میوژنیک در ماهیچه گوسفند زل در شرایط تنش گرمایی

عیسی دیرنده[1*]، زربخت انصاری[1]، اسدا.. تیموری یانسری[2]، اعظم قادری[3]

[1] دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، رایانامه: dirandeh@gmail.com
[2] استاد گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
[3] دانشجوی دکتری فیزیولوژی دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۹
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۵

واژه‌های کلیدی:
بیان ژن
گلوتامین
گوسفند
Realtime PCR

چکیده

سابقه و هدف: در حال حاضر هدف از پرورش گوسفند در ایران تولید گوشت می‌باشد، لذا افزایش تولید در این بخش نیازمند اقداماتی نظیر اصلاح نژاد و همچنین راهکارهای کوتاه مدت نظیر بهبود شرایط بهداشتی و تغذیه‌ای است. درک رشد و توسعه ماهیچه اسکلتی، یکی از اهداف بسیار مهم در صنعت پرورش دام و تولید گوشت بوده که با جنبه‌های ویژه‌ای از طب انسانی نیز می‌تواند در ارتباط باشد. لذا هدف از این پژوهش، تعیین تأثیر تغذیه گلوتامین به‌عنوان یک راهکار تغذیه‌ای بر بیان ژن‌های میوژنیک در ماهیچه گوسفند زل در شرایط تنش گرمایی است.

مواد و روش‌ها: برای انجام این پژوهش ۱۲ رأس بره پرواری زل نر با متوسط وزن ۱/۶±۲۵ کیلوگرم به‌صورت تصادفی با دو سطح مکمل گلوتامین (صفر و ۰/۲ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز) به مدت ۶۰ روز تحت تأثیر تنش گرمایی تغذیه شدند. نمونه‌گیری از ماهیچه ران در دو زمان مختلف (اواسط (روز ۳۰) و انتهای دوره آزمایشی (روز ۶۰)) با گان مخصوص بیوپسی با سوزن قطر ۱۴ از سه گوسفند در هر تیمار گرفته شد. سپس نمونه‌ها در سرم فیزیولوژی شستشو و تا زمان استخراج RNA کل در دمای ۹۶- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. استخراج RNA با استفاده از ترایزول و بر مبنای دستورالعمل شرکت سازنده (اینویتروژن، شماره کاتالوگ ۴۰۲۰۰) صورت گرفت. برای تهیه cDNA از کیت Quantifast Revears-Transcriptase شرکت کیاژن استفاده شد. سطوح mRNA ژن‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ برآورد شد. ژن YWHAZ به‌عنوان ژن مرجع مورداستفاده قرار گرفت. کلیه نمونه‌ها با دو تکرار استفاده شدند. مقایسه بین گروه‌ها با استفاده از آزمون t در نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد.

یافته‌ها: نتایج پژوهش حاضر نشان داد تغذیه گلوتامین بیان ژن‌های Myf5 (۲/۷۵ برابر)، MyoD (۳/۸۹ برابر)، MRF4 (۲/۱۶ برابر)، Myogenin (۴/۷۶ برابر) را افزایش و بیان ژن Myostatin (۴/۵۴ برابر) را در روز ۲۱ آزمایش کاهش داد. در روز ۴۲ آزمایش نیز تغذیه گلوتامین مشابه روز ۲۱ تغذیه گلوتامین بیان ژن‌های Myf5 (۲/۱۰ برابر)، MyoD (۲/۵۶

برابر)، MRF4 (۲/۷۸ برابر)، Myogenin (۵/۲۵ برابر) را افزایش و بیان ژن Myostatin (۳/۰۳ برابر) را کاهش داد.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی با توجه به تأثیر تغذیه گلوتامین در سطح ۰/۲ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز بر بیان ژن‌هایی میوژنیک در شرایط گرمایی استفاده از آن در صورت تکرارپذیری نتایج می‌تواند راهکاری برای افزایش عملکرد رشد در شرایط تنش گرمایی باشد.

استناد: دیرنده، عیسی؛ انصاری، زربخت؛ تیموری یانسری، اسدا..؛ قادری، اعظم. (۱۴۰۳). تأثیر تغذیه گلوتامین بر بیان ژن‌های میوژنیک در ماهیچه گوسفند زل در شرایط تنش گرمایی. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۱۲(۳)، ۱۱۸-۱۰۷.

DOI: 10.22069/ejrr.2024.22077.1933

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

در حال حاضر هدف از پرورش گوسفند در ایران تولید گوشت می‌باشد، لذا افزایش تولید در این بخش نیازمند اقداماتی نظیر اصلاح نژاد و همچنین راهکارهای کوتاه‌مدت نظیر بهبود شرایط بهداشتی و تغذیه‌ای است. نشخوارکنندگان کوچک (گوسفند و بز) در معرض انواع مختلف عوامل تنش‌زا، یعنی تنش فیزیکی، تغذیه‌ای، شیمیایی، فیزیولوژیک و گرمایی قرار دارند. در میان همه عوامل، تنش گرمایی در حال حاضر در راستای اقلیمی نگران‌کننده‌ترین است. با توجه به اینکه بیشترین تراکم دام‌های اهلی در مناطقی است که عوامل تنش‌زای فصلی به مقدار زیادی توان تولیدی آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، اهمیت این موضوع باید مدنظر قرار داده شود (Baumgard و Rhoads، ۲۰۱۳). همچنین، با کاهش تنش حرارتی در دام‌های پرواری می‌توان به بهبود عملکرد رشد و ایمنی کمک کرد.

درک رشد و توسعه ماهیچه اسکلتی، یکی از اهداف بسیار مهم در صنعت پرورش دام و تولید گوشت بوده که با جنبه‌های ویژه‌ای از طب انسانی نیز می‌تواند در ارتباط باشد. جزء اصلی یک ماهیچه، فیبرهای سازنده آن است؛ بنابراین توده ماهیچه‌ای عمدتاً به‌وسیله تعداد فیبر و اندازه آن‌ها مشخص می‌شود (Muroya و همکاران، ۲۰۰۲). اگرچه اجزای عملکرد ضروری موجود در ماهیچه، به‌عنوان یک واحد فیزیولوژیکی عمل می‌کنند، اما سلول‌های چربی بافت پیوندی، فیبرهای عصبی، اهمیت کمتری در تعیین اندازه ماهیچه دارند. پژوهش‌های اخیر مشخص کرد که حیوانات با تعداد فیبر ماهیچه‌ای بیشتر، تولید گوشت با کمیت و کیفیت بالای دارند (Horak و همکاران، ۲۰۱۶). در طول مدت شکل‌گیری ماهیچه‌ها، به‌طور عمده مقدار تکثیر سلول ماهیچه‌ای، چگونگی فیبرهای موجود در آن را مشخص می‌کند. از این رو، تعداد فیبرها به‌طور عمده به‌وسیله عوامل ژنتیکی و محیطی که مستعد تأثیر ماهیچه‌زایی پیش‌زادی هستند، تعیین می‌شود (Horak و همکاران، ۲۰۱۶، Lieber، ۲۰۱۳). رشد ماهیچه اسکلتی بعد از تولد با افزایش طول و محیط فیبرهای ماهیچه‌ای مشخص می‌شود؛ اما در بعضی موارد ویژه، با افزایش در تعداد فیبر در ماهیچه مشخص می‌شود (Lieber، ۲۰۱۳).

تغذیه نامناسب مادرمی‌تواند بر رشد فرزندان، تجمع بافت و اندام‌زایی (Hoffman و همکاران، ۲۰۱۴، ۲۰۱۶) تأثیر منفی بگذارد. در این بین بافت عضلانی اسکلتی به‌طور ویژه آسیب‌پذیر است زیرا مواد مغذی به نفع رشد اندام از ماهیچه‌ها جدا می‌شوند (Sun و همکاران، ۲۰۱۴، Wu و همکاران، ۲۰۰۶) که به تغییرات در حجم ماهیچه، نوع فیبرهای ماهیچه، محتوای بافت پیوندی و چاقی منجر می‌شود (Reeed و همکاران، ۲۰۱۴، Yan و همکاران، ۲۰۱۳) و نتیجه همه این تغییرات بر گوشت، کیفیت لاشه و بازده لاشه اثر می‌گذارد. مشخص‌شده است که تغذیه بیش‌ازحد در دوران آبستنی سبب کاهش بیان بسیاری از ژن‌های فاکتور ماهیچه‌زایی و بیان ژن‌های مؤثر بر تکامل بافت پیوندی و التهابی در ماهیچه می‌شود (Argiles و همکاران، ۲۰۱۲، Huang و همکاران، ۲۰۱۱). تغذیه بیش‌ازحد طی آبستنی باعث تغییر در بیان ژن‌های مؤثر در تنظیم ساخت پروتئین ماهیچه، رشد و سوخت‌وساز می‌شود (Hoffman و همکاران، ۲۰۱۴، ۲۰۱۶).

گلوتامین به عنوان فراوان‌ترین اسیدآمینه موجود در خون دارای نقش‌های آنابولیکی و تحریکی متفاوتی همچون ساخت پروتئین‌ها، افزایش تعادل نیتروژنی، تحریک سیستم ایمنی، اثرات آنابولیکی و ضد کاتابولیکی روی عضلات، تنظیم و تعدیل گلوکز از مسیر گلوکونئوژنز، تولید اسیدهای آمینه دارای زنجیره، راه‌اندازی مسیرهای ترانس آمیناسیون و دآمیناسیون و محرک ساخت سازشی پروتئین می‌باشد (Roth، ۲۰۰۸). شواهد قابل‌توجهی نشان می‌دهد که گلوتامین باعث حفظ عملکرد روده و جلوگیری از نفوذپذیری به سموم

و عوامل بیماری‌زا از لومن روده به بافت و گردش خون می‌شود. غلظت‌های پایین گلوتامین در پلاسما منعکس‌کننده کاهش ذخایر عضله است (Roth، ۲۰۰۸، Xi و همکاران، ۲۰۱۲). این کاهش دسترسی به گلوتامین در حالت‌های کاتابولیک به نظر می‌رسد که درصد مرگ‌ومیر را افزایش دهد (Xi و همکاران، ۲۰۱۲). شناسایی راهبردهای مدیریت تغذیه‌ای برای کاهش حساسیت به تنش گرمایی بدون تأثیر منفی بر صفات تولیدی و سلامت دام بسیار ارزشمند خواهد بود. هدف از این پژوهش، تعیین تأثیر تغذیه گلوتامین بر بیان ژن‌های میوژنیک در ماهیچه گوسفند زل در شرایط تنش گرمایی است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه آموزشی- پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۹ انجام شد. برای انجام این پژوهش ۱۲ رأس بره نر پرواری زل با متوسط وزن ۱/۶±۲۵ کیلوگرم به‌صورت تصادفی با دو سطح مکمل گلوتامین (صفر و ۰/۲ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز) به مدت ۶۰ روز تحت تأثیر تنش گرمایی در تابستان تغذیه شدند (جدول ۱).

جدول ۱- اجزای خوراکی جیره‌های آزمایشی (درصد)

Table 1. Ingredients of experimental diets (% dry matter)

پایه (Basal)	ماده خوراکی (Ingredients)
22.90	علف یونجه (Alfalfa hay)
6.00	کاه گندم (Wheat straw)
27.00	جو خردشده (Barley ground)
21.00	ذرت خردشده (Corn ground)
4.00	کنجاله سویا (Soybean meal)
12.00	سبوس گندم (Wheat bran)
0.70	کربنات کلسیم (Calcium carbonate)
1.00	مکمل معدنی و ویتامینی (Mineral and vitamin supplement)
5.00	تفاله چغندر (Beet pulp)
0.40	نمک (Salt)
	ترکیب شیمیایی (Chemical composition)
89.20	ماده خشک (Dry matter)
13.40	پروتئین خام (Crude protein)
2.40	انرژی قابل متابولیسم (Metabolizable energy)
3.93	چربی خام (Ether Extract)
3.07	خاکستر (Ash)
36.20	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)
16.17	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)

هر کیلوگرم از مکمل مورداستفاده دارای ۱۹ گرم منیزیم، ۱۲ گرم آهن، ۱۳ گرم روی، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۳۰ میلی‌گرم سلنیم، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۵ میلیون واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱ میلیون واحد بین‌المللی ویتامین D و ۳۰ میلی‌گرم ویتامین E بود.

Each kg of vitamin-mineral premix in experimental diets contained: 19 g Mg, 12 g Fe, 10 g Mn, 13 g ZN, 300 mg Cu, 100 mg Co, 30 mg Se, 100 mg I, 5 million IU vitamin A, 1 million IU vitamin D3 and 30 mg vitamin E.

نمونه‌گیری از ران در دو زمان مختلف (اواسط (روز ۳۰ آزمایش) و انتهای دوره آزمایشی (روز ۶۰ آزمایش)) از سه گوسفند گرفته شد. برای این منظور ابتدا پشم ناحیه‌ای از ماهیچه ران تراشیده و بعد از بی‌حس شدن با لیدوکائین دو درصد نمونه‌برداری با گان مخصوص بیوپسی با سوزن قطر ۱۴ گرفته شد. سپس نمونه‌ها در سرم فیزیولوژی شستشو و پس از شماره‌گذاری در میکروتیوب قرار داده شد و تا زمان استخراج RNA کل در دمای ۹۶ – درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

استخراج RNA با استفاده از ترایزول و بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده (اینویتروژن، شماره کاتالوگ ۴۰۲۰۰) صورت گرفت. به منظور رفع آلودگی ناشی از وجود DNA، ابتدا یک واحد DNase به RNA اضافه گردید و در دمای ^{o}C ۳۵ برای پنج دقیقه انکوبه شد. سپس به مدت سه دقیقه در دمای ^{o}C ۶۵ انکوبه شد.RNA سپس در حضور الیگو dT(mmol/L ۱)، امنیوسکریپتاز (۴ واحد، کیاژن)، dNTP (mmol/L ۰/۲۵)، مهارکننده RNase (۱۹/۳۳ واحد) در حجم µl ۲۰ در دمای ^{o}C ۳۷ به مدت ۱ ساعت و سپس برای ۵ دقیقه در ^{o}C ۹۵ انکوبه شد.

برای تهیه cDNA از کیت Quantifast Revears-Transcriptase (شرکت کیاژن، شماره کاتالوگ ۲۰۵۳۱۴) استفاده شد.cDNA حاصل پس از اتمام کارها و حل نمودن آن در آب بدون یون و استریل، در دمای ^{o}C ۷۰ – تا انجام مراحل بعدی آزمایش نگهداری شد. آغازگرهای مورداستفاده (جدول ۲) برای اطمینان از تکثیر با استفاده از یک cDNA و Real-time PCR (مدل CORBETT 3000، کشور استرالیا) آزمایش شدند. با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و کیت QuantiFast SYBR Green PCR شرکت (کیاژن، شماره کاتالوگ ۲۰۴۰۵۲) واکنش‌های Real Time PCR انجام شدند. برای استفاده بهینه از کیت، واکنش‌ها برای حجم µl ۲۵ تنظیم شدند (مسترمیکس سایبرگرین µl ۱۲/۵؛ جفت آغازگر اختصاصی µl ۱+۱؛ cDNA، µl۱، آب دوبار تقطیرشده µl ۹/۵). سطوح mRNA ژن‌ها بر اساس بازدهی PCR و انحراف CT یک نمونه ناشناخته نسبت به کنترل با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ در نرم‌افزار اکسل برآورد شد. mRNAی YWHAZ به‌عنوان ژن مرجع مورداستفاده قرار گرفت (راهنمای شرکت ABI، Livak، ۲۰۰۳). کلیه نمونه‌ها با دو تکرار استفاده شدند. مقایسه بین گروه‌ها با استفاده از آزمون t در نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد.

جدول ۱- توالی ژن‌های میوژنیک

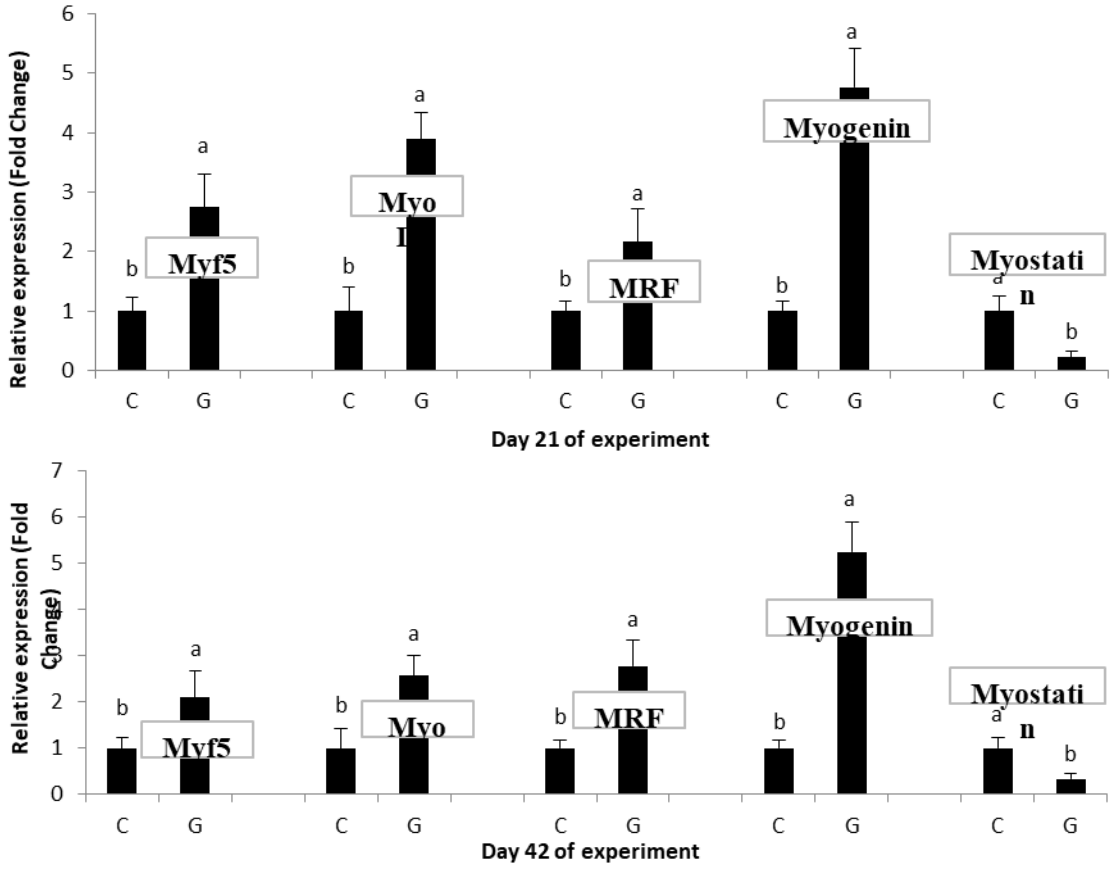
Table 1- Myogenic genes sequence

اندازه قطعه (Bp)	شماره بانک ژن Gene bank no.	Forward	Reverse	نام ژن Gene name
137	NM_001287037	CACGACCAACCCTAACCAGA	TGGTGATCCGATCCACTATGCT	**Myf5**
125	NM_001040478.2	CGACTCGGACGCTTCCAGT	GATGCTGGACAGGCAGTCGA	**MyoD**
256	NM_001134782	ATGCAGGAGTTAGGGGTGGAC	TGTTCCTCCGAGGAAATGCTGT	**MRF4**
345	NM_001174109	CACTCTGAGGGAGAAGCGCAG	TGTGGACTGCAGGAGGCACTAT	**Myogenin**
156	NM_001009428	CCAGGAGAAGAAGGACTGAATC	AAAAATTCACATTCTCCAGAGCAGT	**Myostatin**
115	NM_001003406	TGTAGGAGCCCGTAGGTCATCT	TTCTCTCTGTATTCTCGAGCCATCT	**YWHAZ**

Myf5: myogenic factor 5, MyoD : Myogenic differentiation, MRF4: muscle regulatory factor 4, YWHAZ standard gene

نتایج و بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد گلوتامین تأثیری بر وزن بدن (۴۰/۷۰ کیلوگرم در مقابل ۴۰/۶۵ کیلوگرم)، متوسط مصرف خوراک (۱۳۵۲/۲۲ گرم در مقابل ۱۳۲۲/۶۳ گرم) و ضریب تبدیل نداشت (۶/۸۵ در مقابل ۶/۶۱). نتایج پژوهش حاضر نشان داد تغذیه گلوتامین بیان ژن‌های Myf5 (۲/۷۵ برابر)، MyoD (۳/۸۹ برابر)،MRF4 (۲/۱۶ برابر)،Myogenin (۴/۷۶ برابر) را افزایش و بیان ژن Myostatin (۴/۵۴ برابر) را در روز ۲۱ آزمایش کاهش داد. در روز ۴۲ آزمایش نیز تغذیه گلوتامین مشابه روز ۲۱ تغذیه گلوتامین بیان ژن‌های Myf5 (۲/۱۰ برابر)، MyoD (۲/۵۶ برابر)،MRF4 (۲/۷۸ برابر)، Myogenin (۵/۲۵ برابر) را آزمایش افزایش و بیان ژن Myostatin (۳/۰۳ برابر) را بالعکس کاهش داد.



شکل ۱- تأثیر تغذیه گلوتامین بر بیان ژن‌های میوژنیک در روزهای ۲۱ و ۴۲ آزمایش در ماهیچه گوسفند زل در شرایط تنش گرمایی. حروف نامشابه هر در هرستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

Figure 1- Effect of glutamine feeding on myogenic genes expression at day 21 and 42 of experiment in muscle of Zell sheep under heat stress condition. [ab] Means within a column with different superscripts differ.

در مطالعه Nemati و همکاران (۲۰۱۸)، مصرف گلوتامین در رژیم غذایی گاوهای تازه (۲۵۰ و ۳۵۰ گرم برای هر گاو در روز) باعث افزایش ماده خشک مصرفی پس از زایمان شد، اما ماده خشک مصرفی در گروه با گلوتامین پایین‌تر (۱۵۰ گرم برای هر گاو در روز) با جیره شاهد تفاوت نداشت. در مطالعه‌ای در مورد گاوهای هلشتاین که تزریق شیردانی یا ۳۰۰ گرم در روز گلوتامین (گلوتامین محافظت نشده) دریافت کردند، گزارش داد که گلوتامین عملکرد شیر را افزایش داد اما DMI تمایل به افزایش داشت (Doepel

و همکاران، ۲۰۰۷). در یک مطالعه دیگر، تأثیر مکمل گلوتامین و اسید گلوتامیک (یک درصد) بر گردش کربن در ماهیچه‌های خوک و عملکرد حیوانات (ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل) بررسی شد؛ مکمل‌ها تأثیر معنی‌داری بر متغیرهای عملکردی نشان ندادند، اگرچه این مکمل گردش کربن را در عضلات تسریع می‌کند که نشان‌دهنده بهبود سریع‌تر پس از شیرگیری است و اثر آنابولیک آن‌ها ثابت‌شده است، اما هزینه بالای این افزودنی‌ها کاربرد آن را محدود می‌کند (Borges و همکاران، ۲۰۱۸).

نرخ رشد و عضله سازی صفات اقتصادی در پروش گوسفند هستند. گزارش‌شده است رشد ماهیچه تحت تأثیر فاکتورهای متعدد شامل RNAهای غیرکد کننده (Horak و همکاران، ۲۰۱۶)، فاکتورهای تنظیمی میوژنیک (*MRF*) (Zhong و همکاران، ۲۰۱۳)، سلول‌های ماهواره‌ای[1] (Bunprajum و همکاران، ۲۰۱۲) و میوستاتین (*MSTN*) می‌باشد (Shibata و همکاران، ۲۰۰۶). فاکتورهای تنظیمی میوژنیک یک کلاس حیاتی از فاکتورهای رونویسی مارپیچ پایه-مارپیچه حلقه (bHLH)[2] است که دربرگیرنده چهار ژن اصلی: *MyF5* (فاکتور میوژنیک ۵)؛ *MyoD* (فاکتور تعیین میوژنیک D)؛ *MRF4* و میوژنین است (Wood و همکاران، ۲۰۱۳). در خانواده ژن‌های فاکتورهای تنظیمی میوژنیک، *MyoD* و *Myf5* در مراحل اولیه میوژنز نقش دارند (Wood و همکاران، ۲۰۱۳) در حالی‌که میوژنین و *MRF4* با مرحله آخر تمایز در ارتباط است (Wood و همکاران، ۲۰۱۳). زمانی که این فاکتورهای رونویسی فعال می‌شوند، همودایمرهایی را با یکدیگر و هترودایمرهایی را با دیگر فاکتورهای رونویسی bHLH تشکیل می‌دهند که پروتئین‌های E خوانده می‌شوند. پس از تشکیل دایمرها، MRF ها به توالی نوکلئوتیدی در ناحیهٔ آغازگر ژن‌های تحت تأثیر، می‌پیوندند که به نام Ebox شناخته می‌شوند. اتصال MyoD و Myf5 به Ebox یک سری تغییرات موضعی را در کروماتین (بازسازی کروماتین) در منطقهٔ تنظیم‌کننده ژن، ایجاد می‌کند. این مسئله سبب فعال‌سازی اهداف ژنی ویژه‌ای توسط *MyoD* و *Myf5* می‌شود (Wang و همکاران، ۲۰۱۱، Wood و همکاران، ۲۰۱۳). الگوی رونویسی *MyoD* و*Myf5* با زنجیره سنگین میوژین در ماهیچه گاو بالغ در ارتباط است (Muroya و همکاران، ۲۰۰۲). فزون بر این، چندشکلی تک نوکلیوتیدی در ژن‌های *MRF4* (Wang و همکاران، ۲۰۱۱)، *Myf5* (Li و همکاران، ۲۰۰۴) و میوژنین (Sun و همکاران، ۲۰۱۴) به‌طور معنی‌داری همبستگی مثبت با صفات رشد و ماهیچه در گوسفند و گاو داشت. میوژنین سبب تشکیل میوتیوب‌ها شده و متعاقب آن تکامل طبیعی ماهیچه می‌شود (۲۲). میوستاتین توسط سلول‌های ماهیچه ترشح‌شده و رشد و تکثیر میوبلاست‌ها را مهار کره و یک فاکتور مهارکننده در تکامل طبیعی ماهیچه است (McPherron و Lee، ۱۹۹۷).

برخلاف بسیاری از فاکتورهای رشد و رونویسی که میوژنز را تنظیم می‌کنند، میوستاتین یک تنظیم‌کنندهٔ منفی رشد ماهیچه‌ای است. اگرچه بسیاری از فاکتورهای رشد، تمایز را از راه افزایش تکثیر به تأخیر می‌اندازند، خانوادهٔ بزرگ پپتیدی TGF-β که شامل BMP، TGF-β و میوستاتین است، نرخ تکثیر را کاهش می‌دهند و بدین ترتیب تمایز به تأخیر می‌افتد. میوستاتین با مهار بیان فاکتورهای میوژنیکی رونویسی *MyoD* و میوژنین از تمایز ژنتیکی، ممانعت می‌کند (Argiles و همکاران، ۲۰۱۲، Lieber، ۲۰۰۲). میوساتین مسئول مهار میوژنز از طریق مهار کردن فعال‌سازی *MYOD* و افزایش تجزیه پروتئینی در

[1] Satellite cells
[2] Basic helix-loop-helix (bHLH)

ماهیچه می‌باشد (Argiles و همکاران، ۲۰۱۲). اگرچه تغییری در بیان پروتئین MSTN گزارش نشد (۱). ژن *ANKRD1* برای چندین فاکتورمیوژنیک (MyoD و میوژنین) ژن هدف می‌باشد و در تمایز بافت ماهیچه، تغیر نوع فیبر ماهیچه وهایپرتروفی ماهیچه نقش دارد (Arimura و همکاران، ۲۰۰۹). این ژن در بره‌هایی که بیش‌ازحد تغذیه شدند کاهش یافت (Hoffman و همکاران، ۲۰۱۴، ۲۰۱۶). گزارش شده مشابه با ANKRD1 فاکتور رونویسی JUNB که مسئول نگهداری حجم ماهیچه و تحریک هایپرتروفی ماهیچه است در بره‌هایی که بیش‌ازحد تغذیه شدند کاهش یافت (Rafaello و همکاران، ۲۰۱۰) درنهایت منجر به کاهش سطح مقطع فیبرهای ماهیچه می‌شود (Reed و همکاران، ۲۰۱۸). در نتیجه کاهش بیان این ژن‌ها می‌تواند بر هایپرتروفی ماهیچه پس از زایش اثر بگذارد.

گلوتامین مهم‌ترین منبع انرژی برای سلول‌هایی که سریع تقسیم می‌شوند، از جمله انتروسیت‌ها، لنفوسیت‌های ایمنولوژیک و دیگر سلول‌ها است، ارائه‌ی آدنوزین تری فسفات (ATP) برای تبدیل پروتئین داخل سلولی (Xi و همکاران، ۲۰۱۲)، انتقال مواد مغذی از طریق غشاء پلاسمایی، رشد سلولی و نیز حفظ یکپارچگی سلول‌ها از وظایف آن است. گلوتامین اصلی‌ترین عامل انتقال نیتروژن است و اتم‌های کربن را برای متابولیسم واسطه فراهم می‌کند (Roth، ۲۰۰۸). همچنین یک پیش‌ساز برای ساخت نوکلئوتیدهای پورین و پیریمیدین است که برای تکثیر سلول‌ها ضروری است. گلوتامین به سنتز پلی‌آمین‌ها، آمینو قندها کمک می‌کند و برای ترکیب سنتز نیکوتین آمید آدنین دی نوکلوتید فسفات (NADP) ضروری است (Roth، ۲۰۰۸، Xi و همکاران، ۲۰۱۲). مهم‌تر از همه، گلوتامین به‌عنوان پیش ساز گلوتامات در ساخت گلوتاتیون به کار می‌رود؛ فراوان‌ترین آنتی‌اکسیدان مولکولی کوچک در سلول‌ها که برای دفاع از سلول‌ها از تنش اکسیداتیو بسیار مهم است.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به موارد بالا به نظر می‌رسد غلظت‌های پایین گلوتامین در پلاسما منعکس‌کننده کاهش ذخایر عضله است (Roth، ۲۰۰۸؛ Xi و همکاران، ۲۰۱۲) و این کاهش دسترسی به گلوتامین در حالت‌های کاتابولیک به نظر می‌رسد که سبب کاهش رشد ماهیچه و به دنبال آن عملکرد شود. لذا به نظر می‌رسد که مکمل گلوتامین طی شرایط تنش، به جبران یا کاهش کاتابولیسم متابولیک کمک کند. هنگامی‌که تنش طولانی شود، تولید گلوتامین در ماهیچه اسکلتی ممکن است نیاز به اندام و بافت لنفاوی را برآورده ننماید و کمبود آن رخ می‌دهد؛ بنابراین، نیاز به گلوتامین خارجی است. به همین دلیل استفاده از گلوتامین توانسته با کاهش شدت تنش و بهبود سوخت‌وساز به افزایش بیان ژن‌های میوژنیک در ماهیچه کمک کند.

سپاسگزاری

این طرح با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و بر اساس قرارداد پژوهشی به شماره ۰۳-۱۴۰۲-۰۶ انجام شد که بدین ترتیب از دانشگاه تشکر و قدردانی می‌شود. نویسندگان از همکاری خانم دکتر فیض و کارکنان مزرعه آموزشی- پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در طول این تحقیق سپاسگزاری می‌نمایند.

References

Argilés, J. M., Orpi, M., Busquets, S. & López-Soriano, F. J. (2012). Myostatin: More than just a regulator of muscle mass. *Drug Discovery Today*, 17(13–14):702–709.

Arimura, T., Bos, J. M., Sato, A., Kubo, T., Okamoto, H., Nishi, H., Harada, H., Koga, Y., Moulik, M., Doi, Y. L., Towbin, J. A., Ackerman M. J. & Kimura, A. (2009). Cardiac ankyrin repeat protein gene (ANKRD1) mutations in hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of American College of Cardiology*, 54(4):334–342.

Baumgard, L.H. & Rhoads, R.P. (2013). Effects of heat stress on post-absorptive metabolism and energetics, *Annual Review of Animal Biosciences*, 1: 311-337.

Borges Amorim, A., Dib Saleh, M. A., Mello Miassi, G. d. & Berto, D. A. (2018). Dietary supplementation with glutamine or glutamic acid for weanling piglets. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 53(2):229-237.

Bunprajun, T., Yimlamai, T., Soodvilai, S., Muanprasat, C. & Chatsudthipong, V. (2012). Stevioside enhances satellite cell activation by inhibiting of NF-jB signaling pathway in regenerating muscle after cardiotoxin-induced injury. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60:2844–2851.

Doepel, L., Lobley, G.E. & Lapierre, H. (2007). Effect of glutamine supplementation on splanchnic metabolism in lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90: 4325-4333.

adim, I.T., Mahgoub, O., Al–Marzooqi, W., Al–Ajmi, D.S., Al-Maqbali, R.S. & Al-Lawati S.M. (2008). The influence of seasonal temperatures on meat quality characteristics of hot-boned, *m. psoas major* and *minor*, from goats and sheep. *Meat Science*, 80: 210–215.

Hoffman, M. L., Peck, K.N., Forella, M.E., Fox, A.R., Govoni, K.E. & Zinn, S.A. (2016). The effects of poor maternal nutrition during gestation on postnatal growth and development of lambs. *Journal of Animal Science*, 94(2):789–799.

Hoffman, M. L., Rokosa M. A., Zinn, S.A., Hoagland, T.A. & Govoni, K.E. (2014). Poor maternal nutrition during gestation in sheep reduces circulating concentrations of insulin-like growth Factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 in offspring. *Domestic Animal Endocrinology*, 49:39–48.

Horak, M., Noavk, J. & Bienertova-Vasku, J. (2016). Muscle specific microRNAs in skeletal muscle development. *Developmental Biology*, 410:1–13.

Huang, Z., Chen, X. & Chen, D. (2011). Myostatin: A novel insight into its role in metabolism, signal pathways, and expression regulation. *Cell Signal*, 23(9):1441–1446.

Li, C., Basarab, J., Snelling, W.M., Benkel, B., Murdoch, B., Hansen, C. & Moore S.S. (2004). Assessment of positional candidate genes myf5 and igf1 for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of Bos taurus. *Journal of Animal Science*, 82:1–7.

Lieber, R.L. (2002) *Skeletal Muscle Structure, Function and Plasticity*. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, Pennsylvania, 369 pp.

McPherron, A.C. & Lee, S.J. (1997). Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94:12457–12461

Muroya, S., Nakajima, I. & Chikuni, K. (2002). Related expression of MyoD and Myf5 with myosin heavy chain isoform types in bovine adult skeletal muscles. *Zoological Science*, 19:755–761.

Nemati, M.; Menatian, S; Joz Ghasemi, Sh.; Hooshmandfar, R.; Taheri, M. & Saifi, T. (2018). Effect of protected-glutamine supplementation on performance, milk composition and some blood metabolites in fresh Holstein cows. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 19(3):225-228

Raffaello, A., Milan, G., Masiero, E., Carnio, S., Lee, D., Lanfranchi, G., Goldberg, A.L. & Sandri, M. (2010). JunB transcription factor maintains skeletal muscle mass and promotes hypertrophy. *Journal of Cell Biology*, 191(1):101–113.

Reed, S. A., Raja, J. S., Hoffman, M. L., Zinn, S. A. & Govoni, K. E. (2014). Poor maternal nutrition inhibits muscle development in ovine offspring. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 5(1):43.

Roth, E. (2008). Nonnutritive Effects of Glutamine. *Journal of Nutrition*, 138: 2025S–2031S.

Shibata, M., Matsumoto, K., Aikawa, K., Muramoto, T., Fujimura, S. & Kadowaki, M. (2006). Gene expression of myostatin during development and regeneration of skeletal muscle in Japanese Black Cattle. *Journal of Animal Science*, 84, 2983–2989.

Sun, W., Su, R., Li, D., Musa, H.H., Kong, Y., Ding, J.T., Ma, Y.H., Chen, L., Zhang, Y.F. & Wu, W.Z. (2014). Developmental changes in IGF-I and MyoG gene expression and their association with meat traits in sheep. *Genetics and Molecular Research*, 13:2772–2783.

Venuti, J.M., Morris, J.H., Vivian, J.L., Olson, E.L. & Klein, W.H. (1995). Myogenin is required for late but not early aspects of myogenesis during mouse development. *Journal of Cell Biology*, 128:563–576.

Wang, S., Cai, X., Xue, K. & Chen, H. (2011). Polymorphisms of MRF4 and H-FABP genes association with growth traits in Qinchuan cattle and related hybrids. *Molecular Biology Reports*, 38:1013–1020.

Wood, W.M., Etermad, S., Yamamoto, M. & Goldhamer, D.J. (2013). MyoD-expressing progenitors are essential for skeletal myogenesis and satellite cell development. *Development Biology*, 384:114–127.

Wu, G., Bazer, F.W., Wallace, J. M. & Spencer, T. E. (2006). Intrauterine growth retardation: Implications for the animal sciences. *Journal of Animal Science*, 84(9):2316–2337.

Xi, P., Jiang, Z., Dai, Z., Li, X., Yao, K., Zheng, C., Lin, Y., Wang, J. & Wu, G. (2012). Regulation of protein turnover by L-glutamine in porcine intestinal epithelial cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(8): 1012-1017.

Yan, X., Huang, X., Zhao, J. X., Rogers, C. J., Zhu, M. J., Ford, S. P., Nathanielsz, P. W. & Du, M. (2013). Maternal obesity downregulates microRNA let-7g expression, a possible mechanism for enhanced adipogenesis during ovine fetal skeletal muscle development. *International Journal of Obesity*, 37(4):568–575.

Zhong, T., Jin, P.F., Dong, E.N., Li, L., Wang, L.J. & Zhang, H.P. (2013). Caprine sex affects skeletal muscle profile and MRFs expression during postnatal development. *Animal Science Journal*, 84: 442–448.