مقاله پژوهشی

مجله علوم و فنون دریایی | صفحات۴۲-۵۱ | دوره ۱۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹

بررسی تغییرات پارامترهای متابولیسم انرژی در مغز ماهی قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)* در طول مراحل ابتدایی دوره پرورش

محمد رحیمی[۱]، سید محمد موسوی[۱*]، وحید یاوری[۱]، آناهیتا رضائی[۲]

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۰

شناسه دیجیتال (DOI) : 10.22113/jmst.2018.101349.2068

چکیده

جهت بررسی تغییرات متابولیسم انرژی در مغز ماهیان قزل آلا در طول دوره پرورش از بچه ماهیان قزل آلا از متوسط وزن ۰/۱۵±۱/۳۵ به مدت ۷ ماه نمونه گیری بعمل آمد. برای این منظور طی دوازده مرحله نمونه برداری به صورت کاملا تصادفی از ماهیان (۷ نمونه هر ۸ روز یکبار، ۳ نمونه هر دو هفته یکبار،۲ نمونه هر یک ماه یکبار)، بافت مغز برای تعیین غلظت‌های گلیکوژن، گلوگز، لاکتات، لاکتات دهیدروژناز، پیرووات کیناز، گلوگز ۶ فسفاتاز استخراج و در تانک ازت مایع نگهداری و به آزمایشگاه انتقال یافت. نتایج نشان داد که در طی دوره نمونه برداری، تغییرات معنی‌داری در میزان متابولیت‌های مورد سنجش مشاهده شد، به‌طوری‌که غلظت گلیکوژن و لاکتات دارای یک شیب افزایشی نسبت به افزایش سن ماهی بودند ولی غلظت گلوگز از یک شیب افزایشی تبعیت نکرد و در مرحله هفتم نمونه‌برداری، کمترین مقدار گلوگز در مغز مشاهده شد. غلظت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم انرژی نیز نوسانات را در طی مراحل نمونه گیری نشان دادند و یک روند افزایشی در میزان هر ۳ آنزیم مورد سنجش مشاهده گردید. در پایان می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که عوامل محیطی، تغذیه‌ای و همچنین میزان متفاوت نیاز ماهی به انرژی در زمان‌های مختلف روی میزان متابولیت‌ها و آنزیم‌های دخیل در متابولیسم انرژی تاثیرگذار می باشد. هرچند که با افزایش سن ماهی میزان تولید این متابولیت ها افزایش نشان داده و بر متابولیسم انرژی در مغز نیز تاثیر خود را می گذارند.

واژه های کلیدی: متابولیسم انرژی؛ قزل‌آلای رنگین کمان؛ مغز

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: seied1356@yahoo.com

۱. مقدمه

مغز از نظر سوخت و ساز یکی از فعال‌ترین اندام‌ها است و حساسیت زیادی به اختلال در متابولیسم انرژی دارد. مغز توسط سد خونی- مغزی از گردش خون سیستمیک بدن جدا می‌شود و به طور انتخابی میزان انتقال مواد محلول را بین خون و مغز محدود می‌کند. هر اقدامی که یکپارچگی ساختمانی و عملکردی را در سلول‌های عصبی قطع کند به ناچار رفتار سوخت و سازی طبیعی سلول‌های عصبی نیز تغییر می‌کند (Magistretti, 1999; Soengas, 2002). بافت مغز ۱-۰/۱ درصد از وزن بدن مهره داران را شامل می شود. مغز نسبت به اندازه‌ای که دارد انرژی بسیار بیشتری مصرف می‌کند، در نتیجه مغز بزرگ، یک چالش انرژیتیک بزرگ برای جانور به حساب می‌آید. در مهره‌داران خونگرم، ۸/۵- ۱/۵ درصد از انرژی کل بدن را مصرف می‌کند و در مهره-داران خونسرد این رقم ۳/۴-۲/۷ درصد می‌باشد (Van Ginneken et al., 1996; Soengas, 2002).

سد خونی-مغزی، امکان انتقال گلوگز، مونو کربوکسیلات (لاکتات، پیرووات و اجسام کتونی) و اسیدهای آمینه را می‌دهد، هر چند که میزان انتقال آنها به طور قابل توجهی کمتر از مقدار گلوگز است. اکسیداسیون گلوگز و فسفوریلاسیون اکسیداتیو، اغلب انرژی مورد نیاز مغز را در ماهیان استخوانی تامین می‌کند (Singer and Ballantyne, 1989; DeRoos, 1994).

Jose و Manuel در سال ۲۰۰۲ با مطالعه متابولیسم انرژی در مغز ماهی بیان داشتند که گلوگز به عنوان ماده اصلی برای تامین انرژی مغز در ماهیان استخوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد و در مواقع کمبود گلوگز به جای آن لاکتات یا کتون مصرف می-شود و نشان دادند که مسیر اصلی متابولیسم انرژی در مغز ماهی به وسیله چندین فاکتور تغییر می‌یابد که شامل عوامل محیطی، غذا و آلودگی می‌باشد، به-طوری‌که فقدان غذا و همچنین آلودگی در محیط زندگی ماهیان استخوانی سبب گلیکوژنولیز و استفاده از کتون‌ها می‌شود و کمبود اکسیژن محیط سبب افزایش گلیکولیز بی‌هوازی در مغز ماهیان می‌گردد. فعالیت نسبتا بالای ۶- فسفوفروکتوز ۱- کیناز (PFK)، پیرووات کیناز (PK) و هگزوکیناز (HK) در مغز گونه‌های ماهیان استخوانی شرایط را برای انجام فعالیت گلیکولیز فراهم می‌کنند (Ferguson and Storey,1992; Soengas et al., 1998). همچنین در کنار گلوکلیز در مغز، فرآیند گلوکونئوژنزیس دیده می‌شود که طی این مسیر، گلوکز از منابع غیر قندی، مانند لاکتات، اسیدهای آمینه قندساز، گلیسرول و پیرووات ساخته می‌شود و آنزیم‌های دخیل در این مسیر عبارتند از: پیرووات کربوکسیلاز (PC)، فسفو انول پیروات کربوکسیلاز (PEPCK)، فروکتوز ۱-۶ بی فسفاتاز (FBPase) و گلوگز ۶- فسفاتاز (G-6-Pase). در ماهیان الاسموبرانش و لامپری، گلوکونئوژنزیس با مقدار فعالیت بالای آنزیم گلوگز ۶ فسفاتاز انجام می-شود و در ماهیان استخوانی با افزایش فعالیت آنزیم-هایی مثل FBP، PEPCK، G-6-PASE و دو برابر بودن لاکتات در مغز در مقایسه با خون، امکان گلوگونئوژنز در مغز این ماهیان وجود دارد (Soengas et al, 2002; Hamprecht and Dringen,1995; Ferguson and Storey, 1992). با توجه به اطلاعات کم موجود در تغییرات متابولیک در طی یک دوره رشد در مغز ماهی قزل آلا، هدف اصلی این مطالعه بررسی میزان و چگونگی متابولیسم، تامین انرژی و آنزیم های دخیل در متابولیسم انرژی (گلوکز-۶-فسفاتاز، پیرووات کیناز و لاکتات دهیدروژناز) می-باشد.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. آماده سازی شرایط پرورش و نمونه برداری:

این بررسی روی بچه ماهیان با میانگین وزن ۱/۳۵±۰/۱۵ گرم شروع شد و در طی مراحل تکامل و رشد ماهی، به مدت ۷ ماه در فصل های تابستان، پائیز و زمستان، در کارگاه شرکت تهران قزل‌آلا در شهرستان فیروزکوه انجام پذیرفت. ماهیان در داخل

استخرهای بچه ماهی و پرواری برحسب وزن نگهداری شدند. ماهیان در داخل استخر و تراف با غذای بیومار و مکمل اصفهان، برحسب درصد وزن بدن بر اساس جداول استاندارد تغذیه شدند. آب مورد نیاز از منبع چاه تامین شده که دبی آب ورودی برای هراستخر و کانال ۵/۲ لیتر در ثانیه بود. شرایط محیطی کاملا تحت شرایط طبیعی پرورش قرار داشت. برای بررسی متابولیسم انرژی در مغز ماهی، ۷ نمونه هر ۸ روز یکبار، سپس ۳ نمونه هر دوهفته یکبار و در نهایت ۲ نمونه هر یک ماه یکبار به صورت کاملا تصادفی از بین ماهیان موجود در استخر، نمونه-گیری انجام شد. در هر بار نمونه‌گیری، ۱۵ عدد ماهی به صورت تصادفی انتخاب شدند و ماهیان به وسیله گل میخک (به میزان ۱۵۰ قسمت در میلیون)، بیهوش شدند. در مورد ماهیان با وزن ۲ تا ۱۰ گرم (به دلیل سایز کوچک آنها) سر ماهی از ناحیه پشت سرپوش آبششی قطع شده و کل سر در داخل یک عدد ویال قرار گرفته و بلافاصله در تانک ازت مایع قرار گرفتند. برای ماهیان با وزن بالای ۱۰ گرم، بعد از بیهوشی ماهیان، مغز آنها جدا شده و در داخل ویال‌های ۲ میلی لیتری، قرار داده و سپس در داخل تانک ازت قرار گرفت.

۲-۲. اندازه گیری آنزیم های شرکت کننده در متابولیسم انرژی:

برای ارزیابی فعالیت آنزیمی، بافت مغز بلافاصله پس از خروج از تانک ازت، با استفاده از دستگاه هموژنایزر (مدل IKA®T18 basic ساخت کشور آمریکا)، در محلول بافر فسفات سدیم به نسبت ۱ به ۱۰ (وزنی-حجمی)، هموژن شده و بعد از سانتریفیوژ، محلول شفاف بالایی برای ارزیابی فعالیت آنزیم ها مورد استفاده قرار گرفت.

میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) عصاره بافت بر اساس تبدیل پیروات به لاکتات در طول موج 245 نانومتر و توسط دستگاه اتوآنالایزر (BS-200، Mindray,China) صورت گرفت (Shanmugam et al., 2010). اندازه گیری مقادیر گلوکز ۶ فسفاتاز بر اساس تاثیر این آنزیم روی گلوکز ۶ فسفات و تبدیل آن به گلوکز و فسفر می باشد که مقدار فسفر تولید شده در طول موج ۶۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Visible, Germany) و بر اساس روش Taussky-Shorr، مورد سنجش قرار گرفت و بر اساس آن میزان فعالیت آنزیم گلوکز ۶ فسفاتاز، اندازه گیری گردید (Nordlie and Arion, 1966). اندازه گیری میزان پیرووات کیناز با استفاده از کیت تشخیصی (Abcam, USA) صورت گرفت. در این آزمایش، فسفوانول پیرووات و آدنوزین دی فسفات، توسط پیرووات کیناز کاتالیزه شده و تولید پیرووات و آدنوزین تری فسفات می نماید. پیرووات تولیدی در مرحله بعدی توسط پیرووات اکسیداز اکسیده شده و تولید رنگ می نماید که تغییر رنگ حاصله در طول موج ۵۷۰ نانومتر سنجیده می شود که با میزان پیرووات کیناز موجود در نمونه در ارتباط است (Liu et al., 2014).

۲-۳. اندازه گیری میزان متابولیت های انرژی:

سنجش میزان گلوکز با استفاده از روش ارتوتولوئیدین بلو انجام گردید. مقدار جذب نور مشتق رنگی حاصل از این آزمایش در طول موج ۶۳۰ نانومتر در مقایسه با محلول استاندارد، مقدار گلوکز موجود در نمونه را مشخص می سازد (Nikokar, 1999). جهت تعین مقدار گلیکوژن از تاثیر اسیدهای غلیظ بر کربوهیدرات‌ها و تولید مشتقات فورفورال استفاده شد. این مشتقات در مجاورت فنل‌ها متراکم شده و تولید کمپلکس رنگی می نماید. میزان جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر با میزان تولید این ترکیبات متناسب می باشد (Kemp et al., 1954). لاکتات با استفاده از یک روش کالریمتری بر اساس ال-لاکتات اکسیداز و با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون)، سنجیده شد و نتایج بر اساس mmol/L بیان شد (Caines, et al., 2013).

۲-۴. شیوه و روش تجزیه و تحلیل:

نمونه‌برداری به صورت تصادفی و در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. آنالیز داده ها توسط نرم افزار

واریانس یک طرفه (One-Way ANONA) با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۱، صورت پذیرفت. داده‌های بدست آمده در ارتباط با میزان فعالیت آنزیمی و منابع تامین کننده انرژی در سنین مختلف به کمک آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۹۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد بیان شدند.

۳. نتایج

مقادیر متابولیت های انرژی در مغز نمونه های لارو و بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان بعد از تخم گشایی:

تغییرات در غلظت‌های گلوگز، لاکتات و گلیکوژن مغز ماهی در جدول ۱ نشان داده شده است. بر این اساس مقدار گلوگز در مغز در مرحله دهم نمونه‌گیری (۱۱۶ روز پس از تخم گشایی)، به طور معنی‌داری بیشتر از سایر مراحل بود یا به عبارت دیگر ماهی با وزن بالاتر از ۲۵ گرم، غلظت گلوگز مغز آن بیشتر از ماهی با وزن کمتر از ۲۵ گرم بود. غلظت گلیکوژن مغز با افزایش سن ماهی تقریبا با یک شیب نسبتا آرام افزایش یافت، به‌صورتی‌که بیشترین مقدار گلیکوژن به طور معنی‌داری در مرحله دهم نمونه‌گیری مشاهده گردید. مقدار لاکتات در سه مرحله اول نمونه‌گیری ثابت بوده و اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند و سپس در مراحل بعدی به تدریج افزایش نشان داد و در مرحله دهم نمونه‌گیری، بیشترین مقدار لاکتات مغز را به طور معنی‌داری به خود اختصاص داد. جدول ۱ نشان می‌دهد که غلظت گلیکوژن و لاکتات دارای یک شیب افزایشی نسبت به افزایش سن ماهی هستند، ولی غلظت گلوگز از یک روند و شیب ثابت افزایشی تبعیت نمی‌کند و در مرحله هفتم نمونه-گیری کمترین مقدار گلوگز مغز نشان داده شده است. هر چند که در کل روند نمونه‌گیری، افزایش گلوگز مغز در مراحل انتهایی مشاهده گردید.

جدول ۱ : غلظت متابولیت های انرژی در مغز ماهی قزل آلای رنگین کمان در مراحل مختلف نمونه گیری

شماره گروه نمونه برداری	زمان نمونه برداری (سن پس از تخم گشایی بر اساس روز)	میانگین وزن نمونه-ها (گرم)	غلظت متابولیت های انرژی در مغز ماهی (بر حسب میکرومول در گرم)		
			گلوکز	گلیکوژن	لاکتات
۱	۲۸	۱	۳/۴۵ ±۰/۲۱ ^{cd}	15/67±0/23 ^{h}	2/9±0/4 ^{f}
۲	۳۴	۱/۵	2/74± 0/91 ^{e}	14/93±0/43 ^{i}	3/01±0/17 ^{f}
۳	۴۲	۲	2/61± 0/12 ^{e}	15/81±0/18 ^{h}	3±0/01 ^{f}
۴	۵۰	۲/۵	3/44±0/13 ^{cd}	18/24±0/66 ^{g}	3/22±0/6 ^{e}
۵	۵۶	۳	3/45±0/28 ^{cd}	18/35±0/49 ^{g}	3/27±0/28 ^{de}
۶	۶۴	۴	3/2±0/14 ^{d}	21/6±0/2 ^{e}	3/44±0/05^{d}
۷	۷۲	۷/۵	2/2±0/26 ^{f}	18/17±0/34 ^{g}	3/21±0/05 ^{e}
۸	۸۵	۱۶	2/8±0/75 ^{e}	20/49±0/25 ^{f}	3/26±0/08 ^{de}
۹	۱۰۱	۳۰	3/9±0/49 ^{b}	25/31±0/76 ^{d}	3/85±0/12 ^{c}
۱۰	۱۱۶	۵۵	4/5±0/11 ^{a}	37/35±0/29 ^{a}	4/11±0/23 ^{a}
۱۱	۱۴۵	۹۰	3/64±0/43 ^{c}	30/26±0/32 ^{b}	4/04±0/2 ^{ab}
۱۲	۱۷۴	۱۵۰	3/5±0/12 ^{cb}	27/36±0/17 ^{c}	3/99±0/05 ^{b}

* وجود حروف متفاوت در هر ستون، نشانه اختلاف معنی دار می باشد. تمام نتایج بصورت Mean ±SE و با سطح معنی داری ۹۵٪ ذکر شده اند ($p<0.05$).

مقادیر آنزیم های دخیل در متابولیسم انرژی در مغز نمونه های لارو و بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان بعد از تخم گشایی:

جدول۲، تغییرات غلظت‌های آنزیم‌های دخیل در متابولیسم انرژی را در مراحل مختلف نمونه‌گیری نشان می‌دهد. مقدار لاکتات دهیدروژناز در مراحل مختلف نمونه‌برداری دارای تغییرات و نوسان کمی بوده به صورتی که بیشترین مقدار آن با غلظت ۱/۱۸ IU/mg protein در مرحله دهم نمونه‌گیری و کمترین مقدار آن با غلظت ۰/۹۷ IU/mg protein در مرحله دوم و سوم نمونه‌برداری مشاهده شد. مقدار گلوگز ۶ فسفات هم در مراحل مختلف نمونه‌برداری از مرحله اول تا سوم دارای غلظت ثابت بوده و از مرحله دهم تا دوازدهم مقدار آن افزایش می یابد و بیشترین مقدار گلوگز ۶ فسفات با غلظت mIU/mg ۴/۷۶protein در مرحله دهم نمونه‌گیری ثبت شده است و مقدار آنزیم پیرووات کیناز از الگوی خاصی پیروی نکرده و در مراحل مختلف نمونه گیری دارای روند افزایشی و کاهشی می باشد و کمترین مقدار آن با غلظت ۵/۸۷ U/mg protein در مرحله دوم و بیشترین مقدار آن با غلظت ۸/۹۲ U/mg protein در مرحله نهم ثبت گردید.

جدول2 : فعالیت آنزیم های دخیل در متابولیسم انرژی در مغز ماهی قزل آلای رنگین کمان در مراحل مختلف نمونه برداری

شماره گروه نمونه برداری	زمان نمونه برداری (سن پس از تخم گشایی بر اساس روز)	میانگین وزن نمونه-ها (گرم)	میزان فعالیت آنزیم های دخیل در متابولیسم انرژی		
			LDH (IU/mg Protein)	G6pase (mIU/mg Protein)	PK (IU/mg Protein)
۱	۲۸	۱	۱/۰۳±۰/۱۵ d	۳/۸۶±0/13 cd	۶/۹۳±0/19 cd
۲	۳۴	۱/۵	۰/۹۷±0/15 e	۴/۰۳±0/18 c	۵/۸۷±1/19 d
۳	۴۲	۲	۰/۹۷±۰/۱۱ e	۳/۸۰±0/73 d	۶/۹۲±0/65 cd
۴	۵۰	۲/۵	۱/۰۴±0/08 d	۳/۹۴±0/28 cd	۸/۶۷±0/25 ab
۵	۵۶	۳	۱/۰۶±0/23 cd	۴/۰۳±0/08 c	۸/۴۱±0/12 abc
۶	۶۴	۴	۱/۰۲±0/08 b	۴/۰۳±0/01 c	۸/۴۳±0/28 abc
۷	۷۲	۷/۵	۱/۱۲±0/08 d	۴/۰۲±0/02 c	۷/۲۵±0/24 abc
۸	۸۵	۱۶	۱/۰۶±0/03 cd	۴/۰۴±0/01 c	۸/۳۵±0/19 bc
۹	۱۰۱	30	۱/۱±0/08 bc	۴/۰۶±0/05 c	۸/۹۲±0/13 a
۱۰	۱۱۶	55	۱/۱۸±0/32 a	۴/۹۶±0/03 a	۸/۴۵±0/55 abc
۱۱	۱۴۵	90	۱/۱۴±0/08 ab	۴/۷۶±0/04 b	۷/۹۲±۰/۰۸ abc
۱۲	۱۷۴	150	۱/۱۳±0/33 b	۴/۷۴±0/15 b	۷/۹۳±0/11 abc

* وجود حروف متفاوت در هر ستون، نشانه اختلاف معنی دار می باشد. تمام نتایج بصورت Mean ±SE و با سطح معنی داری ۹۵٪ ذکر شده اند ($p<0.05$).

۴. بحث و نتیجه گیری

بررسی مقادیر متابولیت‌های انرژی و فعالیت آنزیم-های دخیل در متابولیسم انرژی، در مغز در مطالعات متعدد روی گونه‌های مختلف مثل ماهی کپور (*Cyprinus carpio*)، گلدفیش (*Carassius auratus*)، قزل آلای رنگین کمان، سالمون (*Salmo salar*)، مارماهی (*Anguilla anguilla*) و الاسموبرانش‌ها و لامپری (Petromyzontiformes)

انجام شده است (Foster et al.,1993; Ferrando and Andreu-Moliner.,1991; Lutz and Nilsson, 1997; Soengas et al., 1998).

مغز ماهی توسط سد خونی- مغزی از گردش خون سیستمیک بدن جدا می‌شود و امکان انتقال گلوگز، مونوکربوکسیلات‌ها (لاکتات، پیرووات و اجسام کتونی) و اسیدهای آمینه را می‌دهد (Magistretti, 1999; Soengas, 2002). در مغز ماهیان استخوانی مصرف اکسیژن و تولید دی اکسید کربن از مواد مختلف، بیان کننده این است که بهترین ماده برای اکسید شدن، گلوگز و لاکتات بوده هر چند که بتا – هیدروکسی بوتیرات کمتر از یک درصد گلوگز و لاکتات مصرف می‌شود (Soengas et al., 1998; Soengas, 2002)

افزایش مشابهی از گلیکوژن در مقایسه با گلوگز در برخی از مراحل نمونه گیری در مغز ماهی دیده می شود که احتمالا به افزایش فعالیت گلیکوژنز از گلوگز ناشی می‌شود، لذا زمانی که گلیکوژن مغز افزایش می‌یابد با افزایش سنتز گلیکوژن و فرآیند گلیکوژنز در ارتباط می‌باشد که می‌تواند منجر به افزایش مقادیر گلیکوژنز شود. تغییرات لاکتات نیز می‌تواند ناشی از افزایش گلیکولیز و تولید لاکتات از گلوگز باشد (Figueroa et al., 2000; Polakof, 2007). فعالیت بالای آنزیم LDH در مغز ماهیان استخوانی نشان دهنده این است که این آنزیم عامل محدود کننده در مصرف لاکتات نمی‌باشد. بنابراین اهمیت لاکتات به عنوان یک سوخت متابولیکی در مغز ماهیان استخوانی بیشتر می‌شود و استفاده از لاکتات در مغز ماهی استخوانی ممکن است به عنوان سوخت اصلی سلول‌های آستروسیت که در فرآیند گلیکونئوژنز دخالت دارند، ارتباط داشته باشند. در 20 سال اخیر نشان داده شده است که آستروسیت ها نه فقط در حمایت فیزیکی و تغذیه نورون ها، بلکه در تکوین عصبی و شکل گیری سیناپس ها، تنظیم جریان خون بافت عصبی و انرژی، تنظیم میانجی های عصبی و حتی پاسخ های ایمنی در سیستم عصبی دارای اهمیت فراوان هستند.

بسیاری از گونه‌های ماهی شامل الاسموبرانش ها و ماهیان استخوانی که دوره‌های هیپوگلیسمیا و کم خونی را تحمل نموده‌اند، دارای غلظت بالایی از گلیکوژن مغز تا حدود ۱۰۰ میکرومول در گرم می-باشند (Foster et al., 1993; Plisetskaya, 1985). این ماهیان با سطح گلیکوژن بالا که بدون هیچ گونه علائمی تحت هیپوگلیسمیا شدید قرار می‌گیرند، گلیکوژن را به عنوان یک منبع انرژی در مسیر گلیکولیز استفاده می‌کنند. بنابراین مغز برخی ماهیان به منظور تامین انرژی خود، ممکن است به کربوهیدرات خارجی نیازمند نبوده و غلظت های بالای گلیکوژن داخل مغز به جای گردش خون به عنوان منبع گلوگز در این ماهیان (الاسموبرانش، دهان گردان و ماهیان استخوانی) باشد (Foster et al., 1993; Plisetskaya, 1985; Moon and Mommsen, 1987; DeRoos,1994).

در ماهیان استخوانی، سطح گلیکوژن مغز در چندین گونه ماهی از قبیل گلدفیش، کپور، قزل آلا، سالمون و مار ماهی اندازه‌گیری شده است (Foster et al.,1993; Ferrando and Andreu-Moliner,1991; Lutz and Nilsson, 1997; Soengas et al., 1998)،که مقدار آن در مغز ماهیان استخوانی، ۱۰-۵ برابر کمتر از دهان گردان و الاسموبرانش ها بوده است. تغییرات در مقدار گلیکوژن در گونه‌های مختلف ماهی با تغییر در درصد فعالیت آنزیم‌های Gpase و Gsase همراه است که در مسیر گلیکوژنولیز و گلیکوژنز نقش دارند (Clarke et al., 1989) که نتایج حاصل از این تحقیق را تایید می‌کند، به‌طوری‌که بیشترین مقدار گلیکوژن مغز ماهی قزل‌آلا در این تحقیق ۳۰/۲۶ میکرومول بر گرم بوده که در مقایسه با لامپری، ۱۰۰ میکرومول بر گرم، مقدار گلیکوژن در قزل آلا حدود ۲/۵ برابر کمتر از لامپری می‌باشد که به ذخیره کمتر گلیکوژن در مغز ماهی قزل آلا و تکیه بیشتر بر مصرف گلوگز به عنوان سوخت اصلی در مغز این گونه اشاره دارد.

افزایش مقدار گلیکوژن بعد از تغذیه در ماهی آزاد آتلانتیک و ماهی قزل آلا نیز نشان داده شده است. بر اساس مطالعات صورت گرفته توسط Figueroa و همکاران در سال ۲۰۰۰ مشاهده شده است که با افزایش درصد فعالیت آنزیم Gpase با افزایش گلیکوژنز همراه بوده به‌طوری‌که این آنزیم در ماهیان گرسنه یا قطع غذا شده کاهش می‌یابد و نشان می-دهد که تغییرات روزانه در پارامترهای گلیکوژنیک بیشتر به تغذیه وابسته است و در عوض در ماهیان قطع غذا شده استفاده از دیگر ترکیبات مثل اجسام کتونی افزایش می‌یابد. لذا بر اساس مطالعات انجام گرفته، ساعات نمونه‌گیری و زمان غذادهی ماهیان می‌تواند بر نتایج این تحقیق تاثیر گذار باشد.

اکثر ماهیان دوره‌های محرومیت غذایی را به دلایلی مثل نوسانات فصلی یا طول دوره تخمریزی تجربه می‌کنند. مطالعات صورت گرفته در ارتباط با محرومیت غذایی در گونه‌های مختلف نشان داده است که مقدار گلیکوژن، اکسیداسیون گلوگز، فعالیت آنزیم‌های هگزوکیناز، پیرووات کیناز و گلیکوژن سنتتاز کاهش می‌یابد و مقدار سطح لاکتات، بتا هیدروکسی بوتیرات و آنزیم لاکتات دهیدروژناز و گلیکوژن فسفاتاز افزایش می‌یابد (Soengas et al., 1996; DeRoos, 1994; Blasco et al, 1996). در این مطالعه در مرحله ۷ نمونه گیری بر اساس ترکیبات اندازه گیری شده مقدار گلوگز، گلیکوژن و پیرووات کیناز کاهش و مقدار لاکتات و آنزیم لاکتات دهیدروژناز افزایش نشان می‌دهد که می‌تواند نشان دهنده این موضوع باشد که احتمالا در مرحله هفت نمونه برداری، ماهیان تحت شرایط محرومیت غذایی قرار داشته‌اند و نمونه‌گیری در شرایط گرسنگی انجام شده است. این تغییرات در متابولیت ها انرژی، بر این موضوع حکایت دارد که تحت شرایط محرومیت غذایی و قطع تغذیه به هر دلیلی، در مغز ماهی به روش های مختلف از قبیل کاهش اکسیداسیون گلوگز، کاهش ظرفیت گلیکولیز و کاهش فعالیت HK و PK، کاهش متابولیسم در مغز رخ می‌دهد.

میزان اکسیژن محلول روی متابولیسم انرژی در مغز تاثیر دارد به‌طوری‌که مغز بافتی است که شرایط عدم وجود اکسیژن برای آن غیر قابل تحمل می باشد و تحت شرایط هیپوکسی یا آنوکسی در گونه‌های مختلف ماهی اثبات شده است که میزان گلیکولیز، مقدار لاکتات، بتا هیدروکسی بوتیرات، فعالیت آنزیم پیرووات کیناز (PK) و گلوکز-۶-فسفاتاز (Gpase) افزایش می‌یابد و مقدار گلیکوژن و نیاز به انرژی کاهش می‌یابد (Hylland and Nilsson,1999; Van Ginneken et al.,1996). یک راه مقابله بر کمبود اکسیژن در شرایط هیپوکسی، افزایش میزان تحویل گلوگز به مغز با افزایش سطح قند خون یا با افزایش جریان خون به مغز می باشد که در ماهیان استخوانی هر دو مسیر به اثبات رسیده است (Johansson et al., 1995; Lutz and Nilsson, 1997). در نهایت با توجه به نتایج حاصله می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که احتمالا ماهی قزل‌آلا علاوه بر گلوکز از سایر منابع نظیر گلیکوژن نیز به منظور تامین انرژی مغز خود بهره می‌برد. همچنین با افزایش سن ماهی و نیاز به انرژی بیشتر، میزان گلیکوژن و گلوکز نیز افزایش می‌یابد و متعاقب آن تاثیر خود را روی آنزیم‌های متابولیسمی نیز می‌گذارد. همچنین زمان نمونه-برداری و شرایط ماهی در زمان نمونه‌برداری می‌تواند در میزان آنزیم‌های دخیل در متابولیسم و متابولیت-های انرژی در مغز ماهی موثر باشد.

تشکر و قدردانی:

این تحقیق در قالب رساله دانشجویی مقطع دکتری رشته تکثیر و پرورش آبزیان و با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام گرفته است. مولفین از کلیه افرادی که در اجرای این تحقیق همکاری داشته‌اند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

Blasco, J., Ferna´ndez-Borra´s, J., Marimon, I., Requena, A., 1996. Plasma glucose kinetics and tissue uptake in brown trout in vivo: effect

Hylland, P. and Nilsson, G.E., 1999. Extracellular levels of amino acid neurotransmitters during anoxia and forced energy deficiency in crucian carp brain. Brain Research, 823, 49–58

Johansson, D., Nilsson, G.E. and Tornblon, E., 1995. Effects of anoxia on energy metabolism in crucian carp brain slices studied with microcalorimetry. Journal of Experimental Biology. 198, 853–859

Kemp, A., Adrienne, J.M. and Van Hejningen, K., 1954. A colorimetric method for the determination of glycogen in tissues. The Biochemical Journal, 56: 640-648.

Liu, J., Wu, N., Ma, L., Liu, M., Liu G., Zhang Y., Lin, X., 2014. Oleanolic acid suppresses aerobic glycolysis in cancer cells by switching pyrivate kinase type M isoforms. Plos One. 9: e91606.

Lutz, P.L. and Nilsson, G.E., 1997. Contrasting strategies for anoxia brain survival — glycolysis up or down. Journal of Experimental Biology. 200, 411–419.

Magistretti, P.J., 1999. Brain energy metabolism. In: Zigmond, M.J., Bloom, F.E., Landis, S.C., Roberts, J.L., Squire, L.R. Eds.), Fundamental Neuroscience, Academic Press, San Diego, pp. 389–413.

Nikokar, M., 1999. Effects of experimental hyperthyroidism on enzymatic activity of hexokinase, lactate dehydrogenase and aktinase in rat's brain during growth period, Journal of the Shahrekord University of Medical Sciences, 1(1): 61-7

Nordlie, R.C., Arion, W.J. 1966. Methods in Enzymology, 9, 619-625

Plisetskaya, E.M. and Mommsen, T.P., 1996. Glucagon and glucagon- like peptides in fishes. Int. Rev. Cytol. 168, 187–257

Polakof,S., Ceinos,R., Fernández-Durán,B., Míguez,J and Soengas,J. 2007. Daily changes in parameters of energy metabolism in brain of rainbow trout: Dependence on feeding. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 146 ,265–273.

Shanmugam, S., Sathish Kumar, T. and Panneer Selvqam, K., 2010. Laboratory Handbook on Biochemistry. Asoke K. Ghosh, PHI Learning Private Limited, M-97 New Delhi-110001. 141 P.

Singer, T.D. and Ballantyne, J.S., 1989. Absence of extrahepatic lipid oxidation in a freshwater elasmobranch, the dwarf stingray *Potamotrygon magdalenae*: evidence from of an intravascular glucose load. Journal of Comparative Physiology. B 165, 534–541.

Boujard, T., Brett, S., Lin, L., Leatherland, J.F., 1993. Effect of restricted access to demand feeders on diurnal pattern of liver composition, plasma metabolites and hormone levels in *Oncorhynchus mykiss*. Fish Physiology and Biochemistry. 11, 337–344.

Caines, D., Sinclair, M., Wood, D., Valverde, A., Dyson, D., Gaitero, L., Nykamp, S. 2013. Evaluation of cerebrospinal fluid lactate and plasma lactate concentrations in anesthetized dogs with and without intracranial disease, The Canadian Journal of Veterinary Research, 77:297–302

Clarke, D.D., Lajtha, A.L., Maker, H.S., 1989. Intermediary metabolism. In: Siegel, G.J. (Ed.), Basic Neurochemistry Molecular, Cellular, and Medical Aspects, Raven Press, New York, pp. 541–564

De Roos, R., 1994. Plasma ketone, glucose, lactate, and alaninev levels in the vascular supply to and from the brain of the spiny dogfish shark *Squalus acanthias*. Journal of Experimental Zoology. 268, 354–363

Ferguson, R.A., Storey, K.B., 1992. Gluconeogenesis in trout (*Oncorhynchus mykiss*) white muscle: purification and characterization of fructose-1,6-bisphosphatase activity in vitro. Fish Physiology and Biochemistry. 10, 201–212

Ferrando, M.D. and Andreu-Moliner, E., 1991. Changes in selected biochemical parameters in the brain of the fish, *Anguilla anguilla* (L.), exposed to lindane. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 47, 459–464

Figueroa, R.I., Rodr´ıguez-Sabar´ıs, R., Aldegunde, M., Soengas, J.L., 2000. Effects of food deprivation on 24h-changes in brain and liver carbohydrate and ketone body metabolism of rainbow trout. Journal of Fish Biology. 57, 631–646.

Foster, G.D., Youson, J.H., Moon, T.W., 1993. Carbohydrate metabolism in the brain of the adult lamprey. Journal of Experimental Zoology. 267, 27–32.

Ginneken,V., Nieween, M. and Eersel, R. 1996. Neurotransmitter Levels and Energy Status in Brain of Fish Species with and without the Survival Strategy of Metabolic Depression. Comparative Biochemistry and Physiology. 114A. 189-196.

brain: changes during food deprivation. Physiological Zoology. 71, 285–293.

Soengas, J.L., Agra-Lago, M.J., Carballo, B., Veira, J.A.R, 1996. Effect of an acute exposure to sublethal concentrations of cadmium on liver carbohydrate metabolism of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 57, 625–631.

Van Ginneken, V., Nieveen, M., Van Eersel, R., Van den Thillart, G., Addink, A., 1996. Neurotransmitter levels and energy status in brain of fish species with and without the survival strategy of metabolic depression. Comp.Biochem. Physiol. 114A, 189–196.

enzyme activities. Journal of Experimental Biology. 251, 355–36

Soengas, J.L. and Aldegunde, M., 2002. Energy metabolism of fish brain. Comparative Biochemistry and Physiology. 131B, 271–296.

Soengas, J.L., Polakof, S., Chen, X., Sangiao-Alvarellos, S., Moon, T.W., 2006. Glucokinase and hexokinase expression and activities in rainbow trout tissues: changes during food deprivation and refeeding. Am. J. Physiol. 291, R810–R821.

Soengas, J.L., Strong, E.F., Andre´s, M.D., 1998a. Glucose, lactate, and b-hydroxybutyrate utilization by rainbow trout

Study of changes in energy metabolism parameters in brain tissue of rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss*) in early life stages

Mohammad Rahimi[1], Seyed Mohammad Mousavi[*1], Vahid Yavari[1], Annahita Rezaie[2]

1. Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran
2. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid ChamranUniversity of Ahvaz, Ahvaz, Iran

(DOI): 10.22113/jmst.2018.101349.2068

Abstract

For study of changes in energy metabolism of brain in rainbow trout during early life stages, some samples were collected from fish larvae and fingerlings with initial weight 1.35±0.15 during 7 months. Sample collection was randomly made in 12 stages (7 samples per every 8 days, 3 samples per every 2 weeks and 2 samples every one month). Brain tissue was dissected and transferred to nitrogen tank before analysis. The brain tissues were homogenized and the supernatant was adjusted to measurement of glycogen, glucose, lactate, lactate dehydrogenase, pyruvate kinase and glucose-6- phosphatase. Results revealed statistically changes in the metabolites during the sampling, so, glycogen and lactate concentration showed an increasing trend by increasing in fish age, but glucose concentration did not follow this trend. The minimum glucose concentration in brain tissue was observed in seventh stage of sampling. Concentration of metabolism enzymes was showed fluctuations and increasing trend during sampling. Finally, it is proposed that environmental and nutritional factors and different requirement of fish to energy in different stages of life may be effective on metabolites concentrations and metabolism enzymes activity.

Keywords: energy metabolism, rainbow trout, brain

List of tables & figures

Table 1: Energy metabolites concentration in brain of rainbow trout at different sampling stages
Table 2: Enzymes activity involved in energy metabolism in brain of rainbow trout at different sampling stages

Corresponding Author E-mail: seied1356@yahoo.com