

DOI: 10.22034/AS.2022.40043.1569

فرا تحلیل: تأثیر سطوح مختلف پروتئین خام و کربوهیدرات غیرالیافی خوراک بر بیان ژن ناقل اوره نوع ب

الیاس ابراهیمی خرم‌آبادی^{*} و محسن کاظمی^۱

تاریخ دریافت: ۹۹/۳/۸ تاریخ پذیرش: ۹۹/۷/۲۷

^۱ استادیار گروه علوم دامی، مجتمع آموزش عالی تربت‌جام، تربت‌جام، ایران

* مسئول مکاتبه: Email: Eliiass378@gmail.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: رابطه مستقیمی بین افزایش بیان ژن و تولید پروتئین‌های ناقل اوره نوع ب و جریان سروز، مخاطی اوره در شکمبه وجود دارد. با این حال، هنوز نمی‌توان با اطمینان گفت بیان ژن ناقل اوره نوع ب تحت چه شرایطی افزایش می‌یابد. **هدف:** پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف پروتئین خام و کربوهیدرات غیر الیافی خوراک بر بیان ژن ناقل اوره نوع ب، به صورت فرا تحلیل انجام شد. **روش کار:** پس از جستجو و جمع‌آوری مقالات، در نهایت ۱۱ مقاله مناسب به منظور ورود به مرحله فرا تحلیل انتخاب شد و داده‌های مورد نیاز در رابطه با فراسنجه‌های غلظت اسیدهای چرب فرار استیک، پروپیونیک و بوتیریک، نیتروژن آمونیاکی، pH و بیان ژن ناقل اوره نوع ب، استخراج و خلاصه گردید. به منظور انجام فرا تحلیل از نرم‌افزار Comprehensive Meta-Analysis (CMA) نسخه ۳ استفاده شد. با توجه به ماهیت پیوسته داده‌ها از تفاوت میانگین استاندارد شده و شاخص Hedges's g برای محاسبه اندازه اثر استفاده شد. از هر دو مدل اثرات ثابت و تصادفی برای ترکیب اندازه اثر استفاده شد. برای بررسی میزان سوگیری انتشار از نمودار کیفی و آزمون‌های آماری استفاده شد. نتایج به صورت نمودار درختی در برگرنده اطلاعات اصلی شامل اندازه اثر، خطای استاندارد و فاصله اطمینان ۹۵ درصد به صورت کلی و نیز به تفکیک نوع مکمل استفاده‌شده در هر مطالعه، ارائه شد. **نتایج:** اعمال سطوح مختلف پروتئین خام سبب افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی ($P < 0.0001$) و بیان ژن ناقل اوره نوع ب ($P = 0.003$) گردید. استفاده از سطوح مختلف پروتئین خام تأثیر معنی‌داری بر pH و غلظت اسیدهای استیک، پروپیونیک و بوتیریک نداشت. مقادیر I^2 و Q به ترتیب برای اندازه اثر غلظت نیتروژن آمونیاکی و بیان ژن ناقل اوره نوع ب، نشان‌دهنده وجود ناهمگنی بالا و متوسط بود. استفاده از سطوح مختلف کربوهیدرات غیر الیافی باعث کاهش pH ($P < 0.001$) شد. سطوح مختلف کربوهیدرات غیر الیافی غلظت اسید پروپیونیک ($P < 0.001$) و بیان ژن ناقل اوره نوع ب ($P < 0.001$) را افزایش دادند. مقادیر I^2 و Q برای اندازه اثر pH و بیان ژن ناقل اوره نوع ب، حاکی از وجود ناهمگنی بالا بود. **نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج به دست آمده از فرا تحلیل حاضر نشان داد استفاده از هر دو عامل سطوح مختلف پروتئین خام و کربوهیدرات غیر الیافی در خوراک، افزایش بیان ژن ناقل اوره نوع ب را به دنبال دارد. با این حال به نظر می‌رسد، استفاده از مکمل‌های کربوهیدرات غیر الیافی نسبت به استفاده از سطوح مختلف پروتئین خام در خوراک تأثیر بیشتری بر افزایش بیان ژن ناقل اوره نوع ب داشته باشد.

واژگان کلیدی: پروتئین، خوراک، کربوهیدرات، فرا تحلیل، ناقل اوره

مقدمه

یکی از مشکلات اساسی در تغذیه نشخوارکنندگان، اتلاف قابل‌توجه نیتروژن در نتیجه تجزیه پروتئین خوراک در شکمبه است (برودریک و همکاران ۱۹۹۱). با این حال، نشخوارکنندگان دارای ساز و کاری هستند که بازچرخش نیتروژن غیرآزمینی به مسیر هضمی را ممکن می‌سازد. از این طریق نیتروژن غیرآزمینی می‌تواند بار دیگر برای سنتز پروتئین میکروبی مورد استفاده قرار گیرد (لاپیهره و لابی ۲۰۰۱). عبور تسهیل‌شده اوره از عرض غشای پلاسمایی سلول‌های مسیر هضمی با کمک ناقل‌های پروتئینی انجام می‌شود (استیوارت و همکاران ۲۰۰۵). منشأ پروتئین‌های ناقل اوره دو ژن مجزا SLC14A2 (UT-A) و SLC14A1 (UT-B) می‌باشند. این پروتئین‌ها در مسیر هضمی گونه‌های بسیاری از جمله گاو (مارینی و ون‌آمبورگ ۲۰۰۳؛ استیوارت و همکاران ۲۰۰۵) و گوسفند (مارینی و همکاران ۲۰۰۴؛ لادن و همکاران ۲۰۰۹) شناسایی شده‌اند و نقش مهمی در تعادل نیتروژن ایفا می‌کنند.

خصوصیات خوراک همچون غلظت نیتروژن، میزان مصرف ماده خشک و فرآیندهای انجام‌شده بر اجزاء تشکیل‌دهنده خوراک در کنار عوامل شکمبه‌ای نظیر غلظت نیتروژن آمونیاکی، مقدار کربوهیدرات قابل‌تخمیر، غلظت اسیدهای چرب فرار و pH مایع شکمبه نقش مهمی در تحریک سنتز پروتئین‌های ناقل اوره نوع ب و انتقال نیتروژن غیرآزمینی خون از عرض اپیتلیوم شکمبه، ایفا می‌کنند. افزایش مقدار کربوهیدرات قابل‌تخمیر، افزایش انتقال نیتروژن غیرآزمینی از خون به سمت شکمبه و افزایش مصرف نیتروژن آمونیاکی به‌منظور سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه را به دنبال دارد (کندی و میلیگان ۱۹۸۰). از سوی دیگر بین غلظت آمونیاک در شکمبه و نرخ عبور اوره از عرض دیواره شکمبه رابطه منفی وجود دارد (کندی و میلیگان ۱۹۸۰). از این رو مقدار نیتروژن خوراک به‌لحاظ نقش مستقیم آن در افزایش غلظت آمونیاک در شکمبه، کاهش فعالیت

آنزیم اوره‌آن، کاهش نرخ عبور اوره از عرض دیواره شکمبه و تحریک سنتز پروتئین‌های ناقل اوره نوع ب، می‌تواند حائز اهمیت باشد.

رابطه مستقیمی بین افزایش بیان ژن و تولید پروتئین‌های ناقل اوره نوع ب و جریان سروز، مخاطی اوره در شکمبه وجود دارد (لو و همکاران ۲۰۱۴). با این حال، هنوز نمی‌توان با اطمینان گفت بیان ژن ناقل اوره نوع ب تحت چه شرایطی افزایش می‌یابد (چین و همکاران ۲۰۱۸). تجزیه و تحلیل کل mRNA بیان‌شده ناقل اوره نوع ب نشان می‌دهد که مسیر متابولیکی شکمبه در شرایط مختلف، دستخوش تغییر می‌شود (بالدوین و همکاران ۲۰۱۲ و دیونیسوپولوس و همکاران ۲۰۱۴؛ نعیم و همکاران ۲۰۱۴). از این رو، با بررسی نتایج تحقیقات انجام‌شده در رابطه با تأثیر عوامل مختلف بر بیان ژن ناقل اوره نوع ب، می‌توان به درک بهتری از نحوه تنظیم ساز و کار انتقال اوره از عرض دیواره اپیتلیومی شکمبه دست یافت. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف پروتئین‌خام و کربوهیدرات غیر الیافی خوراک بر بیان ژن ناقل اوره نوع ب، به‌صورت فراتحلیل انجام شد.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری پژوهش حاضر از مقاله‌های منتشرشده در نشریات موجود در بانک‌های اطلاعاتی معتبر و از طریق جستجوی مقالات با استفاده از کلید واژه‌های فارسی و معادل لاتین آن‌ها به‌دست آمد. پس از جستجو و جمع‌آوری مقالات، تحقیقات فاقد اطلاعات مورد نیاز جهت انجام فراتحلیل (میانگین گروه‌های شاهد و آزمایشی، تعداد تکرار در هر یک از گروه‌ها، انحراف معیار و خطای اساتاندارد میانگین) حذف شد و در نهایت ۱۱ مقاله مناسب به‌منظور ورود به مرحله فراتحلیل انتخاب شد (جدول ۱). در مرحله بعد داده‌های مورد نیاز در رابطه با فراسنجه‌های غلظت اسیدهای چرب فرار، اسید استیک، اسید پروپیونیک و اسید

Comprehensive Meta-Analysis نرم افزار بوتیریک، نیتروژن آمونیاکی، pH و بیان ژن ناقل اوره
نوع ب، جهت مرور نظام مند در قالب جداول Excel
استخراج و خلاصه گردید. جهت انجام فراتحلیل از
(CMA) نسخه ۳، استفاده شد.

Table 1- Summary of References used to evaluation the effect of dietary CP and NFC levels on urea transporter - B expression.

1st Author	Year	No	Treatment	Repeat	Age (d)	Weight (kg)	Supplemented	Percent	Period (d)
Ludden et al	2009	15	3	5	-	45.8±1.3	CP	7% 10% 13%	28
Simmons et al	2009	6	2	3	670±14	690±51	NFC	25.78% 28.58%	37
Moscher et al	2010	20	2	10	60	16.3±2.3	CP	7% 10% 19%	49
Moscher et al	2010	20	2	10	90	24±4.2	CP	8% 14%	49
Rojen et al	2011	8	2	4	-	-	CP	12.9% 17.1%	21
Ibrahimi et al	2014	4	4	4	180	30±2	CP	14% 18%	28
Lu et al	2015	10	2	5	120	16.8±1.2	NFC	14.7% 31.3%	21
Lu et al	2015	16	2	8	90	14.1±1.2	CP	7.3% 20.9%	42
Recktenwald et	2014	12	4	3	-	647±37	CP	15.3% 16.5%	28
Recktenwald et	2015	12	4	3	-	647±37	NFC	29% 23%	28
Walpole et al	2015	25	5	5	-	213±23	NFC	4% 24%	21
Ibrahimi et al	2017	4	4	4	180	30±2	CP	16% 18%	83
Scott et al	2018	32	4	8	180	37.2±1.7	NFC	40% 60%	24
Lu et al	2019	20	2	10	120	16.8±1.2	NFC	14% 28%	28

محاسبه اندازه اثر

در مطالعه حاضر با توجه به ماهیت پیوسته داده‌های به دست آمده از تفاوت میانگین استاندارد شده و شاخص Hedges's g برای محاسبه اندازه اثر استفاده شد.

$$g = \frac{\overline{X_S} - \overline{X_N}}{S_p} \quad \text{معادله ۱:}$$

در این معادله g اندازه اثر، $\overline{X_S}$ میانگین گروه آزمایشی، $\overline{X_N}$ میانگین گروه شاهد، S_p انحراف معیار آمیخته و J

ضریب تصحیح برای دو گروه بود (وسترین و همکاران ۲۰۱۴).

در مقالات دارای انحراف معیار مجزا برای گروه شاهد و آزمایشی از معادله ۲ و در مقالات دارای SEM از معادله ۳ برای محاسبه انحراف معیار آمیخته استفاده شد.

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_S-1)SD_S^2 + (n_N-1)SD_N^2}{n_S + n_N - 2}} \quad \text{معادله ۲:}$$

$$S_p = SEM \times \sqrt{np} \quad \text{معادله ۳:}$$

اریبی انتشار

جهت بررسی وضعیت اریبی انتشار از نمودار قیفی^۱ استفاده شد. نمودار قیفی یکی از روش‌های تشخیص خطای انتشار است و بر این حقیقت استوار است که وزن آماری مطالعه با افزایش اندازه نمونه افزایش می‌یابد. در نبود هیچ خطایی، نمودار شبیه به یک قیف برعکس خواهد بود و در صورت وجود خطا نمودار قیفی، به صورت غیرمتقارن در خواهد آمد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به صورت نمودار درختی آدربرگیرنده اطلاعات اصلی شامل اندازه اثر، خطای استاندارد و فاصله اطمینان ۹۵ درصد به صورت کلی و نیز به تفکیک نوع مکمل استفاده شده در هر مطالعه با استفاده از نرم‌افزار Comprehensive Meta-Analysis (CMA) نسخه ۳، ارائه شد.

نتایج و بحث

تأثیر سطوح مختلف پروتئین‌خام بر بیان ژن ناقل اوره نوع ب

خلاصه اندازه اثر سطوح مختلف پروتئین‌خام بر شاخص‌های تخمیر شکمبه‌ای و بیان ژن ناقل اوره نوع ب در جدول ۲ نشان داده شده است. همچنین اثر سطوح مختلف پروتئین‌خام بر pH، غلظت اسیدهای استیک، پروپونیک، بوتیریک، نیتروژن آمونیاکی و بیان ژن ناقل اوره نوع ب، به ترتیب در شکل‌های ۱، ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۱ و نتایج مربوط به اریبی انتشار آن‌ها در شکل‌های ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۲ نشان داده شده است. اعمال سطوح مختلف پروتئین‌خام سبب افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی (۰/۵۵۴+ و ۰/۰۰۱<P) و بیان ژن ناقل اوره نوع ب (۰/۵۱۶+ و ۰/۰۰۳<P) گردید (جدول ۲). استفاده از سطوح مختلف پروتئین‌خام تأثیر معنی‌داری بر pH و غلظت اسیدهای استیک، پروپونیک و بوتیریک نداشت

در معادله ۲، n_S تعداد واحد آزمایشی در گروه آزمایشی، n_N تعداد واحد آزمایشی در گروه شاهد، SD_S انحراف معیار گروه آزمایشی و SD_N انحراف معیار گروه شاهد بود (وسترین و همکاران ۲۰۱۴). در معادله ۳، SEM خطای استاندارد میانگین مربوط به همه گروه‌ها و np مجموع تعداد واحد آزمایشی در گروه‌های شاهد و گروه آزمایشی بود (وسترین و همکاران ۲۰۱۴).

$$J = 1 - \frac{3}{4(n_S + n_N - 2) - 1} \quad \text{معادله ۴:}$$

در این معادله n_S تعداد واحد آزمایشی در گروه آزمایشی و n_N تعداد واحد آزمایشی در گروه شاهد بود (وسترین و همکاران ۲۰۱۴).

وزن‌دهی به داده‌های استخراج‌شده از مقالات

مقالات با هدف تعیین میزان اثر هر تحقیق در نتایج نهایی بر اساس کیفیت مطالعه اعم از تکرار بیشتر و واریانس کوچکتر با استفاده از معادله ۵، وزن‌دهی شد.

$$W_i = \frac{1}{\text{var}_i} \quad \text{معادله ۵:}$$

در این معادله var_i واریانس تحقیق و W_i وزن تحقیق مورد نظر بود (وسترین و همکاران ۲۰۱۴).

آزمون ناهمگنی

تغییرات اندازه اثر مطالعات، با استفاده از آزمون کوکران (آماره Q) بررسی شد. این آزمون تقریباً دارای توزیع کای اسکور با درجه آزادی (K-1) است. مقدار بالای Q و مقدار پایین p-value حاکی از ناهمگنی مطالعات می‌باشد. به دلیل حساسیت پایین آزمون کوکران، آزمون I^2 نیز در تشخیص ناهمگنی به کار برده شد (معادله ۶). بالا بودن مقدار I^2 دال بر وجود ناهمگنی است. به طور کلی مقادیر ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد به ترتیب به عنوان ناهمگنی پایین، متوسط و بالا تفسیر می‌شود.

$$I^2 = \frac{Q - (k-1)}{Q} \times 100\% \quad \text{معادله ۶:}$$

در این معادله، Q آماره ناهمگنی کوکران و k تعداد آزمایشات بود (وسترین و همکاران ۲۰۱۴).

¹ Funnel Plot

² Forest Plot

(جدول ۲). مقدار $I^2 = ۹۰/۵۳$ و $Q = ۸۴/۸۹$ برای اندازه اثر غلظت نیتروژن آمونیاکی نشان‌دهنده وجود ناهمگنی بالا و مقدار $I^2 = ۵۱/۸۷$ و $Q = ۲۲/۸۵$ برای اندازه اثر بیان ژن ناقل اوره نوع ب، نشان‌دهنده وجود ناهمگنی متوسط بود (جدول ۲) (شکل ۱۰ و ۱۲). عواملی هم‌چون منبع تأمین‌کننده پروتئین خام، مقدار پروتئین خام در خوراک و مدت زمان آزمایش می‌تواند باعث افزایش ناهمگنی در بین مطالعات گردد. در شکل‌های ۸، ۱۰ و ۱۲ مطالعه احتمالی با استفاده از روش چینش و تکمیل برآورد شد که عدم انتشار آن‌ها ممکن است به دلیل نبود تأثیر مثبت در مطالعات باشد.

بین مصرف نیتروژن خوراک، غلظت نیتروژن آمونیاکی و مقدار نیتروژن اوره‌ای در کبد، رابطه مثبت وجود دارد (کندی و میلیگان ۱۹۸۰). با افزایش مصرف نیتروژن ($g/BW^{0.75}$) مقدار نیتروژن اوره‌ای تولیدشده در کبد و هم‌چنین مقدار نیتروژن اوره‌ای بازگردانده‌شده به شکمبه به صورت خطی افزایش می‌یابد (مارینی و همکاران ۲۰۰۸؛ باتیستا و همکاران ۲۰۱۷). مارینی و ون‌آمبورگ (۲۰۰۳) دریافتند با افزایش مقدار نیتروژن خوراک بیان ژن ناقل اوره نوع ب، افزایش می‌یابد. در هنگام افزایش مقدار نیتروژن خوراک و افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه، نیتروژن اوره‌ای خون از طریق فضای پاراسلولی به داخل مسیر هضمی انتشار می‌یابد. فعالیت آنزیم اوره‌آز با افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه کاهش می‌یابد، شرایطی که در هنگام افزایش میزان پروتئین خام خوراک ایجاد می‌شود (بانتینگ و همکاران ۱۹۸۹b). بنابراین، ممکن است افزایش مقدار پروتئین خام خوراک باعث افزایش فراوانی پروتئین‌های ناقل اوره در بخش و نترال شکمبه گردد (لادن و همکاران، ۲۰۰۹؛ ابراهیمی و همکاران، ۲۰۱۵؛ ابراهیمی و همکاران، ۲۰۱۷). هم‌چنین، لو و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند با افزایش مصرف نیتروژن و افزایش غلظت نیتروژن اوره‌ای خون به بیش از ۵ میلی‌مول بر لیتر، بازگشت اوره به شکمبه

و تحریک بیان ژن ناقل اوره نوع ب، به صورت خطی افزایش می‌یابد. به دلیل اینکه PK_a نیتروژن آمونیاکی در شکمبه برابر ۹/۲۰ است، کاهش pH مایع شکمبه از ۷/۴ به ۶/۴ باعث تبدیل NH_3 به یون NH_4^+ می‌شود. در این حالت تقریباً تمام نیتروژن آمونیاکی در شکمبه به صورت یون NH_4^+ است (لو و همکاران ۲۰۱۴). ورود یون NH_4^+ به داخل سلول‌های اپیتلیوم شکمبه و جدا شدن یون H^+ از آن سبب اسیدی شدن سیتوزول و ایجاد تغییرات ساختاری در پروتئین‌های ناقل اوره نوع ب و افزایش انتقال اوره از عرض اپیتلیوم می‌گردد (عبدون و همکاران ۲۰۱۰).

تأثیر سطوح مختلف کربوهیدرات غیر الیافی بر بیان ژن ناقل اوره نوع ب

خلاصه اندازه اثر سطوح مختلف کربوهیدرات غیر الیافی بر تخمیر شکمبه‌ای و بیان ژن ناقل اوره نوع ب، در جدول ۲ نشان داده شده است. اثر سطوح مختلف کربوهیدرات غیر الیافی بر pH، غلظت اسیدهای استیک، پروپیونیک، بوتیریک، نیتروژن آمونیاکی و بیان ژن ناقل اوره نوع ب، به ترتیب در شکل‌های ۱، ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۱ و نتایج مربوط به اریبی انتشار آن‌ها در شکل‌های ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۲ نشان داده شده است. استفاده از سطوح مختلف کربوهیدرات غیر الیافی باعث کاهش pH ($-۰/۵۱۸$ و $P < ۰/۰۰۱$) شد (جدول ۲). اعمال سطوح مختلف کربوهیدرات غیر الیافی، غلظت اسید پروپیونیک ($۱/۳۲۵$ و $P < ۰/۰۰۱$) و بیان ژن ناقل اوره نوع ب ($۱/۱۴۰$ و $P < ۰/۰۰۱$) را افزایش داد (جدول ۲). مقادیر $I^2 = ۸۲/۸۶$ و $Q = ۴۶/۶۸$ برای اندازه اثر pH و $I^2 = ۷۷/۵۸$ و $Q = ۴۰/۱۵$ برای اندازه اثر بیان ژن ناقل اوره نوع ب، حاکی از وجود ناهمگنی بالا بود (جدول ۲) (شکل ۲ و ۱۲). نوع مکمل، مقدار مکمل در خوراک و مدت زمان آزمایش می‌تواند از دلایل وجود ناهمگنی بالا در بین مطالعات باشد. در شکل‌های ۸، ۱۰ و ۱۲ مطالعه احتمالی با استفاده از روش چینش و تکمیل برآورد شد.

Table 2- The effect size (Hedges's g) of dietary CP and NFC levels for pH, VFAs, N-NH₃ and UT-B expression.

Variable		^۱ Hedges's g	SE	p-value	^۲ I ²	^۳ Q	^۴ p-value
pH	CP						
	Fixed effects models	-0.392	0.205	0.56	48.31	17.44	0.042
	Random effects models	-0.343	0.288	0.23	-	-	-
	NFC						
	Fixed effects models	-0.518	0.147	<0.001	82.86	46.68	<0.001
Acetic Acid	Random effects models	-0.412	0.252	0.102	-	-	-
	CP						
	Fixed effects models	0.064	0.244	0.794	72.73	22.00	<0.001
	Random effects models	-0.063	0.476	0.895	-	-	-
	NFC						
Propionic Acid	Fixed effects models	-0.275	0.222	0.216	79.13	23.96	<0.001
	Random effects models	-0.435	0.504	0.388	-	-	-
	CP						
	Fixed effects models	+0.092	0.253	0.717	79.74	29.62	<0.001
	Random effects models	-0.190	0.570	0.740	-	-	-
Butyric Acid	NFC						
	Fixed effects models	1.325	0.230	<0.001	0.000	4.64	0.490
	Random effects models	1.325	0.230	<0.001	-	-	-
	CP						
	Fixed effects models	1.208	0.264	0.142	62.13	15.84	0.01
N-NH ₃	Random effects models	1.484	0.448	0.081	-	-	-
	NFC						
	Fixed effects models	0.189	0.214	0.376	66.86	15.08	0.01
	Random effects models	0.170	0.378	0.652	-	-	-
	CP						
UT-B expression	Fixed effects models	1.554	0.303	<0.001	90.53	84.49	<0.001
	Random effects models	0.685	1.03	0.509	-	-	-
	NFC						
	Fixed effects models	0.577	0.234	0.145	89.61	77.01	<0.001
	Random effects models	1.231	0.755	0.108	-	-	-
UT-B expression	CP						
	Fixed effects models	0.516	0.176	0.003	51.87	22.85	0.01
	Random effects models	0.605	0.257	0.019	-	-	-
	NFC						
	Fixed effects models	1.140	0.199	<0.001	77.58	40.15	<0.001
UT-B expression	Random effects models	1.715	0.443	<0.001	-	-	-

¹The size of the positive effects indicates the increasing effect and the size of the negative effects indicates the reducing effect of different levels of crude protein and non-fibrous carbohydrates on the mentioned parameters. ² I² statistics, heterogeneity test (if I² values are 25, 50 and 75%, it is interpreted as low, medium and high heterogeneity, respectively). ³ Cochran test, heterogeneity test (high value of Q and low value of p-value indicate heterogeneity of studies). ⁴ p-value is related to Cochran test (Q).

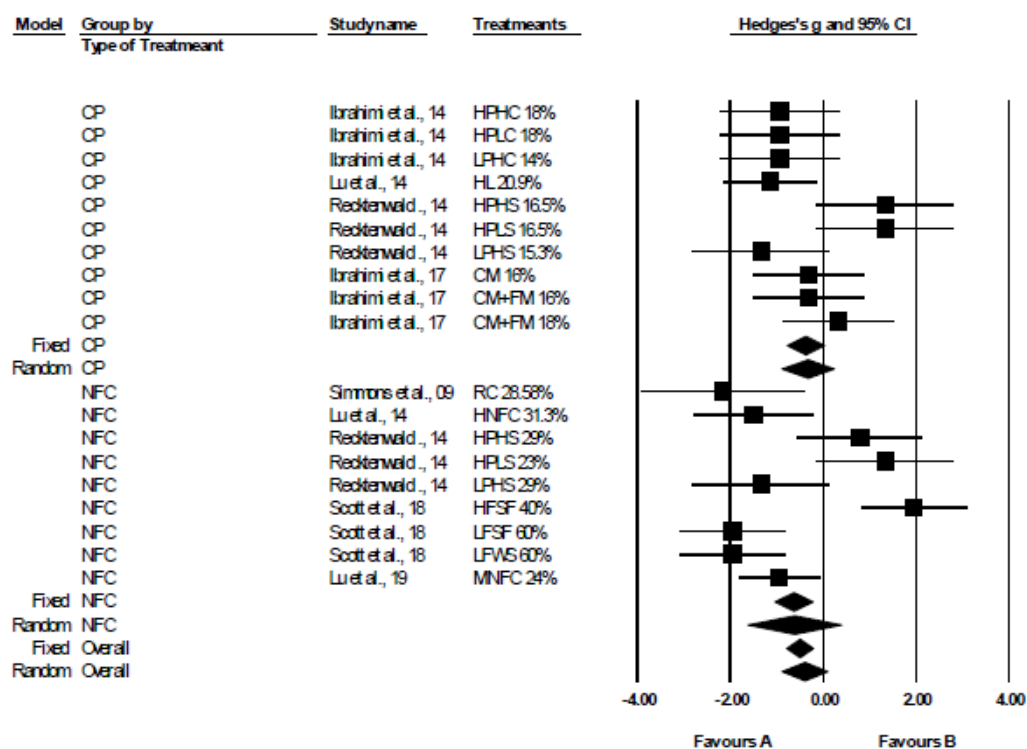


Figure 1- The effect of dietary CP and NFC levels on pH forest plot (The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom)

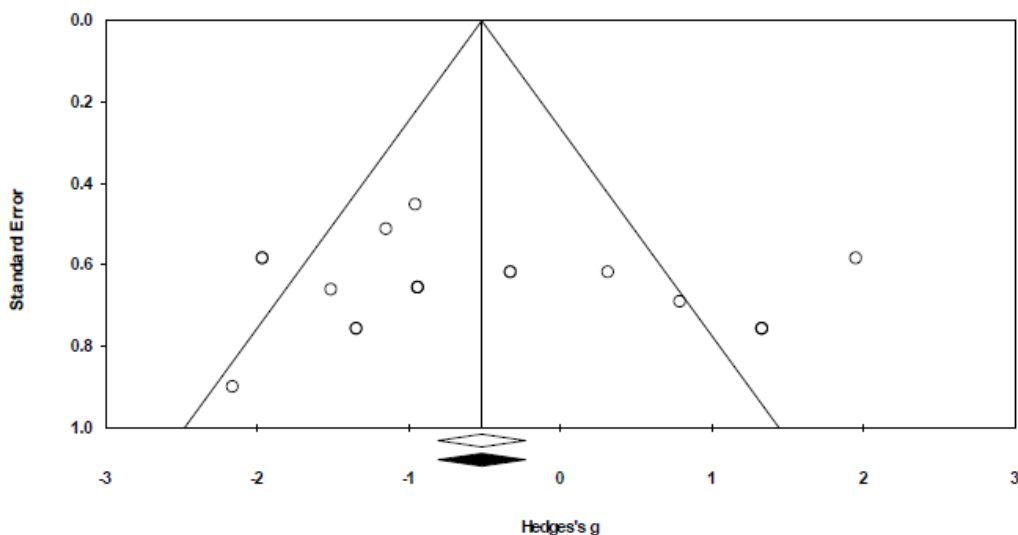


Figure 2- The effect of dietary CP and NFC levels on pH funnel plot (Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values)

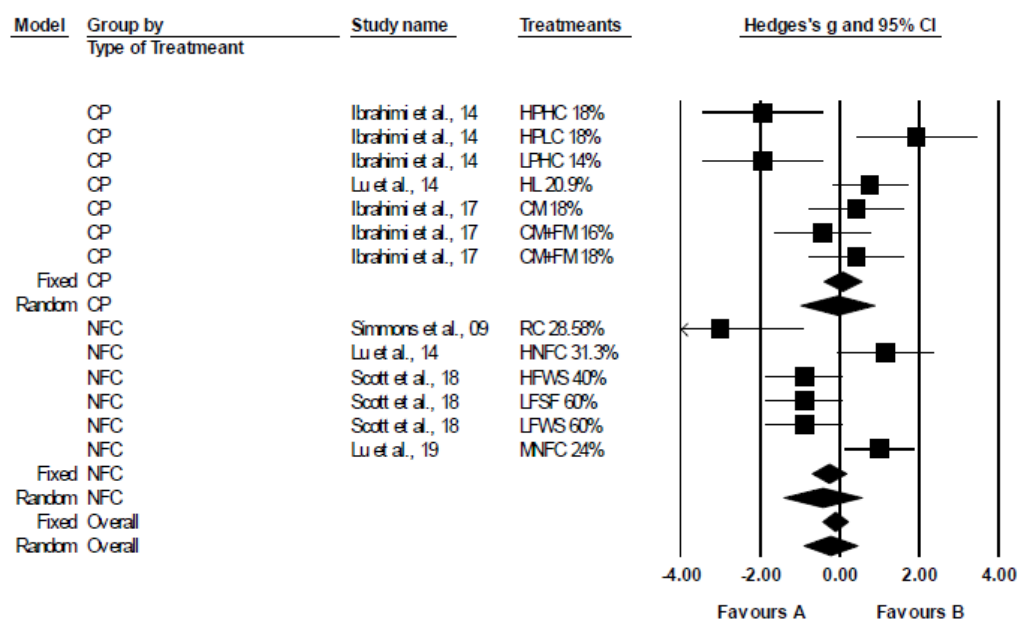


Figure 3- The effect of dietary CP and NFC levels on acetic acid forest plot (The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom)

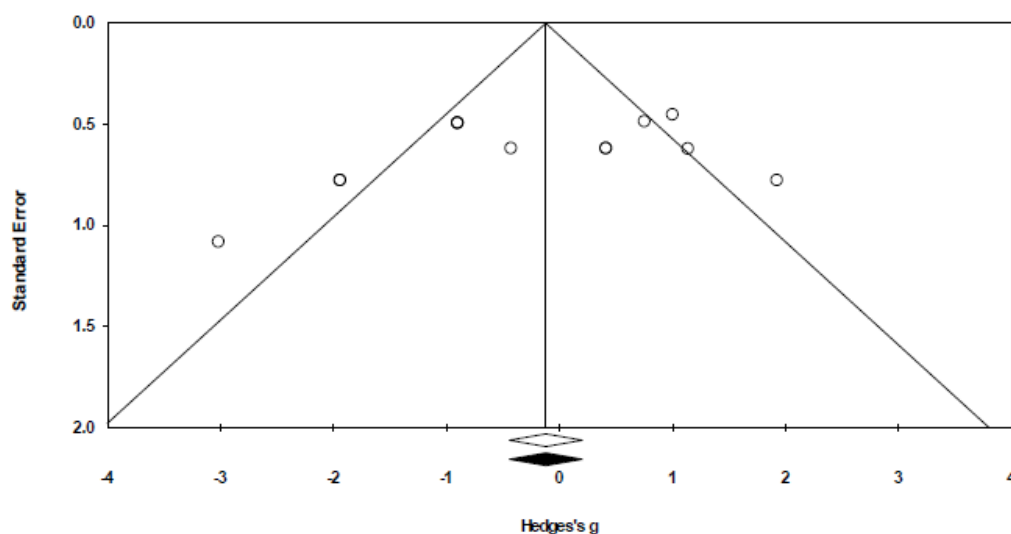


Figure 4- The effect of dietary CP and NFC levels on acetic acid funnel plot (Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values)

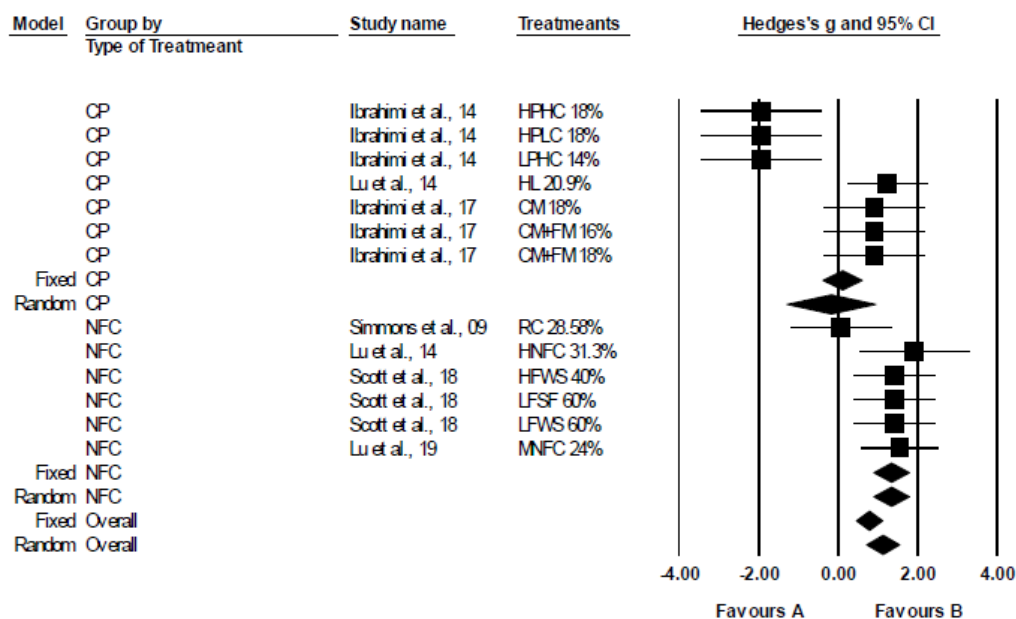


Figure 5- The effect of dietary CP and NFC levels on propionic acid forest plot (The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom)

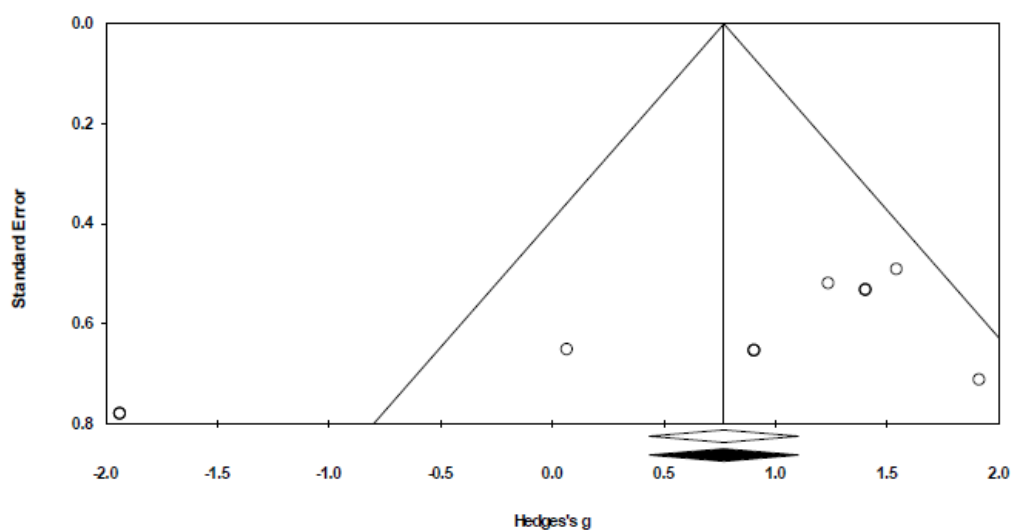


Figure 6- The effect of dietary CP and NFC levels on propionic acid funnel plot (Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values)

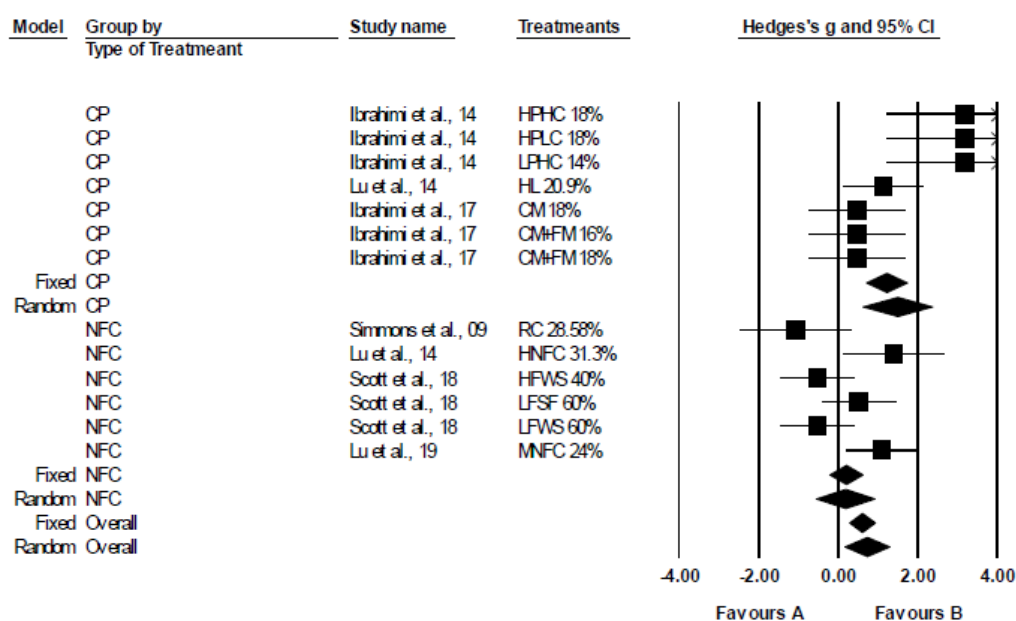


Figure 7- The effect of dietary CP and NFC levels on butyric acid forest plot (The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom)

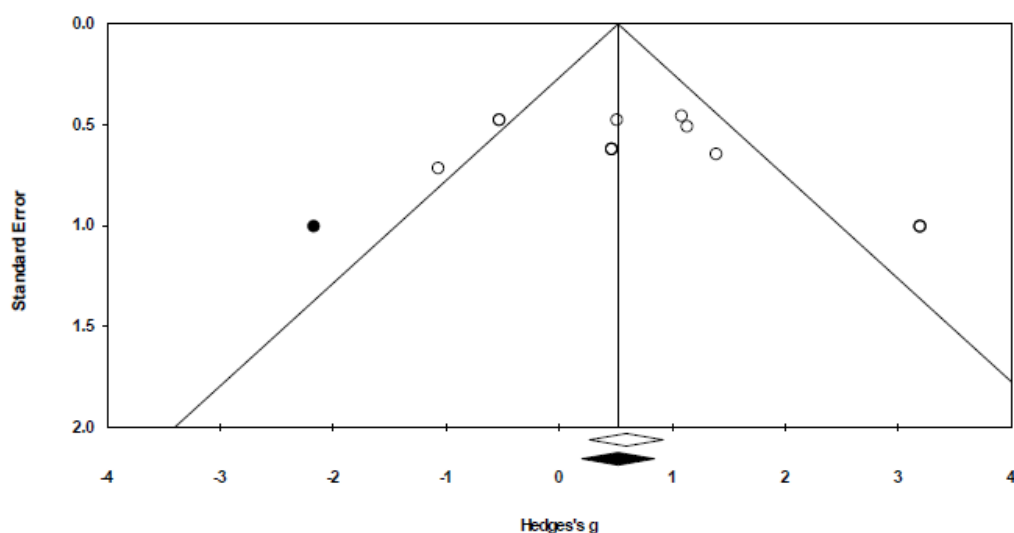


Figure 8- The effect of dietary CP and NFC levels on butyric acid funnel plot (Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values)

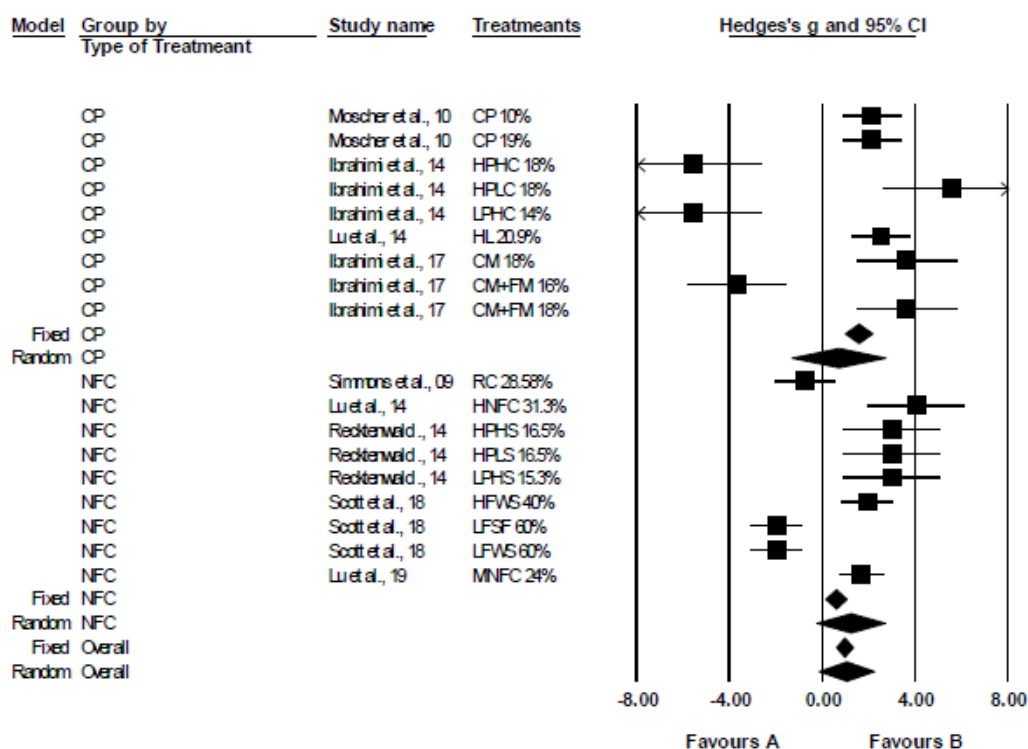


Figure 9- The effect of dietary CP and NFC levels on N-NH₃ forest plot (The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom)

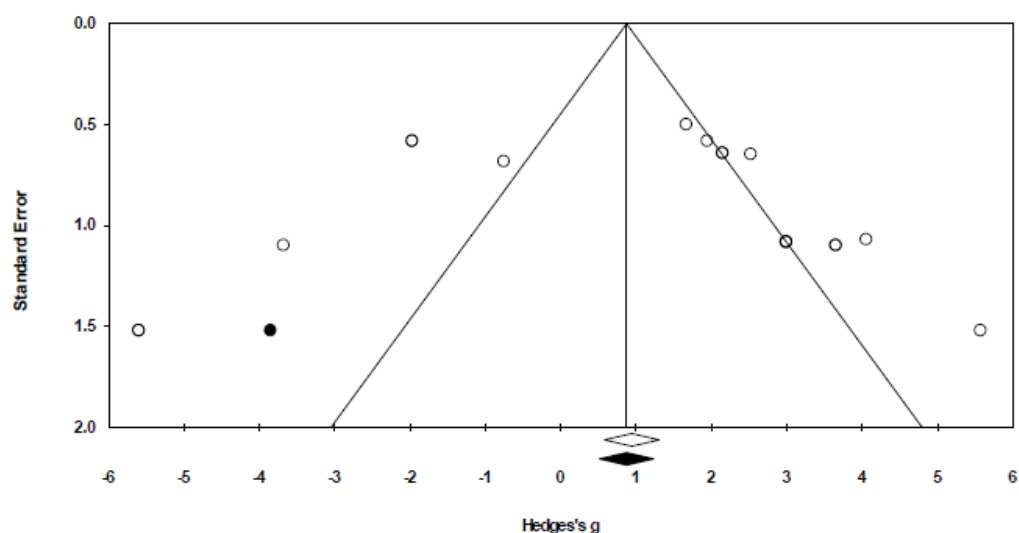


Figure 10- The effect of dietary CP and NFC levels on N-NH₃ funnel plot (Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values)

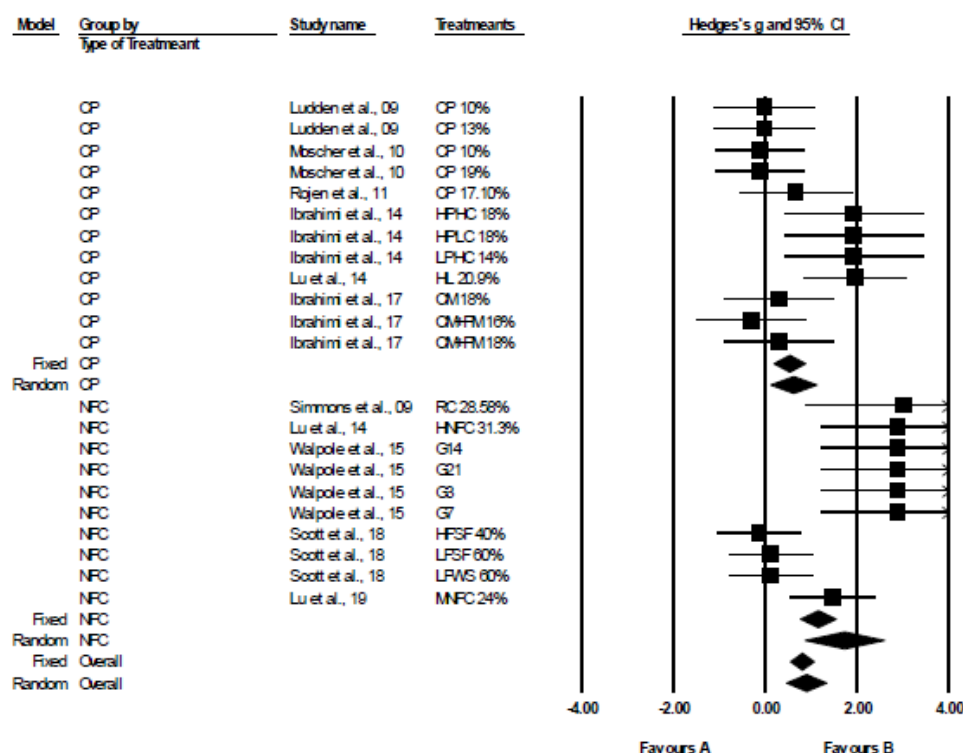


Figure 11- The effect of dietary CP and NFC levels on UT-B forest plot (The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom)

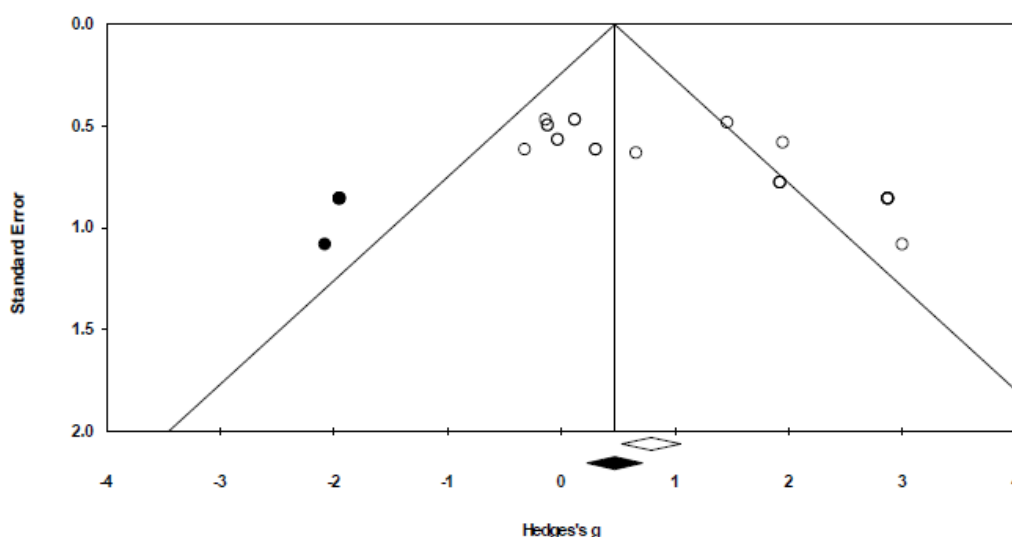


Figure 12- The effect of dietary CP and NFC levels on UT-B expression funnel plot (Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values)

۳۷ درصد کاهش یافت (لو و همکاران ۲۰۱۹). ما و همکاران (۲۰۱۵) مشاهده کردند با افزایش غلظت کربوهیدرات غیر الیافی در خوراک، مقدار نیتروژن ادرار کاهش می‌یابد، اما در مقدار نیتروژن مدفوع تغییری ایجاد نمی‌شود. به‌طور مشابه، هانتینگتون

لو و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند با افزایش غلظت کربوهیدرات غیر الیافی در خوراک بزهای پرواری، بیان ژن ناقل اوره نوع ب به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین با افزایش سهم کربوهیدرات غیر الیافی در خوراک، دفع نیتروژن اوره‌ای از طریق ادرار به‌میزان

(۱۹۸۹) و یونس و همکاران (۲۰۰۱) دریافتند با افزایش سهم کربوهیدرات غیر الیافی در خوراک گوساله‌ها، انتقال مستقیم نیتروژن اوره‌ای از خون به شکمبه به صورت تسهیل شده اتفاق می‌افتد. با افزایش غلظت کربوهیدرات غیر الیافی در خوراک، غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه و نیتروژن اوره‌ای دفع شده از طریق ادرار به ترتیب به طور معنی‌داری افزایش و کاهش می‌یابد که می‌تواند به دلیل افزایش انتقال نیتروژن اوره‌ای به شکمبه باشد. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت، استفاده از مقادیر کافی کربوهیدرات غیر الیافی در خوراک، روند استفاده مجدد از نیتروژن در نشخوارکنندگان را بهبود می‌بخشد (لو و همکاران ۲۰۱۹).

وجود میکروارگانیسم‌های شکمبه، دلیل اثرگذاری کربوهیدرات غیر الیافی خوراک بر نیتروژن اوره‌ای خون است (تریولو و همکاران ۲۰۱۲). کربوهیدرات‌های سریع‌التخمیر نشاسته‌ها، قندها، پکتین‌ها و گلوکاگون‌ها تحت عنوان کربوهیدرات غیر الیافی خوراک شناخته می‌شوند (ون‌سوست و همکاران ۱۹۹۱) که در اثر انجام فرآیند تخمیر در شکمبه به اسیدهای چرب فرار تبدیل می‌گردند (هوور و استوک ۱۹۹۱). مطالعات قبلی (هارمیر و مارتنز ۱۹۸۰ و رموند و همکاران ۲۰۰۳) اثبات کردند اسیدهای چرب فرار در تنظیم انتقال نیتروژن اوره‌ای به شکمبه نقش دارند. بالاترین نرخ ورود نیتروژن اوره‌ای به شکمبه بعد از مصرف خوراک و زمانی اتفاق می‌افتد که غلظت اسیدهای چرب فرار به حداکثر مقدار خود رسیده باشد (رموند و همکاران ۲۰۰۳). افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه به همراه افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار و کاهش pH، انتقال نیتروژن اوره‌ای از خون به شکمبه را بهبود می‌بخشد (عبدون و همکاران ۲۰۱۰؛ لو و همکاران ۲۰۱۴ و لو و همکاران ۲۰۱۹).

با توجه به مطالب عنوان شده می‌توان نتیجه گرفت بیان ژن ناقل اوره نوع ب وابسته به عواملی همچون غلظت

اسیدهای چرب فرار و pH شکمبه است. افزایش سهم کربوهیدرات غیر الیافی در خوراک بز (لو و همکاران ۲۰۱۵؛ لو و همکاران ۲۰۱۹)، تلیسه (مارینی و ون‌آمبورگ ۲۰۰۳) و گاو شیری (سیمونس و همکاران ۲۰۰۹)، بیان ژن ناقل اوره نوع ب را به طور معنی‌داری افزایش داد. تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد رابطه مثبتی بین غلظت اسیدهای چرب فرار و بیان ژن ناقل اوره نوع ب وجود دارد (لو و همکاران ۲۰۱۹). تأثیر غلظت اسیدهای چرب فرار بر بیان ژن ناقل اوره نوع ب، به دلیل اتصال اسیدهای چرب فرار به گیرنده‌های خود در بافت هدف است (شن و همکاران ۲۰۱۷).

نتیجه‌گیری

نتایج قابل قبولی از بررسی دقیق مقالات و داده‌های در دسترس در رابطه با تأثیر سطوح مختلف پروتئین خام و کربوهیدرات غیر الیافی خوراک بر شاخص‌های تخمیر شکمبه‌ای و بیان ژن ناقل اوره نوع ب، حاصل شد. نتایج به دست آمده از فرا تحلیل حاضر نشان داد استفاده از هر دو عامل سطوح مختلف پروتئین خام و کربوهیدرات غیر الیافی در خوراک، افزایش بیان ژن ناقل اوره نوع ب را به دنبال دارد. با این حال به نظر می‌رسد، استفاده از مکمل‌های کربوهیدرات غیر الیافی نسبت به استفاده از سطوح مختلف پروتئین خام در خوراک تأثیر بیشتری بر افزایش بیان ژن ناقل اوره نوع ب داشته باشد. تغییرات ایجاد شده در بیان ژن ناقل اوره نوع ب، به دلیل محتوای نیتروژن خوراک، نشان می‌دهد، بیان ژن ناقل اوره نوع ب می‌تواند باعث تغییر در مقدار ورود نیتروژن اوره‌ای به شکمبه شود. از سوی دیگر افزایش کربوهیدرات غیر الیافی در خوراک باعث افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار در شکمبه، تحریک بیان ژن ناقل اوره نوع ب و در نهایت افزایش ورود نیتروژن اوره‌ای به شکمبه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از نتایج طرح تحقیقاتی اجرا شده از محل اعتبارات معاونت پژوهشی مجتمع آموزش عالی تربت جام می‌باشد.

منابع مورد استفاده

- Abdoun K, Stumpff F, Rabbani I and Martens H, 2010. Modulation of urea transport across sheep rumen epithelium in vitro by SCFA and CO₂. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 298: G190-G202.
- Baldwin RLT, Wu S, Li W, Li C, Bequette BJ and Li RW, 2012. Quantification of transcriptome responses of the rumen epithelium to butyrate infusion using RNA-seq technology. *Gene Regulation and Systems Biology* 6: 67-80.
- Batista ED, Detmann E, Valadares Filho SC, Titgemeyer EC and Valadares RF, 2017. The effect of CP concentration in the diet on urea kinetics and microbial usage of recycled urea in cattle: a meta-analysis. *Animal* 11: 1303-1311.
- Broderick GA, Wallace RJ and Orskov ER, 1991. Control of rate and extent of protein degradation. In *physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*, ed. T. Tsuda, Y. Sasaki and R. Kawashima. Academic Press. London, pp. 541-92.
- Bunting LD, Boiling JA, Mackown CT and Muntifering RB, 1987. Effect of dietary protein level on nitrogen metabolism in lambs: studies using 15 N nitrogen. *Journal of Animal Science* 64: 855-867.
- Dionissopoulos L, Al Zahal O, Steele MA, Matthews JC and Mc Bride BW, 2014. Transcriptomic changes in ruminal tissue induced by the periparturient transition in dairy cows. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* 9: 36.
- Harmeyer J and Martens H, 1980. Aspects of urea metabolism in ruminants with reference to the goat. *Journal of Dairy Science* 63: 1707-1728.
- Hoover WH and Stokes SR, 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *Journal of Dairy Science* 74: 3630-3644.
- Huntington GB 1989. Hepatic urea synthesis and site and rate of urea removal from blood of beef steers fed alfalfa hay or a high concentrate diet. *Canadian Journal of Animal Science* 69: 215-223.
- Ibrahimi Khoram Abadi E, Tahmasebi AM, Danesh Mesgaran M, Naserian AA and Vakili A, 2015. Effect of Dietary Crude Protein Level on UT-B Expression and Nitrogen Efficiency in Growing Baluchi Male Lambs Fed Low or High Concentrate Diets. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 5(2): 323-332.
- Ibrahimi Khoram Abadi E, Danesh Mesgaran M, Tahmasebi AM, Naserian AA and Vakili A, 2017. Effect of Dietary Protein Sources On UT-B Expression and Nitrogen Efficiency in Baluchi Male Lambs Fed Low or High Crude Protein Diets. *Iranian Journal of Animal Science Research* 9 (2): 146-157.
- Jin D, Zhao S, Zheng N, Beckers Y and Wang J, 2018. Urea metabolism and regulation by rumen bacterial urease in ruminants – a review. *Annual Animal Science* 18 (2): 303-318.
- Kennedy PM and Milligan LP, 1980. The degradation and utilization of endogenous urea in the gastrointestinal tract of ruminants: a review. *Canadian Journal of Animal Science* 60: 205-221.
- Lu Z, Gui H, Yao L, Yan L, Martens H and Aschenbach JR, 2015. Short-chain fatty acids and acidic pH upregulate UT-B, GPR41, and GPR4 in rumen epithelial cells of goats. *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 308: R283-R293.
- Lu Z, Stumpff F, Deiner C, Rosendahl J, Braun H, Abdoun K, Aschenbach JR and Martens H, 2014. Modulation of sheep ruminal urea transport by ammonia and pH. *American Journal of Physiology* 307: R558-R570.
- Lu Z, Shen H and Shen Z. 2019. Effects of Dietary-SCFA on Microbial Protein Synthesis and Urinal Urea-N Excretion Are Related to Microbiota Diversity in Rumen. *Frontiers in Physiology* 10: 1079.

- Ludden PA, Stohrer RM, Austin KJ, Atkinson RL, Belden EL and Harlow HJ, 2009. Effect of protein supplementation on expression and distribution of urea transporter-B in lambs fed low-quality forage. *Journal of Animal Science* 87: 1354-1365.
- Ma T, Tu Y, Zhang NF, Deng KD and Diao QY, 2015. Effect of the ratio of non-fibrous carbohydrates to neutral detergent fiber and protein structure on intake, digestibility, rumen fermentation, and nitrogen metabolism in lambs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 28: 1419-1426.
- Marini JC and Van Amburgh, ME, 2003. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. *Journal of Animal Science* 81: 545-552.
- Marini JC, Fox DG and Murphy MR 2008. Nitrogen transactions along the gastrointestinal tract of cattle: A meta-analytical approach. *Journal of Animal Science* 86: 660-679.
- Marini JC, Klein JM, Sands JM and Van Amburgh ME, 2004. Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporter abundance in lambs. *Journal of Animal Science* 82: 1157-1164.
- Naeem A, Drackley JK, Lanier JS, Everts RE, Rodriguez-Zas SL and Looor JJ, 2014. Ruminal epithelium transcriptome dynamics in response to plane of nutrition and age in young Holstein calves. *Functional & Integrative Genomics* 14: 261-273.
- Remond D, Bernard L, Chauveau B, Noziere P and Poncet C, 2003. Digestion and nutrient net fluxes across the rumen, and the mesenteric and portal-drained viscera in sheep fed with fresh forage twice daily: net balance and dynamic aspects. *British Journal of Nutrition* 89: 649-666.
- Shen H, Lu Z, Xu Z, Chen Z and Shen Z, 2017. Associations among dietary non-fiber carbohydrate, ruminal microbiota and epithelium G-protein-coupled receptor, and histone deacetylase regulations in goats. *Microbiome* 5:123.
- Simmons NL, Chaudhry AS, Graham C, Scriven ES, Thistlethwaite A, Smith CP 2009. Dietary regulation of ruminal bovine UTB urea transporter expression and localization. *Journal of Animal Science* 87: 3288-3299.
- Stewart GS, Graham C, Cattell SS, Smith TPL, Simmons NL and Smith CP, 2005. UT-B is expressed in bovine rumen: Potential role in ruminal urea transport. *American Journal of Physiology* 289: R605-R612.
- Triolo JM, Pedersen L, Qu H and Sommer SG, 2012. Biochemical methane potential and anaerobic biodegradability of non-herbaceous and herbaceous phytomass in biogas production. *Bioresource Technology* 125: 226-232.
- Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.
- Vesterinen HM, Sena ES, Egan KJ, Hirst TC, Churolov L and Currie GL, 2014. Meta-analysis of data from animal studies: a practical guide. *Journal of Neuroscience Methods* 221:92-102.
- Younes H, Alphonse JC, Hadj-Abdelkader M and Remesy C, 2001. Fermentable carbohydrate and digestive nitrogen excretion. *Journal of Renal Nutrition* 11: 139-148.

The effect of dietary CP and NFC different levels on UT-B expression: A meta-analysis

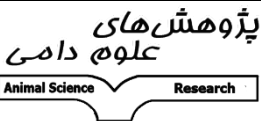
E Ibrahimi Khoram Abadi¹ and M Kazemi²

Received: May 28, 2020

Accepted: October 18, 2020

¹ Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Animal science, University of Torbat-e Jam, Torbat-e Jam, Iran.

*Corresponding author: Email: Eliiass378@gmail.com

 پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research	Journal of Animal Science/vol.31 No.3/ 2021/pp 55-71 https://animalscience.tabrizu.ac.ir	
© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/) DOI: 10.22034/AS.2022.40043.1569		

Introduction: As is already known, urea transport across the ruminant wall is mediated via urea transporters in the epithelium membrane (Stewart et al. 2005). Facilitative urea transporters are derived from the UT-A and UT-B genes. UT-B mRNA or protein expressions have been characterized in the rumen epithelium (Ludden et al. 2009; Marini and Van Amburgh 2003; Marini et al. 2004; Stewart et al. 2005). Gene transcript abundance for UT-B is significantly correlated with the ruminal serosal to mucosal urea fluxes. However, the mechanism by which the increased gene expression occurred is unclear (Jin et al. 2018). Transcriptome analysis has been used to analyze the rumen epithelium metabolic pathway changes under various conditions (Baldwin et al 2012; Dionissopoulos et al 2014; Naeem et al 2014). The regulation of these urea transport mechanisms across the rumen wall may be revealed through this approach.

Material and methods: Literature searches were performed through various databases (Google Scholar, PubMed, Medline, Science Direct, Scopus, Web of Science). The keywords used to search relevant studies included: carbohydrate, dietary, protein and urea transporter. Based on the selection criteria, only 11 articles were included in the database for the final analysis. The response variables extracted for the meta-analysis included pH, VFAs, N-NH₃ and UT-B expression. Meta-analysis was carried out using the Comprehensive Meta-Analysis package, version 3. The effect sizes of across studies were calculated with fixed and random effect models. The presence of true heterogeneity among studies was identified with Cochran's Q-tests and quantification of the degree of heterogeneity was done with the I^2 index. Possible publication bias was evaluated with funnel plot and statistical tests (Vesterinen et al. 2014).

Results and discussion: The results of current meta-analysis showed that different levels of CP in diet, has a positive effect on ruminal N-NH₃ concentration and UT-B expression (<0.05). However, different levels of dietary CP had insignificant effects on ruminal pH and VFAs concentration. The values of I^2 and Q for ruminal N-NH₃ concentration and UT-B expression effect size indicated high and moderate heterogeneity, respectively. Different levels of NFC in diet increased ruminal VFAs concentration and UT-B expression (<0.05). Different levels of dietary NFC decreased ruminal pH (<0.05). Ruminal N-NH₃ concentration was not influenced by different levels of dietary NFC. The values of I^2 and Q for pH and UT-B expression effect size indicated high heterogeneity.

Conclusion: According to the results of current meta-analysis, both dietary CP and NFC increase UT-B expression. It seems however that the NFC have a greater effect on increasing UT-B expression than CP.

Keywords: Carbohydrate, Dietary, Meta-analysis, Protein, Urea Transporter