نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۷ شماره ۴/ سال۱۳۹۶/ صفحات ۱۳۷ تا ۱۴۸

واکنش متابولیسمی گاوهای شیری به تزریق زایلازین هنگام دست‌کاری متابولیت‌های خونی

موسی زرین[1*] و روپرت بروکمایر[2]

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۲۳

[1] استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج

[2] استاد گروه فیزیولوژی دامپزشکی دانشگاه برن سوئیس

* مسئول مکاتبه: Email: mzarin@yu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: زایلازین به‌عنوان داروی بی‌هوشی و مسکن در جراحی به‌طور وسیعی در انسان و دام مورد استفاده قرار می‌گیرد. **هدف**: مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر تزریق زایلازین بر متابولیسم گاو شیری هنگام تغییر برخی از متابولیت‌های خونی بود. **روش کار**: در این مطالعه از تعداد ۲٤ رأس گاو هلشتاین با شکم زایش ۰/۱ ± ۳/۵ و ۰/۳ ± ۲۸ (Mean ± SD) هفته شیردهی استفاده شد. تیمارها شامل تزریق انسولین (n= ٦ ؛ HypoG)، انسولین و گلوکز (n= ٥ ؛ EuG)، بتاهیدروکسی‌بوتیرات (n= ٥؛ HyperB) و محلول نمکی ۰/۹٪ (n= ٨ ؛ Control) بوده که به مدت ٥٦ ساعت انجام پذیرفت. در ساعت چهل و هفتم آزمایش، زایلازین (١٦ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن) تزریق گردید. نمونه خونی قبل از تزریق (ساعت صفر) و یک ساعت بعد از تزریق زایلازین گرفته‌شد. تفاوت تغییر متابولیت‌ها با استفاده از رویه GLM و تفاوت بین غلظت متابولیت‌ها و هورمون‌ها قبل و بعد از تزریق زایلازین در داخل هر یک از گروه‌ها و بین تیمارهای مختلف با استفاده از رویه Mixed نرم‌افزار آماری SAS ارزیابی آماری گردید. داده‌ها به‌صورت Mean ± SEM بیان گردید. **نتایج**: زایلازین سبب افزایش غلظت گلوکز خون در گروه کنترل وHyperB گردید. در همه گروه‌ها به استثنای HypoG غلظت اسیدهای چرب کاهش یافت. غلظت بتاهیدروکسی‌بوتیرات و هورمون‌های انسولین و گلوکاگون تغییری نکرد ولی در گروه HypoG افزایش غلظت انسولین مشاهده شد. کاهش غلظت هورمون کورتیزول در همه گروه ها به استثنای HypoG مشاهده شد. **نتیجه‌گیری نهایی**: تأثیر زایلازین در زمان تغییر متابولیت‌ها متفاوت می‌باشد. عدم تغییر غلظت گلوکز در گروه‌هایی که انسولین دریافت کرده بودند ناشی از اثر ممانعت کنندگی انسولین بر افزایش غلظت گلوکز بود. با توجه به افزایش غلظت گلوکز در دو گروه از دام‌ها بدون تغییر در هورمون‌های انسولین و گلوکاگون، استنباط می‌شود که علاوه بر تنظیمات هورمونی مکانیسم‌های دیگری نیز در تنظیم گلوکز دخالت دارند.

واژگان کلیدی: انسولین، زایلازین، گلوکز، متابولیسم

مقدمه

زایلازین یک ترکیب شیمیایی است که به‌عنوان داروی بی‌هوشی، کاهنده درد در جراحی‌ها و دیگر اقدامات منجر به بهبود سلامت، و جهت تسکین درد به‌میزان وسیعی در انسان و دام مورد استفاده قرار می‌گیرد (اوکوودیلی و همکاران ۲۰۱٤). این ترکیب عمدتاً در دامپزشکی به‌عنوان یک داروی بی‌حسی، شل کننده عضلات و یک عامل ضد درد و بی‌هوشی در گونه‌های

مختلف حیوانی استفاده می‌شود. زایلازین یک ترکیب α2 آدرنرژیک بوده که باعث ایجاد اختلالات قلبی و کاهش نرخ تنفس در گاو و بز شده و همچنین سبب تغییر در متابولیت‌ها می‌شود که در این مورد می‌توان به کاهش غلظت انسولین و افزایش غلظت گلوکز خون اشاره کرد (فاید و همکاران ۱۹۸۹). مطالعات زیادی نشان داده است که ترکیبات α2 آگونیستی نظیر زایلازین باعث کاهش غلظت کاته‌کول‌آمین‌ها و کورتیزول (بنسون و همکاران ۱۹۹۱؛ فرانک و همکاران ۱۹۹۲) و انسولین شده (بنسون و همکاران ۱۹۸٤) و از تجزیه‌ی چربی‌ها در گونه‌های مختلف ممانعت به عمل می‌آورد (آمبریسکو و هیکاسا ۲۰۰۲؛ ویکمن و همکاران ۱۹۹٦). همچنین تزریق زایلازین باعث افزایش غلظت گلوکز خون در گاوها (ریزک و همکاران ۲۰۱۲) و غلظت گلوکاگون در گوسفند گردید (بروکمن ۱۹۸۱).

در گاوهای شیری گلوکز عنصر اصلی ساخت قند شیر بوده و نیاز به این عنصر در اوایل شیردهی به بالاترین حد خود می‌رسد (بل ۱۹۹۵). در اوایل شیردهی قسمت اعظم گلوکز صرف تولید لاکتوز در پستان می‌شود (هانیگان و همکاران ۲۰۰۱). با توجه به این‌که گلوکز به عنوان یک عامل محدود کننده در تولید لاکتوز می‌باشد سطح شیر تولیدی به گلوکز خون وابسته است (دانفائر ۱۹۹٤). در گاوهای پرتولید به‌دلیل عدم برآورده شدن نیازهای انرژی و مواد مغذی برای تولید شیر بعد از زایمان توسط خوراک مصرفی، متابولیت‌ها و هورمون‌ها دچار تغییراتی می‌شوند که باعث به‌وجود آمدن تعادل منفی انرژی می‌شود. این تغییرات شامل کاهش غلظت گلوکز، افزایش غلظت اسیدهای چرب و به‌تبع آن افزایش غلظت اجسام کتونی به‌خصوص بتاهیدروکسی‌بوتیرات است (ون‌دورلند و همکاران ۲۰۰۹؛ گروس و همکاران ۲۰۱۱). در این دام‌ها کبد به دلیل فعالیت‌های شدید برای تأمین مایحتاج انرژی و مواد مغذی مورد نیاز جهت تولید شیر تحت تأثیر قرار می‌گیرد و متابولیت‌ها و هورمون‌ها دچار تغییرات گسترده‌ای می‌شوند (زرین و همکاران ۲۰۱۳، ۲۰۱٤، ۲۰۱۷). با توجه به عدم تعادل متابولیت‌ها و هورمون‌ها در زمان بالانس منفی انرژی و اثرات تأیید شده زایلازین بر متابولیت‌های خونی، ممکن است تزریق زایلازین در زمان اعمال جراحی و دیگر اقداماتی که منجر به بهبود سلامت دام می‌شود در دام‌هایی که متابولیت‌ها از طریق تزریق تغییر کرده‌اند متفاوت‌تر از دام‌های سالم باشد. هدف از انجام این آزمایش بررسی پاسخ متابولیسمی گاوهای شیری به تزریق زایلازین در زمان تغییر متابولیت‌های خونی نظیر گلوکز، بتاهیدروکسی‌بوتیرات و هورمون انسولین بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲٤ رأس گاو هلشتاین با شکم زایش ۰/۱ ± ۳/۵ و۰/۳± ۲۸ (Mean ± SD) هفته بعد از زایمان برای انجام این آزمایش انتخاب شدند. هدف از انتخاب دام‌ها در اواخر شیردهی، بررسی اثر تغییر متابولیت‌ها از طریق تزریق متابولیت‌ها، بدون دخالت تغییرات ناشی از تعادل منفی انرژی در دوران انتقال بود. به‌منظور سازگاری با شرایط نگه‌داری و تغذیه‌ای، دو هفته قبل از شروع آزمایش دام‌ها به جایگاه‌های انفرادی انتقال داده شدند. در طول دوره سازگاری و آزمایش، دام‌ها به‌صورت آزاد از علوفه خشک مرغوب تغذیه شدند. علاوه بر آن بر اساس تولید هر یک از آن‌ها کنسانتره دارای انرژی و پروتئین بالا به‌صورت روزانه در اختیار آن‌ها قرار گرفت. در طول این دوره دام‌ها به‌صورت آزاد به آب شرب بهداشتی دسترسی داشته و مکمل معدنی به میزان ۵۰ گرم در روز به ازای هر گاو در اختیار آن‌ها قرار داده شد. گاوها به‌صورت تصادفی به چهار گروه اختصاص داده شدند که عبارتند از: تزریق انسولین به‌منظور کاهش غلظت گلوکز خون به کمتر از٤۵ mg/dl ، یا ۲/۵ mmol/L (HypoG ؛n=٦)، تزریق انسولین (۰/٦ ±۰/۱ mU/kg of BW) همراه با گلوکز جهت افزایش غلظت انسولین و ثابت نگه‌داشتن غلظت گلوکز خون در حد فیزیولوژیک (EuG ؛n=۵)، تزریق

بتاهیدروکسی‌بوتیرات[1](BHB) به‌منظور افزایش غلظت BHB (۱/۵ mmol/L تا ۲/۰) بالاتر از مقدار مشخص‌شده در زمان وقوع کتوز تحت بالینی (۱/۲ mmol/L) (n=۵؛ HyperB)، و تزریق سرم فیزیولوژی (NaCl ۰/۹٪) به‌عنوان گروه کنترل (n=۸؛ Control). روز قبل از شروع آزمایش کاتترهای داخل رگی (Cavafix® Certo® Splittocan®, B. Braun Melsung AG, Germany) به طول ۳۲ سانتی‌متر و قطرG ۱۶ در ورید گردنی دو طرف گردن تعبیه گردید. یکی از کاتترها به‌منظور تزریق و از کاتتر دیگر – به‌منظور جلوگیری از تداخل نمونه خون با محلول تزریقی – برای خون‌گیری استفاده گردید. مدت زمان تزریق متابولیت‌ها ۵۶ ساعت بود که از ساعت ۹ صبح روز اول شروع و تا ساعت ۵ بعد از ظهر روز سوم با استفاده از پمپ خودکار (Perfuser, B. Braun Melsungen AG) ادامه پیدا کرد. در بخش اول این آزمایش که به‌صورت یک آزمایش کلی و جامع بود اثرات تزریق متابولیت‌ها در ۴۸ ساعت اول بررسی گردید. ایجاد هایپرانسولینمی هایپوگلایسمی به‌وسیله تزریق انسولین گاوی (# I4011; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) صورت گرفت. میزان تزریق انسولین بر اساس غلظت گلوکز پلاسما که در دو ساعت اول، هر پنج دقیقه یک‌بار و به‌صورت ساعتی در طول دوره‌ی آزمایش اندازه‌گیری شد تنظیم گردید. هدف از ایجاد هایپرانسولین – گلوکز نرمال- افزایش غلظت انسولین و ثابت نگه‌داشتن غلظت گلوکز خون در حد فیزیولوژیک از طریق تزریق همزمان انسولین (بر اساس میانگین نرخ تزریق انسولین در گروه هایپوگلایسمی ۰/۶ mU/kg BW/min) و تزریق پیوسته و تنظیم‌شده‌ی گلوکز(Dr G. Bichsel AG, Interlaken, Switzerland) صورت پذیرفت. مقدار تزریق محلول BHB (DL-Beta-hydroxybutyric acid sodium salt; Sigma-Aldrich, H6501) بر اساس مولاریته محلول و وزن زنده دام محاسبه و به‌طور میانگین ۰/۶ ± ۸/۵۴ µmol/kg/min بود. میزان تزریق محلول نمکی ۰/۹ درصد به هر یک از دام‌ها ۲۰ mL/h بود. روش آماده‌سازی و نحوه تزریق محلول‌های مختلف قبلاً توسط کریپه و همکاران (۲۰۱۱)، ورنی و همکاران (۲۰۱۲) و زرین و همکاران (۲۰۱۳) به‌صورت کامل شرح داده‌شده است.

در بخش دوم آزمایش اصلی، واکنش سیستم ایمنی و متابولیسمی بدن به تحریک سیستم پستانی با استفاده از لیپوپلی‌ساکارید باکتری *Ecoli* (LPS Ecoli) در ۸ ساعت پایانی بررسی گردید و نتایج آن منتشر گردید (کریپه و همکاران ۲۰۱۱؛ ورنی و همکاران ۲۰۱۲؛ زرین و همکاران ۲۰۱۳،۲۰۱۴). به‌همین منظور چهل و هشت ساعت پس از شروع آزمایش، 200 µg از سروتایپ 026:B6 لیپوپلی‌ساکارید (# L8274; Sigma-Aldrich) به دو تا از کارتیه ها به عنوان LPS quarter و محلول سرم فیزیولوژی ۰/۹٪ به دو کارتیه دیگر به عنوان کارتیه های کنترل تزریق گردید. یک هفته قبل از شروع آزمایش، ۴۸ ساعت (قبل از تزریق LPS) و ۵۶ ساعت پس از شروع آزمایش (۸ ساعت پس از تزریق LPS) از هر دو کارتیه بوسیله تفنگ بیوپسی نمونه‌برداری صورت گرفت.

چهل و هفت ساعت پس از شروع تزریق متابولیت‌ها، به‌منظور بیوپسی بافت پستان داروی زایلازین (µg/kg ۱۶ of BW ; Xylazine Streuli ad us. vet.; G. Streuli & Co. AG, Uznach, Switzerland) از طریق کاتتر به داخل رگ تزریق گردید. خون‌گیری برای اندازه‌گیری متابولیت‌های خونی نظیر گلوکز، اسیدهای چرب(FFA)[2]، BHB و هورمون‌هایی نظیر انسولین، گلوکاگون، و کورتیزول قبل از تزریق زایلازین (ساعت صفر) به‌عنوان غلظت‌های پایه و یک ساعت بعد از تزریق زایلازین از طریق کاتتر نصب شده در طرف دیگر گردن انجام گرفت. برای خون‌گیری از لوله‌های حاوی K_3EDTA استفاده گردید که بلافاصله پس از خون‌گیری لوله‌ها در آب یخ نگه‌داری و سپس به آزمایشگاه منتقل شد و با

[1] Beta-hydroxybutyrate

[2] Free Fatty Acids

استفاده از سانتریفیوژ در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور g× ۳۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه پلاسمای آن جدا گردید و برای انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره‌سازی گردید.

غلظت متابولیت‌های خونی نظیر گلوکز، اسیدهای چرب، و بتاهیدروکسی‌بوتیرات به روش آنزیمی توسط دستگاه اتوآنالایزر (Cobas Mira 2, Hoffmann-La Roche, Basel, Switzerland) با استفاده از کیت‌های تجاری مختلف اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری غلظت گلوکز از کیت (BioMerieux no. 61270, Marcy l'Etoile, France)، اسیدهای چرب از کیت (Wako no. 994-75409, Neuss, Germany)، و BHB از کیت (Randox no. RB1007, Ibach, Switzerland) استفاده گردید. برای اندازه‌گیری انسولین از روش پرتو ایمن آزمایی (RIA) استفاده شد. غلظت هورمون گلوکاگون خون با استفاده از کیت تجاری (cat. # GL-32K, MILLIPORE, Zug, Switzerland) با روش RIA اندازه‌گیری گردید. غلظت هورمون کورتیزول خون با روش RIA بر اساس روشی که توسط ویکاری و همکاران (۲۰۰۸) شرح دادند اندازه‌گیری شد.

این آزمایش در قالب یک طرح دو عاملی بر اساس مفروضات طرح‌های کاملاً تصادفی انجام گردید. برای هرکدام از پارامترها میزان تغییرات (قبل از تزریق- بعد از تزریق = میزان تغییرات) محاسبه شد و بر اساس رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS مورد ارزیابی آماری قرار گرفت و تفاوت میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی مقایسه گردید. تفاوت بین غلظت متابولیت‌ها و هورمون‌ها بین قبل و بعد از تزریق زایلازین (زمان صفر و یک ساعت بعد از تزریق) در داخل هر یک از گروه‌ها و بین گروه‌ها مختلف با استفاده از رویه Mixed نرم‌افزار آماری SAS ارزیابی آماری گردید که در این رویه زمان (صفر و یک ساعت بعد از تزریق) و گروه‌ها به عنوان اثرات ثابت در نظر گرفته شدند. داده‌ها به‌صورت (Mean ± SEM) بیان گردیده و $P\leq ۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. مدل آماری مورد استفاده در این آزمایش مطابق مدل زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk}، صفت اندازه‌گیری شده؛ μ، میانگین صفت؛ α_i، اثر زمان (صفر و یک ساعت بعد از تزریق)؛ β_j، اثر گروه‌ها؛ $\alpha\beta_{ij}$ اثر متقابل زمان و گروه‌ها؛ و ε_{ijk}، باقی‌مانده خطای آزمایش می‌باشد و فرض گردید که از توزیع نرمال با $N(\mu_{ijk}, \sigma^2_{ijk})$ پیروی می‌کند.

نتایج و بحث

غلظت‌های پایه متابولیت‌ها و هورمون‌ها (زمان صفر) و تغییرات ناشی از تزریق زایلازین در جدول ۱ نشان داده شده است. همچنین روند تغییرات در زمان‌های اندازه‌گیری متابولیت‌ها و هورمون‌های مختلف نیز در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به ماهیت و هدف اصلی این آزمایش، غلظت گلوکز خون در گروه HypoG قبل از تزریق زایلازین در حد مورد نظر (کمتر از ۲/۵ میلی‌مول در لیتر) قرار داشت که از سه گروه دیگر کاملاً پایین‌تر بود ($P<۰/۰۰۱$). تزریق زایلازین سبب افزایش غلظت گلوکز خون در گروه کنترل و گروه HyperB گردید ($P<۰/۰۵$؛ شکل۱) که این نتایج با گزارش دیگر محققین هم‌خوانی دارد (هسو و هیومل ۱۹۸۱؛ فاید و همکاران ۱۹۸۹؛ اوکوودیلی و همکاران ۲۰۱٤). در دو گروه HypoG و EuG تزریق زایلازین بر غلظت گلوکز خون تأثیری نداشته و غلظت گلوکز بدون تغییر در حد قبل از تزریق باقی ماند. در آزمایش انجام‌شده توسط آمبریسکو و هیکاسا (۲۰۰۲) که نتایج آن با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد، تزریق زایلازین و یکی دیگر از ترکیبات $\alpha 2$ آگونیستی به‌نام مدیتومایدین به سگ‌ها باعث افزایش غلظت گلوکز خون گردید. واکنش گلوکز به تزریق این ترکیبات به‌صورتی بود که با افزایش دز زایلازین تزریقی غلظت گلوکز خون افزایش بیشتری داشت ولی در پاسخ به تزریق مدیتومایدین افزایش

غلظت گلوکز خون به میزان تزریق بیشتر واکنشی نشان نداد.

جدول ۱- غلظت متابولیت‌ها و هورمون‌های خون در گروه‌های تزریقی قبل از تزریق زایلازین (زمان صفر) و تغییرات ناشی از تزریق زایلازین (قبل از تزریق – یک ساعت بعد از تزریق = تفاوت تزریق)

Table 1- Blood metabolites and hormones concentration in infusion groups before xylazine injection (Time 0) and changes due to xylazine injection (Changes difference = 1h after injection – before injection)

Parameters صفات	Groups گروه‌ها	Time 0 زمان صفر/ قبل از تزریق	Delta (Time 1- Time 0) تفاوت تغییرات (یک ساعت بعد از تزریق – زمان صفر)	ANOVA (P-Value,group)
گلوکز Glucose, mg/dl	EuG	64.17 ± 5.21^{ab}	6.40 ± 4.40^{ab}	0.05
	HyperB	73.70 ± 5.57^{a}	17.95 ± 6.13*^{a}	
	HypoG	45.51 ± 4.24^{b}	-7.20 ± 5.14^{b}	
	Control	76.82 ± 6.53^{a}	13.94 ± 6.40*^{a}	
بتاهیدروکسی‌بوتیرات BHBA, mmol/L	EuG	0.27 ± 0.09^{a}	0.01 ± 0.11	0.60
	HyperB	1.00 ± 0.10^{b}	0.13 ± 0.12	
	HypoG	0.34 ± 0.10^{a}	0.00 ± 0.12	
	Control	0.49 ± 0.09^{a}	-0.09 ± 0.10	
اسیدهای چرب FFA, mmol/L	EuG	0.07 ± 0.04	-0.05 ± 0.03	0.46
	HyperB	0.14 ± 0.04	-0.06 ± 0.03*	
	HypoG	0.20 ± 0.04	-0.11 ± 0.03*	
	Control	0.13 ± 0.03	-0.05 ± 0.02*	
انسولین Insulin, µU/mL	EuG	43.30 ± 6.05^{b}	7.46 ± 5.54	0.06
	HyperB	8.78 ± 6.62^{a}	0.52 ± 4.98	
	HypoG	11.52 ± 6.62^{a}	17.32 ± 4.98*	
	Control	8.57 ± 5.59^{a}	-0.21 ± 4.20	
کورتیزول Cortisol, ng/mL	EuG	12.63 ± 1.80^{a}	-8.98 ± 1.67*^{b}	0.04
	HyperB	9.20 ± 2.21^{ab}	-6.53 ± 2.05*^{ab}	
	HypoG	5.56 ± 1.98^{ab}	-2.08 ± 1.83^{a}	
	Control	4.70 ± 1.67^{b}	-3.38 ± 1.55*^{ab}	
گلوکاگون Glucagon, pg/mL	EuG	73.96 ± 9.09^{a}	-2.77 ± 6.88	0.19
	HyperB	105.08 ± 10.02^{ab}	-6.90 ± 7.56	
	HypoG	109.11 ± 10.04^{ab}	9.49 ± 7.57	
	Control	116.04 ± 8.47^{b}	-13.13 ± 6.40	

داده‌ها به‌صورت Mean ± SEM نشان داده‌شده‌اند.

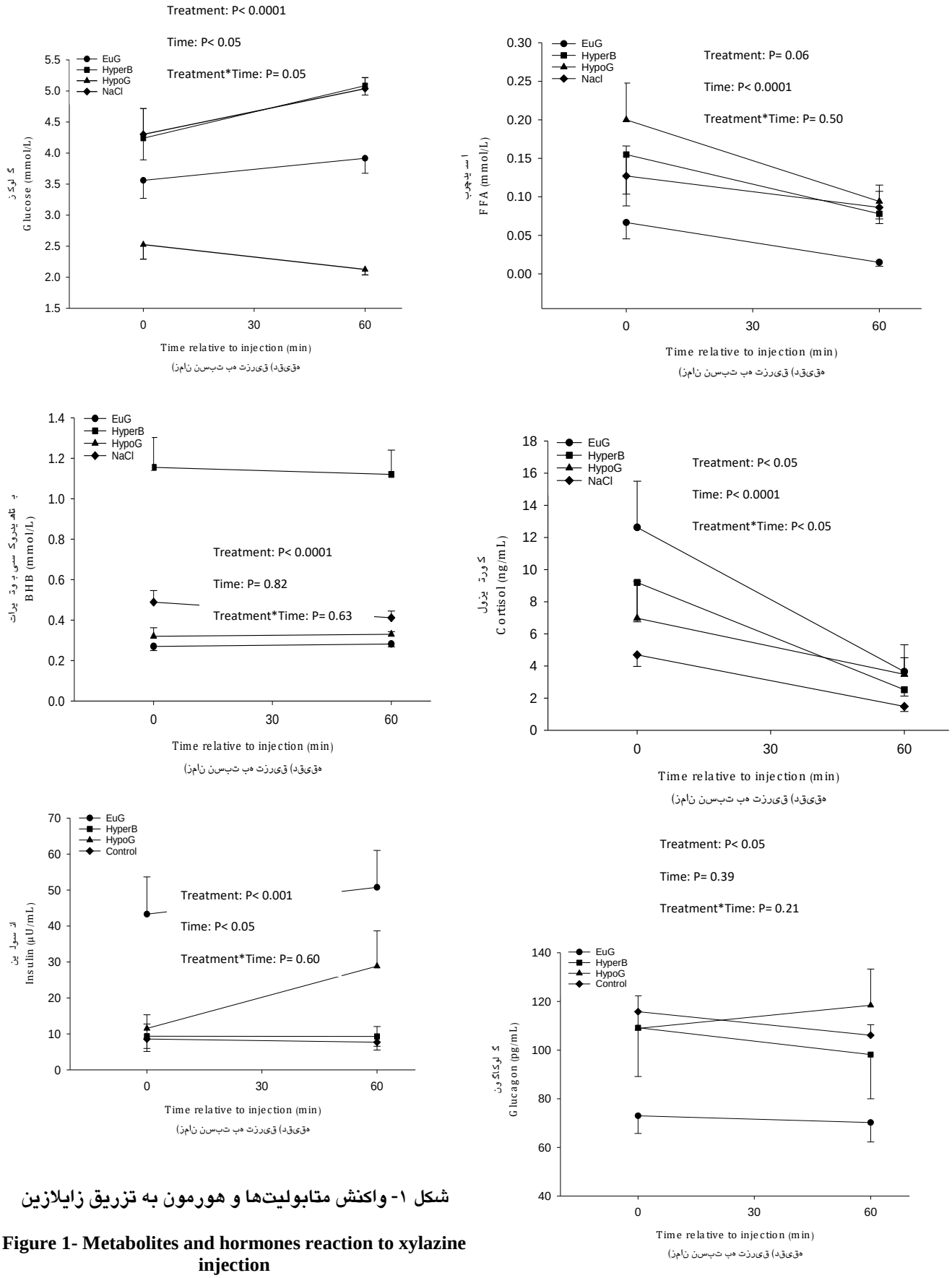
$^{a, b, c}$ میانگین‌های داخل ستون‌های مشابه و مربوط به یک صفت با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<۰/۰۵$).

* تفاوت تغییرات نسبت به صفر متفاوت است ($P<۰/۰۵$).

Values represent mean ± SEM

$^{a, b, c}$ Means within the same column and variables with different superscripts differ significantly (P<0.05).

*Delta is different from 0 (P<0.05).



شکل ۱- واکنش متابولیت‌ها و هورمون به تزریق زایلازین

Figure 1- Metabolites and hormones reaction to xylazine injection

مطالعات زیادی افزایش غلظت گلوکز را در نتیجه تزریق زایلازین در گاو (هسو و هیومل ۱۹۸۱؛ ریزک و همکاران ۲۰۱۲) و موش (گوتو و همکاران ۱۹۸۸)، نشان دادند و بیان کردند که این افزایش غلظت حتی با افزایش دز زایلازین تزریقی افزایش پیدا کرد. اکوودیلی و همکاران (۲۰۱٤) گزارش کردند تزریق ۰/۰۵ میلی‌گرم زایلازین به بز به ازای هرکیلوگرم وزن زنده به‌همراه برخی دیگر از داروهای بی‌هوشی مثل تروپوفول و کتامین، غلظت گلوکز خون را پس از ۳۰ دقیقه افزایش داد و این افزایش غلظت گلوکز تا دو ساعت پس از تزریق ادامه داشت و در نهایت سیر کاهشی داشته و به غلظت قبل از تزریق بازگشت. افزایش غلظت گلوکز در پاسخ به تزریق زایلازین ممکن است به دلیل واکنش بدن به استرس ایجاد شده باشد (ساها و همکاران ۲۰۰۵) و اثرات افزایش غلظت گلوکز توسط داروهای بی‌هوشی نظیر کتامین و زایلازین توسط مطالعات قبلی نیز گزارش گردیده است (شریف و ابوذر ۲۰۰۹). آزمایش‌های دیگری نیز افزایش غلظت گلوکز خون را به‌دلیل تزریق زایلازین به سگ و گربه گزارش نمودند با این تفاوت که در این آزمایش‌ها تزریق زایلازین بر روی انسولین تأثیری نداشت (بنسون و همکاران ۱۹۸٤؛ فلدبرگ و سیموندز۱۹۸۰). به خوبی مشخص شده است که ترکیبات $\alpha 2$ آگونیستی با تأثیر بر فعالیت $\alpha 2$ آدرنوسپتور در سلول‌های β پانکراس و جلوگیری از ترشح انسولین سبب افزایش غلظت گلوکز خون در گاو می‌شود (هسو وهیومل ۱۹۸۱؛ یامازاکی و همکاران ۱۹۸۲).

در آزمایش حاضر تزریق زایلازین بر غلظت انسولین خون تأثیری نداشت (P=۰/۰٦)، ولی در گروه HypoG به‌دلیل تزریق انسولین به‌منظور کاهش غلظت گلوکز و تزریق انسولین و گلوکز در گروه EuG به‌منظور بررسی اثر افزایش غلظت انسولین، غلظت انسولین افزایش یافته که مقدار این افزایش در گروه HypoG از نظر آماری معنی‌دار بود. بنابراین عدم افزایش غلظت گلوکز در این دو گروه می‌تواند به‌دلیل تأثیر هورمون کاهنده گلوکز یعنی انسولین باشد که می‌تواند از طریق مکانیسم‌های متفاوتی ازجمله افزایش جذب گلوکز توسط بافت‌ها، افزایش ساخت گلیکوژن، افزایش گلایکولیز، و کاهش ساخت گلوکز از طریق مسیر گلوکونئوژنز صورت پذیرد (هسو و هیومل ۱۹۸۱). آزمایش‌های مختلفی کاهش غلظت انسولین و به‌تبع آن افزایش غلظت گلوکز را درنتیجه تزریق ترکیبات $\alpha 2$ آگونیستی در گونه‌های مختلف نشان داده‌اند (آمبریسکو و هیکاسا ۲۰۰۲).

علاوه بر انسولین یکی دیگر از هورمون‌هایی که در تنظیم هموستازی گلوکز دخالت دارد هورمون گلوکاگون است که افزایش ترشح این هورمون افزایش غلظت گلوکز خون را به‌دنبال دارد. نتایج به‌دست آمده از آزمایش حاضر در ارتباط با غلظت گلوکاگون نشان داد که هورمون گلوکاگون هیچ‌گونه واکنشی در پاسخ به تزریق زایلازین نسبت به سطح قبل از تزریق نداشت. در آزمایش آمبریسکو و هیکاسا (۲۰۰۲) با تزریق غلظت‌های مختلف زایلازین به سگ تأثیری بر هورمون گلوکاگون مشاهده نشد و پیشنهاد شد که افزایش غلظت گلوکز درنتیجه افزایش غلظت گلوکاگون نبود. علاوه بر این دیگر مطالعات نیز عدم واکنش هورمون گلوکاگون را در پاسخ به تزریق زایلازین در سگ و گربه نشان دادند (فلدبرگ و سیموندز ۱۹۸۰).

کورتیزول از جمله هورمون‌هایی است که در پاسخ به فعالیت‌های استرس‌زا مانند بیماری، تروما، جراحی، گرمای شدید، و حمل و نقل ترشح بیشتری داشته (هوکلبریج وهمکاران ۱۹۹۹) و با تأمین انرژی مورد نیاز بدن در چنین مواقعی باعث پاسخ دهی مناسب سیستم ایمنی می‌شود (اشمیت و همکاران ۲۰۱۰)، در صورتی که داروهای بی‌هوشی از ترشح هورمون کورتیزول جلوگیری کرده و غلظت این هورمون را در خون کاهش می دهند (سانهوری و همکاران ۱۹۹۲). با در نظر گرفتن غلظت هورمون کورتیزول در زمان قبل از تزریق و مقایسه آن با یک ساعت پس از تزریق زایلازین مشخص

گردید که غلظت هورمون کورتیزول در واکنش به تزریق زایلازین روند کاهشی داشته (P=۰/۰٤) و مقدار آن در همه گروه‌ها به غیر از گروه HypoG کمتر از زمان صفر بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۱). در تأیید نتایج مطالعه حاضر آزمایش‌های قبلی نشان دادند که تزریق زایلازین باعث کاهش غلظت هورمون کورتیزول در گاو و بز می‌شود (سانهوری و همکاران ۱۹۹۲). بی‌حسی با استفاده از زایلازین از افزایش غلظت کورتیزول در خون سگ‌ها جلوگیری کرد (فرانک و همکاران ۱۹۹۲). تأثیر ترکیبات α2 آگونیستی بر ترشح کورتیزول از طریق تأثیر بر هر دو محل پیرامونی از طریق کورتکس آدرنال و سایت مرکزی وظیفه آزاد کردن عامل آزادکننده کورتیکوتروپین(CRF) و هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH)در مغز را به‌عهده دارند صورت می‌گیرد. کاهش غلظت کورتیزول در بز در نتیجه تزریق زایلازین همراه دیگر داروی‌های بی‌هوشی توسط اکوودیلی و همکاران (۲۰۱٤) گزارش شده است و در آزمایش دیگری که بر روی گاو انجام شد زایلازین در مقایسه با تزریق سرم فیزیولوژی سبب افزایش معنی‌دار غلظت گلوکز و کاهش غلظت کورتیزول خون گردید (ریزک و همکاران ۲۰۱۲). اثر کاهش دهنده زایلازین بر غلظت کورتیزول ممکن است به دلیل تأثیرات بازدارنده این ترکیب بر ساخت استروئیدها در غده آدرنال باشد (ریزک و همکاران ۲۰۱۲).

در همه گروه‌ها به استثنای گروه HypoG تزریق زایلازین سبب کاهش غلظت اسیدهای چرب نسبت به زمان صفر گردید ($P<۰/۰۵$) ولی بین تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در ارتباط با تأثیر تزریق زایلازین بر اسیدهای چرب مطالعه آمبریسکو و هیکاسا (۲۰۰۲) اولین مطالعه‌ای بود که گزارش کرد تزریق ترکیبات α2 آگونیستی مانند زایلازین و مدیتومایدین باعث کاهش غلظت اسیدهای چرب و کاهش تجزیه چربی‌ها در سگ گردید که این تأثیر می‌تواند از طریق تأثیر بر روی آدرنورسپتورهای α2 مرکزی و سطحی باشد (ویکمن و همکاران ۱۹۹٦).

تزریق زایلازین بر غلظت بتاهیدروکسی‌بوتیرات تأثیری نداشته و این متابولیت هیچ‌گونه واکنشی به تزریق زایلازین نشان نداد.

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، تزریق زایلازین سبب ایجاد تغییراتی در برخی از متابولیت‌ها گردید. این تغییرات حتی در دام‌هایی که متابولیت‌ها نیز از طریق تزریق دستکاری شده بودند، مشاهده شد. در این مطالعه تأثیر تزریق زایلازین بر متابولیسم گلوکز متفاوت بود. با توجه به عدم تأثیر زایلازین بر غلظت گلوکز در دو گروه از دام‌هایی که به آن‌ها انسولین تزریق شده بود، عدم تغییر گلوکز خون ممکن است در نتیجه اثرات کاهش دهندگی هورمون انسولین بر گلوکز خون و در نتیجه ممانعت از افزایش گلوکز خون باشد. در حالی‌که افزایش غلظت گلوکز خون در واکنش به تزریق زایلازین در دو گروه از دام‌ها بدون تغییر در غلظت هورمون‌های انسولین و گلوکاگون که از تنظیم کننده‌های مهم گلوکز خون می‌باشند مشاهده شد و می‌توان چنین استنباط نمود که تنظیم گلوکز خون توسط مکانیسم‌های دیگری در بدن به غیر از مکانیسم هورمونی کنترل می‌شود. بنابراین زمانی‌که متابولیت‌ها دستخوش تغییرات می‌شوند به‌خصوص در دوره انتقال، استفاده از داروهای بی‌هوشی در زمان اعمال جراحی نمی‌تواند انرژی لازم جهت پاسخ مناسب سیستم ایمنی بدن را تأمین نماید.

سپاسگزاری

نویسندگان برخود لازم می‌دانند از زحمات بی‌دریغ جناب آقای دکتر احمدپور که با پیشنهادات خود موجب غنای این مقاله شدند تشکر و قدردانی نمایند.

منابع مورد استفاده

Ambrisko TD and Hikasa Y, 2002. Neurohormonal and metabolic effects of medetomidine compared with xylazine in beagle dogs. The Canadian Journal of Veterinary Research 66: 42.49.

Bell AW و 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. Journal of Animal Science 73: 2804–19.

Benson GJ, Thurmon JC, Neff -Davis C, Corbin JE, Davis LE, Wilkinson B and Tranquilli WJ, 1984. Effect of xylazine hydrochloride upon plasma glucose and serum insulin concentrations in adult pointer dogs. Journal of the American Animal Hospital Association 20: 791–794.

Benson GJ, Wheaton LG, Thurmon JC, Tranquilli WJ, Olson WA and Davis CA, 1991. Postoperative catecholamine response to onychectomy in isoflurane-anesthetized cats: Effect of analgesics. Veterinary Surgery 20: 222–225.

Brockman RP, 1981. Effect of xylazine on plasma glucose, glucagon and insulin concentrations in sheep. Research in Veterinary Science 30: 383–384.

Danfaer A, 1994. Nutrient metabolism and utilization in the liver. Livestock Production Science 34: 115–27.

Fayed AH, Abdalla EB, Anderson RR, Spencer K and Johnson HD, 1989. Effect of xylazine in heifers under thermoneutral or heat stress conditions. American journal of veterinary research 50 (1): 151-153.

Feldberg W, and Symonds HW, 1980. Hyperglycemic effect of xylazine. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 3: 197–202.

Frank LA, Kunkle GA and Beale KM, 1992. Comparison of serum cortisol concentration before and after intradermal testing in sedated and nonsedated dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association 200: 507–510.

Gotoh M, Iguchi A and Sakamoto N, 1988. Central versus peripheral effect of clonidine on hepatic venous plasma glucose concentrations in fasted rats. Diabetes 37: 44–49.

Gross J, van Dorland HA, Bruckmaier RM and Schwarz FJ, 2011. Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. Journal of Dairy Science 94: 1820-1830.

Hanigan MD, Crompton LA, Metcalf JA and France J, 2001. Modelling mammary metabolism in the dairy cow to predict milk constituent yield, with emphasis on amino acid metabolism and milk protein production: model construction. Journal of Theoretical Biology 213: 223–39.

Hsu WH and Hummel SK, 1981. Xylazine-induced hyperglycemia in cattle: A possible involvement of 2-adrenergic receptors regulating insulin release. Endocrinology 109: 825–829.

Hucklebridge FH, Clow A, Abeyguneratne T, Huezo-Diaz P and Evans P, 1999. The awakening cortisol response and blood glucose levels. Life Sciences 64: 931–937.

Kreipe L, Vernay MCMB, Oppliger A, Wellnitz O, Bruckmaier RM, and van Dorland HA, 2011. Induced hypoglycemia for 48 hours indicates differential glucose and insulin effects on liver metabolism in dairy cows. Journal of Dairy Science 94: 5435-5448.

Okwudili UC, Chinedu EA, and Anayo OJ, 2014. Biochemical effects of Xylazine, propofol, and ketamine in West African dwarf goats. Journal of Veterinary Medicine. http://dx.doi.org/10.1155/2014/758581

Rizk A, Herdtweck S, Meyer H, Offinger J, Zaghloul A and Rehage J, 2012. Effects of xylazine hydrochloride on hormonal, metabolic, and cardiorespiratory stress responses to lateral recumbency and claw trimming in dairy cows. Journal of the American Veterinary Medical Association 240 (10): 1223-1230.

Saha JK, Xia J, Grondin JM, Engle SK and Jakubowski JA, 2005. Acute hyperglycemia induced by ketamine/xylazine anesthesia in rats: Mechanisms and implications for preclinical models. Experimental Biology and Medicine 230: 777-784.

Sanhouri AA, Jones RS and Dobson H, 1992. Effects of xylazine on the stress response to transport in male goats. British Veterinary Journal 148 (2): 119-128.

Schmidt A, Hödl S, Möstl E, Aurich J, Müller J and Aurich C, 2010. Cortisol release, heart rate, and heart rate variability in transport-naive horses during repeated road transport. Domestic Animal Endocrinology 39(3): 205–213.

Sharif SI and Abouazra HA, 2009. Effect of intravenous ketamine administration on blood glucose levels in conscious rabbits. American Journal of Pharmacology and Toxicology 4(2): 38-45.

van Dorland HA, Richter S, Morel I, Doherr MG, Castro N and Bruckmaier RM, 2009. Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows. Journal of Dairy Science 92: 1924-1940.

Vernay MCMB, Wellnitz O, Kreipe L, van Dorland HA and Bruckmaier RM, 2012. Local and systemic response to intramammary lipopolysaccharide challenge during long-term manipulated plasma glucose and insulin concentrations in dairy cows. Journal of Dairy Science 95: 2540–2549.

Vicari T, van den Borne JJGC, Gerrits WJJ, Zbinden Y and Blum JW, 2008. Postprandial blood hormone and metabolite concentrations influenced by feeding frequency and feeding level in veal calves. Domestic Animal Endocrinology 34: 74–88.

Vikman HL, Savola JM, Raasmaja A and Ohisalo JJ, 1996. Alpha 2A-adrenergic regulation of cyclic AMP accumulation and lipolysis in human omental and subcutaneous adipocytes. International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity, 20: 185–189.

Yamazaki S, Katada T and Ui M, 1982. Alpha2-adrenergic inhibition of insulin secretion via interference with cyclic AMP generation in rat pancreatic islets. Molecular pharmacology 21: 648–653.

Zarrin M, De Matteis L, Vernay MCMB and Bruckmaier RM, 2013. Long-term elevation of beta-hydroxybutyrate in dairy cows through infusion: effects on feed intake, milk production, and metabolism. Journal of Dairy Science 96: 2960-2972.

Zarrin M, Grossen-Rösti L, Bruckmaier RM, and Gross JJ, 2017. Elevation of blood β-hydroxybutyrate concentration affects glucose metabolism in dairy cows before and after Parturition. Journal of Dairy Science 100: 2323-2333.

Zarrin M, Wellnitz O, van Dorland HA, Gross JJ and Bruckmaier RM, 2014. Hyperketonemia during LPS induced mastitis affects systemic and local intramammary metabolism in dairy cows. Journal of Dairy Science 97: 3531–3541.

Metabolism reaction of dairy cows to xylazine injection during manipulated plasma metabolites

M Zarrin[1*], and R M Bruckmaier[2]

Received: June 21, 2017 Accepted: October 15, 2017
[1]Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran
[2]Professor, Veterinary Physiology, Vet Suisse Faculty, University of Bern, Bern, Switzerland
[*]Corresponding author: mzarin@yu.ac.ir

Introduction: Xylazine is widely used in human and animal for different purposes such as anesthetics and analgesics in surgery. This component induces sedative, muscle relaxation and analgesic in veterinary. Xylazine is a α-2 agonist which causes cardiovascular and respiratory problem in animals. There is evidence that xylazine injection changed metabolites and endocrine in different species.

In early lactation, the onset of copious milk production would bring about hepatic metabolic overloud to meet the energy and nutrient requirements for milk production. Elevation of energy and nutrient requirements for maintenance and milk synthesis cannot fulfill the feed intake, which consequently causes a negative energy balance (NEB) in early lactation in dairy cows. During a NEB, low plasma glucose concentrations are observed, while concomitantly concentrations of plasma free fatty acids (FFA) and subsequently ketone bodies are increased. Our earlier studies confirmed that manipulated insulin, glucose, and BHB concentrations, through infusion, changed plasma metabolites and endocrine in mid-lactating dairy cows, affected systemic/ local mammary metabolism, and immune response of the mammary gland.

Based on our previous results and proved effects of xylazine injection on metabolism, this study aimed to assess the effects of xylazine injection on dairy cow metabolism alongside the change in some of blood metabolites and endocrine.

Material and methods: The study was carried out on 24 clinically healthy multiparous (3.5 ± 0.10) Holstein dairy cows at 28 ± 0.3 (MEAN ± SD) wks in milk. Cows were free of mastitis throughout the experimental period. Animals were housed in tie stalls two weeks before the start of experiment as adaptation period. Animals were fed ad libitum with good quality hay, an addition protein- and energy-rich concentrate fed to them according to their energy and protein requirements twice daily. They received minerals (50 g/ cow) per day. Fresh water was available entire the experimental period. The cows were milked twice a day at 0530 h and 1600 h. Treatment infusion includs: an insulin infusion to induce hypoglycemia (2.5 ± 0.1 mmol/L; HypoG, n=5), an insulin combined glucose infusion to study effects of sole insulin at concurrently normal glucose concentration (EuG, n=6), a Na-DL-β-OH-butyrate to obtain plasma BHBA concentration between 1.5 to 2.0 mmol/L (HyperB, n=5) comparable to those in spontaneous hyper ketonemia (above 1.2 mmol/L), and a 0.9 % NaCl infusion (NaCl, 20 mL/h) as control group (n=8).

On day before the start of infusion two indwelling intravenous catheters (Cavafix® Certo® Splittocan®, B. Braun Melsung AG, Germany) with a length of 32 cm and a diameter of 16 G were fixed in both jugular veins. The clamped infusions (56 h) started at 0900 am day one and continued to 0500 pm two days later. AS reported earlier (Kreipe et al. 2011; Vernay et al. 2012; Zarrin et al. 2013, 2014a,b) this study divided to two parts include: 48 h metabolites infusion to investigate the effects of manipulated metabolites concentration on metabolism and immune responses to metabolites infusion, and an addition 8 h to challenge mammary gland with lipopolysaccharide of *E.coli* (LPS) to investigate immune response simultaneously whit metabolite changing in dairy cows. At 47 h of infusion (1 h) before the intra-mammary LPS challenge to obtain mammary

biopsies, a single dose of xylazine (16 µg/kg of BW) was injected. Blood samples were taken before (0 time) and 1 h after the xylazine injection. Plasma metabolites concentrations were measured enzymatically by commercial kits. Plasma insulin was measured by radioimmunoassay (RIA), and plasma glucagon concentrations were measured by using a commercial RIA kit. Changes of metabolites were evaluated by GLM procedure of SAS. Differences in plasma metabolites and endocrine parameters between before and after xylazine injection and between treatments were evaluated using the MIXED procedure of SAS with time points (0 and 1 h) and treatments (EuG, HyperB, HypoG, and Control) as fixed effects. Value presented as Mean ± SEM.

Results and discussion: As expected, plasma glucose concentrations decreased before xylazine injection (2.25 ± 0.1 mmol/L; $P< 0.01$) in HypoG group, which it was lower than other infusion groups (Kreipe et al. 2011; Zarrin et al. 2013). Xylazine injection increased plasma glucose concentrations in Control and HyperB groups ($P< 0.05$), which confirmed previous reported (Fayed et al. 1989; Okwudili et al. 2014). No change of plasma glucose concentration observed in HypoG and EuG groups, which can be explained by inhibitory effect of insulin on glucose concentration (Kreipe et al. 2011). In current study, xylazine injection did not changed plasma insulin concentrations, just an increase of insulin concentration observed in HypoG group, which can be explained by adjusted insulin infusion in this group to induced hypoglycemia. Glucagon concentrations did not react to xylazin injection in all treatment groups. In agreement with other researcher a decline of cortisol concentrations was observed in all treatment groups except HypoG (Sanhouri et al. 1992; Okwudili et al. 2014). Free fatty acids decreased in all treatment groups except HypoG, that this finding confirmed Ambrisko and Hikasa (2002) report. No change of beta-hydroxybutyrate concentrations observed between before and after xylazine injection in infusion groups.

Conclusion: The xylazine effects are different during the change of metabolites. Unchanged glucose concentration in HypoG and EuG is due to inhibitory effect of insulin on glucose elevation. Considering increasing glucose concentration in two animal groups without change in insulin and glucagon concentration, it can be speculated that other mechanisms than endocrine regulation contributes to glucose homeostasis.

Key words: insulin, glucose, metabolism, xylazine