

## تأثیر زمان‌های مختلف پس از زایش بر شاخص‌های سوخت و ساز چربی در بافت چربی گاو هلشتاین

• عیسی دیرنده (نویسنده مسئول)

گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران

• یاسر رضاییان

گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸-۰۴-۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸-۰۵-۱۹

Email: dirandeh@gmail.com



### چکیده

بافت چربی نقشی مهم در برقراری دوره شیردهی موفق و به دنبال آن تولیدمثل مطلوب دارد. هدف از پژوهش حاضر بررسی تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با سوخت و ساز چربی در بافت چربی گاوهای هلشتاین در زمان‌های مختلف پس از زایش بود. گاوها (n=۱۶) با میانگین تولید شیر بیشتر از ۳۰ کیلوگرم در روز، نوبت زایش (۳/۱±۱/۲) و مهره وضعیت بدنی (۳/۲۵±۰/۲) انتخاب و با جیره‌ای مشابه از زمان زایش تا روز ۵۰ شیردهی تغذیه شدند. بیوپسی از بافت چربی زیرپوستی ناحیه پین در روزهای ۲۱ و ۴۲ شیردهی انجام شد. RNA کل استخراج و برای بررسی بیان نسبی ژن‌های مرتبط با بتا اکسیداسیون (*CPT1A*, *ACOX1*)، ساخت چربی (*SREBP1C*) و تجزیه چربی (*LPL*) و تجزیه چربی (*ATGL*, *LIPE*) از دستگاه Real-time PCR استفاده شد. نتایج نشان داد بیان نسبی ژن‌های مرتبط با اکسیداسیون، *ACOX1* (۳/۰۳ برابر) و *CPT1A* (۲/۹۹ برابر) تحت تأثیر زمان بوده و با افزایش روزهای شیردهی افزایش یافت (P<۰/۰۵). در بین ژن‌های بررسی شده، بیان نسبی ژن‌های مرتبط با تجزیه چربی، *LIPE* (۴/۵۴ برابر) و *ATGL* (۷/۱۱ برابر) افزایش معنی‌داری نشان داد. بیان نسبی ژن‌های مرتبط با ساخت چربی، *LPL* (۷/۷۵ برابر) و *SREBP1C* (۲/۶۱ برابر) با افزایش روزهای شیردهی به صورت معنی‌داری کاهش یافت. به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیومارکرهای سوخت و ساز چربی در بافت چربی تحت تأثیر زمان‌های مختلف پس از زایش قرار گرفت.

کلمات کلیدی: بافت چربی، بیان ژن، گاو هلشتاین، واکنش‌های زنجیره ای پلی مراز

● Veterinary Researches & Biological Products No 128 PP: 84-91

### Effect of Different Times Postpartum on Lipid Metabolism Markers in Adipose Tissue of Holstein Cows

By: Dirandeh, E., (Corresponding Author) Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran. and Rezaeian, Y., Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran.

Received: 2019-07-07 Accepted: 2019-08-10

Email: dirandeh@gmail.com

Our objective was to determine the changes in expression of genes related to lipid metabolism in adipose tissue at 20 and 42 d in milk (DIM) in Holstein cows. Cows (n= 16) were randomly selected and fed the same total mixed ration (TMR) from calving date to 50 DIM. Subcutaneous adipose tissue (AT) biopsies were collected from the tail-head region at 20 and 42 d relative to calving (d 0) as previously described by Sumner and McNamara (2007). The samples were immediately frozen in liquid nitrogen and then transferred to a - 80 °C freezer until analysis. Real-time PCR was conducted in an ABI Prism 7300 instrument (Rotor gene 3000, Corbett Life Science, Concorde, NSW, Australia) and used to measure gene expression related to beta-oxidation (*ACO1*= acylcoenzyme A oxidase, *CPT1A*= carnitine palmitoyltransferase 1A), lipogenesis (*SREBP1C*= sterol regulatory element binding protein, *LPL* = lipoprotein lipase) and, lipolysis (*ATGL*= adipose triglyceride lipase, *LIPE* = hormone-sensitive lipase) by Real-time PCR. Results showed that genes that have role in the control of fatty acid oxidation (*CPT1A*, *ACO1*) were affected by time and enhances with increasing days in milk ( $P < 0.05$ ). Among those genes significantly increasing in expression were those controlling lipolysis, including *ATGL* (52%) and *LIPE* (23%). Genes coding for enzymes controlling lipogenesis significantly decreased, including *SREBP1C* (-25%) and *LPL* (-48.4%). Lipid metabolism biomarkers in adipose tissue of Holstein cows affected by different time postpartum.

**Key words:** Adipose tissue, Gene expression, Holstein cows, PCR

ضدالتهابی و سیتوکین‌ها نیز در این بافت بیان می‌شوند (۱۶). بافت چربی در مدل‌های حیوانی و انسانی در التهاب، ناهنجاری‌های متابولیک و دیابت نقش دارد (۲۳). بیشتر این بیماری‌ها باعث افزایش نرخ تجزیه ذخایر بدن، مقاومت به انسولین و افزایش التهاب در اوایل دوره پس از زایش می‌شوند. آزاد شدن اسیدهای چرب غیراستریفه از کبد، عملکرد سامانه ایمنی و همچنین تولید عوامل التهابی همچون سیتوکین‌ها، فاکتور نکروز کننده تومور آلفا و اینترلوکین-۱ و ۶ باعث ایجاد التهاب سیستمیک و ضعف سامانه ایمنی گاوها در دوران پس از زایش می‌شوند (۱۴). بسیج شدید ذخایر چربی بدن موجب تجمع تری‌گلیسرید در کبد شده که گلوکونئوز را کاهش می‌دهد و حیوان را مستعد ابتلا به سایر اختلالات متابولیکی می‌نماید (۳). شروع دوره توازن منفی انرژی با تغییر بیان ژن‌های کنترل کننده سوخت و ساز چربی در بافت چربی همراه است. این ژن‌ها سبب کاهش فرآیند ساخت چربی و افزایش نرخ تجزیه چربی بدن می‌شوند (۱۱). گزارش شده است که ساخت چربی در بافت چربی طی اوایل شیردهی به‌طور عمده توسط بیان ژن‌های موثر در بتا اکسیداسیون

### مقدمه

در دوران پس از زایش و اوایل شیردهی، مقدار جابه‌جایی، انتقال چربی‌ها و چگونگی استفاده از آن به عنوان سوخت متابولیکی یک شاخص برای ارزیابی ناهنجاری‌های متابولیکی یا بیماری‌های عفونی است (۲۲). بافت چربی نقش مهمی در برقراری هموستازی متابولیکی دارد (۱۸). در انتهای آبستنی و ابتدای دوره شیردهی، لیپولیز بافت چربی شروع شده و اسیدهای چرب آزاد و گلیسرول تولید می‌شوند در نتیجه انرژی کافی برای بدن تولید و شدت توازن منفی انرژی کاهش خواهد یافت که هدف اصلی آن تامین انرژی کافی برای بدن است. اسیدهای چرب غیر استریفه (NEFA) شاخصی بسیار خوبی از برداشت چربی از ذخایر بدن است (۱). از دست رفتن BCS موجب افزایش احتمال بروز ناهنجاری‌های متابولیک و به دنبال آن کاهش عملکرد تولیدی و تولیدمثلی خواهد شد (۷،۶). بافت چربی یکی از بافت‌های بسیار مهم در مدیریت دوره انتقال در گاو شیری است. این بافت منبع تراوش فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-I) و لپتین است، همچنین پروتئین چندین فاکتور التهابی،

تولید شیر ۳۰ تا ۳۵ کیلوگرم با درصد چربی تصحیح شده ۳/۵ درصد تنظیم شد. گاوها سه نوبت در روز در فواصل هشت ساعت شیردوشی شدند.

### بیوپسی بافت چربی

بیوپسی بافت چربی در روزهای ۲۱ و ۴۲ شیردهی از چربی زیرپوستی ناحیه پین با روش زاجوت و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد. در مساحتی برابر با ۲۵ سانتی‌متر مربع (۵×۵) در ناحیه مورد نظر موی پوست تراشیده و با ضدعفونی‌کننده‌های دارای ترکیب ید ضدعفونی شد. با اسکالپل شکافی به طول ۲/۵ سانتی‌متر در پوست ایجاد و نمونه چربی زیر پوست با پنس جراحی و به صورت کاملاً بهداشتی برداشته شد. نمونه به دست آمده ابتدا در آب مقطر شستشو، سپس خشک و در میکروتیوب قرار داده شد. میکروتیوب حاوی نمونه بلافاصله وارد نیتروژن مایع شده و سپس به آزمایشگاه منتقل و تا انجام آزمایشات بعدی برای بیان ژن در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از نمونه برداری، برای پیشگیری از عفونت در ناحیه نمونه‌گیری ۶۵۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک سفتری‌فور پنج درصد (سفتری‌فور پنج درصد، شرکت صنعتی بین‌المللی کوزیما، شیکاگو، آمریکا) تجویز شد.

### بیان ژن

#### استخراج RNA

نمونه‌ای از بافت به مقدار ۵۰-۲۰ میلی‌گرم جدا و درون بوتله چینی قرار داده شد. پس از افزودن نیتروژن مایع و انجماد، بافت‌ها کوبیده شدند. برای استخراج RNA از کیت شرکت Jena Bioscience استفاده شد. تمام

کاهش می‌یابد. بیان ژن آنزیم‌های کلیدی لیپولیتیک *HSL*, *PNPLA2*, *MGLL*, *ADRB2* در بافت چربی نیز در اوایل زایش افزایش می‌یابد (۲)، (۱۱، ۲۲). ژن‌های کنترل‌کننده فرآیند آدیپوژنسیز (*PCK1*, *FASN*, *SCD*)، (۲۲، ۱۱). ژن‌های کنترل‌کننده فرآیند آدیپوژنسیز (*PCK1*, *FASN*, *SCD*)، طی دوره انتقال کاهش نشان داد (۲۲). لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با سوخت و ساز چربی (نسبی ژن‌های مرتبط با بتا اکسیداسیون *CPT1A*, *ACOX1*)، ساخت چربی (*SREBP1C*, *LPL*) و تجزیه چربی (*ATGL*, *LIPE*) در بافت چربی در فاصله روزهای ۲۱ تا ۴۲ شیردهی در گاوهای هلشتاین بود.

### مواد و روش کار

#### حیوانات

بر اساس سوابق تولیدمثلی، تولید شیر در دوره شیردهی پیشین، وضعیت زایش و نمره وضعیت بدنی، ۱۶ رأس گاو هلشتاین با میانگین تولید شیر بیشتر از ۳۰ کیلوگرم در روز، نوبت زایش  $(3/1 \pm 1/2)$  و نمره وضعیت بدنی  $(3/25 \pm 0/2)$  انتخاب و با جیره‌ای مشابه از زمان زایش تا روز ۵۰ شیردهی تغذیه شدند و با جیره‌ای کاملاً مخلوط از زمان زایش تا روز ۵۰ شیردهی تغذیه شدند. جیره‌ها بر مبنای احتیاجات تغذیه‌ای گاو شیری و با کمک نرم‌افزار NRC (۲۰۰۱) تنظیم شدند. حیوانات دوبار در روز با جیره کاملاً مخلوط حاوی یونجه خرد شده، ذرت سیلو شده، سویای برشته، کنجاله سویا و مخلوط مواد معدنی و ویتامینی تغذیه شدند. جیره‌ها دارای غلظت‌های مساوی از ماده خشک، انرژی قابل متابولیسم، پروتئین خام و چربی بوده و بر اساس جدول احتیاجات غذایی برای گاوهای شیری با میانگین وزنی ۶۵۰ کیلوگرم و میانگین

جدول ۱- چرخه دمایی مورد استفاده در فرایند ساخت cDNA

مرحله Step	دما (سانتی‌گراد) Temperature (°C)	زمان (دقیقه) Time (m)
اتصال آغازگر Primer Binding	۳۷	۱
ساخت cDNA cDNA synthesis	۵۰	۶۰
غیرفعال سازی آنزیم Enzyme inactivation	۹۵	۵

شدند. در این پژوهش برای رسم منحنی استاندارد چهار رقت مختلف از cDNA تهیه شد. رقیق سازی براساس ضریب ۰/۱ انجام شد، به این صورت که غلظت استاندارد شماره چهار یک ده هزارم (۱۰-۴) استاندارد شماره یک بود. تیوب های ژن هدف، ژن مرجع S18 و چهار استاندارد در دستگاه RotorGene ۳۰۰۰ شرکت Corbett قرار داده شدند. سپس بیان نسبی ژن های نام برده شده در بالا با فرمول  $2^{-CT\Delta\Delta}$  محاسبه شد.

### آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آزمون t در نرم افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی داری ۰/۰۵ درصد انجام گرفت.

### نتایج و بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیان نسبی ژن های *CPT1A* و *ACO1* تحت تاثیر زمان قرار گرفته و با افزایش روزهای شیردهی افزایش یافت ( $P < 0/05$ ، شکل ۱). افزایش بیان ژن های فوق که مرتبط با اکسیداسیون اسیدهای چرب است نشان دهنده افزایش استفاده از اسیدهای چرب غیراستریفه به عنوان منبع انرژی در بافت چربی است که می تواند از ناشی از بتا اکسیداسیون میتوکندریایی یا پروکسیزوم می باشد (۲). بتاکسیداسیون اسیدهای چرب به طور عمده در میتوکندری رخ می دهد. بیان نسبی ژن های *CPT1A* و *ACO1* در گاوهای با نمره وضعیت بدنی بیشتر از ۳/۷۵ از گاوهایی که نمره وضعیت بدنی کمتر از ۳/۲۵ داشتند، بیشتر بود. این امر می تواند مربوط به اکسیداسیون بیشتر از

مراحل استخراج RNA طبق دستورالعمل کیت انجام شد.

### تبدیل RNA به cDNA

برای ساخت cDNA از کیت (AccuPower® CycleScriPt RT PreMix) (dN<sub>6</sub>) مربوط به شرکت Bioneer استفاده شد. این کیت میکروتیوب های آماده شده ای است که دارای آنزیم ترانس کریپتاز معکوس، dNTPs، بافر واکنش گر، آغازگر و بافر تثبیت کننده بوده و فقط RNA و آب به آن افزوده می شود. مراحل ساخت cDNA براساس دستورالعمل پیشنهاد شده در بروشور کیت انجام شد. واکنش های چرخه ساخت cDNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (شرکت Cleaver Scientific، انگلستان) تحت چرخه های دمایی جدول ۱ صورت گرفت.

### انجام Real-Time PCR

برای انجام واکنش Real-Time PCR از آغازگرهای اختصاصی SYBR®Green PCR QuantiNova™ شرکت QIAGEN استفاده شد. با استفاده از اطلاعات موجود در بانک ژن NCBI، توالی و طول قطعه های مورد نظر بررسی شدند. توالی آغازگرها در جدول ۲ آمده است.

### واکنش Real-Time PCR

برای عملکرد بهتر، واکنش ها در حجم ۱۵ میکرولیتر حاوی ۷/۵ میکرولیتر مسترمیکس سایبرگرین (2x SYBR Green PCR Master Mix)، یک میکرولیتر cDNA، یک میکرولیتر آغازگر اختصاصی رفت، یک میکرولیتر آغازگر اختصاصی برگشت و ۴/۵ میکرولیتر آب بدون RNA تنظیم

جدول ۲- توالی آغازگرهای مورد استفاده در Real-Time PCR

نام ژن GENE NAME	توالی رفت FORWARD SEQUENCE	توالی برگشت REVERSE SEQUENCE	منبع REFERENCES
LIPE	CGAGGTCAGAGGCATTCA	CGAGATCCAGGTGCTATCGT	NM_001080220
LPL	TTGCCAGGGGATAGTTAAA	GACAGGATGTGGCCAAGTTT	NM_001075120
ATGL	AGCCCTGTTTGACATCTCT	TGTGGCCTCATTCTCTCTAC	PALOU ET AL., 2008
SREBP1C	GGTACATCTTTACAGCAGTG	AGCCATGGATTGCACATTTG	PALOU ET AL., 2008
ACO1	ACCTGGGCGTATTTTCATCAG	CACGCAATAGTTCTGGCTCA	PALOU ET AL., 2008
CPT1A	TGGACACCACATAGAGGCAG	GCTCGCACATTACAAGGACAT	PALOU ET AL., 2008
18S	AGTCGGCATCGTTTATGGTC	CGCGGTTCTATTTTGTGGT	PALOU ET AL., 2008

FABP4= fatty acid binding Protein 4, LIPE = hormone-sensitive lipase; LPL = lipoprotein lipase, ATGL= Adipose triglyceride lipase, SREBP1C= sterol regulatory element binding protein , ACO1= acylcoenzyme A oxidase, CPT1A= carnitine palmitoyltransferase 1A

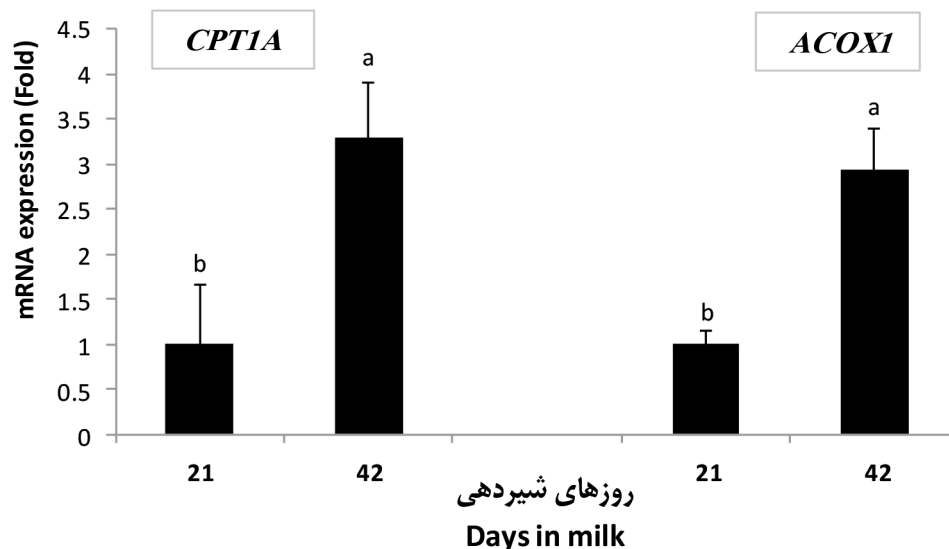
آن‌ها مشاهده شد که نشان‌دهنده افزایش هیدرولیز لیپوپروتئین‌ها (لیپوپروتئین با دانسیته کم، LDL) بوده که جذب لیپید به بافت را ممکن می‌سازد (۵). گاوهایی که مکمل اسید لینولئیک کنژوگه دریافت کردند در مقایسه با گروه کنترل به دلیل کاهش چربی شیر و شدت توازن منفی کمتر در آن‌ها بیان ژن‌های LPL و SREBP1C بیشتری داشتند (۸).

سطوح زیاد NEFA در اوایل شیردهی می‌تواند به عنوان یک مولکول پیام رسان عمل کرده و بیان ژن‌های تنظیم‌کننده سوخت و ساز چربی را تنظیم می‌کند (۱۰). در این مسیر پروتئین کیناز فعال شده بوسیله AMP نقش کلیدی داشته که به هورمون‌ها و متابولیت‌ها مانند NEFA پاسخ می‌دهد. این پروتئین به‌عنوان یک میانجی برای بیان ژن‌های PPAR و SREBP1C عمل کرده و در نهایت منجر به بیان ژن‌های موثر در ساخت و تجزیه چربی می‌شود (۱۵). SREBP1C یک ژن کلیدی برای تحریک تغذیه‌ای آنزیم‌های لیپوژنیک است. همچنین گزارش شده بیان این ژن توسط انسولین نیز کنترل می‌شود. در حقیقت افزایش ساخت اسیدهای چرب در پاسخ به انسولین به‌طور عمده وابسته به SREBP1C است (۴). همچنین SREBPs بیان ژن‌های مورد نیاز برای جذب و ساخت کلاسترول، اسیدهای چرب و تری‌گلیسرید مانند اسید چرب سنتتاز (FAS)، استیل کوآنزیم A کربوکسیلاز (ACC) و هگزوکیناز را کنترل می‌کند (۴).

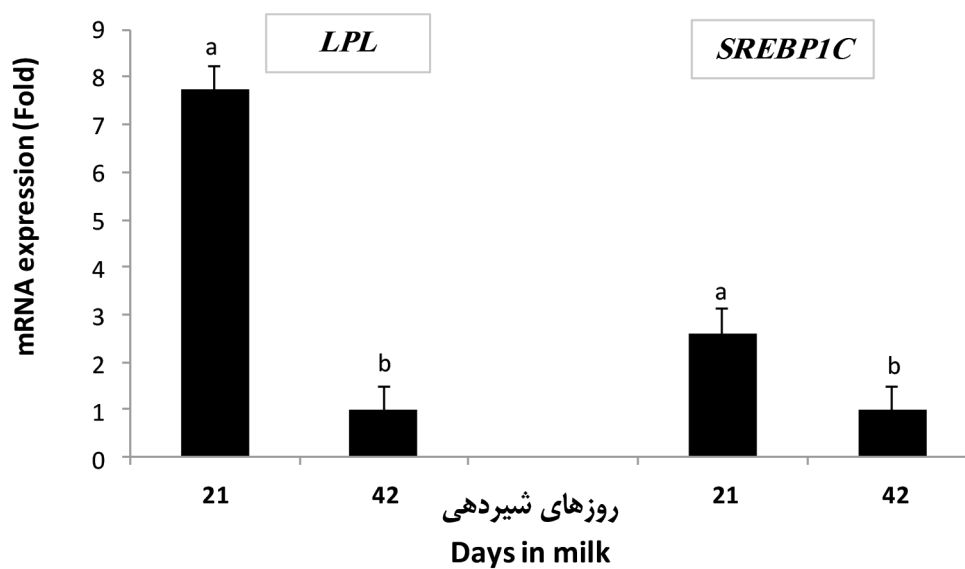
در زمان زایش، بافت چربی از طریق بسیج چربی به منظور تامین انرژی برای سایر بافت‌ها فعال می‌شود. ژن ATGL آنزیم محدودکننده در تجزیه چربی بوده که طی سیری افزایش می‌یابد (۱۹). تجزیه تری

اسیدهای چرب غیراستریفه در این گاوها بود (۲، ۲۲). آنزیم CPT جزئی از هموستاز انرژی و سیستم نقل و انتقال برای بتاکسیداسیون NEFA است. این سیستم شامل سه جز است: CPT-II، CPT-I و کارنیتین-اسیل کارنیتین ترانس لوکاز (۱۷). در میتوکندری، اسیدچرب هم می‌تواند کاملاً اکسید شود و به دی اکسید کربن و انرژی تبدیل شود و هم بصورت ناقص اکسید شده و به مواد کتونی تبدیل شود. قبل از اینکه این واکنش‌ها رخ دهد، اسیدهای چرب باید از غشا میتوکندری عبور کرده و وارد میتوکندری شوند. برای انجام این مهم، اسیدهای چرب سیتوزول به اسیل COA تبدیل می‌گردند؛ این ترکیب در غشای بیرونی توسط CPT-I به اسیل کارنیتین تبدیل می‌گردد که می‌تواند از غشای درونی میتوکندری عبور کند. سپس CPT-II موجود در غشای درونی میتوکندری، اسیل کارنیتین را به اسیل COA تبدیل می‌کند که سپس به استیل COA تبدیل و تحت بتا اکسیداسیون قرار می‌گیرد. فعالیت CPT-II توسط مالونیل COA مختل می‌شود و این اثر منفی مالونیل COA در اثر تغییرات متابولیسی و هورمونی، قبل و پس از زایش کاهش می‌یابد (۹).

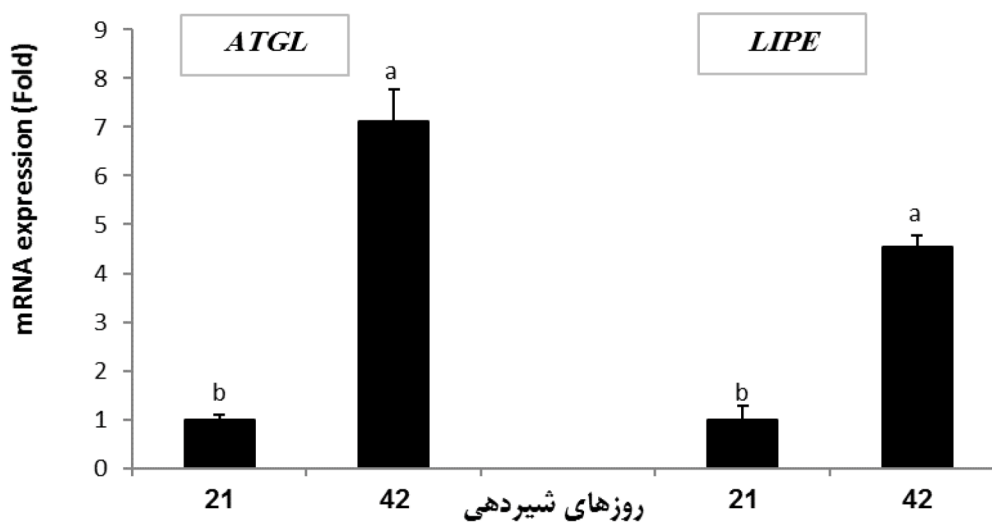
نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیان نسبی ژن‌های مرتبط با ساخت چربی، *LPL* و *SREBP1C* تحت تأثیر زمان قرار گرفته و با افزایش روزهای شیردهی کاهش یافت ( $P < 0.05$ ، شکل ۱). لیپوپروتئین لیپاز (*LPL*) سبب هیدرولیز تری گلیسرید شده و به دنبال آن اسیدهای چرب غیراستریفه و مونواسیل گلیسرید تولید می‌شود. زمانی که گاوها در مقایسه با گروه کنترل جیره با انرژی قابل متابولیسمی بیشتر به ازای کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند؛ افزایش بیان *LPL* در بافت چربی



شکل ۱- بیان mRNA ژن‌های مرتبط با بتاکسیداسیون اسیدهای چرب (*CPT1A*, *ACOX1*). <sup>a,b</sup> نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $0.05$  درصد است.



شکل ۲- بیان mRNA ژن های مرتبط با ساخت چربی (*SREBP1C*, *LPL*) در زمان های مختلف پس از زایش. ab نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ درصد است.



شکل ۳- بیان mRNA ژن های مرتبط با تجزیه چربی (*LIPE*, *ATGL*) در زمان های مختلف پس از زایش. ab نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ درصد است.

اوایل شیردهی کاهش نشان داد (۱۹، ۱۲، ۲۱). بیان ژن ADAB2 در فاصله ۳۰ روز قبل از زایش تا روز ۱۴ پس از زایش ۵۲ درصد افزایش یافت. بیان نسبی ژن LIPE نیز در مدت زمان مشابه ۲۳ درصد افزایش یافت. بیان ژن های کنترل کننده آنزیم های لیپولیتیک (Ca chan A1F) نیز افزایش یافت (۲۲). در گاوهای شیری با ارزش ژنتیکی بالا برای تولید شیر در مقایسه با گاوهای با ارزش ژنتیکی پایین نرخ لیپولیز بافت چربی زیرجلدی بیشتر و نرخ لیپوژنز کمتر بود (۲۰). به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیومارکرهای سوخت و ساز چربی در بافت چربی تحت تاثیر زمان های مختلف پس از زایش قرار گرفت.

### تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و بر اساس طرح پژوهشی شماره ۰۶-۱۳۹۷-۰۳ در شرکت شیر و گوشت مهدشت ساری انجام شد.

### منابع مورد استفاده

- Alharthi, A., Z. Zhou, V. Lopreiato, E. Trevisi, and J.J. Looor. 2018. Body condition score prior to parturition is associated with plasma and adipose tissue biomarkers of lipid metabolism and inflammation in Holstein cows. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 15: 9-12.
- Bell, A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, 73: 2804-19.
- Brickner, A.E., J.A. Pires, G.T. Gressley, and R.R. Grummer. 2009. Effects of abomasal lipid infusion on liver triglyceride accumulation and adipose lipolysis during fatty liver induction in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2: 4954-4961.
- Chatterjee, S., J. D. Szustakowski, and N.R. Nangneri. 2009. Identification of novel genes and pathways regulating SREBP transcriptional activity. *PLoS ONE*, 4:e5197.
- Crookenden, M.A., K. S. Mandok, T. M. Grala, C. V. Phyn, J. K. Kay, S.L.Greenwood, and J.R. Roche. 2015. Source of metabolizable energy affects gene transcription in metabolic pathways in adipose and liver tissue of nonlactating, pregnant dairy cows. *Journal of Animal Science*, 93:685-98.
- Drackley, J.K. 1999. Foundation scholar award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, 82:2259-73.
- Drackley, J.K., S.S. Donkin, and C.K. Reynolds. 2006. Major advances in fundamental dairy cattle nutrition. *Journal of Dairy Science*, 89:1324-1336.
- Harvatine, J.K., J. W. Perfield, and D. E. Bauman. 2009. Expression of Enzymes and Key Regulators of Lipid Synthesis Is Upregulated in Adipose Tissue during CLA-Induced Milk Fat De-

گلیسرید بوسیله دو آنزیم ATGL و LIPE تنظیم می شود. فعال شدن کامل ATGL به اتصال به ABHD5 وابسته است که فعال کننده آن محسوب می شود (۲۲).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیان نسبی ژن های مرتبط با تجزیه چربی، LIPE و ATGL با افزایش روزهای شیردهی افزایش یافت ( $P < 0.05$ ، شکل ۱). بافت چربی، از طریق افزایش جمع آوری چربی از ذخایر بدنی برای تامین انرژی برای سایر بافت ها پیرامون زایش فعال می شود. آنزیم ATGL آنزیم محدود کننده در تجزیه چربی است و طی گرسنگی بیان آن افزایش می یابد. تجزیه تری اسید گلیسرول از طریق دو آنزیم ATGL و LIPE که تنظیم کننده تجزیه چربی هستند کنترل می شود (۱۹). لیپاز حساس به هورمون (LIPE) قادر به هیدرولیز تری گلیسرید بوده و این کار را از طریق فعال کردن cAMP که خود ناشی از تحریک بتا آدرنرژیک ها است انجام می دهد (۱۳). فعالیت LIPE از طریق گیرنده های بتا آدرنرژیک و آشار فسفریلاسیون اولین مرحله حیاتی برای تامین اسیدهای چرب برای پستان و سایر بافت ها است. در گامه بعد و با افزایش شیردهی ژن های PLIN<sup>1</sup> و ADRB<sup>2</sup> برای بازسازی ظرفیت آنزیمی به منظور تامین جریان اسیدهای چرب برای پستان با دستکاری بافت چربی، افزایش می یابند (۲۲). در همین راستا گزارش شده در گاوهای با نمره وضعیت بدنی بالا ( $> 3/75$ ) در مقایسه با گاوهایی که نمره وضعیت بدنی پایینی ( $< 3/25$ ) داشتند بیان ژن های ATGL و LIPE کمتر بود (۲).

هم راستای با نتایج پژوهش حاضر گزارش شد بیان ژن های کنترل کننده لیپولیز، LIPE و ADRB<sup>2</sup> به ترتیب ۲۳ درصد و ۵۲ درصد افزایش یافت. بیان ژن های کنترل کننده لیپوژنز SREBP (۲۵ درصد)، TSHSP14 (۳۰/۸ درصد) و ACACA (۶۳/۹ درصد) کاهش یافت (۲۲، ۲۳). کاهش بیان استیل کوآنزیم A کربوکسیلاز و لیپوپروتئین لیپاز و یک پاسخ خفیف به انسولین سازگاری های معمول برای لیپوژنز هستند (۶). پنج ژن کنترل کننده لیپولیز (سه نوع گیرنده بتا آدرنرژیک، لیپاز حساس به هورمون و کوفاکتور آن (پرلیپین)) طی دوره شیردهی در بافت چربی افزایش نشان داد (۲۲، ۲۳). بیان ژن های ADRB<sup>2</sup>، LIPE و PLIN<sup>1</sup> طی دوره شیردهی افزایش یافت و بیشترین بیان آن ها در اوج شیردهی (روز ۹۰ شیردهی) بود (۲۲، ۲۳). کاهش لیپوژنز و افزایش لیپولیز با شروع شیردهی می تواند تحت تاثیر انرژی دریافتی از جیره قرار گیرد (Vernon, ۲۰۰۳). کاهش بیان استیل کوآنزیم A کربوکسیلاز و لیپوپروتئین لیپاز و یک پاسخ خفیف به انسولین سازگاری های معمول برای لیپوژنز هستند (Drackley et al, ۲۰۰۶). لیپولیز بدون در نظر گرفتن توازن انرژی به مقدار زیادی با تولید شیر در ارتباط است، بنابراین تعجب انگیز نیست که زمانی که نیاز به چربی شیر حداکثر است و مقدار بافت چربی به مقدار قابل توجهی کاهش یافته بیان ژن ها حداکثر باشد. نرخ لیپولیز پایه پس از شیردوشی (روز ۵۶ شیردهی) در مقایسه با پیش از زایش (روز ۲۱-۲۰) ۳۰۰ درصد سریع تر بود (۱۱، ۲۴، ۲۵). پژوهش های جدید گزارش کرده اند لیپولیز پایه بوسیله آنزیم PNPLA<sup>2</sup> کنترل می شود در حالی که پژوهش های پیشین بر آنزیم LIPE تاکید داشتند (۱۲، ۱۳). بیان ژن های کنترل کننده لیپوژنز و آدیپوژنز (PCK1، FASN، SCD، DGAT2، PPARG، WNT10B) در

pression in Dairy Cows. *Journal of Nutrition*, 139: 821–5.

9. Ingvarsten, K.L. 2006. Feeding- and management-related diseases in the transition cow physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Animal Feed Science and Technology*, 126:175–213.

10. Jorritsma, R., T. Wensing, A.M. Kruip. 2003. Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Veterinary Research*, 34:11–26

11. Khan, M.J., A. Hosseini, S. Burrell, et al. 2013. Change in subcutaneous adipose tissue metabolism and gene network expression during the transition period in dairy cows, including differences due to sire genetic merit. *Journal of Dairy Science*, 96:2171–2182

12. Koltjes, D.A., and D.M. Spurlock. 2011. Coordination of lipid droplet associated proteins during the transition period of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94:1839–1848.

13. Kraemer, F.B. and W. J. Shen. 2002. Hormone-sensitive lipase: control of intracellular tri-(di-)acylglycerol and cholesteryl ester hydrolysis. *Journal of Lipid Research*, 43: 1585–94.

14. Kushibiki, S., K. Hodate, H. Shingu, Y. Obara, E. Touno, M. Shinoda, and Y. Yokomizo. 2003. Metabolic and lactational responses during recombinant bovine tumor necrosis factor- $\alpha$  treatment in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 86:819-827.

15. Li, X., X. Li, H. Chen, et al. 2013. Non-esterified fatty acids activate the AMP-activated protein kinase signaling pathway to regulate lipid metabolism in bovine hepatocytes. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 67:1157–1169.

16. Loor, J.J., H.M. Dann, N.A. Guretzky, R.E. Everts, O.R. Oliveira, C.A. Green, N.B. Litherland, S.L. Rodriguez-Zas, H.A. Lewin, and J. K. Drackley. 2006. Plane of nutrition prepartum alters hepatic gene expression and function in dairy cows as assessed by longitudinal transcript and metabolic profiling. *Physiology and Genomics*, 27:29–41.

17. McGarry, J.D., and N. F. Brown. 1997. The mitochondrial carnitine palmitoyl transferase system. From concept to molecular analysis. *European Journal of Biochemistry* 244:1–14.

18. McNamara, J.P. 1991. Regulation of adipose tissue metabolism in support of lactation. *Journal of Dairy Science*, 74:706–19.

19. Morak, M., Schmidinger, H., Riesenhuber, G., Rechberger, G.N., Kollroser, M., Haemmerle, G., et al. 2012. Adipose triglyceride lipase (ATGL) and hormone sensitive lipase (HSL) deficiencies affect expression of lipolytic activities in mouse adipose tissues. *Mol Cell Proteomics*. 11:1777–89.

20. Smith, T.R., and J.P. McNamara. 1990. Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 6. Cellularity and hormone sensitive lipase activity as affected by genetic merit and energy intake. *Journal of Dairy Science*, 73:772–783.

21. Sumner, J.M., and J.P. McNamara. 2007. Expression of lipolytic genes in the adipose tissue of pregnant and lactating Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 90:5237–5246.

22. Sumner, J.M., J.L. Vierck, and J.P. McNamara. 2011. Differential expression of genes in adipose tissue of first-lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 94:361–369.

23. Teran-Garcia, M., and C. Bouchard. 2007. Genetics of the metabolic syndrome. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, 32:89–114.

24. Vernon, R.G. 2003. Adipose tissue: An expanding role in the regulation of energy metabolism. Pages 451–464 in *Progress in Research on Energy and Protein Metabolism*. W. B. Souffrant and C. C. Metges, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.

25. Zachut, M, G. Kra, L. Livshitz, Y. Portnick, S. Yakoby, G. Friedlander, and Y. Levin. 2017. Proteome dataset of subcutaneous adipose tissue obtained from late pregnant dairy cows during summer heat stress and winter seasons. *Data Brief*. 4;12:535-539.

