

تأثیر کمبود متیونین جیره بر ویژگی‌های بافت شناسی برخی اندام‌های لنفاوی بلدرچین ژاپنی

امیررضا حشم پیشه^۱، سمیه حامدی^۲

۱- دانشجوی دکتری دامپزشکی، گروه علوم پایه، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۲- استادیار گروه علوم پایه، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. sahar_hamedy@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۵ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۱

چکیده

زمینه و هدف: متیونین اولین اسید آمینه محدود کننده در بلدرچین‌های با جیره پایه ذرت/سویا است که سبب بهبود کیفیت پروتئین و کاهش غلظت آن در جیره می‌شود. هدف از این پژوهش تأثیر کمبود متیونین جیره بر ویژگی‌های بافت شناسی برخی اندام‌های لنفاوی بلدرچین ژاپنی است.

روش کار: ۲۰ قطعه بلدرچین ژاپنی یک روزه به طور تصادفی به ۲ گروه ۱۰ تایی آزمایشی با جیره فاقد مکمل متیونین و شاهد با جیره استاندارد تقسیم و به مدت ۶ هفته تغذیه شدند. پس از پایان دوره نمونه‌هایی از بورس فابریسیوس، تیموس، طحال و لوزه سکومی تهیه و مراحل معمول بافت شناسی انجام شد. جهت مطالعه هیستومورفومتریک از فتومیکروگراف‌های تهیه شده در نرم افزار Axio vixion Rel4.8 پارامترهای مورد نظر اندازه گیری و داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه و به روش آماري Test Independent-Samples T با سطح معنی داری $p < 0.05$ بررسی شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد کمبود متیونین جیره در اندام‌های مهم لنفاوی بلدرچین نظیر بورس فابریسیوس، لوزه سکومی و تیموس اثرات منفی دارد و سبب کاهش ارتفاع پلیکا و نیز تعداد فولیکول‌ها در بورس فابریسیوس، کاهش تعداد فولیکول‌ها در لوزه سکومی و کاهش قطر لبول‌ها در تیموس گردید در حالی که تغییرات چندانی در طحال دیده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج احتمال دارد که کاهش پارامترهای ناشی از تولید کمتر سلول‌ها باشد. اگرچه این احتمال نیز وجود دارد که این کاهش به دلیل افزایش توانایی مهاجرت و انتقال سلول‌ها به بافت‌های محیطی روی داده باشد. هم‌چنین نبود تغییرات قابل توجه در طحال ممکن است ناشی از مکانیسم‌های جبرانی باشد که تعیین دلیل قطعی این رویدادها پژوهش‌های بیشتری را طلب می‌کند.

واژه‌های کلیدی: بلدرچین، کمبود متیونین، هیستومورفومتري، اندام‌های لنفاوی.

مقدمه

افزودن اشکال سنتتیک به جیره به صورت مکمل، کمبود آن جبران می‌شود (۱۵). مقدار متیونین جیره طيور باید با نیاز ویژه آن‌ها جهت بالانس صحیح اسید آمینه‌ها که سبب تحریک رشد، حداکثر بازده لاشه، کاهش چربی لاشه، بهبود دریافت غذای موثر و کاهش هزینه‌ها می‌شود، سازگار شود. همان‌طور که این اسید آمینه اثر مفیدی بر پاسخ‌های ایمنی دارد، مقدار بیش از حد آن نیز

تغذیه قسمت عمده هزینه‌های پرورش را به خود اختصاص می‌دهد و پروتئین با کیفیت دارای تعادل اسید آمینه‌ای مناسب، از مهم‌ترین مواد مغذی در جیره است. سوء تغذیه و عفونت‌ها مانع اصلی حیات، سلامتی، رشد و تولید مثل حیوانات و انسان‌ها هستند (۸). متیونین اولین اسید آمینه محدود کننده در جیره جوجه‌های گوشتی بر پایه ذرت و سویا محسوب می‌شود، لذا با

همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که کمبود متیونین جیره جوجه‌های گوشتی می‌تواند سبب تضعیف عملکرد سیستم ایمنی سلولی در نتیجه کاهش جمعیت سلول‌های T در تیموس و کاهش غلظت سرمی اینترلوکین ۲ و افزایش سلول‌های آپوپتوتیک شود (۲۲). هم‌چنین این محقق و همکارانش در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که کاهش متیونین جیره سبب کاهش و زنبورسوکاهش تعداد لنفوسیت‌های موجود در فولیکول‌ها می‌شود (۲۳). بلدرچین ژاپنی (*Coturnixcoturnix japonica*) به دلیل مشخصات منحصر به فرد شامل رشد سریع، دوره تولید مثلی کوتاه، مقاومت به بیماری‌ها و شرایط نامساعد محیطی، سن پایین بلوغ جسمی و جنسی، دوره جوجه‌کشی کوتاه، تخم‌گذاری بالا، ضریب تبدیل غذایی مناسب و هزینه کم مواد غذایی و درمان به عنوان پرنده‌ای پرورشی و آزمایشی مورد توجه است (۱۵، ۱۴، ۳). در جوجه‌های گوشتی همانند سایر پستانداران اثرات کمبود و یا افزایش پروتئین جیره و یا اسیدهای آمینه بر ایمنی کاملاً بررسی شده در حالی که در مورد اثرات تغذیه‌ای اسیدهای آمینه در بلدرچین ژاپنی اطلاعات بسیار محدود است و متون علمی در مورد ارزش اسیدهای آمینه قابل هضم در خوراک‌های مختلف و احتیاجات بلدرچین بسیار خاموش بوده‌اند (۱۲). نظر به این که هزینه‌های تغذیه‌ای در پرورش طیور می‌تواند تا ۷۰ درصد هزینه‌های جاری را به خود اختصاص دهد و هر گونه کاهش در هزینه‌های خوراک موجب سودآوری بیشتری برای صنعت طیور خواهد گردید و هم‌چنین نبود مطالعات کافی در زمینه تأثیرات کمبود متیونین در جیره بر سیستم ایمنی بدن بلدرچین با توجه به مقاومت بدنی بالای این پرنده، در این مطالعه بر آن گردیده شد که به مطالعه تأثیر کمبود متیونین جیره بر بافت شناسی برخی اندام‌های لفاوی

اثرات مخرب بر رشد و ایمنی دارد و سمی می‌باشد (۲۰). دستگاه لفاوی طیور از نظر عملکرد و مورفولوژی به دو جزئی تقسیم می‌شوند: اندام‌های لفاوی مرکزی (تیموس و بورس فابریسیوس) و محیطی (طحال و بافت‌های لفاوی مخاطی). بورس فابریسیوس که در ناحیه پشتی کلوآک قرار دارد، دارای تعداد زیادی چین یا پلیکا است که هر پلیکا از تعداد زیادی فولیکول لفاوی تشکیل گردیده است (۲). تیموس توسط کپسول ظریفی به لوبول‌های ناکاملی تقسیم شده است که به واسطه لنفوسیت‌های کوچک سبب ایجاد ایمنی سلولی می‌شوند در حالی که بورس فابریسیوس دارای لنفوسیت‌های بزرگ‌تری است که در بافت به پلازما سل تبدیل شده و نقش مهمی در ایمنی خونی دارند (۲). طحال عضو لفاوی دیگری در بدن پرنده است که پولپ قرمز و سفید به سختی از هم قابل تفکیک هستند (۲). لوزه سکومی در ابتدای سکوم و دارای کرک‌های کوتاه یا تحلیل رفته و حاوی واحدهای فولیکولی است (۲). برخی محققین معتقدند که طیور صنعتی به بیش از ۰/۵٪ متیونین جیره جهت رشد مناسب و کارایی غذایی در دوره استارت‌تر نیازی ندارند ولی مقدار بالاتر آن جهت تحریک سیستم ایمنی نیاز است (۲۱، ۱۶، ۷). امروزه تحقیقات زیادی ثابت کرده است که ترکیبات غذایی مانند اسیدهای آمینه می‌توانند سبب تحریک سیستم ایمنی و در نتیجه بهبود سلامتی شوند. محققان بیان کرده‌اند که عملکرد ساختارهای لفاوی وابسته به لوله گوارش به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطح اسید آمینه جیره می‌باشد (۱۸). متیونین نقش کلیدی در ایمنی هومورال و سلولی پرندگان دارد و سبب افزایش لنفوسیت‌ها، استقرار مرکز زایا در بورس فابریسیوس، به خدمت درآوردن مونوسیت‌ها و هتروسیت‌های مغز استخوان و سنتز مولکول‌های موثر (نظیر ایمونوگلوبولین، نیتریک اکساید، لیزوزیم و کمپلمان) و مولکول‌های رابط (سیتوکین و ایکوزانوئید) می‌شود (۲۱) Wu و

گرفته و پس از اطمینان از سلامت ظاهری، با استفاده از طرح کاملاً تصادفی به ۲ گروه ۱۰ تایی شامل یک گروه شاهد با میزان متیونین معمول در جیره بلدرچین مطابق با توصیه های جداول احتیاجات مواد غذایی NRC1994 و گروه آزمایشی متیونین با سطح پایین تر از حد معمولی و فاقد مکمل متیونین تقسیم شدند (جدول ۱).

بلدرچین (تیموس، بورس فابریسیوس، لوزه سکومی و طحال) پرداخته شود.

مواد و روش ها

به منظور مطالعه تاثیرات کمبود متیونین در جیره بلدرچین بر ساختار بافت شناسی برخی اندام های لنگاوی، تعداد ۲۰ قطعه بلدرچین ژاپنی نر یک روزه به سالن متابولیکی انتقال داده شده و در قفس های جداگانه قرار

جدول ۱ - ترکیبات جیره شاهد و آزمایشی (بر حسب درصد)

تورکیب جیره	جیره آزمایشی	جیره شاهد
ذرت	۴۵/۶	۴۵/۶۰
سبوس گندم	۲/۰۰	۲/۰۰
کنجاله سویا	۴۵/۸	۴۵/۶۶
روغن گیاهی	۱۳/۷۰	۳/۷۰
صدف	۱/۳۰	۱/۳۰
دی کلسیم فسفات	۰/۷۵	۰/۷۵
نمک	۰/۳۵	۰/۳۵
مکمل متیونین	۰/۰۰	۰/۱۳۵
مکمل ویتامین	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل مواد معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵
ترکیب مواد مغذی بر حسب درصد		
انرژی (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۸۹۷	۲۹۰۱
پروتیین	۲۴	۲۴
لیزین	۱/۳۶	۱/۳۶
متیونین	۰/۳۷	۰/۵
متیونین+سیستیین	۰/۷۶	۰/۸۹
کلسیم	۰/۸۱	۰/۸۱
فسفر	۰/۳۱	۰/۳۱
سدیم	۰/۱۵	۰/۱۵

بلدرچین ها نیز بر روی هر یک از شیشه های محتوی نمونه به طور جداگانه درج و به آزمایشگاه بافت شناسی انتقال یافتند. پس از فیکس شدن کامل، نمونه ها تحت مراحل معمول بافت شناسی شامل آبگیری، شفافیت و آغشتگی با پارافین، تهیه قالب های پارافینی و نهایتاً برش قالب ها به ضخامت ۶ میکرومتر قرار گرفتند. سپس برش ها به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه هیستولوژیک قرار

نتایج

پس از پایان دوره (۶ هفته) بلدرچین ها از ناحیه گردنی کشتار و سپس تیموس از طریق کالبد شکافی ناحیه گردن و بورس فابریسیوس، طحال و لوزه سکومی از طریق کالبد شکافی شکمی خارج شدند و پس از اطمینان از عدم وجود ضایعه آسیب شناسی مورد نمونه گیری قرار گرفتند. نمونه ها سریعاً در شیشه های حاوی بافر فرمالین قرار گرفته و اطلاعات مربوط به

مطالعه بین دو گروه شاهد و گروه آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۱) (شکل ۱).

لوزه سکومی

بر طبق آنالیز آماری داده‌های هیستولوژیک تعداد فولیکول‌های لnfای در گروه آزمایشی کاهش معنی‌داری یافته است ($p < 0.05$). در سایر فاکتورهای مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌داری دیده نشد ($p \geq 0.05$) (جدول ۲) (شکل ۲).

تیموس

در تیموس بر طبق تحلیل نتایج آماری قطر لبول‌ها، ضخامت مرکز و قشر آن‌ها در گروه آزمایشی کاهش آماری معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) (جدول ۳) (شکل ۳).

طحال

در طحال بر طبق آنالیز داده‌های آماری ضخامت پولپ سفید در دو گروه اختلاف آماری معنی‌داری را نشان نداد ($p \geq 0.05$) (جدول ۴) (شکل ۴).

جدول ۱- مقایسه داده‌های هیستومورفومتریک بورس فابریسیوس بلدرچین در گروه شاهد و آزمایشی

فاکتور	شاهد	گروه آزمایشی
طول پلیکا (میلی متر)	$7/57 \pm 0/66^a$	$6/22 \pm 0/46^b$
قطر فولیکول (میلی متر)	$0/82 \pm 0/08^a$	$0/78 \pm 0/06^b$
ضخامت قشر فولیکول (میلی متر)	$0/60 \pm 0/04^a$	$0/61 \pm 0/04^a$
ضخامت مرکز فولیکول (میلی متر)	$0/22 \pm 0/12^a$	$0/17 \pm 0/13^a$
تعداد فولیکول در هر پلیکا	$16/20 \pm 2/17^a$	$12/40 \pm 1/52^b$

(داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار می‌باشد و حروف انگلیسی نامشابه بیان گراختلاف آماری معنی‌دار $p < 0.05$ است).

جدول ۲- مقایسه داده‌های هیستومورفومتریک لوزه سکومی بلدرچین ژاپنی

فاکتور	شاهد	گروه آزمایشی
ضخامت فولیکول (میلی متر)	$0/06 \pm 0/01^a$	$0/07 \pm 0/01^a$
طول فسولا (میلی متر)	$0/72 \pm 0/05^a$	$0/68 \pm 0/03^b$
طول واحد فولیکولی (میلی متر)	$0/76 \pm 0/04^a$	$0/80 \pm 0/02^a$
عرض واحد فولیکولی (میلی متر)	$0/19 \pm 0/02^a$	$0/20 \pm 0/01^a$
تعداد فولیکول در واحد فولیکولی	$5/4 \pm 0/89^a$	$3/20 \pm 0/45^b$

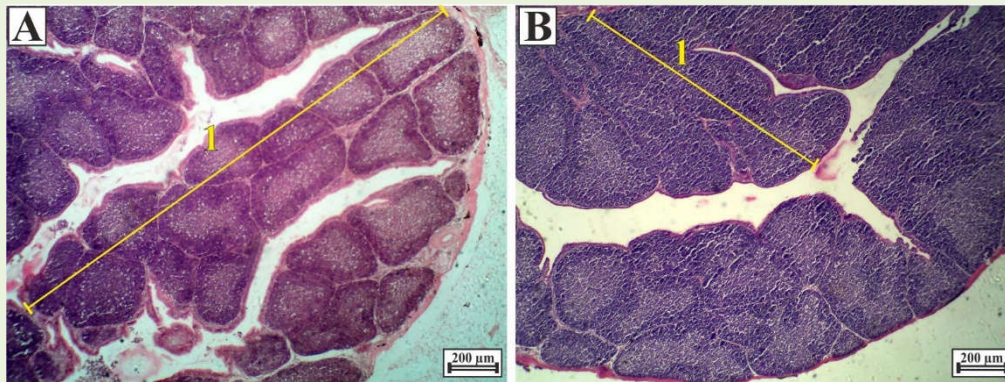
گروه شاهد و گروه آزمایشی (داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار می‌باشد و حروف انگلیسی نامشابه بیان گراختلاف آماری معنی‌دار $p < 0.05$ است).

گرفتند. علاوه بر آن جهت مطالعه هیستومورفومتریک از فتومیکروگراف‌های تهیه شده به وسیله میکروسکوپ نوری Nikon مدل Alphaphot/YS در نرم افزار Axio vixion Rel4.8 پارامترهای هیستومورفومتریک مورد نظر، اندازه‌گیری گردید و داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند. تمامی داده‌ها توسط روش آماری Independent-Samples T Test در نرم افزار SPSS11.0 ارزیابی شده و سطح معنی‌داری $p < 0.05$ برای تمامی مقایسه‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

بورس فابریسیوس

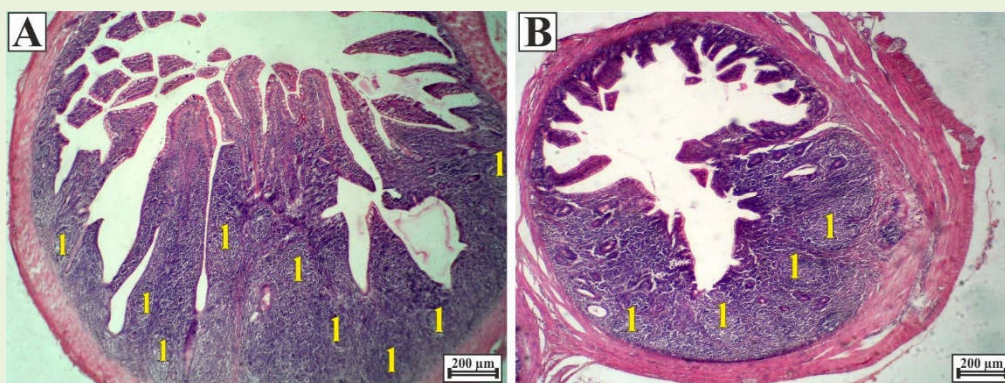
در بررسی هیستومورفومتریک بورس فابریسیوس کاهش آماری معنی‌داری در طول پلیکا و تعداد فولیکول‌های لnfای آن در گروه آزمایشی با جیره کمبود متیونین نسبت به گروه شاهد دیده شد. در حالی که در سایر فاکتورهای هیستومورفومتریک مورد



±

شکل ۱- بورس فابریسیوس بلدرچین ژاپنی گروه شاهد (A) و آزمایشی (B)

در گروه آزمایشی کاهش طول پلیکا (1) نسبت به گروه شاهد مشهود است. رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، Bar=200μm



شکل ۲- لوزه سکومی بلدرچین ژاپنی گروه شاهد (A) و آزمایشی (B).

تعداد فولیکول های لنفاوی (1) در گروه آزمایشی کاهش یافته است. رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، Bar=200μm

جدول ۳- مقایسه داده های هیستومورفومتریک تیموس بلدرچین ژاپنی گروه شاهد و آزمایشی

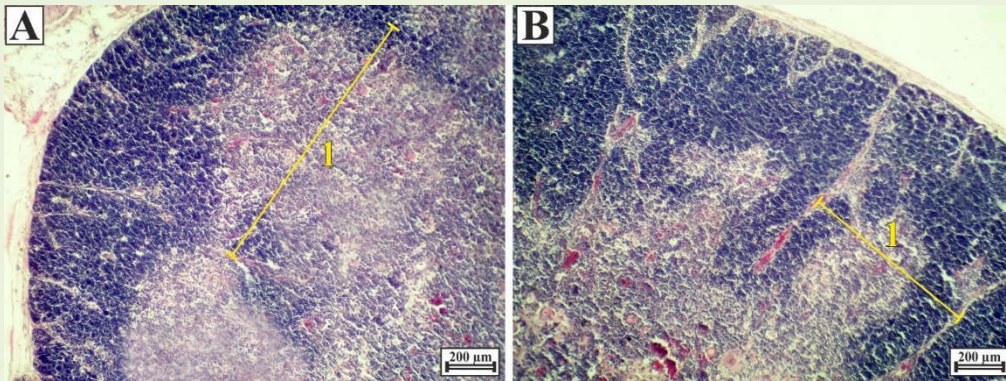
گروه	شاخص	فاکتور
گروه شاهد	0/64 ± 0/04 ^a	ضخامت لبول (میلی متر)
گروه آزمایشی	0/21 ± 0/02 ^b	
گروه شاهد	0/22 ± 0/03 ^a	ضخامت قشر لبول (میلی متر)
گروه آزمایشی	0/11 ± 0/02 ^b	
گروه شاهد	0/42 ± 0/02 ^a	ضخامت مرکز لبول (میلی متر)
گروه آزمایشی	0/1 ± 0/01 ^b	

(داده ها براساس میانگین ± انحراف معیار می باشد و حروف انگلیسی نامشابه بیان گراختلاف معنی دار $p < 0/05$ است).

جدول ۴- مقایسه داده های هیستومورفومتریک پولپ سفید بلدرچین شاهد و گروه آزمایشی

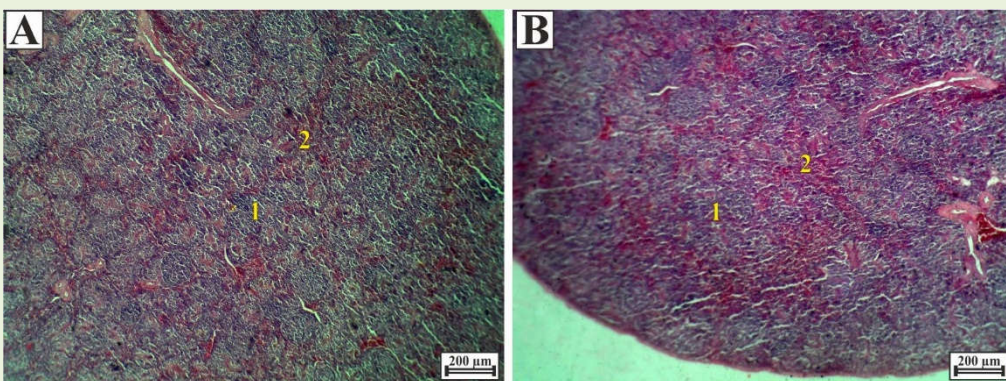
گروه	شاخص	فاکتور
گروه شاهد	0/07 ± 0/02 ^a	ضخامت پولپ سفید (میلی متر)
گروه آزمایشی	0/07 ± 0/01 ^a	

(داده ها براساس میانگین ± انحراف معیار می باشد و حروف انگلیسی نامشابه بیان گراختلاف معنی دار $p < 0/05$ است).



شکل ۳- تیموس بلدرچین ژاپنی گروه شاهد (A) و گروه آزمایشی (B).

کاهش ضخامت لبول (1) در گروه آزمایشی مشهود است. رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، Bar=200µm



شکل ۴- طحال بلدرچین ژاپنی گروه شاهد (A) و گروه آزمایشی (B).

پولپ سفید (1) و پولپ قرمز (2) در دو گروه تغییری را نشان ندادند. رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، Bar=200µm

بحث و نتیجه گیری

ضد عفونت کوکسیدیایی، شرکت در انتقال متیل و سنتز پروتئین و غیره است (۲۴). هم چنین متیونین در ارتباط نزدیک با عملکرد ایمنی طیور است که نه تنها در رشد و گسترش اندام‌های ایمنی تاثیر گذار است بلکه در عملکرد ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی آن‌ها نیز دخیل است (۲۵). علاوه بر این متیونین نقش کلیدی در سنتز پروتئین و کاتابولیسم سیستم ایمنی بر عهده دارد (۹). در مطالعات انجام شده در جوجه‌های گوشتی توسط سایر محققین با افزایش میزان متیونین جیره افزایش سطح ایمنی بدن پرنده (۱۷، ۱۳، ۱۱، ۵) مشاهده شده است زیرا متیونین نقش کلیدی در ایمنی هومورال و سلولی پرندگان دارد و سبب افزایش لنفوسیت‌ها، استقرار مرکز زایا در بورسفابریسیوس، به خدمت در آوردن مونوسیت‌ها و هتروسیت‌های مغز استخوان و سنتز

در این مطالعه شاخصه‌های بافت‌شناسی برخی اندام‌های لنفاوی بلدرچین ژاپنی تحت تاثیر جیره معمولی و جیره با حداقل متیونین با استفاده از رویکرد هیستومورفومتریک بررسی شد. همان‌طور که در بخش نتایج نشان داد که کمبود متیونین جیره سبب تغییرات هیستولوژیک معنی‌داری در بورسفابریسیوس به صورت کاهش طول پلیکا و تعداد فولیکول در هر پلیکا، در تیموس به صورت کاهش ضخامت لبول در نتیجه‌ی کاهش ضخامت قشر و مرکز لبول و در لوزه سکومی به صورت کاهش تعداد فولیکول‌های لنفاوی شد در حالی که در طحال تغییرات هیستولوژیک دیده نشد. متیونین به عنوان یک اسید آمینه ضروری در جیره روزانه دارای ارزش تغذیه‌ای بالا و عملکردهای مهم فیزیولوژیکی مانند پیشرفت رشد، دفع سموم، ضدتومور، ضدسرطان،

تولید سلول را در بورس فابریسیوس پرنده جوان برعهده دارند و بیشتر سلول‌های B خون محیطی مستقیماً از کورتکس فولیکول مهاجرت می‌کنند و وقتی که بورس فابریسیوس دچار روند تحلیل می‌شود طحال به عنوان جایگزین عمل می‌کند (۱۹). این فرضیه می‌تواند توضیحی بر یافته‌های مطالعه حاضر باشد چراکه با کاهش تعداد فولیکول‌ها در بورس فابریسیوس بلدرچین‌هایی که جیره با کمبود متیونین را مصرف کرده بودند در طحال در ضخامت پولپ سفید تغییری مشاهده نشد. در پرنده‌ها در قشر تیموس سلول‌های CD8+ و در مرکز سلول‌های CD4+ یافت می‌شود (۱۹)، در مطالعه انجام شده کاهش ضخامت قشر و مرکز لب‌های تیموس دیده شد که این تغییرات می‌تواند یا به علت کاهش ساخت این سلول‌ها و یا به علت افزایش مهاجرت آن‌ها رخ دهد. بافت‌های لنفاوی وابسته به دستگاه گوارش نقش کلیدی در مقابله با عوامل پاتوژن برعهده دارند. لوزه‌های سکومی به عنوان مهم‌ترین بافت لنفاوی وابسته به لوله گوارش می‌تواند از طریق ایمنی وابسته به سلول و وابسته به آنتی بادی عمل کند (۴). هم‌چنین لوزه‌های سکومی در تولید سیتوکین‌های پیش التهابی و تنظیمی (۶، ۱۰) و پپتیدهای ضد میکروبی (۱) نقش دارند. در این مطالعه کاهش تعداد فولیکول‌های واحد فولیکولی دیده شد. در پژوهش حاضر کمبود متیونین جیره در اندام‌های مهم لنفاوی بدن بلدرچین ژاپنی نظیر بورس فابریسیوس، تیموس و لوزه سکومی اثرات منفی نشان داد، در حالی که تغییرات چندانی بر بافت شناسی طحال دیده نشد. هرچند با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاصل نمی‌توان دلیل قطعی این رویدادها را تعیین نمود اما احتمال دارد که کاهش مشاهده شده بر پارامترهای اندازه گیری شده ناشی از تولید کمتر سلول‌های ایمنی باشد. اگرچه این احتمال نیز وجود دارد که کاهش پارامترهای فوق به دلیل افزایش توانایی مهاجرت و انتقال سلول‌ها به بافت‌های محیطی

مولکول‌های موثر (نظیر ایمونوگلوبولین، نیتریک اکساید، لیزوزیم و کمپلمان) و مولکول‌های رابط (سیتوکین و ایک و زانوئید) می‌شود (۲۱). در حالی که کاهش متیونین سبب تضعیف عملکرد سیستم ایمنی سلولی در نتیجه کاهش جمعیت سلول‌های T در تیموس و کاهش غلظت سرمی اینترلوکین ۲ و افزایش سلول‌های آپوپتوزیک (۲۲) هم چنین سبب کاهش وزن بورس و کاهش تعداد لنفوسیت‌های موجود در فولیکول‌ها می‌شود (۲۳). سیکل سلول‌های یوکاریوتیک به چهار فاز اصلی تقسیم می‌شود: فاز G₁ قبل از کپی برداری DNA، دوره سنتز DNA (فاز S)، فاز G₂ قبل از تقسیم سلول و تقسیم سلول (فاز M) (۲۳). Wu و همکاران در سال ۲۰۱۳ بیان کردند که کمبود متیونین در جیره بلدرچین سبب افزایش در سلول‌های فاز G₁ و در نتیجه آن کاهش سلول‌های فاز S و در نهایت کاهش سلول‌های ایمنی می‌شود. هم‌چنین به سبب کمبود متیونین توالی لنفوسیت‌ها از G₀/G₁ به فاز S شدیداً دچار اختلال شده و تکثیر لنفوسیت‌ها مهار می‌شود که در نهایت منجر به کاهش شاخص رشد و تعداد لنفوسیت می‌گردد. مکانیسم اثر کمبود متیونین بر تکثیر لنفوسیت‌ها مشخص نیست ولی این امکان وجود دارد که این تاثیر به واسطه تغییر در تولید پروتئین‌های مسئول تکثیر مانند سیکلین، ایجاد شود زیرا متیونین می‌تواند سبب جلوگیری از سنتز پروتئین شود (۲۳). مرگ برنامه‌ریزی شده سلول یا آپوپتوز یک روند تنظیم شده برای از بین بردن سلول‌های آسیب دیده و یا غیر طبیعی می‌باشد. گزارش شده است که کمبود متیونین سبب فعال شدن یک یا چند مسیر برای آغاز آپوپتوز و در نهایت افزایش سلول‌های آپوپتوزی می‌شود (۲۳). این مطالب می‌تواند توجیهی بر کاهش تعداد سلول‌های لنفاوی در ارگان‌های لنفاوی مهمی مانند بورس فابریسیوس، تیموس و لوزه سکومی در این مطالعه باشد. محققان بیان کرده اند که فولیکول‌ها بیشترین نرخ

که تعیین دلیل قطعی این رویدادها پژوهش‌های بیشتری را طلب می‌کند.

روی داده باشد. همچنین نبود اثرات کمبود متیونین درطحال ممکن است ناشی از مکانیسم‌های جیرانی باشد

منابع

1. Akbari, M.R., Haghighi, H.R., Chambers, J.R., Brisbin, J., Read, L.R., Sharif, S. (2008). Expression of antimicrobial peptides in cecal tonsils of chickens treated with probiotics and infected with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Clin Vaccine Immunol*, 15; 1689-1693.
2. Amirtaghavi Arugh P., Hamedi S. (2019). A histomorphometric study on age-related changes in selected lymphoid structures of Chukar partridge (*Alectoris chukar*). *Iran J Vet Res*, 20(3); 186-191.
3. Bani Asadi, M. (1996). Quail and its nutrition. *J Anim Feed*, 14; 36-39.
4. Befus, A.D., Johnston, N., Leslie, G.A., Bienenstock, J. (1980). Gut-associated lymphoid tissue in the chicken. I. Morphology, ontogeny, and some functional characteristics of Peyer's patches. *J Immunol*, 125(6); 2626-2632.
5. Bouyeh, M. (2012). Effect of excess lysine and methionine on immune system and performance of broilers. *Ann Biol Res*, 3(7); 3218-3224.
6. Brisbin, J.T., Gong, J., Parvizi, P., Sharif, S. (2010). Effects of Lactobacilli on cytokine expression by chicken spleen and cecal tonsil cells. *Clin Vaccine Immunol*, 17(9); 1337-1343.
7. Deng, K., Wong, C.W., Nolan, J.V. (2007). Carry-over effects of early-life supplementary methionine on lymphoid organs and immune responses in egg-laying strain chickens. *Anim Feed Sci Technol*, 134(1-2); 66-76.
8. Field, C.J., Johnson, I.R., Schley, P.D. (2002). Nutrients and their role in host resistance to infection. *J Leukoc Biol*, 71(1); 16-32.
9. Grimble, R.F. (2006). The effects of sulfur amino acid intake on immune function in humans. *J Nutr*, 136(6); 1660S-1665S
10. Haghighi, H.R., Abdul-Careem, M.F., Dara, R.A., Chambers, J.R., Sharif, S. (2008). Cytokine gene expression in chicken cecal tonsils following treatment with probiotics and *Salmonella* infection. *Vet Microbiol*, 126(1-3); 225-233.
11. Hosseini, S.A., Zaghari, M., Lotfollahian, H., Shivazad, M., Moraviaj, H. (2012). Reevaluation of methionine requirement based on performance and immune responses in broiler breeder hens. *J Poultry Sci*, 49(1); 26-33.
12. Kaur, S., Mandal, A.B. (2015). The performance of Japanese quail (white breasted line) to dietary energy and amino acid levels on growth and immunocompetence. *J Nutr Food Sci*, 5(4); 546-551.
13. Mirzaaghatabar, F., Saki, A.A., Zamani, P., Aliarabi, H., Hemati Matin, H. (2011). Effect of different levels of diet methionine and metabolizable energy on broiler performance and immune system. *Food Agr Immunol*, 22(2); 93-103.
14. Oguzet, I., Altan, O., Kirkpinar, F., Settar, P. (1996). Body weights, carcass characteristics, organ weights, abdominal fat, and lipid content of liver and carcass in two lines of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*), unselected and selected for four-week body weight. *Br Poult Sci*, 37(3); 579-88.
15. Parvin, R., Mandal, A.B., Singh, S.M., Thakur, R. (2010). Effect of dietary level of methionine on growth performance and immune response in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *J Sci Food Agric*, 90(3); 471-481.
16. Rama Rao, S.V., Praharaj, N.K., Reddy, M.R., Panda, A.K. (2003). Interaction between genotype and dietary concentrations of methionine for immune function in commercial broilers. *Br Poultry Sci*, 44(1); 104-112.
17. Rubin, L.L., Canal, C.W., Ribeiro, A.L.M., Kessler, A., Silva, I., Trevizan, L. (2007). Effects of methionine and arginine

dietary levels on the immunity of broiler chickens submitted to immunological stimuli Braz. J Poult Sci, 9(4); 241-247.

18.Ruth, M.R., Field, C.J. (2013). The immune modifying effects of amino acids on gut-associated lymphoid tissue. J Anim Sci Biotechnol, 42(1); 27.

19.Schat, K.A., Kaspers, B., Kaiser, P. (2014). Avian immunology. 2nd edi. Academic Press, MA, USA.

20.Selhub, J., Troen, A.M. (2016). Sulfur amino acids and atherosclerosis: a role for excess dietary methionine. Ann N Y Acad Sci, 1365; 18-25 .

21.Swain, B.K., Johri, T.S. (2000). Effect of supplemental methionine, choline and their combinations on the performance and immune response of broilers. Br Poult Sci, 41(4); 83-88.

22.Wu, B., Cui, H., Peng, X., Fang, J., Cui, W., Liu, X. (2012). Effect of methionine deficiency on the thymus and the subsets and proliferation on peripheral blood T cell, and serum IL 2 in broilers. J Int Agri, 11(6); 1009-1019.

23.Wu, B., Cui, H., Peng, X., Fang, J., Cui, W., Liu, X. (2013). Pathology of bursae of fabricius in methionine-deficient broiler chickens. Nutrients, 5; 877-886.

24.Wu, G. (2013). Functional amino acids in nutrition and health. Amino Acids, 45(3); 407-411.

25.Zhang, L.B., Guo, Y.M. (2008). Effects of liquid dl-methionine hydroxy analogue on growth performance and immune responses in broiler chickens. Poult Sci, 87(7); 1370-1376.



Effect of Methionine Deficiency on Histological Features of Selective Immune Organs in Japanese Quail

A.R. Hashampishe¹, S. Hamedi²,

1.DVM student Department of Basic Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

2.Assistant professor, Department of Basic Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
sahar_hamedi@yahoo.com

Received:2019.25.10

Accepted: 2019.22.12

Abstract

Introduction & Objective: Methionine (Met) being the first limiting amino acid in maize/soybean-based quail diets, its supplementation provides scope for improvement of protein quality and reduction of dietary protein concentration.

Material and Methods: To evaluate the effects of methionine deficiency on histology of selective lymphatic organs of Japanese quail, 20 one-day old quails were randomly allocated into 2 groups of 10 birds. One group received methionine deficient diet while another group of birds was fed with standard diet as control. After 6 weeks, all birds were sacrificed and bursa of Fabricius, thymus, caecal tonsils and spleen were removed immediately and after processing by routine histological methods.

Results: Histomorphometric assays were performed by Axio vixion Rel4.8 software. Data were expressed as Mean±SD. Data analysis was performed by Independent samples T test method and differences considered statistically different at $p < 0.05$. Results showed that dietary methionine deficiency adversely affects histological features of bursa of Fabricius, caecal tonsils and thymus that causes statistically decrease in the plicae height and follicle numbers in bursa of Fabricius, decrease in follicular number of nodular unit of caecal tonsils and decrease in lobular width of thymus. Whereas spleen showed no changes in their histological aspects.

Conclusion: It would be possible that above reduced parameters are caused by a reduction in cell production although rising in migration and transferring abilities of cells to their peripheral tissues may also be important. The lack of considerable changes in the spleen may be due to compensatory mechanisms that require further investigation to determine the definitive cause of these events.

Keywords: Methionine Deficiency, Immune Organs, Histology, Japanese quail.