نقش استرس‌های عضلانی و ارتباط آن با کیفیت گوشت در جوجه‌های گوشتی

یوسف دوستار[1*]، فرید سرکاراتی[2]، افشین جوادی[3]، وحید حاجی آبالو[4]

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
۲. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی سراب، سراب، ایران
۳. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
٤. دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
* *نویسنده مسئول مکاتبات* *vetdoustar@yahoo.com*

(دریافت مقاله: ۸٦/۲/۲ پذیرش نهایی: ۸٦/۸/۲۰)

چکیده

استرس‌های عضلانی می‌توانند از مسائل بسیار مهم مرتبط با کیفیت گوشت و بهداشت انسانی باشند. یکی از این عوامل استرس‌زا جمع آوری و حمل و نقل جوجه‌ها از فارم به کشتارگاه می‌باشد. در مطالعه حاضر ارتباط عوامل استرس‌زا با کیفیت گوشت جوجه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است. برای انجام این مطالعه، ۳۰ قطعه جوجه گوشتی ٦۰ روزه به ظاهر سالم از یک جنس و نژاد انتخاب و به‌طور مساوی در سه گروه (A و B به عنوان تیمار و C به‌عنوان شاهد) توزیع گردیدند. شرایط تغذیه و نگه‌داری برای تمام جوجه‌ها یکسان در نظر گرفته شد. گروه تیمار A تحت آسیب‌های مختلف عضلانی متناسب با آسیب‌های ایجاد شده در زمان جمع آوری و نقل و انتقال جوجه‌ها به کشتارگاه قرار گرفت و جوجه‌های گروه تیمار B نیز تحت شرایطی مجبور به بال زدن شدید گردیدند. در گروه‌های تیمار و شاهد ۱۲ ساعت پس از اعمال استرس، از بافت عضله سینه‌ای عمقی و خون جهت اندازه‌گیری کراتین فسفوکیناز و ازت تام فرّار و تهیه مقاطع میکروسکوپی نمونه برداری انجام پذیرفت. در مشاهدات ظاهری، بافت عضله عمقی سینه در گروه‌های تیمار دچار تورم، کبودی وخونریزی شدید بود. در نمای ریزبینی، ادم، تورم آبکی سلول، نکروز و ارتشاح سلول‌های التهابی از نوع هتروفیل، لنفوسیت و ماکروفاژ مشاهده شد. در گروه شاهد تغییرات بافتی مشخصی دیده نشد. مقادیر آنزیم کراتین فسفوکیناز و ازت تام فرّار در گروه‌های تیمار نسبت به گروه‌های شاهد افزایش یافته بود و اختلاف میانگین بین آن‌ها از لحاظ آماری نیز معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۵).

مجله علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، ۱۳۸٦، دوره ۱، شماره ۲، ۷۰- ٦۵.

کلمات کلیدی: استرس‌های عضلانی، کیفیت گوشت، جوجه‌های گوشتی

مقدمه

انسان برای ادامه حیات، نیاز به غذا دارد و غذای مورد مصرف انسان از منابع مختلف تهیه می‌شود. در میان مواد غذایی مختلف آنچه که بیش از هر ماده دیگر اهمیت دارد، پروتئین است که بیشتر از منابع حیوانی تأمین می‌شود و از بین غذاهای گوشتی مصرف گوشت سفید (مرغ و ماهی) از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. استرس‌های عضلانی در طیور گوشتی یکی از مهم‌ترین مشکلات در کیفیت گوشت می‌باشد که عدم توجه به آن خسارات قابل توجهی به صنعت طیور و اقتصاد کشور وارد می‌آورد. امروزه عمده‌ترین مسئله ای که کیفیت گوشت را تحت تا ثیر قرار می‌دهد استرس‌های متعدد وارده حین نقل و انتقال جوجه‌ها به محل فرآوری و عرضه به مصرف‌کننده می‌باشد. Knochel (۱۹۹۳) و Sosnieki و همکاران (۱۹۸۹) مشخص نموده‌اند که یکی از این عوامل استرس‌زا تروماهای عضلانی متعدد در حین نقل و انتقال می‌باشد که با القاء پاسخ‌های پاتولوژیک موجب آسیب بافت عضلانی می‌گردد (۱۷ و ۲۱).

همچنین May و همکاران (۱۹۸۷) و Gilbert و Devine (۱۹۸۲) اظهار داشته‌اند که متعاقب آسیب بافت عضله، ترکیبات و واسطه‌های متعددی از سلول‌های آسیب دیده آزاد می‌گردد که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به فاکتورهای التهابی وآنزیم‌های مخرب بافتی اشاره نمود، به‌طوری که با آزاد شدن پروتئازهای متعدد از سلول‌های ایمنی نظیر ماکروفاژها، رابدومیولیز در ساختار بافت عضله اتفاق می‌افتد که به‌طور یقین در روی کیفیت بافت عضله از لحاظ تغذیه‌ای تأثیر بسزائی خواهد داشت (۱۲ و ۱۹). حرکات مکرّر و سریع عضلانی نظیر بال زدن در حین جمع‌آوری جوجه‌ها می‌تواند بر روی تارهای عضلانی تیپ Π بافت عضله مخطط تاثیر گذاشته و موجب خستگی بسیار شدید عضله و حتی در مواردی پارگی و میولیز گردد، که دلیل آن را باید در ساختار بافت عضله جستجو کرد، زیرا که فیبرهای عضلانی تیپ Π معمولاً نسبت به کشش و حرکات سریع و مکرر حساس و بسیار آسیب‌پذیر می‌باشند (۱ و ۲۰). به‌طور کلّی حرکات کششی و مکرّر در عضله عمقی سینه حین جمع‌آوری، بسیار شدید بوده و موجب اختلال در روند طبیعی متابولیسم بافت عضله گردیده و موجب آغاز متابولیسم بی‌هوازی و تولید متابولیت‌های آن نظیر اسید لاکتیک می‌گردد که این عوامل نیز می‌توانند به‌نحوی روی ساختار بافت عضله و کیفیت تغذیه‌ای آن تاثیر بگذارند (۱۳). همچنین انقباض‌های شدید عضلانی در جوجه‌های گوشتی که حین جمع‌آوری بر آن‌ها اعمال می‌شود، موجب تولید و آزاد سازی مقادیر زیادی رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل در بافت عضله گردیده که می‌تواند از زوایای مختلف کیفیتی و بهداشتی حائز اهمیت باشد، زیرا که عوامل رادیکال آزاد علاوه بر مسائل کیفی می‌توانند با ورود به منابع تغذیه‌ای، سلامت و بهداشت جمعیت انسانی را تحت تأثیر قرار دهند (۵، ٦ و ۱۵).

سه مورد مهمّ (خستگی، تروما و التهاب) می‌توانند از عوامل بسیار مهم در القاء آسیب بافتی باشند که کیفیت گوشت را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهند و چون نیاز روز افزون به منابع پروتئینی با کیفیت مناسب از مسائل ارزشمند تأمین منابع تغذیه‌ای جوامع انسانی می‌باشد، لذا در این مطالعه به نقش استرس‌های عضلانی بر روی کیفیت گوشت با ارزیابی هیستوپاتولوژیک و اندازه‌گیری میزان کراتین فسفو کیناز پلاسما و ازت تام فرّار پرداخته شده است.

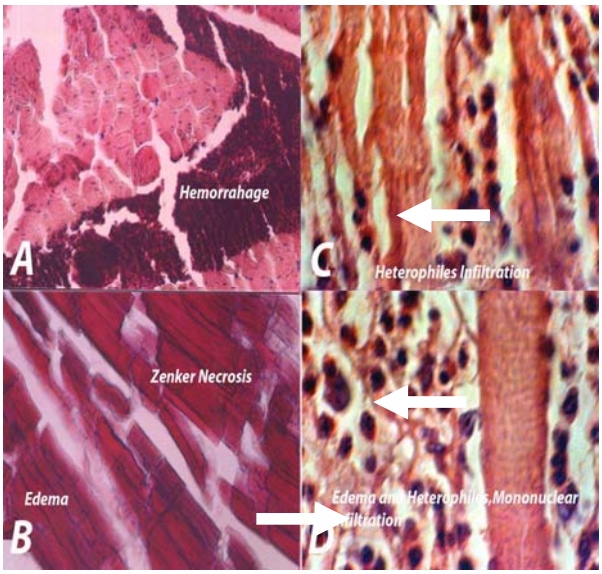
مواد و روش‌کار

برای انجام این مطالعه، ۳۰ قطعه جوجه گوشتی ٦۰ روزه سالم با جنسیّت و نژاد یکسان انتخاب و پس از انتقال به محل مخصوصِ نگه‌داری به منظور عادت کردن جوجه‌ها به محیط جدید و پرهیز از استرس، طی چند روز ابتدای ورود هیچ گونه آزمایشی روی آن‌ها انجام نپذیرفت. محل نگه‌داری جوجه‌ها جایگاهی به مساحت ۸۰ متر مربع بود. شرایط تغذیه و مراقبت‌های کلّی برای تمام جوجه‌ها یکسان در نظر گرفته شده بود، به طوری‌که در طول دوره به صورت آزاد به یک نوع جیره و آب دسترسی داشتند. پس از طی این چند روز جوجه‌ها شماره‌گذاری شده سپس در ۳ گروه مساوی تحت عنوان گروه‌های A و B به‌عنوان تیمار و گروه C به‌عنوان شاهد توزیع گردیدند. گروه آزمایش A تحت آسیب‌های مختلف عضلانی متناسب با آسیب‌های ایجاد شده در زمان جمع‌آوری و نقل و انتقال جوجه‌ها به کشتارگاه قرارگرفته و جوجه‌های گروه آزمایشی B نیز تحت شرایطی مجبور به بال زدن شدید شدند. جهت سنجش کراتین فسفو کیناز پلاسما از گروه‌های تیمار و شاهد، ۱۲ ساعت پس از استرس‌های عضلانی هم‌زمان از ناحیه قلب خونگیری به عمل آمد و نمونه‌های خون همراه ضد انعقاد EDTA به آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی ارسال و با استفاده از کیت کراتین فسفوکیناز (سی کا، درمان کاو، ایران) مورد آزمایش قرار گرفتند. برای تهیه مقاطع آسیب‌شناسی نیز پس از گذشت ۱۲ ساعت از اعمال استرس‌های عضلانی، جوجه‌ها با داروی بیهوشی استنشاقی یوتانایز شده و از بافت عضلات عمقی سینه تمام گروه‌ها نمونه‌های بافتی اخذ گردید که پس از پایدارسازی در فرمالین

بافری ۱۰ درصد، به آزمایشگاه آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی ارسال و با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت و تهیه مقاطع معمول آسیب‌شناسی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، برش‌های مورد نظر تهیه و از نظر آسیب‌شناسی بافتی مورد مطالعه قرار گرفتند (۱۸). با توجه به اینکه تحت تاثیر آنزیم‌های پروتئولیتیک طبیعی گوشت و آنزیم‌های میکروبی ساختمان پروتئینی دناتوره و لیز می‌گردد و به‌دنبال آن مقادیر زیادی مواد فرّار و آمونیاک تولید می‌گردد، بر این اساس، بافت عضله از لحاظ ازت تام فرّار نیز مورد آزمایش قرار گرفت (۵، ٦، ۷ و ۱٦). در این بررسی نتایج به‌دست آمده با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس (ANOVA) و توکی کرامر (Tukey-Kramer) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

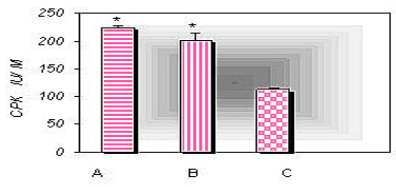
نتایج

در مشاهدات ظاهری بافت‌های عضلانی (عضلات عمقی سینه) گروه تیمار A، تورم، کبودی و خونریزی بسیار شدید دیده شد و در گروه B نسبت به گروه تیمار A تغییرات ظاهری نامحسوس بوده و اغلب تورم بافت عضلانی با تغییرات رنگ خاکستری مایل به سفید شبیه به حالت پختگی بافت عضله قابل مشاهده بود. در نمای ریزبینی گروه تیمار A، ادم، خونریزی شدید، تغییرات دژنراتیو و نکروز بافت عضلانی مشاهده شد و در گروه تیمار B ضایعات بیشتر به‌صورت نکروز شدید به‌همراه ارتشاح سلول‌های آماسی (سلول‌های هتروفیلی، لنفوسیت و ماکروفاژها) بود (نگاره ۱). در مقایسه با گروه‌های تیمار در گروه شاهد تغییرات خاصّ پاتولوژیک مشاهده نگردید.

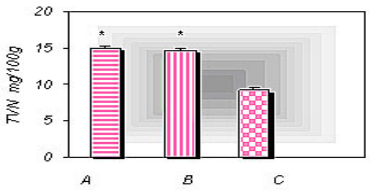


نگاره۱- نمای ریزبینی بافت عضله عمقی سینه جوجه گوشتی تحت استرس عضلانی که در آن خونریزی شدید (***A***)، ادم و نکروز (***B***)، ارتشاح هتروفیل‌ها، ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها (***C,D***) مشخص می‌باشد (فلش‌ها). رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمائی تصاویر به‌ترتیب ۱۰×، ٤۰×، ۱۰۰× و ۱۰۰×).

از لحاظ آماری نیز اختلاف معنی داری در مورد میزان آنزیم کراتین فسفوکیناز و ازت تام فرّار بین گروه‌های تیمار و شاهد وجود داشت (**P<۰/۰۰۵**). بالاترین میزان آنزیم کراتین فسفوکیناز و ازت تام فرّار نیز در گروه تیمار A برابر IU/M ۲۲۳/٤ و ۱۵/۰٦ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت مشاهده گردید. مقادیر موارد فوق در گروه شاهد در حد نرمال بودند (نمودارهای ۱ و ۲).



نمودار۱- میانگین تغییرات آنزیم کراتین فسفوکیناز به‌دست آمده از پلاسمای جوجه‌های گروه‌های تیمار و شاهد (n=10). داده‌ها به‌صورت Mean ± SEM نمایش داده شده است (P <0.005* در مقایسه با گروه شاهد).



نمودار۲- میانگین تغییرات TVN به‌دست آمده از بافت عضله عمقی سینه جوجه‌های گروه‌های تیمار و شاهد (n=10). داده‌ها به‌صورت Mean ± SEM نمایش داده شده است (P <0.005* در مقایسه با گروه شاهد).

بحث و نتیجه‌گیری

عوامل استرس‌زا اغلب شامل درد شدید، هیجانات، ازدحام بیش از حد، دستکاری‌های خشن، درجه حرارت‌های محیطی بالا و پائین، حمل و نقل تحت شرایط غیر استاندارد و غیره می‌باشد که همه در ایجاد آسیب بافتی و القاء فرآیندهای آماسی و تولید مقادیر زیادی از آنزیم‌های مخرب و رادیکال‌های آزاد از سلول‌های بافتی و ایمنی موثر می‌باشند. امروزه ثابت شده است که حضور مقادیر زیادی از عوامل رادیکال آزاد هیدروکسیل در بافت عضله، که به عنوان منبع غذائی برای جوامع انسانی ارزش تغذیه ای دارد، با ورود به برنامه غذائی در طولانی مدّت آسیب‌های جبران ناپذیری را در بهداشت جوامع انسانی ایجاد نموده است. بر همین اساس، با بروز استرس‌های عضلانی در جمع‌آوری و حمل و نقل جوجه‌های گوشتی کیفیت گوشت تحت تاثیر قرار گرفته و با آسیب بافتی و آزاد شدن مواد و واسطه‌های متعدد شیمیائی کیفیت گوشت کاهش می‌یابد. چندین فاکتور برای ارزیابی کیفیت گوشت وجود دارد که در این مطالعه تنها به بررسی سه مورد از آن (اندازه‌گیری آنزیم کراتین فسفوکیناز، اندازه‌گیری ازت تام فرّار و مطالعات پاتولوژیک) پرداخته شده است که تا حدودی نتایج معنی‌داری را در توافق با یافته‌های سایر محققین (١٤) به همراه داشته است. پرواضح است که با اعمال استرس‌های شدید و ترومای بافتی، مقادیر آنزیم کراتین فسفو کیناز و ازت تام فرّار دستخوش تغییرات شده و کیفیت گوشت را تحت تأثیر قرار خواهد داد، زیرا که برای هر گوشت مناسب به‌عنوان منبع غذائی، مقادیر استاندارد از نظر ترکیبات بیوشیمیائی مطرح است (۳ و ٤). این متغیرهای بیوشیمیائی در مطالعه حاضر در محدوده‌ای بوده است که بدون تردید نشانگر کاهش کیفیت گوشت متعاقب استرس عضلانی بوده است. میزان کراتین فسفوکیناز پلاسما افزایش معنی‌داری را بین گروه‌های تیمار و شاهد نشان داده است که احتمالاً به علت آسیب‌های شدید بافت عضلانی بوده است. معمولاً به‌دنبال آسیب‌های بافتی، آنزیم‌های متعددی افزایش یافته و با از بین رفتن غشاء سلولی وارد فضای بین سلول شده که علاوه بر ایجاد تغییرات مهم کیفی در گوشت با اندازه‌گیری آن‌ها می‌توان به حضور مشخص آسیب بافت عضلانی پی برد. این آنزیم مهم همان کراتین فسفوکیناز می‌باشد و در مطالعه حاضر نیز افزایش مشخص آن در محدوده ٢٢٣/٤ IU/M بوده که از حد نرمال خود بیشتر و نشانگر آسیب بافتی می‌باشد. بدیهی است که با حضور آسیب‌های بافتی که کیفیت گوشت را تحت تاثیر خود قرار می‌دهند، استفاده غذائی از چنین مواد پروتئینی برای جوامع انسانی مناسب نبوده و کاهش هر گونه استرس عضلانی (کشش و ترومـا) در حین جمع‌آوری و نقل و انتقال برای مدیران مراکز پرورشی توصیه می‌گردد (۲، ۹ و ۱۰). متغیر دیگری که در این بررسی مورد ارزیابی قرار گرفته است، ازت تام فرّار موجود در گوشت می‌باشد، زیرا که متعاقب استرس‌های عضلانی(کشش و ترومـا) در اثر آنزیم‌های پروتئولیتیک طبیعی گوشت و سایر آنزیم‌های منشاء گرفته از سلول‌های عضلانی، ساختمان پروتئینی بافت عضله دناتوره و لیز و به‌دنبال آن مقادیر زیادی مواد فرّار و آمونیاک تولید می‌شود که موجب افزایش ازت تام فرّار گوشت مصرفی

می‌گردد (۸، ۱۱ و۱۲). براساس استانداردهای بین‌المللی هرگاه مقدار ازت تام فرّار گوشت مصرفی از ۱۶/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت بیشتر باشد، نشانگر غیر قابل مصرف بودن گوشت می‌باشد که در مطالعه حاضر نیز افزایش ازت تام فرّار تا حدود ۱۵/۰۶ بوده که تقریباً به میزان قابل توجهی به حد ۱۶/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت نزدیک می‌باشد که خود نشانگر ارتباط بسیار نزدیک آسیب‌های بافت عضلانی با افزایش مقدار ازت تام فرّار است. بنابراین کاملاً واضح است که بین تغییرات کراتین فسفوکیناز، ازت تام فرّار، آسیب‌های سلولار بافت عضلانی و کیفیت گوشت ارتباط مشخصی وجود دارد و نتایج به‌دست آمده از این بررسی نیز گویای اختلاف معنی دار (**P<۰/۰۰۵**) بین گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد از لحاظ موارد فوق می‌باشد.

پیشنهاد می‌شود برای فرآوری صحیح و رعایت استانداردهای مواد تغذیه‌ای با منشأ دامی از روش‌های صحیح برای نقل و انتقال استفاده گردد و یا اینکه با طراحی سیستم‌های توسعه یافته، فواصل بین محل پرورش جوجه‌های گوشتی و فرآوری گوشت آن‌ها را نزدیک به هم و یا در داخل یک منطقه مشخص قرار دهند و با استفاده از وسایل نقلیه مناسب، با رعایت میزان تراکم جوجه‌های انتقالی به محل کشتار، استرس‌های حاصله از جمع‌آوری و نقل وانتقال را به حداقل برسانند.

فهرست منابع

1. Achlin, M. (l987): Skeletal muscle blood flow capacity: role of muscle pump in exercise hyperemia. American Journal of Physiology. 253: 993- 1004.
2. Bailey, T.A., Wernery, U., Naldo, J. and Samour, J.H. (1997): Plasma concentration of creatine kinas and lactate dehydrogenises in Houbara Bustards (Chlamydotis unduata macqueenii) immediately following capture. Comparative Hematology International. 1: 113-116.
3. Bogin, E., Avider, Y., Waffenschmidt, V., Doron, B.A. and Kevkhayev, E. (1996): The relationship between heat stress, survivability and blood composition of the domestic chicken. European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry. 34: 463-469.
4. Bowman, W.C. and Marshall, I.G. (1971): Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. 2nd ed. Academic Press, London, pp: 707 -737.
5. Egan, H. (1988): Pearson's chemical analysis of foods. 8th ed. Academic Press, London, pp: 386-387.
6. Ellis, C.G., Mathieu, C.O., Potter, R.F., McDonald, I.C. and Groom, A.C. (1990): Effect of sarcomere length on fetal capillary length in skeletal muscle. 40: 63-72.
7. Evans, W.J. and Cannon, J.G. (1991): The metabolic effects of exercise induced muscle damage. Exercise and Shorts Science Review. 19: 99-125.
8. Fisher, B.D., Baracos, V.E., Shnitka, T.K., Mendryk, S.W. and Reid, D.C. (1990): Ultrastructural events following acute muscle trauma. Medicine and Science in Sports and Exercise. 22: 185- 193.
9. Folkow, B., Gaskell, B. and Waller, B.A. (1970): Blood through limb muscle during heavy rhythmic exercise. Journal of Physiology. 80: 61-72.
10. Freeman, B.M., Kettle well, P.I., Manning, A.C. and Berry, P.S. (1984): Stress of transportation for broiler. Veterinary Record. 114: 286-287.
11. Friden, J. and Liber, R. (1992): Structural and mechanical basis of exercise induced muscle injury. Medicine and Science in Sports and Exercise. 24: 521- 530.
12. Gilbert, K.V. and Devine, C.E. (1982): Effect of electrical stunning, on petechical hemorrhages and on the blood pressure in lambs. Meat Science. 7: 197-207
13. Gregory, N.G., Wilkins, L.J., Wotton. S.B. and Middletion, A.L.V. (1995): Effects of current and wave form on the incidence of breast meat hemorrhages in electrically stunned broiler chicken carcasses veterinary Record. 137: 263-265.
14. Hasselman, C.T., Best, T.M., Seaber, A.V. and Garre, W.E. (1995): A threshold and continuum of injury during active stretch of rabbit skeletal muscle. American Journal of Sports Medicine. 3: 65-73.

15. Holmstrom, A., Lorenz, N. and Lewis, D.H. (1985) Local skeletal muscle surface oxygen pressure fields after high - trauma. 2: 293 - 311.
16. Jackson, M.J., Jones, D.A. and Edwards, R.H.T. (1984): Experimental skeletal muscle damage: the nature of the calcium activated degenerative processes. European Journal of Clinical Investigation. 14: 369-374.
17. Knochel. J.P. (1993): Mechanisms of Rhabdomyolysis. Current Opinion in Rheumatology. 5: 725-731.
18. Lee, G. and Luna, H.T. (1998): Manual of histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd ed. McGraw Hill Book Com. New York, pp: 32-45.
19. May, J.D., Deaton, J.W. and Branton, S.L. (1987): Body temperature of acclimated broilers during exposure to high temperature. Poultry Science. 66: 378-380.
20. Reilly, J.P. (1994): Scales of reaction to electric shock: thresholds and biophysical mechanisms. Annals of the New York Academy of Sciences. 720: 21-56.
21. Sosnieki, A., Cassens, R., Mcintyre, D., Vimini, R. and Greaser, M. (1989) Incidence of microscopically detectable degenerative characteristics in skeletal muscle of turkey. British Poultry Science. 30: 69-80.