



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตร์คชภูมิต (สัตวศาสตร์)
ปริญญา

| | |
|------------|---------|
| สัตวศาสตร์ | สัตวบาล |
| สาขา | ภาควิชา |


เรื่อง ผลของสมดุลพลังงานต่อกระบวนการใช้ประโยชน์ของไขมันในโคสาว
 พันธุ์กำแพงแสนและลูกผสมบราห์มัน ภายใต้สภาวะเขตร้อน

Effect of Energy Balance on Lipid Utilization in Kamphaengsaen and Crossbred
 Brahman Heifers under Tropical Conditions

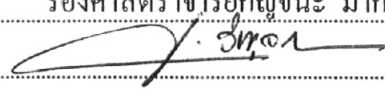
นามผู้วิจัย นายพงศ์ชัย กลิ่นหอม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

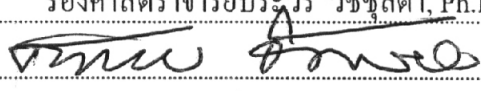
ประธานกรรมการ

( รองศาสตราจารย์กัญจนะ มากวิจิตร, Dr.Med.Vet)

กรรมการ

( รองศาสตราจารย์ประวีร์ วิชชุดา, Ph.D.)

กรรมการ

( รองศาสตราจารย์ศรเทพ ชัมวาสร, Ph.D.)

กรรมการ

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชัยภูมิ ปัญชาศักดิ์, Ph.D.)

กรรมการ

( รองศาสตราจารย์อำภัสตรา ชูเทศะ, Dr.rer.nat.)

หัวหน้าภาควิชา

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์นวลจันทร์ พารักษา, Dr.Agr.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 27 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2549

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของสมดุลพลังงานต่อกระบวนการใช้ประโยชน์ของไขมันในโคสาวพันธุ์กำแพงแสนและ
ลูกผสมบราห์มัน ภายใต้สภาวะเขตร้อน

**Effect of Energy Balance on Lipid Utilization in Kamphaengsaen and Crossbred Brahman
Heifers under Tropical Conditions**

โดย

นายพงศ์ชัย กลิ่นหอม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (สัตวศาสตร์)

พ.ศ. 2549

ISBN 974-9845-18-8

พงศ์ชัย กลิ่นหอม 2549: ผลของสมดุลพลังงานต่อกระบวนการใช้ประโยชน์ของไขมันในโคสาว
พันธุ์กำแพงแสนและลูกผสมบราห์มัน ภายใต้สภาวะเขตร้อน ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
(สัตวศาสตร์) สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาสัตวบาล ปรธานกรรมการที่ปรึกษา:
รองศาสตราจารย์กัญจนะ มากวิจิตร, Dr.Med.Vet. 83 หน้า
ISBN 974-9845-18-8

โคสาวพันธุ์กำแพงแสน 5 ตัวและโคสาวลูกผสมบราห์มัน 6 ตัว ถูกจำกัดอาหารเป็นเวลา 20 วันและ
หลังจากนั้นกลับมาได้รับอาหารเป็นปกติเป็นเวลา 30 วัน ผลจากการจำกัดอาหารพบว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน
สูญเสียน้ำหนักตัวและมีขนาดพื้นที่หน้าตัดมดกกล้ามเนื้อสันนอกลดลงมากกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ขนาด
ชั้นไขมันสันหลังของโคทั้งสองกลุ่มลดลงและไม่มีความแตกต่างกัน การจำกัดอาหารทำให้อัตราการสลาย
ไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น
โคทั้งสองกลุ่มมีระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกัน โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีระดับ
การผลิตสารประกอบคีโตนสูงกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มันแต่มีระดับการส่งออกไขมันจากตับต่ำกว่า จากการ
วัดค่าความเข้มข้นของกลูโคสและพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนพบว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีค่าความเข้มข้น
กลูโคสลดลงและพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนเพิ่มขึ้นจากค่าปกติเล็กน้อย ในขณะที่โคสาวลูกผสมบราห์มันมีค่า
ความเข้มข้นกลูโคสไม่เปลี่ยนแปลงไปจากค่าปกติ แต่มีค่าความเข้มข้นของพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนเพิ่มขึ้นสูง
กว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน จากข้อมูลแสดงว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสนใช้สารประกอบคีโตนเป็นแหล่ง
พลังงานและจำกัดการสลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อ ในขณะที่โคสาวลูกผสมบราห์มันควบคุมการผลิต
สารประกอบคีโตนโดยเพิ่มระดับการส่งออกไขมันจากตับและทำการสลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อ เพื่อใช้ใน
กระบวนการสร้างกลูโคส เมื่อโคทดลองกลับมาได้รับอาหารเป็นปกติพบว่าโคมีประสิทธิภาพการใช้อาหารดี
ขึ้น โคทั้งสองกลุ่มมีขนาดชั้นไขมันสันหลังเพิ่มขึ้นและไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่ม แต่โคสาวพันธุ์
กำแพงแสนมีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของขนาดเซลล์ไขมันได้ผิวหนังสูงกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน เมื่อเทียบ
กับช่วงก่อนจำกัดอาหาร โคทั้งสองกลุ่มมีอัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันและมีระดับการส่งออกไขมัน
จากตับสูงไม่แตกต่างไปจากช่วงที่ถูกจำกัดอาหารแต่มีค่าความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในกระแสเลือดต่ำ
กว่าในช่วงที่ถูกจำกัดอาหาร ผลจากการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระและพลาสมายูเรีย-ไน
โตรเจนระหว่างกลุ่มโคทดลองพบว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีค่าต่ำกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน จากข้อมูล
แสดงว่าโคทั้งสองกลุ่มมีอัตราหมุนเวียนไขมันภายในร่างกายสูงขึ้น และโคสาวพันธุ์กำแพงแสนนำกรดไขมัน
อิสระไปใช้เป็นแหล่งพลังงานภายในร่างกายสูงกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มันทำให้สามารถลดกระบวนการ
สลายโปรตีนภายในร่างกาย

พงศ์ชัย 15 ธ.ค. ๒๕๔๙.

ลายมือชื่อนิติกร

Amr Oks

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

17 / 02 / 2549.

Phongchai Klinhom 2006: Effect of Energy Balance on Lipid Utilization in Kamphaengsaen and Crossbred Brahman Heifers under Tropical Conditions. Doctor of Philosophy (Animal Science), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Kanchana Markvichitr, Dr.Med. Vet. 83 pages.
ISBN 974-9845-18-8

Five Kamphaengsaen (KPS) and six Crossbred Brahman (Crossbred Bra) heifers were subjected to a 20 day feed restriction period followed by a 30 day feed realimentation period. At the end of the restricted feeding period, the Crossbred Bra heifers had more severe body weight loss than the KPS heifers. The loin eye area of the Crossbred Bra heifers had decreased more than the KPS heifer's. Both groups of heifer showed no difference in back-fat thickness depletion. Feed restriction elevated the rate of lipolysis in adipose tissue and NEFA concentration in the heifers plasma. KPS heifers produced more ketone bodies but secreted less hepatic triglyceride exported than Crossbred Bra. There were significant differences in PUN and plasma glucose concentrations with the KPS heifers showing less extensive PUN concentration and hypoglycemia whereas the Crossbred Bra heifers had more extensive PUN concentration and euglycemia. Data indicated that underfed KPS heifers utilized ketone bodies as the main energy source and limited body protein degradation, whereas Crossbred Bra adapted to feed deprivation by secreted more hepatic triglyceride exported exhibiting auto-regulation mechanism for ketogenesis and extensively broke down body protein to satisfy the demand for glucose. At the end of realimentation period, the heifers showed better feed conversion rate. Back fat thickness increased in both groups of heifer with no difference between breeds. KPS had a greater percentage of increased fat-cell volume than Crossbred Bra heifers. Adipose tissue lipolytic rates also remained elevated during this period and both groups of heifers exhibited a high rate of lipoprotein export. However, NEFA concentration was lower when compared to the former restriction period. NEFA and PUN concentrations were lower in KPS than Crossbred Bra heifers. Data indicated a high lipid-turn over rate in all heifers with KPS heifers showing greater NEFA's uptake by the peripheral tissue than Crossbred Bra heifers, thus decreasing the proteolysis in the body.

Phongchai Klinhom.

Student's signature

Kanchana Markvichitr

Thesis Advisor's signature

17 / 02 / 2006

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.กัญจนะ มากวิจิตร ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่ได้ช่วยเหลือ ปล่อยให้คำปรึกษาในการดำเนินงานวิจัย ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ประวีร์ วิชุลตา รองศาสตราจารย์ ดร.ศรเทพ ธีมวาสร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก รองศาสตราจารย์ ดร.อาภัสสร ชูเทศะ กรรมการที่ปรึกษาวิชารองและรองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ อภิสิทธิ์วานิช ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำปรึกษาและช่วยเหลือแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ “ศูนย์วิจัยและพัฒนากระบือและโค” สถาบันวิจัยและพัฒนาการผลิตปศุสัตว์สุวรรณวาจกกสิกิจ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และสัตว์ทดลอง รวมทั้งสนับสนุนเงินวิจัยบางส่วนและบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท-เอก เพื่อใช้เป็นค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานทดลองครั้งนี้

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.บุญล้อม ชีวะอิสระกุล ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ช่วยเหลือในการวิเคราะห์ค่าพลังงานในอาหารทดลอง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.ธีระ รักความสุข ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์ทดลอง ดร.เกชา กูหา ภาควิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรีที่ช่วยเหลือในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและผู้ช่วยศาสตราจารย์สมิต ยิ้มมงคล ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ช่วยเหลือในการวัดความหนาแน่นไขมันสันหลังและขนาดพื้นที่หน้าตัดของมดก้ามเนื้อสันนอกโคทดลอง

ขอขอบพระคุณบริษัท บี. พี. อาหารสัตว์ จำกัด และองค์การส่งเสริมโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) ที่ช่วยสนับสนุนอาหารทดลองให้กับการศึกษาครั้งนี้

สุดท้ายขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร และคุณสมทรง จันทาภากุล ประธานกรรมการบริษัท จันทาภา อุตสาหกรรม จำกัด ที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษา รวมทั้งค่าใช้จ่ายในระหว่างที่ทำการศึกษา

พงศ์ชัย กลิ่นหอม

มกราคม 2549

สารบัญ

| | หน้า |
|--|------|
| สารบัญ | (1) |
| สารบัญตาราง | (2) |
| สารบัญภาพ | (4) |
| คำนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ | 2 |
| การตรวจเอกสาร | 3 |
| กลไกการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน | 3 |
| ไลโปโปรตีน (โครงสร้าง คุณสมบัติ และวิธีการวิเคราะห์) | 6 |
| การสร้างสารประกอบคีโตนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง | 10 |
| การสะสมไขมันภายในตับ | 15 |
| อุปกรณ์และวิธีการทดลอง | 18 |
| ผลการทดลองและวิจารณ์ | 27 |
| การศึกษาที่ 1 ลักษณะและตำแหน่งแถบซีรัมไลโปโปรตีนในโค ซึ่งแยกโดยเทคนิคเซลลูโลส-อะซิเตท อีเล็กโทรโฟรีซิส | 27 |
| การศึกษาที่ 2 การเปลี่ยนแปลงซีรัมไลโปโปรตีน ภายใต้สภาวะการจำกัดอาหาร และเมื่อกลับมาได้รับอาหาร | 29 |
| การศึกษาที่ 3 ผลการจำกัดอาหารต่อ การสูญเสียน้ำหนักตัว และลักษณะการปรับตัวทางเมแทบอลิซึมของการใช้ไขมัน | 37 |
| การศึกษาที่ 4 ผลของการกลับมาได้รับอาหารต่อ การเพิ่มน้ำหนักตัว และลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอลิซึมของการใช้ไขมัน | 46 |
| สรุป | 57 |
| ข้อเสนอแนะ | 60 |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง | 62 |
| ภาคผนวก | 72 |

สารบัญญัตินี้

| ตารางที่ | หน้า |
|----------|------|
| 1 | 20 |
| 2 | 32 |
| 3 | 33 |
| 4 | 38 |
| 5 | 39 |
| 6 | 41 |
| 7 | 43 |
| 8 | 47 |
| 9 | 49 |
| 10 | 50 |

สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ | หน้า | |
|--------------|---|----|
| 11 | ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์ของอัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน ในโคสาวพันธุ์กำแพงแสน และโคสาวลูกผสมบราห์มันในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร | 51 |
| 12 | ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์ความเข้มข้นของระดับเมแทบอลิท์ในพลาสมาของโคสาวพันธุ์กำแพงแสนและโคสาวลูกผสมบราห์มันในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร | 53 |
| ตารางผนวกที่ | | |
| 1 | ค่าความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระและค่าการดูดกลืนแสง | 81 |

สารบัญภาพ

| ภาพที่ | | หน้า |
|-------------------|---|------|
| 1 | กลไกการสลายไขมันภายในเนื้อเยื่อไขมัน | 4 |
| 2 | กระบวนการเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นภายในเนื้อเยื่อไขมัน | 5 |
| 3 | โมเลกุลของพลาสมาไลโปโปรตีนชนิด LDL | 7 |
| 4 | การสังเคราะห์ไลโปโปรตีนภายในตับ | 8 |
| 5 | กระบวนการเมแทบอลิซึมของ VLDL | 10 |
| 6 | การผลิตสารประกอบคีโตนภายในเซลล์ตับเคียวเอื้อง | 12 |
| 7 | กระบวนการสังเคราะห์กลูโคสภายในตับที่เกิดขึ้นเมื่อสัตว์เคียวเอื้องขาดแคลนอาหาร | 13 |
| 8 | ปริมาณการกินอาหารและระดับความเข้มข้นของ NEFA ในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ | 16 |
| 9 | ลักษณะการเคลื่อนที่ของซีรัมไลโปโปรตีนชนิด HDL LDL และซีรัมปกติของโคทดลอง บนแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท | 28 |
| 10 | ลักษณะของซีรัมไลโปโปรตีนของโคทดลอง บนแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท ในช่วงระยะเวลาทดลอง | 30 |
| ภาพผนวกที่ | | |
| 1 | ความสัมพันธ์ของค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของสารละลายกรดไขมันโอลิอิกในความเข้มข้นต่าง ๆ | 82 |
| 2 | รูปโคสาวทดลองพันธุ์กำแพงแสน | 83 |
| 3 | รูปโคสาวทดลองลูกผสมบราห์มัน x พื้นเมือง | 83 |

ผลของสมดุลพลังงานต่อกระบวนการใช้ประโยชน์ของไขมันในโคสาวพันธุ์กำแพงแสน
และลูกผสมบราห์มัน ภายใต้สภาวะเขตร้อน

**Effect of Energy Balance on Lipid Utilization in Kamphaengsaen and Crossbred
Brahman Heifers under Tropical Conditions**

คำนำ

ในสภาพเขตร้อนซึ่งมีภูมิอากาศมีความแปรปรวนสูง โดยมีสภาวะความแห้งแล้งในฤดูแล้ง สลับไปกับสภาวะความชุ่มชื้นในฤดูฝน ลักษณะเช่นนี้ทำให้พืชอาหารสัตว์ในเขตร้อนมีความผันแปรตามไปด้วย ในฤดูแล้งมีสภาพของการขาดแคลนพืชอาหารสัตว์ทั้งปริมาณและคุณภาพ ในขณะที่ในฤดูฝนปริมาณพืชอาหารสัตว์มีอย่างอุดมสมบูรณ์ โคในเขตร้อนซึ่งอาศัยพืชอาหารสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญ จึงมีลักษณะการเจริญเติบโตที่ไม่ต่อเนื่อง โดยสูญเสียน้ำหนักตัวในฤดูแล้ง และกลับมาเพิ่มน้ำหนักตัวได้อีกในฤดูฝน ซึ่งรูปแบบของการเจริญเติบโตในลักษณะเช่นนี้เป็นรูปแบบการเจริญเติบโตแบบฟันเลื่อย (saw tooth) (O'Donovan, 1984)

ภายใต้สภาวะของการขาดแคลนอาหาร โคจะนำพลังงานที่ร่างกายสะสมออกมาใช้เป็นแหล่งพลังงานชดเชยกับพลังงานส่วนที่ขาดหายไป พลังงานที่โคสะสมส่วนใหญ่อยู่ในรูปไขมัน ซึ่งในการนำไขมันสะสมออกมาใช้ โคต้องมีการปรับตัวในกระบวนการทางเมแทบอลิซึม (metabolism) เพื่อให้สามารถนำไขมันไปใช้ประโยชน์ได้เต็มที่ ในระยะนี้ร่างกายโคจะมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางชีวเคมีหลายประการ เช่น การเปลี่ยนแปลงระบบฮอร์โมน (Blum *et al.*, 1985) การเพิ่มขึ้นของกระบวนการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน และ กระบวนการนำไขมันไปใช้ประโยชน์ (Lindsay, 1975; Siddle and Hales, 1975) รวมทั้ง มีการเพิ่มขึ้นของระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระ และสารประกอบคีโตนภายในกระแสเลือด (Rule *et al.*, 1985) อย่างไรก็ตาม ปัญหาอย่างหนึ่งที่มักพบอยู่เสมอ เมื่อโคนำไขมันที่สะสมออกมาใช้ในปริมาณมาก คือ ปัญหาความผิดปกติในทางเมแทบอลิซึม ได้แก่ การเกิดคีโตซิส (ketosis) และการสะสมไขมันในตับ (liver lipidoses) ปัญหาเหล่านี้ส่งผลต่อสุขภาพของโคและความสมบูรณ์พันธุ์ (Gröhn *et al.*, 1983; Reid *et al.*, 1979)

โคที่มีถิ่นกำเนิดแตกต่างกันมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ไม่เหมือนกัน โดยแต่ละพันธุ์มีความสามารถเฉพาะในการปรับตัว เพื่อให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมที่โคพันธุ์นั้นถือกำเนิดขึ้น โคที่มีถิ่นกำเนิดในเขตอบอุ่น (*Bos taurus*) ถูกพัฒนา และปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมาในสภาพแวดล้อมที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์ เมื่อถูกนำมาเลี้ยงในเขตร้อนซึ่งมีสภาพอาหารแร้นแค้นกว่า มักประสบกับปัญหาในการปรับตัว (Frisch and Vercoe, 1984) ลักษณะเช่นนี้แตกต่างไปจากโคที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน (*Bos indicus*) ซึ่งต้องเผชิญกับปัญหาความแร้นแค้นของอาหารอยู่เป็นประจำ ทำให้สามารถปรับตัวและดำรงชีวิตอยู่ได้ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากโคกลุ่ม *Bos taurus* มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง ในการปรับปรุงพันธุ์โคในเขตร้อนจึงนิยมนำโคสายพันธุ์ *Bos taurus* เข้ามาผสมข้ามกับโคที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน (*Bos indicus*) โคพันธุ์กำแพงแสนเป็นตัวอย่างหนึ่งที่เกิดขึ้นจากการปรับปรุงพันธุ์โคในลักษณะดังกล่าว โดยการนำโคพันธุ์ชาร์โลเล่ (Charolais) ผสมข้ามกับโคลูกผสมบราห์มัน x พื้นเมือง ซึ่งเป็นโคที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากในสภาพเขตร้อนมีลักษณะความแปรปรวนของคุณภาพและปริมาณพืชอาหารสัตว์สูง กระบวนการปรับตัวทางเมแทบอลิซึม ของโคพันธุ์นี้ต่อสภาพการขาดแคลนอาหาร รวมทั้งภายหลังเมื่อโคกลับมาได้รับอาหาร ยังไม่มีรายงาน

วัตถุประสงค์

การศึกษครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาเปรียบเทียบ ลักษณะการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวรวมทั้ง กระบวนการปรับตัวทางเมแทบอลิซึมของการใช้ไขมันภายในร่างกาย ระหว่างโคพันธุ์กำแพงแสนและโคลูกผสมบราห์มัน (บราห์มัน x พื้นเมือง) ในสภาพที่ถูกจำกัดอาหาร และเมื่อกลับมาได้รับอาหาร โดยมีเป้าหมายหลักในการศึกษาดังต่อไปนี้

1. ศึกษากระบวนการใช้ไขมันที่ร่างกายสะสม รวมทั้ง กระบวนการขนส่งไขมันออกจากตับ ภายใต้สภาวะของการจำกัดอาหารและเมื่อกลับมาได้รับอาหาร
2. ศึกษากระบวนการใช้และสะสมโปรตีนในร่างกาย ภายใต้สภาวะของการจำกัดอาหารและเมื่อกลับมาได้รับอาหาร
3. ศึกษาสภาพสมดุลของสารเมแทบอลิท์ที่สำคัญภายในร่างกาย โดยเฉพาะสารประกอบคีโตนและกลูโคส ภายใต้สภาวะของการจำกัดอาหารและเมื่อกลับมาได้รับอาหาร

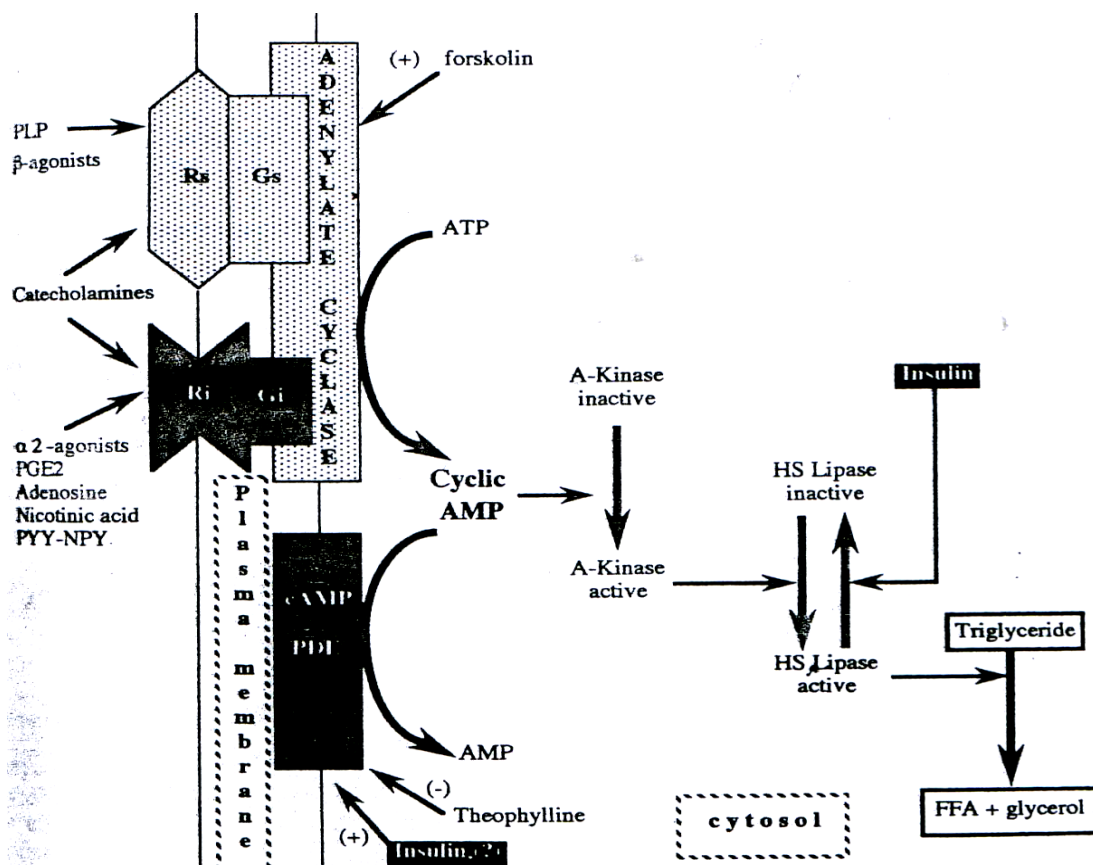
การตรวจเอกสาร

ในภาวะที่โภชนาการขาดแคลนอาหาร ไขมันที่สะสมไว้ในร่างกายจะถูกนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานชดเชยกับพลังงานส่วนที่ขาดหายไป กระบวนการที่ร่างกายนำไขมันสะสมออกมาใช้ เรียกว่า กระบวนการสลายไขมัน (lipolysis) กระบวนการนี้อาศัยกลไกการทำงานร่วมกันของระบบฮอร์โมนภายในร่างกาย และเอนไซม์ภายในเซลล์ไขมัน เมื่อไขมันที่สะสมภายในเซลล์ถูกสลาย (hydrolysis) จะอยู่ในรูปกรดไขมันอิสระ (free fatty acid, FFA) และกลีเซอรอล (glycerol) กรดไขมันอิสระเหล่านี้จะถูกนำเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิต ซึ่งส่วนหนึ่งถูกนำเข้าสู่ peripheral tissue โดยตรง แต่โดยส่วนใหญ่ในสภาวะเช่นนี้ ตับจะเป็นอวัยวะที่สำคัญในการรับกรดไขมันอิสระจากกระแสเลือด (Bell, 1981) กรดไขมันอิสระที่ถูกนำเข้าสู่ตับส่วนหนึ่งจะถูกนำกลับไปสร้างเป็นไขมันไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) และส่งออกจากตับ กลับเข้าไปในกระแสเลือด ในรูปไลโปโปรตีน (lipoprotein) กรดไขมันอิสระส่วนที่เหลือ จะถูกนำเข้าสู่ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) เพื่อใช้ในกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) รวมทั้งสร้างสารประกอบคีโตน อย่างไรก็ตาม ในกรณีที่ตับรับกรดไขมันอิสระเข้ามาเป็นจำนวนมาก จนทำให้กระบวนการส่งออกไขมันในรูปไลโปโปรตีน รวมทั้งการนำไปใช้ในกระบวนการออกซิเดชัน และสร้างสารประกอบคีโตนไม่สามารถจัดการกรดไขมันอิสระได้ทั้งหมด กรดไขมันเหล่านี้จะถูกเปลี่ยนเป็นไขมันไตรกลีเซอไรด์สะสมภายในตับ และเป็นสาเหตุของการเกิดการสะสมไขมันในตับ (liver lipodosis)

กลไกการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน

การสลายไขมันภายในเซลล์ไขมัน (adipocyte) อาศัยกลไกการทำงานของเอนไซม์ HSL (hormone-sensitive lipase) เอนไซม์ชนิดนี้สามารถสลายไขมันที่เป็นไตรกลีเซอไรด์และ cholesteryl-ester (Holm *et al.*, 2000) ซึ่งภายใต้สภาวะการขาดแคลนอาหาร กระบวนการสลายไขมันภายในเนื้อเยื่อไขมันจะถูกกระตุ้นให้สูงขึ้นโดยกลุ่มฮอร์โมน catecholamine (epinephrine และ nor-epinephrine) ซึ่งเป็นกลุ่มฮอร์โมนที่ควบคุมโดยระบบประสาท sympathetic ขั้นตอนการสลายไขมันภายในเนื้อเยื่อไขมัน เริ่มต้นจากฮอร์โมน catecholamine หลังออกมาจากปลายประสาท กระตุ้นเซลล์ไขมัน โดยผ่านตัวรับ β -adrenergic receptor บริเวณผิวเซลล์ ส่งผลให้เอนไซม์ adenylate cyclase เปลี่ยน ATP ให้กลายเป็น cyclic-AMP ทำให้ระดับ cyclic-AMP ภายในเซลล์สูงขึ้น (ภาพที่ 1) เมื่อระดับ cyclic-AMP สูงขึ้น จะทำให้ protein A-kinase เปลี่ยนรูปจาก inactive ไปเป็น active แล้วทำการเติมหมู่ phosphate ให้กับเอนไซม์ HSL โดยกระบวนการ phosphorylation

ส่งผลให้เอนไซม์ HSL เคลื่อนตัวจาก cytoplasm มายังผิวของหยดไขมัน (lipid droplet) ภายในเซลล์ และสลายไขมันออกมาในรูปกรดไขมันอิสระ และกลีเซอรอล (Holm *et al.*, 2000)

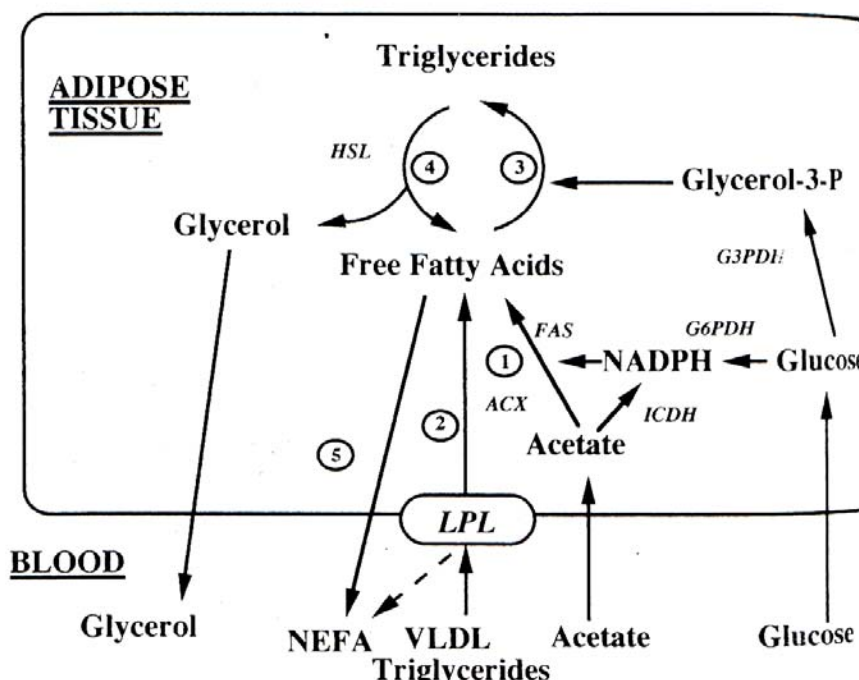


ภาพที่ 1 แสดงกลไกการสลายไขมันในเนื้อเยื่อไขมัน

คำย่อ: A-Kinase = Cyclic AMP-dependent protein kinase; G_i , G_s = guanosine-5'-triphosphate-binding protein coupled with inhibiting (i) or stimulating (s) receptors (R_i , R_s); HSL = hormone-sensitive lipase; PDE = phosphodiesterase; PGE₂ = prostaglandin-E₂; PLP = pituitary lipolytic peptides; and PYY-NPY = peptide YY and neuropeptide Y

ที่มา: Chilliard (1993)

กรดไขมันอิสระที่สลายจากไขมันไตรกลีเซอไรด์ ส่วนหนึ่งจะถูก re-esterification กลับไปเป็นไขมันไตรกลีเซอไรด์ได้อีกครั้ง ซึ่งในกรณีนี้จะเกิดขึ้นได้ เมื่อระดับ glycerol-3-phosphate ภายในเซลล์มีเพียงพอ (ภาพที่ 2) อย่างไรก็ตาม ในสภาวะที่สัตว์ขาดแคลนอาหาร กรดไขมันอิสระส่วนใหญ่จะถูกปลดปล่อยออกจากเซลล์ไขมันเข้าสู่กระแสเลือด โดยเกาะตัวไปกับอัลบูมิน (albumin) (Pethick and Dunshea, 1993) และมีชื่อเรียกเฉพาะสำหรับกรดไขมันอิสระนี้ว่า NEFA (non-esterified fatty acid)



ภาพที่ 2 แสดงกระบวนการเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นภายในเนื้อเยื่อไขมัน

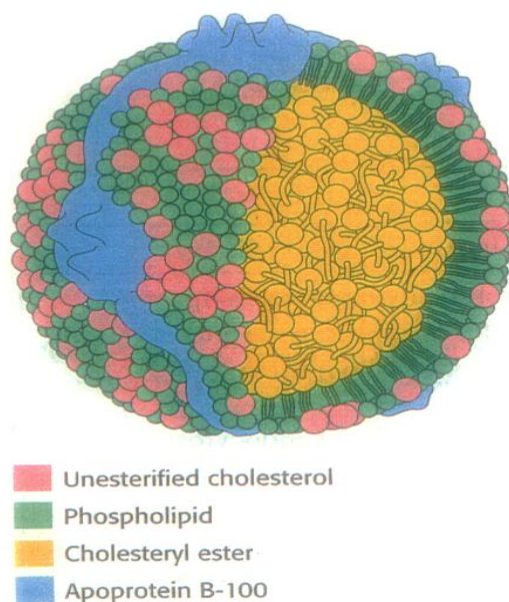
คำย่อ: 1 = De novo fatty acid (FA) synthesis; 2 = hydrolysis and uptake of circulating triglycerides; 3 = (re) esterification of FA; 4 = lipolysis; and 5 = lipomobilization; VLDL= Very low density lipoprotein; ACX = acetyl-coenzyme A carboxylase; G6PDH= glucose-6-phosphate dehydrogenase; HSL= hormone-sensitive lipase; ICDH = NADP isocitrate dehydrogenase; LPL= lipoprotein lipase; G3PDH = glycerol-3-phosphate dehydrogenase

ที่มา: Chilliard (1993)

ภายใต้สภาวะที่สัตว์ขาดแคลนอาหาร อัตราการสลายไขมันภายในเนื้อเยื่อไขมันจะสูงขึ้น และส่งผลให้ระดับความเข้มข้นของ NEFA ภายในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (Dunshea *et al.*, 1988) NEFA ส่วนหนึ่งจะถูกนำเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อ แต่จากรายงานของ Pethick and Dunshea (1993) แสดงให้เห็นว่า ภายใต้สภาวะที่สัตว์ขาดแคลนอาหาร กล้ามเนื้อมีข้อจำกัดในการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่เซลล์ ทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระถูกนำเข้าสู่กล้ามเนื้อได้ไม่มากนัก อย่างไรก็ตาม Bell (1981) รายงานว่า ดับเป็นอวัยวะที่ไม่มีข้อจำกัดในการนำเข้ากรดไขมันอิสระ ทำให้ภายใต้สภาวะการขาดแคลนอาหาร กรดไขมันอิสระส่วนใหญ่ถูกนำเข้าสู่ตับ ซึ่งตับจะเปลี่ยนกรดไขมันอิสระเหล่านี้ ให้กลายเป็นสารประกอบไขมันชนิดต่าง ๆ เช่น ไลโปโปรตีน และ สารประกอบคีโตน เพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในร่างกาย ในลำดับต่อไป

ไลโปโปรตีน (โครงสร้าง คุณสมบัติ และวิธีการวิเคราะห์)

ไลโปโปรตีนมีหน้าที่ในการขนส่งไขมันจากตับไปยังอวัยวะต่างๆภายในร่างกาย ทั้งนี้เนื่องจากปัญหาสำคัญในการส่งไขมันออกจากตับ คือ การที่ไขมันละลายในน้ำได้น้อยมาก การขนส่งไขมันออกจากตับจึงต้องอาศัยโปรตีนเป็นตัวช่วย ไขมันซึ่งเกาะกับโปรตีนและทำหน้าที่ในการขนส่งไขมันมีชื่อว่า ไลโปโปรตีน (lipoprotein) ไลโปโปรตีนจัดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex compound) ประกอบด้วย ส่วนที่เป็นไขมันที่ไม่ชอบน้ำ (non-polar lipid) ได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์ และ cholesteryl-esters อยู่เป็นแกนกลาง (core) ของ micelles ส่วนชั้นนอกที่หุ้มอยู่เป็นส่วนไขมันที่ชอบน้ำ (polar lipid) ได้แก่ ฟอสโฟลิปิด (phospholipid) และโคเลสเตอรอลอิสระ ที่ผิวชั้นนอกของไลโปโปรตีนจะมี apoprotein เกาะอยู่ด้วยพันธะ non-covalent ไลโปโปรตีนมีลักษณะกลมมีขนาดตั้งแต่ 7-500 nm. (ภาพที่ 3) เนื่องจากไลโปโปรตีนมีปริมาณไขมัน และ ชนิดของโปรตีนที่เกาะอยู่ แตกต่างกันไป จึงอาศัยคุณสมบัติเหล่านี้จำแนกชนิดของไลโปโปรตีนได้



ภาพที่ 3 แสดงโมเลกุลของพลาสมาไลโปโปรตีนชนิด LDL

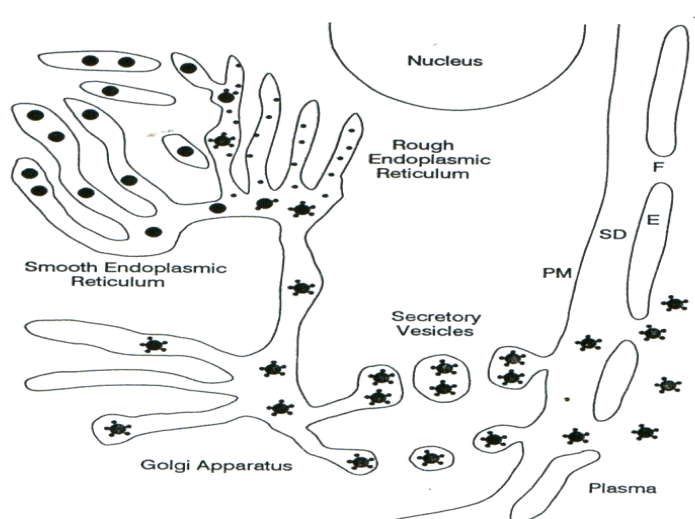
ที่มา: Berg *et al.* (2002)

การจำแนกชนิดของไลโปโปรตีน สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วสูง (ultracentrifuge technique) วิธีนี้อาศัยความแตกต่างในความหนาแน่นของไลโปโปรตีนเป็นตัวจำแนก ซึ่งสามารถแยกไลโปโปรตีนได้ 4 ชนิด (Bruss, 1997) คือ chylomicron (ความหนาแน่นต่ำกว่า 0.94 g/ml) VLDL (very low density lipoprotein) (ความหนาแน่นอยู่ระหว่าง 0.94-1.006 g/ml) LDL (low density lipoprotein) (ความหนาแน่นอยู่ระหว่าง 1.006-1.063 g/ml) และ HDL (high density lipoprotein) (ความหนาแน่นอยู่ระหว่าง 1.063-1.21 g/ml) อีกวิธีหนึ่งคือ วิธี อิเล็กโทรโฟเรซิส (electrophoresis) เทคนิคนี้อาศัยความแตกต่างของประจุที่เกิดขึ้นบนโปรตีน เมื่ออยู่บนสนามไฟฟ้าเป็นตัวจำแนก เนื่องจากไลโปโปรตีนแต่ละชนิดมี apoprotein ที่เกาะอยู่แตกต่างกัน ทำให้ไลโปโปรตีนแต่ละชนิดมีลักษณะการเคลื่อนที่บน supporting media ต่างกัน Kris-Etherton and Etherton (1982) รายงานลักษณะการเคลื่อนที่ของไลโปโปรตีนบนแผ่น agarose ว่า ไลโปโปรตีนมีลักษณะการเคลื่อนที่ 4 แบบ คือ 1. chylomicron ไม่เคลื่อนที่ไปจากจุด origin 2. LDL มีลักษณะของการเคลื่อนที่แบบเบต้า (β) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่อยู่ห่างจากจุด origin ในลำดับแรก 3. VLDL มีลักษณะของการเคลื่อนที่แบบพรีเบต้า (pre- β) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ถัดออกมาจากตำแหน่ง เบต้า 4. HDL มีลักษณะของการเคลื่อนที่แบบอัลฟา (α) ซึ่งเป็นตำแหน่งห่างจากจุด origin มากที่สุด นอกจากนี้ยังมีเทคนิคการแยกซีรัมไลโปโปรตีนโดยวิธีอื่น ๆ อีก เช่น

วิธีการตกตะกอนด้วย sulfated polysaccharides ซึ่งแยกไลโปโปรตีนออกเป็น HDL และ LDL fractions (Brumby and Welch, 1970; Glascock *et al.*, 1966) และวิธีการแยกโดย Column gel-chromatography (Ferreri and Gleockler, 1979)

การสังเคราะห์สารประกอบไลโปโปรตีน

ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง การสังเคราะห์ไลโปโปรตีนส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่ตับ (Grummer, 1993) โดยกรดไขมันอิสระถูกนำไปสร้างเป็นไตรกลีเซอไรด์ ในส่วน smooth endoplasmic reticulum ของเซลล์ ซึ่ง organelle ส่วนนี้ เป็นแหล่งในการสร้างฟอสโฟลิปิด และโคเลสเตอรอลด้วยเช่นกัน สำหรับ apoprotein ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของไลโปโปรตีน มีการสังเคราะห์ขึ้นใน rough endoplasmic reticulum โมเลกุลของไขมันและโปรตีนที่สังเคราะห์ขึ้นจะมารวมตัวกันที่รอยต่อระหว่าง smooth และ rough endoplasmic reticulum (ภาพที่ 4) จากนั้นจึงเคลื่อนตัวมายัง golgi apparatus ซึ่งที่นี้ apoprotein จะเกิดกระบวนการ glycosylate และถูกนำออกจาก golgi apparatus ในรูป secretory vesicles มายังผิวเซลล์ตับ บริเวณ hepatic sinusoids และเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตต่อไป



ภาพที่ 4 แสดงการสังเคราะห์ไลโปโปรตีนภายในตับ

คำย่อ: PM = plasm membrane; SD = space of diss'e; E = endothelial cells;

F = fenestrae

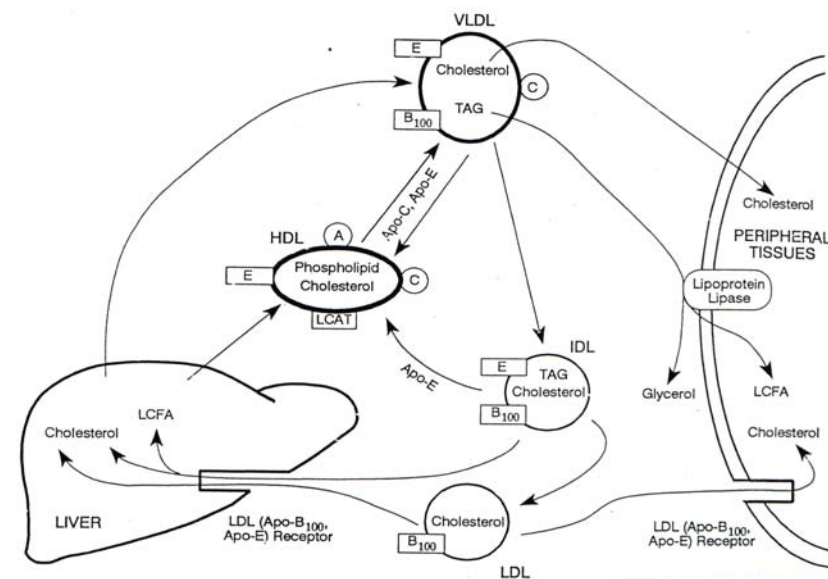
ที่มา: Bruss (1997)

เมแทบอลิซึมของไลโปโปรตีน

ไลโปโปรตีนซึ่งสร้างขึ้นจากตับ และมีบทบาทในกระบวนการขนส่งไขมันภายในร่างกาย คือ VLDL และ HDL ไลโปโปรตีนทั้งสองชนิดนี้มี apoprotein ที่เกาะอยู่แตกต่างกัน apoprotein ที่เกาะอยู่บน VLDL เป็นชนิด apoprotein B₁₀₀ และ apoprotein E ในขณะที่ HDL เป็น apoprotein C และ apoprotein A โมเลกุลของ VLDL และ HDL เมื่อส่งออกจากตับเข้าสู่กระแสเลือด จะถูกพาไปยังอวัยวะเป้าหมาย (target organ) ซึ่งไขมันไตรกลีเซอไรด์ใน VLDL จะถูกเอนไซม์ LPL (lipoprotein lipase) ซึ่งฝังตัวอยู่บริเวณนั้น สลายเป็นกรดไขมันอิสระ และกลีเซอรอล กรดไขมันอิสระที่สลายออกมาจะถูกนำเข้าสู่เซลล์ของอวัยวะเป้าหมาย เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป

ในขั้นตอนการสลายไขมันไตรกลีเซอไรด์จาก VLDL เอนไซม์ LPL จำเป็นต้องได้รับการกระตุ้นจาก apoprotein C ที่อยู่บน particle ของ HDL ก่อน โดยโมเลกุลของ apoprotein C จะเคลื่อนตัวจาก particle ของ HDL ไปอยู่บน particle ของ VLDL แล้วกระตุ้นให้เอนไซม์ LPL ทำงาน เมื่อกระบวนการสลายไขมันสิ้นสุดลง apoprotein C จะเคลื่อนตัวกลับมายัง particle ของ HDL อีกครั้ง โดยจะนำฟอสโฟลิปิดและโคเลสเตอรอลอิสระจาก VLDL ย้ายมาพร้อมกันด้วย ลักษณะเช่นนี้ทำให้โครงสร้างของ VLDL เปลี่ยนแปลง กลายเป็น IDL และ LDL ตามลำดับ (ภาพที่ 5) โมเลกุล LDL จะถูกนำเข้าสู่ตับ และบางส่วนจะนำเข้าสู่ peripheral tissue เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ต่อไป ในขั้นตอนการนำโมเลกุล LDL เข้าสู่เซลล์ ต้องอาศัย LDL receptor (apoB₁₀₀, apo E receptor) บริเวณผิวเซลล์ เป็นช่องทางในการนำเข้า (Bruss, 1997)

เนื่องจาก apoprotein C มีบทบาทสำคัญ ในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ LPL ให้สลายไขมันในโมเลกุล VLDL ทำให้ HDL เปรียบเสมือนแหล่งสำรองของ apoprotein C (apoprotein C reservoir) ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของ VLDL Puppione (1978) ได้ชี้ให้เห็นว่า HDL มีบทบาทสำคัญต่อการใช้ประโยชน์ของไขมัน โดยเฉพาะกระบวนการแคแทบอลิซึม (catabolism) ของ VLDL ทำให้ระดับความเข้มข้นของ HDL ในกระแสเลือด สามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดประสิทธิภาพในการนำไขมันไปใช้ประโยชน์ภายในร่างกายของสัตว์เคี้ยวเอื้องได้



ภาพที่ 5 แสดงกระบวนการเมแทบอลิซึมของ VLDL

ที่มา: Bruss (1997)

การสร้างสารประกอบคีโตนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

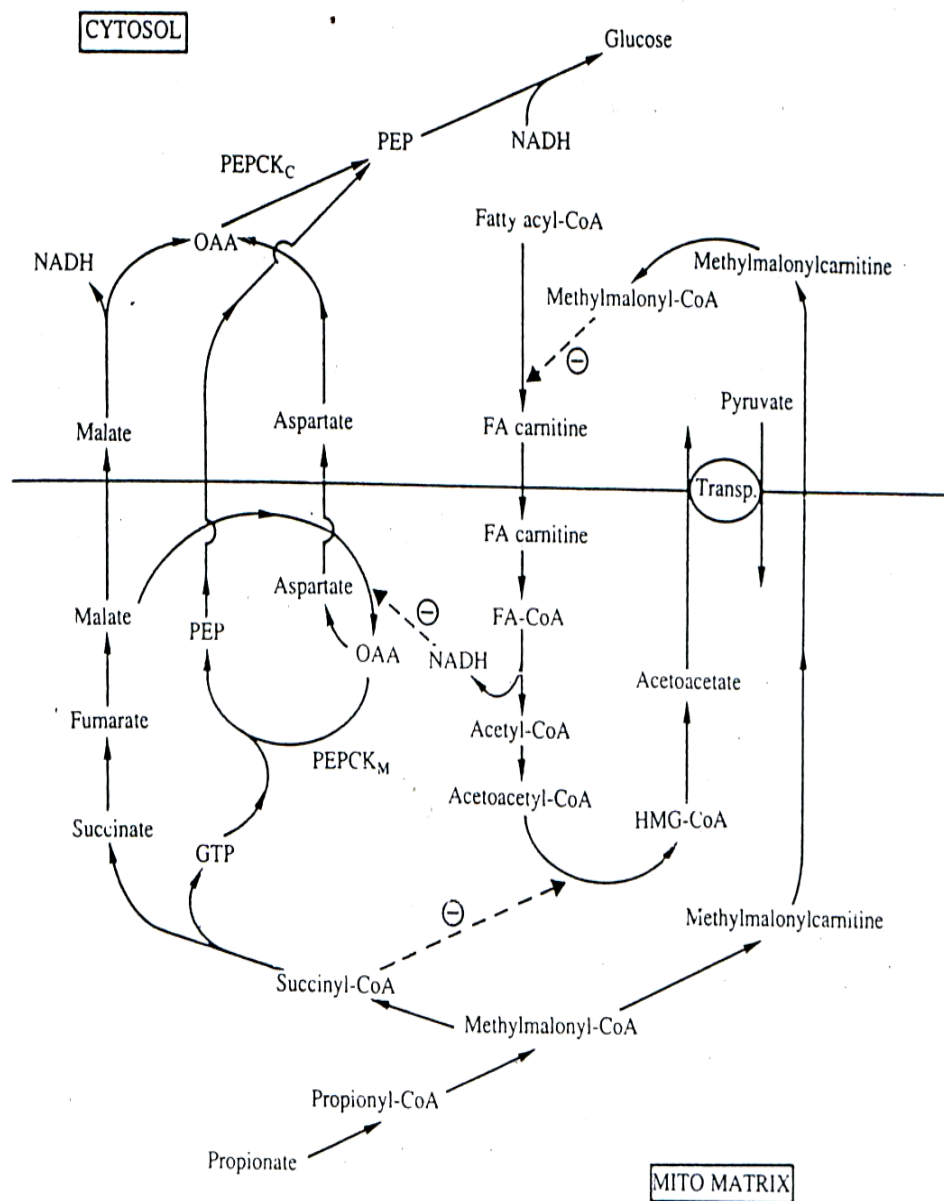
โคที่รับอาหารเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย จะมีระดับความเข้มข้นของสารประกอบคีโตนในกระแสเลือดต่ำ สารประกอบคีโตนในสภาวะเช่นนี้ เกิดจากกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน (alimentary ketogenesis) โดยกรด butyric ที่เกิดจากกระบวนการหมัก เมื่อผ่านผนังกระเพาะรูเมน บางส่วนจะถูกเปลี่ยนให้เป็น BHBA (β -hydroxybutyrate) โดยการกระตุ้นจากสภาพ redox potential ที่เกิดขึ้นภายในไซโตซอล (cytosol) ของเซลล์อีพิทีเลียล (epithelial cell) ในกระเพาะรูเมน (Lindsay, 1993)

ในสภาวะที่โภชนาการขาดแคลนอาหาร สารตั้งต้นในการผลิตสารประกอบคีโตน คือ กรดไขมันอิสระที่สลายมาจากเนื้อเยื่อไขมัน กรดไขมันอิสระเหล่านี้เมื่อถูกนำมาขังดับ บางส่วนจะถูกนำเข้าสู่ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) เพื่อผลิตเป็นสารประกอบคีโตน

ขั้นตอนในการสร้างสารประกอบคีโตนเริ่มต้นด้วย การนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ไมโทคอนเดรีย โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ CPT I (carnitine palmitoyl transferase I) Snoswell and

Henderson (1970) รายงานว่า เกาะที่อยู่ในสภาพขาดแคลนอาหาร เซลล์ตับมีระดับ L-carnitine ซึ่ง เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์เอนไซม์ CPT I สูงขึ้น การที่ระดับเอนไซม์ CPT I เพิ่มขึ้น ทำให้กรดไขมันอิสระถูกนำเข้าสู่ไมโทคอนเดรียเพิ่มขึ้น ซึ่งในขั้นตอนการนำกรดไขมันอิสระเข้าไมโทคอนเดรีย กรดไขมันอิสระจะต้องถูกเปลี่ยนให้เป็น FFA-CoA (free fatty acyl-CoA) ก่อน โดยอาศัยเอนไซม์ FFA-CoA synthetase ที่อยู่บริเวณผนังชั้นนอกของไมโทคอนเดรีย (Bruss, 1997) FFA-CoA เมื่อเข้าสู่ matrix ของไมโทคอนเดรีย จะถูกนำเข้าสู่กระบวนการ β -oxidation ซึ่งในกระบวนการนี้คาร์บอนในโมเลกุลของ FFA-CoA จะถูกตัดออกทีละสองได้โมเลกุลของ acetyl-CoA ในขั้นตอนนี้จะเกิดสาร reducing factor ที่สำคัญ คือ NADH ทำให้เมื่อ FFA-CoA เข้าสู่ไมโทคอนเดรียเป็นจำนวนมาก ระดับ NADH ภายใน matrix จะสูงขึ้นตามไปด้วยส่งผลให้สภาพ redox potential ภายใน matrix ของไมโทคอนเดรียสูง และยับยั้งกระบวนการนำ acetyl-CoA เข้าสู่วัฏจักรเครป (Kerb's cycle) (Zammit, 1990) ซึ่งในขั้นตอนของการยับยั้งนี้ เกิดขึ้นจากระดับ NADH ที่สูงจะกระตุ้นให้ oxaloacetate (OAA) เปลี่ยนกลับไปเป็น malate แทนที่จะเข้าร่วมตัวกับ acetyl-CoA (ภาพที่ 6) ทำให้ acetyl-CoA สะสมภายใน matrix ของไมโทคอนเดรียเป็นจำนวนมาก ซึ่งต่อมา acetyl-CoA จะถูกเอนไซม์ 3 ชนิด คือ acetoacetyl-CoA thiolase, hydroxymethyl-glutaryl-CoA (HMG-CoA) synthase และ HMG-CoA lyase เปลี่ยนให้เป็น acetoacetate และเมื่อ acetoacetate ถูกนำออกนอกไมโทคอนเดรีย บางส่วนจะถูกเปลี่ยนไปเป็น BHBA โดยเอนไซม์ D-3-hydroxybutyrate dehydrogenase ซึ่งอยู่ในไซโตซอลของเซลล์ตับ

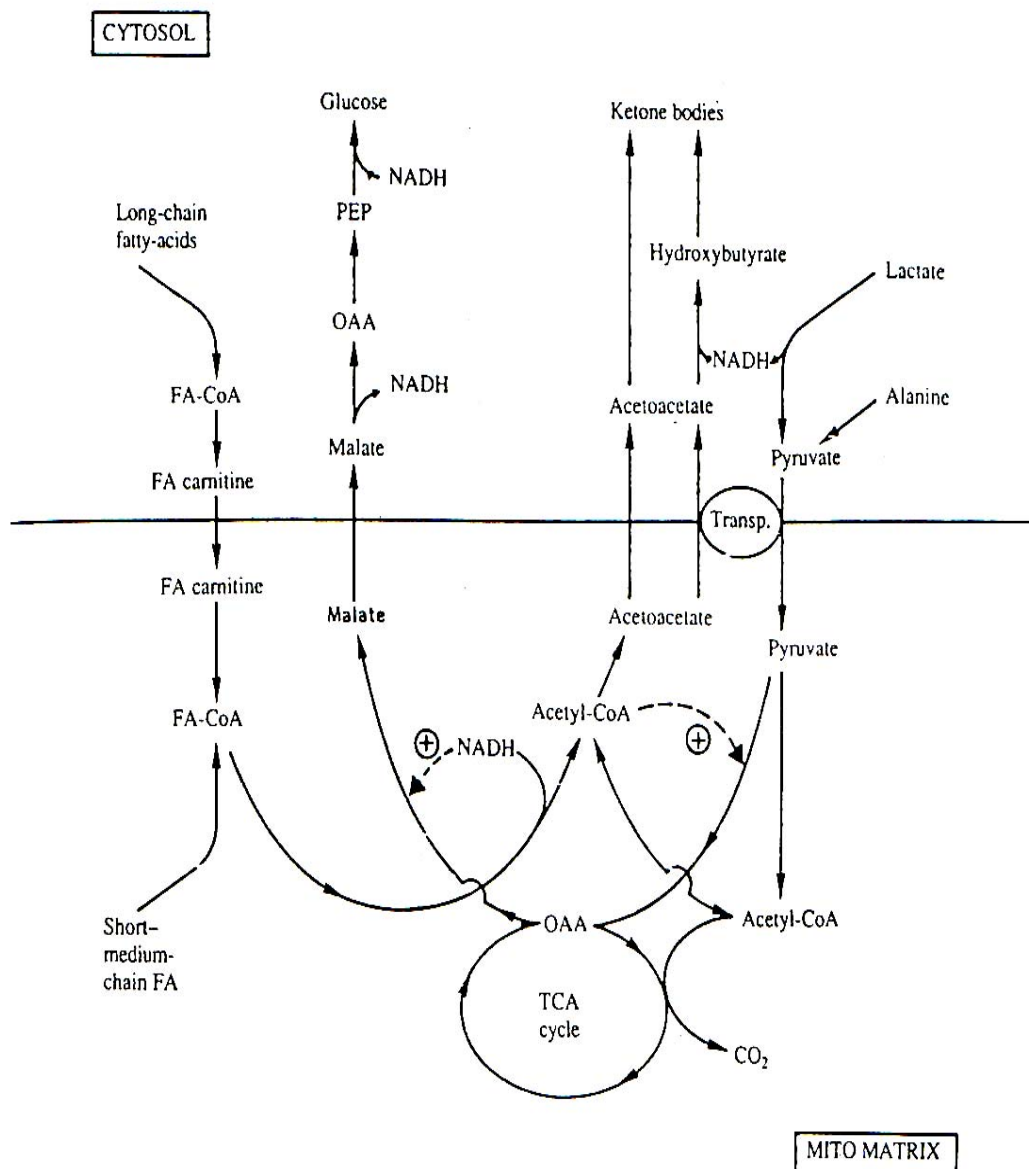
สภาพ matrix ของไมโทคอนเดรียที่มี redox potential สูง เป็นปัจจัยสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์กลูโคส (gluconeogenesis) โดยเฉพาะในสภาวะที่สัตว์ขาดแคลนอาหาร เนื่องจากในสภาพการขาดแคลนอาหาร สารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์กลูโคสมาจากแลคเตท (lactate) และกรดอะมิโนอะลานีน (alanine) ซึ่งสารเมแทบอลิท์ทั้งสองชนิดนี้จะถูกเปลี่ยนให้เป็นไพรูเวท (pyruvate) ที่ไซโตซอลก่อนที่จะนำเข้าสู่ไมโทคอนเดรีย เมื่อไพรูเวทเข้าสู่ไมโทคอนเดรีย จะถูกเปลี่ยนให้เป็น oxaloacetate ในสภาวะที่ระดับ redox potential ภายใน matrix ของไมโทคอนเดรียสูง จะทำให้ oxaloacetate ถูกเปลี่ยนเป็น malate และนำออกจากไมโทคอนเดรียเข้าสู่ไซโตซอลของเซลล์ เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์กลูโคสต่อไป (ภาพที่ 7) ลักษณะเช่นนี้จึงทำให้สัตว์เคี้ยวเอื้อง สามารถสังเคราะห์กลูโคส พร้อมทั้งสร้างสารประกอบคีโตนได้ในเวลาเดียวกัน (Zammit, 1990)



ภาพที่ 6 แสดงการผลิตสารประกอบคีโตนภายในเซลล์ตับของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

คำย่อ: OAA = oxaloacetic acid; PEP = phosphoenolpyruvate; PEPCK_m and PEPCK_c = mitochondrial and cytosolic forms of phosphoenolpyruvate carboxykinase; Transp = monocarboxylate carrier of the mitochondrial inner membrane; Mito = mitochondrial; FA = fatty acyl; GTP = guanosine triphosphate; and HMG-CoA = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA

ที่มา: Zammit (1990)



ภาพที่ 7 แสดงกระบวนการสังเคราะห์กลูโคสภายในตับที่เกิดขึ้น เมื่อสัตว์เคี้ยวเอื้องขาดแคลนอาหาร

คำย่อ: OAA = oxaloacetic acid; PEP = phosphoenolpyruvate; PEPCK_m and PEPCK_c = mitochondrial and cytosolic forms of phosphoenolpyruvate carboxykinase; Transp = monocarboxylate carrier of the mitochondrial inner membrane; Mito = mitochondrial; FA = fatty acyl; GTP = guanosine triphosphate; and HMG-CoA = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA

ที่มา: Zammit (1990)

กลไกในการควบคุมการผลิตสารประกอบคีโตน

กลไกการควบคุมการผลิตสารประกอบคีโตนมีอยู่ด้วยกัน 2 ระบบ คือ insulin-dependent mechanism และ insulin-independent mechanism (Heitmann *et al.*, 1987) ในกลไกการควบคุมแบบ insulin-dependent mechanism นั้น Bjontorp *et al.* (1966) รายงานว่า สารประกอบคีโตนที่ความเข้มข้นสูงจะกระตุ้นให้ตับอ่อนสร้างฮอร์โมน insulin ซึ่งฮอร์โมนนี้จะยับยั้งกระบวนการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน ทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระเข้าสู่ตับลดลง และส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์สารประกอบคีโตนภายในตับลดลง สำหรับกลไกแบบ insulin-independent mechanism Heitmann *et al.* (1987) รายงานว่า กลไกนี้ควบคุมระดับการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ไมโทคอนเดรีย โดยอาศัยการลดกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ CPT I ทำให้กรดไขมันอิสระเข้าสู่ไมโทคอนเดรีย ลดลง และลดกระบวนการสังเคราะห์สารประกอบคีโตน นอกจากนี้ Zammit (1990) ได้รายงานว่าการเพิ่มขึ้นของระดับการส่งออกไขมันจากตับ ในรูปไลโปโปรตีน จะทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระเข้าสู่ไมโทคอนเดรียลดลง และทำให้การผลิตสารประกอบคีโตนภายในตับลดลงด้วยเช่นกัน

Heitmann *et al.* (1987) สันนิษฐานว่า กลไกที่สัตว์เคี้ยวเอื้องใช้ในกระบวนการควบคุมการผลิตสารประกอบคีโตนเป็นแบบ insulin-independent mechanism โดยให้เหตุผลว่า กลูโคสในกระแสเลือดของสัตว์เคี้ยวเอื้องมีระดับความเข้มข้นค่อนข้างต่ำ (55-60 mg/dl) ทำให้สัตว์เคี้ยวเอื้องโดยเฉพาะโคนม จำเป็นต้องรักษาระดับกลูโคสภายในกระแสเลือดนี้ไว้ให้ได้ การใช้กลไกควบคุมการผลิตสารประกอบคีโตน โดยวิธี insulin-dependent mechanism จะทำให้ระดับกลูโคสในกระแสเลือดของสัตว์เคี้ยวเอื้องลดลงต่ำ และอาจส่งผลเสียต่อระบบการทำงานของร่างกาย เพื่อป้องกันปัญหานี้สัตว์เคี้ยวเอื้องจึงควรใช้กระบวนการควบคุมการผลิตสารประกอบคีโตน แบบ insulin-independent mechanism

กระบวนการใช้สารประกอบคีโตนเป็นแหล่งพลังงานของร่างกาย

สารประกอบคีโตนที่ร่างกายใช้เป็นแหล่งพลังงาน คือ acetoacetate และ BHBA ในการใช้ BHBA เป็นแหล่งพลังงาน BHBA ต้องเปลี่ยนมาเป็น acetoacetate ก่อน จึงจะสามารถใช้ประโยชน์ได้ ในขั้นตอนการใช้ acetoacetate เป็นแหล่งพลังงานของกล้ามเนื้อ acetoacetate จะถูกเปลี่ยนไปเป็น acetoacetyl-CoA โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ 3-ketoacid-CoA-transferase ซึ่งพบมากใน

กล้ามเนื้อและอวัยวะภายใน เช่น ปอด ม้าม และไต แต่พบได้น้อย ในหัวใจและสมอง สำหรับในตับ ไม่พบเอนไซม์ชนิดนี้ แสดงว่าตับไม่ใช่ acetoacetate เป็นแหล่งพลังงาน (Williamson *et al.*, 1971) acetoacetyl-CoA ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการใช้ประโยชน์ของ acetoacetate จะถูกเอนไซม์ acetoacetyl-CoA thiolase เปลี่ยนไปเป็น acetyl-CoA และ acetone ซึ่ง acetyl-CoA ที่ได้ จะถูกนำเข้าสู่วัฏจักรเครป เพื่อใช้เป็นพลังงานต่อไป

ความเป็นพิษของสารประกอบคีโตน

acetoacetate และ BHBA มีความเป็นกรดสูง โดยมีค่า pKa 3.58 และ 4.41 ตามลำดับ ทำให้สารประกอบคีโตน เมื่ออยู่ในกระแสเลือด ซึ่งมีค่า pH อยู่ระหว่าง 7.2-7.4 แยกตัวออกมาในรูปไอออน (ionization) ทั้งหมด ในกรณีที่สารประกอบคีโตนในกระแสเลือดมีระดับสูง จะส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางเมแทบอลิซึม โดยทำให้เกิดภาวะความเป็นกรดภายในร่างกายสูง ซึ่งรู้จักกันในชื่อว่า 'keto-acidosis' การที่ระดับคีโตนภายในร่างกายสูงทำให้สมดุลกรด-ด่างภายในร่างกายเปลี่ยนแปลงไป และส่งผลให้ระดับ HCO_3^- (bicarbonate) ภายในร่างกายลดน้อยลง จนอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ โดยเฉพาะถ้าระดับความเข้มข้นของ HCO_3^- ในพลาสมาลดลงต่ำกว่า 10 mmol/l (Bruss, 1997) จากปัญหาความกรดในกระแสเลือดที่เพิ่มขึ้น Balasse *et al.* (1985) รายงานว่าสุนัขที่ถูกกระตุ้นให้เกิดอาการของโรคเบาหวาน และมีระดับของสารประกอบคีโตนภายในร่างกายสูง ส่งผลให้โปรตีนในกล้ามเนื้อ เกิดการสลายตัวออกมาเป็นแอมโมเนียมไอออน เพื่อใช้ในกระบวนการรักษาสมดุลกรด-ด่างภายในร่างกาย ลักษณะเช่นนี้จะทำให้เกิดโปรตีนในกล้ามเนื้อสูญเสียไปเป็นจำนวนมาก สัตว์ที่มีปัญหาจากความเป็นพิษของสารประกอบคีโตนจึงสูญเสียน้ำหนักตัวอย่างรวดเร็ว

การสะสมไขมันในตับ

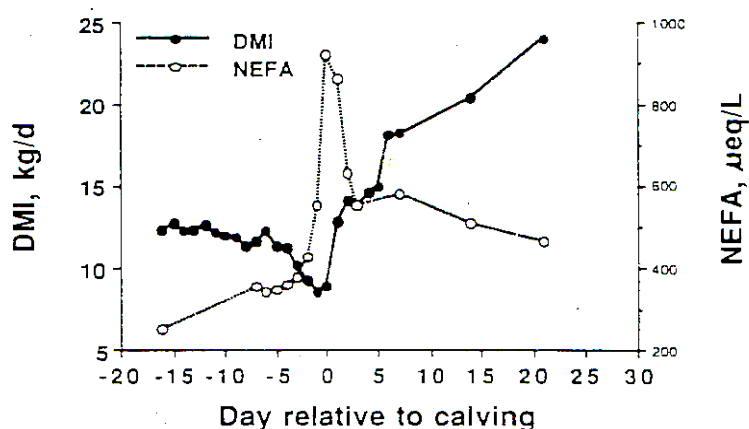
การสะสมไขมันในตับของสัตว์เคี้ยวเอื้องเกิดขึ้น เมื่อตับรับกรดไขมันอิสระเข้ามาเป็นปริมาณมาก กรดไขมันอิสระเหล่านี้จะถูก re-esterified ไปเป็นไขมันไตรกลีเซอไรด์ และส่งออกจากตับในรูป VLDL กรดไขมันอิสระที่เหลือจะถูกนำไปในไมโทคอนเดรียของเซลล์ เพื่อใช้ในกระบวนการออกซิเดชัน และสร้างสารประกอบคีโตน อย่างไรก็ตามในกรณีที่กรดไขมันอิสระเข้าสู่ตับในปริมาณมาก จนทำให้อัตราการ re-esterification กรดไขมันอิสระสูงกว่ากระบวนการส่งออกไขมันในรูป VLDL รวมทั้งการนำไปใช้ในกระบวนการออกซิเดชัน และสร้างสารประกอบคีโตน

จะทำให้ไขมันไตรกลีเซอไรด์เหลือตกค้างภายในตับ ทำให้ตับมีระดับไขมันสะสมสูงขึ้น ปกติตับของสัตว์เคี้ยวเอื้องไม่มีหน้าที่ในการกักเก็บไขมัน (Vernon, 1988) การที่ตับมีระดับไขมันสะสมสูงจะทำให้สูญเสียประสิทธิภาพในการทำงาน และก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพของสัตว์ โดยเฉพาะความสามารถในการสืบพันธุ์ (Littledike *et al.*, 1981; Curtis *et al.*, 1985, Grumer and Carroll, 1991)

ปัจจัยที่ทำให้เกิดการสะสมไขมันในตับของสัตว์เคี้ยวเอื้องมี 2 กรณี

1. ปริมาณกรดไขมันอิสระที่สลายออกจากเนื้อเยื่อไขมัน Herdt *et al.* (1988) รายงานว่า อัตราการสลายไขมันในเนื้อเยื่อไขมันที่สูง จะทำให้ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในกระแสเลือด (NEFA) เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้กรดไขมันอิสระถูกนำเข้าสู่ตับในปริมาณมาก และเกิดการสะสมไขมันภายในตับ

สาเหตุสำคัญที่ทำให้อัตราการสลายไขมันภายในเนื้อเยื่อไขมันเพิ่มสูงขึ้น คือ ปริมาณการกินอาหาร Bertics *et al.* (1992) รายงานว่า โคนมที่อยู่ในระยะใกล้คลอดมีระดับการกินอาหารลดลง ส่งผลให้ระดับความเข้มข้นของ NEFA ภายในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 8) เช่นเดียวกับ ผลการศึกษาของ Grummer *et al.* (1990) พบว่า โคที่ถูกจำกัดอาหาร มีระดับไขมันภายในตับสูงขึ้นภายในเวลา 96 ชั่วโมง



ภาพที่ 8 แสดงปริมาณการกินอาหารและระดับความเข้มข้นของ NEFA ในโคนมพันธุ์โฮลส์ไตน์

คำย่อ: DMI = dry matter intake; NEFA = non-esterified free fatty acid

ที่มา: Grummer (1993)

2. ปริมาณการส่งไขมันออกจากตับ เนื่องจากสัตว์เคี้ยวเอื้องมีอัตราการส่งไขมันออกจากตับ ในรูป VLDL ค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับสัตว์ชนิดอื่น เช่น ไก่ ปลา หมู และกระต่าย (Pullen *et al.*, 1990) ซึ่งสาเหตุคาดว่า เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องไม่ได้เกิดขึ้นที่ตับ แต่เกิดในส่วนเนื้อเยื่อไขมัน ทำให้ระบบการขนส่งไขมันจากตับของสัตว์เคี้ยวเอื้องไม่พัฒนามากนัก เมื่อเทียบกับสัตว์ชนิดอื่นๆ ซึ่งมีกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่ตับ

ปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัดว่า ปัจจัยใดเป็นตัวจำกัด (rate-limiting factor) ในกระบวนการสังเคราะห์ VLDL ในตับของสัตว์เคี้ยวเอื้อง เกี่ยวกับเรื่องนี้ Herdt *et al.* (1983) รายงานว่า เมื่อโคนมที่เกิดการสะสมไขมันในตับ จะมีระดับฟอสโฟลิปิดภายในตับต่ำกว่าปกติ ซึ่งต่อมา Herdt *et al.* (1988) ศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ phosphatidate phosphohydrolase (PAP) ในส่วน microsome ของเซลล์ตับและที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสะสมไขมัน พบว่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้เพิ่มสูงขึ้นในระยะแรก แต่ต่อมากลับลดระดับลง จึงสันนิษฐานว่า กระบวนการสังเคราะห์ฟอสโฟลิปิดอาจเป็นตัวจำกัดการสังเคราะห์ VLDL นอกจากนี้ Gruffat *et al.* (1997) ได้รายงานถึงโคนมที่เกิดการสะสมไขมันว่า ระดับของ apoprotein B₁₀₀ ภายในเซลล์ตับลดต่ำลง และคาดว่าขั้นตอนในกระบวนการสังเคราะห์ apoprotein B₁₀₀ ภายในเซลล์ตับ อาจเป็นตัวจำกัดการสังเคราะห์ VLDL

มีการศึกษาถึงการเสริมสาร lipotropic ที่ช่วยในการสังเคราะห์ฟอสโฟลิปิดภายในเซลล์ตับ เช่น inositol (Gerloff *et al.*, 1986) choline (Grummer *et al.*, 1987) และ methionine (Pullen *et al.*, 1989) ผลการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าสาร lipotropic เหล่านี้ไม่ได้ช่วยแก้ปัญหาการเกิดการสะสมไขมันในตับ ซึ่งในประเด็นนี้ Grummer (1993) ได้ให้ความเห็นว่า ปัญหาการสะสมไขมันในตับของสัตว์เคี้ยวเอื้องไม่ได้เป็นปัญหาทางด้านโภชนาการ แต่เป็นปัญหาที่เกิดจากสาเหตุทางพันธุกรรม การแก้ปัญหาเรื่องนี้ควรแก้ไขในด้านพันธุกรรมของสัตว์จะได้ผลมากกว่า

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ในการศึกษาผลของสมดุลพลังงานต่อกระบวนการใช้ประโยชน์ของไขมัน ในโคสาวพันธุ์กำแพงแสน และโคสาวลูกผสมบราห์มันภายใต้สภาวะเขตร้อน แบ่งการศึกษาออกเป็น 4 หัวข้อ คือ

1. ศึกษาลักษณะและตำแหน่งแถบซีรัมไลโปโปรตีนในโค ซึ่งแยกโดยเทคนิคเซลลูโลส-อะซิเตท อิเล็กโตรโฟรีซิส
2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงซีรัมไลโปโปรตีนภายใต้สภาวะการจำกัดอาหาร และเมื่อกลับมาได้รับอาหาร
3. ศึกษาผลการจำกัดอาหารต่อการสูญเสียน้ำหนักตัว และลักษณะการปรับตัวทางเมแทบอลิซึมของการใช้ไขมัน
4. ศึกษาผลการกลับมาได้รับอาหารต่อการเพิ่มน้ำหนักตัว และลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอลิซึมของการใช้ไขมัน

การศึกษาที่ 1 มีรายละเอียดของอุปกรณ์และวิธีการดังต่อไปนี้

สัตว์ทดลอง

ใช้ลูกโคเพศผู้ พันธุ์กำแพงแสน อายุ 2 เดือน น้ำหนักตัว 50 กิโลกรัม ซึ่งอยู่ในระยะคุนมนจากแม่จำนวน 1 ตัว

การเก็บตัวอย่างเลือด

เจาะเลือดจากโคจากบริเวณ jugular vein จำนวน 15 มิลลิลิตร นำไปแยกซีรัมจากตัวอย่างเลือดที่เก็บได้ โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,400 x g แบ่งซีรัมที่แยกได้ออกเป็น 2 ส่วน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศา เซลเซียส

การแยกซีรัมไลโปโปรตีน

นำซีรัมส่วนหนึ่งที่เก็บได้ จำนวน 5 มิลลิลิตร ไปทำการแยกซีรัมไลโปโปรตีน โดยวิธีตกตะกอนด้วยเด็กซ์เตรนซัลเฟต (dextran sulfate) ตามวิธีของ Glascock *et al.* (1966) ซึ่งวิธีนี้จะสามารถแยกตัวอย่างซีรัมไลโปโปรตีนได้ 2 ชนิด คือ ชนิด HDL (HDL-fraction) และ ชนิด LDL (LDL-fraction)

การเปรียบเทียบตำแหน่งแถบซีรัมไลโปโปรตีนที่เกิดขึ้นบนแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท

นำตัวอย่างซีรัมไลโปโปรตีนที่แยกโดยวิธีการตกตะกอนและซีรัมปกติ ไปทำการแยกซีรัมไลโปโปรตีนบนแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท ตามวิธีของ Helena lipoprotein electrophoresis procedure (Helena Laboratories, Beaumont, Texas) เพื่อเปรียบเทียบแถบที่เกิดขึ้นบนแผ่น เซลลูโลส-อะซิเตท วิธีนี้ทำให้สามารถระบุตำแหน่งของซีรัมไลโปโปรตีนแต่ละชนิดได้

การศึกษาที่ 2, 3 และ 4 เป็นการทดลองที่มีลักษณะต่อเนื่องกัน มีรายละเอียดของอุปกรณ์และวิธีการดังต่อไปนี้

สัตว์ทดลอง

การทดลอง ใช้โคสาวพันธุ์กำแพงแสน จำนวน 5 ตัว น้ำหนักตัวโดยเฉลี่ย 263 ± 13 กิโลกรัม และโคสาวลูกผสมบราห์มัน จำนวน 6 ตัว น้ำหนักตัวโดยเฉลี่ย 218 ± 9 กิโลกรัม โคทดลองทั้งสองกลุ่มมีอายุเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นทดลอง 24-30 เดือน ก่อนเริ่มต้นการทดลอง 15 วัน ทำการถ่ายพยาธิในทางเดินอาหารด้วย Zodalben (Laboratorios Calier, S.A. Barcelona, Espana) จากนั้นนำโคทดลอง ทั้ง 11 ตัว เข้าขังกรงเดี่ยว ซึ่งมีขนาดพื้นที่ 12.5 ตารางเมตร

อาหารทดลอง

เป็นอาหารข้นสำเร็จรูป (อาหารโคเนื้อเบอร์ 982 ของบริษัท บี พี อาหารสัตว์ จำกัด) และหญ้าแห้งรูซี่ (*Brachiaria ruziziensis*) จาก สถานีพืชอาหารสัตว์ขององค์การส่งเสริมโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) บ้านจันทิก อำเภอบางบาล จังหวัดนครราชสีมา องค์ประกอบทางเคมีและค่าพลังงานใช้ประโยชน์ (metabolizable energy) แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีและค่าพลังงานใช้ประโยชน์ของอาหารทดลอง

| Item | Diet ¹ | |
|---|-------------------|----------|
| | Concentrate | Roughage |
| Protein | 12.85 | 2.90 |
| Crude fiber | 8.22 | 34.53 |
| NDF | - | 77.33 |
| ADF | - | 53.53 |
| Ether extract | 3.18 | 1.07 |
| Ash | 16.64 | 9.51 |
| Metabolizable energy ² (kcal / kg) | 2,627 | 1,329 |

¹ Percent on dry-matter basis.

² Values obtained from gas production method (Menke *et al.*, 1979).

การทดลอง

การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ระยะ

1. ระยะก่อนการจำกัดอาหาร (full feeding period) หลังจากให้โคทดลองคุ้นเคยกับสภาพคอกและอาหารทดลองเป็นเวลา 15 วัน จึงทำการกำหนดปริมาณอาหารให้โคทดลองในระดับ 1.8 เท่าของพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีพ (พลังงานใช้ประโยชน์ในการดำรงชีพ 130 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเมแทบอลิก; NRC, 1976) ระยะนี้ใช้เวลาในการทดลองนาน 32 วัน

2. ระยะจำกัดอาหาร (restriction period) ระยะนี้กำหนดปริมาณอาหารให้โคทดลองในระดับ 0.85 เท่าของพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีพ เพื่อเหนี่ยวนำโคทดลองให้เกิดสถานะของสมดุลพลังงานร่างกายที่เป็นลบ (negative energy balance) ระยะนี้ใช้เวลาในการทดลองนาน 20 วัน

3. ระยะการกลับมาได้รับอาหารเป็นปกติ (realimentation period) ระยะนี้เป็นระยะที่ต่อเนื่องจากระยะจำกัดอาหาร โดยทำการให้อาหารโคทดลองในระดับ 1.8 เท่าของพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีพ เช่นเดียวกับในระยะก่อนการจำกัดอาหาร โดยมีเหตุผลเพื่อที่จะเปรียบเทียบการตอบสนองของโคในระยะนี้กับระยะก่อนการจำกัดอาหาร ระยะนี้ใช้เวลาในการทดลอง 30 วัน

ทำการให้อาหารโคทดลองวันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 9.00 น. และ 15.00 น. ตลอดทุกช่วงระยะของการทดลอง โดยควบคุมอัตราส่วนอาหารข้นต่ออาหารหยาบให้อยู่ที่ระดับ 50:50 เพื่อป้องกันความผันแปรของสัดส่วนอาหาร ที่อาจส่งผลต่อระดับเมแทบอลิซึมในกระแสเลือด บันทึกปริมาณอาหารที่โคทดลองกินทุกวัน ภายในคอกทดลองมีน้ำและแร่ธาตุก้อนแขวนไว้ตลอดเวลา

การปฏิบัติกับสัตว์

ทำการชั่งน้ำหนักโคทดลองเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดระยะการทดลองทุกระยะ ทำการวัดขนาดความหนาของชั้นไขมันใต้ผิวหนังบริเวณสันหลัง (back fat) และขนาดพื้นที่หน้าตัดของมัดกล้ามเนื้อสันนอก (*longissimus dorsi*; loin area) เมื่อสิ้นสุดระยะการทดลองทุกระยะ โดยวิธีการอ่านด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ (100 Falco Vet Scanner Ultrasound, Pie Medical Equipment B.V; The Netherlands) ที่ความถี่คลื่นเสียง 3.5 เมกะเฮิรตซ์ (MHz) ที่ตำแหน่งระหว่างซี่โครงซี่ที่ 12 และ 13

โดยห่างจากแนวกระดูกสันหลัง 5 เซนติเมตร บันทึกค่าความหนาของชั้นไขมันในหน่วยเซนติเมตร และพื้นที่หน้าตัดของมัดกล้ามเนื้อสันนอกในหน่วยตารางเซนติเมตร ของโคทดลองในแต่ละตัว

การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมัน

เมื่อสิ้นสุดระยะการทดลองในแต่ละระยะ ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันใต้ผิวหนังบริเวณด้านข้างทวารหนัก (perianal) ตามวิธีของ Rukkwamsuk *et al.* (1998) นำตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันที่เก็บได้มาล้างคราบเลือดที่ติดอยู่ออกโดยใช้ 0.15 M ของ KCl ที่เย็นจัด จากนั้นนำเนื้อเยื่อไขมันไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์หาอัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันและขนาดของเซลล์ไขมันในลำดับต่อไป

การเก็บตัวอย่างเลือด

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจาก jugular vein ของโคทดลอง โดยเก็บตัวอย่างเลือดทั้งสิ้น 5 ครั้ง สองครั้งแรกเก็บในวันเริ่มต้นและสิ้นสุดระยะก่อนการจำกัดอาหาร ค่าการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดในสองครั้งนี้นำมาเฉลี่ย และใช้เป็นค่ามาตรฐานของโคในสภาพปกติ การเก็บตัวอย่างเลือดสองครั้งต่อมา ทำการเก็บในวันที่ 10 และ 20 ของระยะการจำกัดอาหาร และครั้งสุดท้ายเก็บในวันที่สิ้นสุดการทดลองระยะการกลับมาได้รับอาหารเป็นปกติ คือ ในวันที่ 30

ตัวอย่างเลือดที่เก็บได้ในแต่ละครั้ง ปริมาณ 30 มิลลิลิตร ทำการแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ส่วนแรก เก็บในหลอดแก้วที่ไม่บรรจุสารใด ๆ เพื่อใช้ซีรัม ในการวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของไลโปโปรตีนและไตรกลีเซอไรด์ ส่วนที่สอง เก็บในหลอดแก้วที่บรรจุ โซเดียมฟลูออไรด์ (NaF) เพื่อวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของกลูโคส ส่วนที่สาม เก็บในหลอดแก้วที่บรรจุ สารอีดีทีเอ (EDTA) เพื่อใช้วิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของสารเมแทบอลิท์ตัวอื่น ๆ

นำตัวอย่างเลือดที่เก็บได้ ไปแยกซีรัมและพลาสมา โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,400 x g ซีรัมที่จะใช้ในการแยกซีรัมไลโปโปรตีนเก็บไว้ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำไปวิเคราะห์ ซีรัมไลโปโปรตีนในวันรุ่งขึ้น ตัวอย่างพลาสมาและซีรัมที่เหลือเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของเมแทบอลิท์ต่อไป

การวิเคราะห์อัตราการสลายไขมันในเนื้อเยื่อไขมัน

ขั้นตอนและวิธีการวิเคราะห์อัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน ทำตามวิธีของ McNamara and Hillers (1986) โดยดัดแปลงสารละลาย buffer media จากเดิมซึ่งเป็น Krebs / HEPES / BSA ไปเป็น Krebs/Glucose/BSA ตามลักษณะ buffer media ซึ่ง Pothoven *et al.* (1975) แนะนำ โดยใน 1 มิลลิลิตรของ buffer media ประกอบด้วย 20 มิลลิกรัมของ bovine serum albumin (BSA, Fraction V, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) 1 มิลลิกรัมของกลูโคสและสารละลาย Krebs-Ringer bicarbonate buffer สารละลาย buffer media นี้นำไปปรับ pH ให้ได้ 7.4 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์เนื้อเยื่อไขมันตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ค่าอัตราการสลายไขมันแสดงในหน่วย μ mol FFA (free fatty acid) ที่สลายออกมาจากเนื้อเยื่อไขมัน 1 กรัม ในเวลา 2 ชั่วโมง

การวัดขนาดปริมาตรของเซลล์ไขมัน

นำตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมันที่เก็บไว้ไปแยกเซลล์ไขมันออก โดยใช้เอนไซม์คอลลาจีเนส (enzyme collagenase type II, cat no. 6885, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo) ตามวิธีการของ Girolamo *et al.* (1971) ทำการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไขมันที่แยกออก โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 100 เท่า บันทึกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไขมันจำนวน 500-600 เซลล์ต่อ 1 ตัวอย่าง นำค่าที่วัดได้มาคำนวณปริมาณของเซลล์ไขมันโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาตรของเซลล์ไขมัน (V)} = \pi D^3 / 6$$

โดย D เป็นค่าเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไขมัน

ทำการหาค่าเฉลี่ยของปริมาตรเซลล์ไขมันโดยใช้สูตร

$$\text{ค่าเฉลี่ยของปริมาตรเซลล์ไขมัน} = \sum V_i F_i / N$$

โดย V_i เป็นค่าปริมาตรของเซลล์ไขมัน

F_i เป็นจำนวนเซลล์ไขมันที่มีปริมาตร V_i

N เป็นจำนวนเซลล์ไขมันทั้งหมดที่วัดได้ใน 1 ตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมัน

ค่าเฉลี่ยของปริมาตรเซลล์ไขมันรายงานในหน่วย พิโคลิตร (picoliter; pl)

การวิเคราะห์องค์ประกอบของไลโปโปรตีน

นำตัวอย่างซีรัมของโคททดลองไปจำแนกชนิดของไลโปโปรตีน โดยใช้เทคนิคเซลลูโลสอะซิเตท อีเล็กโทรโฟรีซิส ตามวิธีของ Helena lipoprotein electrophoresis procedure (Helena Laboratories, Beaumont, Texas) ขนาดและความเข้มข้นของแถบไลโปโปรตีนที่เกิดขึ้น นำไปคำนวณหาอัตราส่วนของชนิดไลโปโปรตีน โดยการอ่านผ่านเครื่อง densitometer (BIO-RAD, Model GS-670) ที่ช่วงคลื่นแสง 525 นาโนเมตร (nm) นำสัดส่วนไลโปโปรตีนที่อ่านได้ไปคำนวณหาระดับความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์ในไลโปโปรตีนชนิดนั้น โดยอาศัยค่าซึ่ง Bauchart (1993) ได้รายงานไว้ว่า ปริมาณความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์ใน HDL มี 3 เปอร์เซ็นต์ ใน LDL มี 15 เปอร์เซ็นต์ และใน VLDL มี 63 เปอร์เซ็นต์ ผลรวมของปริมาณความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์ในไลโปโปรตีนทุกชนิดที่พบ จะมีค่าเท่ากับปริมาณความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์ในซีรัม

การวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของเมแทบอลิทในพลาสมา

ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระ (NEFA) ในพลาสมา วิเคราะห์ตามวิธีของ Smith (1975) โดยใช้ กรดไขมันโอเลอิก (oleic acid) เป็นสารเปรียบเทียบมาตรฐาน เมแทบอลิทตัวอื่น วิเคราะห์โดย ชุดทดสอบสำเร็จรูป (test kit) ได้แก่: BHBA (BHBA, Radox Laboratories Ltd, UK.) ไตรกลีเซอไรด์และอัลบูมิน (Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica GmbH, Wiesbaden, Germany) พลาสมายูเรีย-ไนโตรเจน กลูโคส และเอนไซม์ SGOT (enzyme serum glutamate oxaloacetate transaminase) (Life science Dynamics of Arnaparn Co., LTD, Thailand)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

โมเดลที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในงานทดลองนี้ เป็นดังนี้

$$\text{เมื่อ } y_{ijk} = \mu + B_i + A(B)_{j/i} + P_k + (BP)_{ik} + e_{ijk}$$

y_{ijk} เป็นค่าสังเกต เป็นค่าเฉลี่ยของประชากร

B_i เป็นอิทธิพลเนื่องจากพันธุ์โค i

$A(B)_{j/i}$ เป็นอิทธิพลเนื่องจากตัวโค j ที่ซ่อนอยู่ในพันธุ์โค i

P_k เป็นอิทธิพลเนื่องจาก period k

$(BP)_{ik}$ เป็นอิทธิพลเนื่องจากพันธุ์โค i และ period k

e_{ijk} เป็น unexplained residual

ในการทดสอบอิทธิพลของพันธุ์โค ใช้อิทธิพลเนื่องจากตัวโคที่ซ่อนอยู่ในพันธุ์โคเป็น error term ในการทดสอบ สำหรับอิทธิพลของปัจจัยอื่นที่นอกเหนือจากนี้ใช้ residual mean square เป็นตัวทดสอบ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยสี่สัทสแควร์ของแต่ละ period และอิทธิพลของพันธุ์ภายใน period เดียวกัน โดยใช้ linear contrasts และเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของค่าเฉลี่ยระหว่างพันธุ์โคโดยวิธี paired t-test (SAS, 1997)

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

สถานที่ทำการวิจัย

1. ศูนย์วิจัยและพัฒนากระบือและโค มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม
2. ห้องปฏิบัติการภาคสัตวศาสตร์วิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ
3. ห้องปฏิบัติการทางสัตววิทยา ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

ระหว่างเดือน พฤษภาคม 2546 ถึงเดือนเมษายน 2547

ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ความรู้ ความเข้าใจ ต่อลักษณะการปรับตัวต่อสภาพการขาดแคลนอาหาร รวมทั้งเมื่อกลับมาได้รับอาหารเป็นปกติของโคทั้งสองพันธุ์ จะเป็นข้อมูลที่จะช่วยในการกำหนดยุทธศาสตร์ในการเลี้ยงโคเนื้อในเขตร้อนชื้น ซึ่งมีสภาพแวดล้อมผันแปรตลอดเวลา กลไกในการปรับตัวที่อาจแตกต่างกันระหว่างโคทั้งสองพันธุ์ จะมีผลต่อระดับความสามารถในการให้ผลผลิต ปัญหาสุขภาพ รวมไปถึงผลตอบแทนในทางเศรษฐกิจ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้มีความสำคัญต่อการตัดสินใจของเกษตรกรในการเลี้ยงโคพันธุ์โคพันธุ์หนึ่ง เพื่อให้เหมาะสมกับสภาพทรัพยากรที่ตัวเองมีอยู่

2. ลักษณะการเปลี่ยนแปลงกระบวนการใช้ไขมันภายในร่างกายที่เกิดขึ้นในโคทั้งสองพันธุ์ อาจให้ข้อมูลที่สำคัญ ซึ่งสามารถนำไปใช้ศึกษาต่อในระดับที่สูงขึ้น รวมทั้งในบางกรณี อาจสามารถนำไปใช้เป็นดัชนีที่สำคัญ ในการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อในเขตร้อน เพื่อให้มีความสามารถในการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดียิ่งขึ้น

3. ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงระดับเมแทบอลิท์ภายในกระแสเลือดที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะการจำกัดอาหาร อาจสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นดัชนีที่เหมาะสมในการชี้วัดสภาพความรุนแรงของสภาวะการขาดแคลนอาหารในโคได้

แหล่งทุนสนับสนุน

การศึกษาครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก “ศูนย์วิจัยและพัฒนากระบือและโค” สถาบันวิจัยและพัฒนาการผลิตปศุสัตว์สุวรรณจากกสิกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เป็นจำนวนเงิน 30,000 บาท และจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์เป็นจำนวนเงิน 50,000 บาท อาหารทดลองได้รับการสนับสนุนจาก บริษัท บี. พี. อาหารสัตว์ จำกัด และองค์การส่งเสริมโคนมแห่งประเทศไทย อ.มวกเหล็ก จ. สระบุรี

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาที่ 1 ลักษณะและตำแหน่งแถบซีรัมไลโปโปรตีนในโค ซึ่งแยกโดยเทคนิคเซลลูโลส-อะซิเตท อิเล็กโทรโฟรีซิส

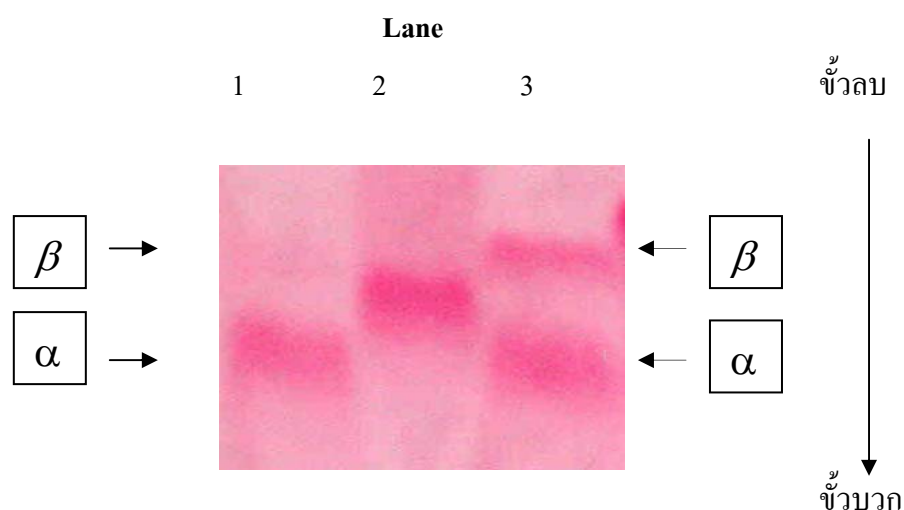
ลักษณะแถบซีรัมไลโปโปรตีนซึ่งแยกโดยเทคนิคเซลลูโลส-อะซิเตท อิเล็กโทร โฟรีซิส แสดงในภาพที่ 9 เลนที่ 3 เป็นซีรัมปกติ (normal serum) ซึ่งไม่ได้ผ่านกระบวนการตกตะกอน ปรากฏแถบซีรัมไลโปโปรตีนขึ้น 2 แถบ คือ แถบที่มีการเคลื่อนที่แบบ อัลฟา (α) และแถบที่มีการเคลื่อนที่แบบ เบต้า (β) ผลจากการนำตัวอย่างส่วนแยกไลโปโปรตีน (fraction lipoprotein) ซึ่งผ่านกระบวนการแยกโดยวิธีการตกตะกอนโดยเด็กซ์เตรนซัลเฟตมาเปรียบเทียบ พบว่า เลนที่ 1 ซึ่งเป็น HDL-fraction (ส่วนที่ไม่ตกตะกอน) มีแถบปรากฏขึ้น 2 แถบเช่นเดียวกับในซีรัมปกติ คือ แถบที่มีลักษณะการเคลื่อนที่แบบ เบต้า และ อัลฟา แถบที่เคลื่อนที่แบบ อัลฟา มีลักษณะความเข้มสูงกว่า แถบที่มีการเคลื่อนที่แบบ เบต้า สันนิษฐานว่า แถบซึ่งเคลื่อนที่แบบ อัลฟา และมีความเข้มของแถบสูงเป็น HDL-fraction โดยมีลักษณะเคลื่อนที่ในตำแหน่งเดียวกับแถบ อัลฟา ของซีรัมปกติที่อยู่ใน เลน 3 สำหรับแถบที่ปรากฏในตำแหน่ง เบต้า และมีความเข้มของแถบบางกว่านั้นคาดว่าเป็น LDL-fraction ที่หลงเหลืออยู่ในสารละลายส่วนที่ไม่ตกตะกอน สาเหตุอาจเกิดจากการทดลองครั้งนี้ใช้ตัวอย่างซีรัมลูกโค ในระยะคูนมเป็นตัวอย่างในการทดสอบ เนื่องจากในน้ำนมมีระดับไขมันสูง อาจส่งผลให้ซีรัมลูกโคทดลองมีระดับ LDL-fraction สูงขึ้นตามไปด้วย การใช้สารละลายเด็กซ์เตรนซัลเฟตในระดับที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ (อัตราส่วน ซีรัม 1 มิลลิลิตรต่อ สารละลายเด็กซ์เตรนซัลเฟต 0.14 มิลลิลิตร) ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ Glascock *et al.* (1966) ใช้ในการตกตะกอน LDL-fraction ใน ซีรัมโคนม อาจทำให้ระดับความเข้มข้น ไม่เพียงพอในการตกตะกอน LDL-fraction ในลูกโค ก็เป็นไปได้ จึงทำให้มีส่วน LDL-fraction หลงเหลืออยู่ในสารละลาย ภายหลังจากการตกตะกอน

เลนที่ 2 เป็น LDL-fraction (ส่วนที่ตกตะกอน) พบว่า มีลักษณะการเคลื่อนที่แตกต่างไป จากตำแหน่ง เบต้า ของซีรัมปกติ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้ คาดว่า เกิดจากการรบกวนของประจุแร่ธาตุของสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการตกตะกอน ลักษณะเช่นนี้คล้ายคลึงกับผลการทดลองของ Sakagami and Zilversmit (1961) ซึ่งได้ทำการแยกซีรัมไลโปโปรตีนของสุนัข โดยวิธีตกตะกอนด้วยเด็กซ์เตรนซัลเฟต และพบว่า ไลโปโปรตีนส่วนที่ตกตะกอน มีลักษณะการเคลื่อนที่บนแผ่นตัวกลางค้ำจุน (support media) แตกต่างไปจากตำแหน่งของ ซีรัมปกติ และต่อมาเมื่อนำส่วน

ไลโปโปรตีนส่วนที่ตกตะกอนได้นี้ไปผ่านกระบวนการไดอะไลซิส (dialysis) พบว่า ลักษณะการเคลื่อนตัวของไลโปโปรตีนส่วนนี้กลับมาอยู่ที่ตำแหน่งเบต้าของซีรัมปกติ ผลจากการทดลองดังกล่าว จึงสันนิษฐานว่า ส่วนของซีรัมไลโปโปรตีนในซีรัมปกติของโคทดลอง ซึ่งมีการเคลื่อนที่ในตำแหน่ง เบต้า เป็นส่วนไลโปโปรตีนชนิด LDL

ผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ซีรัมไลโปโปรตีนของโคสามารถแบ่งได้ 2 ส่วนคือ ส่วนของ HDL ซึ่งมีลักษณะการเคลื่อนที่แบบ อัลฟา และส่วน LDL ซึ่งมีลักษณะของการเคลื่อนที่แบบ เบต้า ลักษณะของการเคลื่อนที่เช่นนี้ เป็นแบบเดียวกับ ผลการทดลองของ Raphaël *et al.* (1973a) และ Ferreri and Gleockler (1979) ซึ่งแยกซีรัมไลโปโปรตีนในโคนมพันธุ์โฮสไตน์ (Holstein) โดยใช้ตัวกลางค้ำจุนเป็น agarose และพบว่า แถบซีรัมไลโปโปรตีนเกิดขึ้นเพียง 2 แถบ คือ แถบ HDL มีลักษณะการเคลื่อนที่แบบ อัลฟา และแถบ LDL มีลักษณะการเคลื่อนที่แบบ เบต้า

การแยกซีรัมไลโปโปรตีนของการทดลองครั้งนี้ ไม่พบแถบที่เป็น VLDL-fraction เหตุผลอาจเกิดขึ้น เนื่องจากซีรัมโคมีระดับ VLDL ต่ำมาก Wendlandt and Davis (1973) รายงานว่า ในซีรัมโคมีระดับ VLDL ต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมดในซีรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยเกินกว่าจะแยกด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสให้เห็นได้อย่างชัดเจน การที่ระดับ VLDL ในซีรัมโคมีปริมาณต่ำ เกิดขึ้นเนื่องจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของ VLDL ในกระแสเลือดโค เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว



ภาพที่ 9 ลักษณะการเคลื่อนที่ของซีรัมไลโปโปรตีนชนิด HDL (เลนที่ 1) LDL (เลนที่ 2) และ ซีรัมปกติ (เลนที่ 3) ของโคทดลองบนแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท

โดย Palmquist and Mattos (1978) รายงาน ค่าครึ่งชีวิต (half life) ของ VLDL ในกระแสเลือดโค มีค่า 4.5 นาที แสดงว่า ร่างกายโคมีอัตราการขจัด (clearance) VLDL ออกจากกระแสเลือดได้สูงมาก

การศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่า ชีรั่มไลโปโปรตีนในโค ซึ่งแยกโดยวิธีเซลลูโลส-อะซิเตท มี 2 ชนิด คือ ชนิด HDL ซึ่งมีลักษณะของเคลื่อนที่ แบบ อัลฟา และ ชนิด LDL ซึ่งมีลักษณะของการเคลื่อนที่ แบบ เบต้า ไม่พบไลโปโปรตีน ชนิด VLDL ในชีรั่มโค

การศึกษาที่ 2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงชีรั่มไลโปโปรตีน ภายใต้สภาวะการจำกัดอาหารและเมื่อกลับมาได้รับอาหาร

ลักษณะชีรั่มไลโปโปรตีนของโคทดลองทั้งสองกลุ่มซึ่งแยกโดยเทคนิคเซลลูโลส-อะซิเตท อีเล็กโทรโฟรีซิส ในแต่ละของระยะการทดลอง แสดงในภาพที่ 10

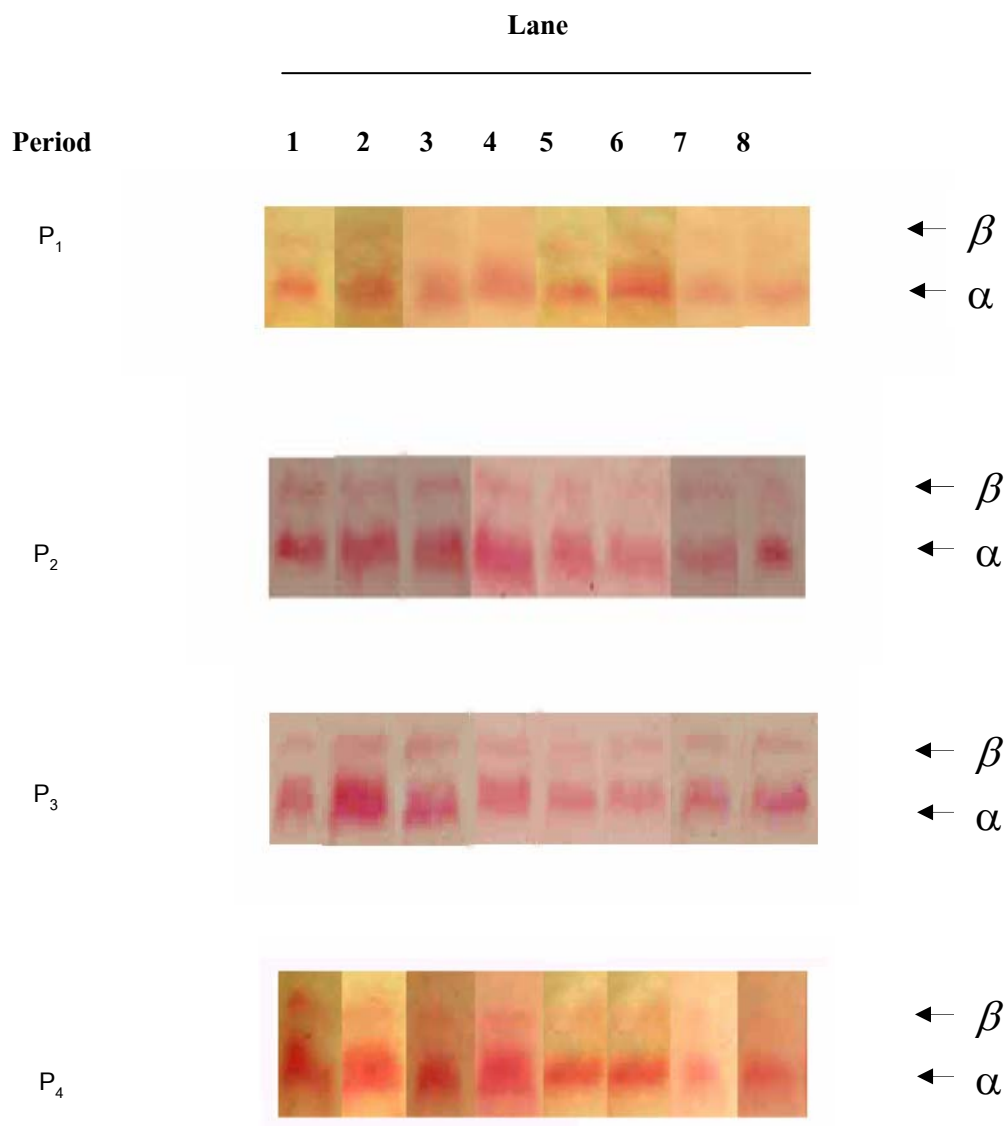
ช่วงก่อนการจำกัดอาหาร (Full feeding)

โคทดลองทั้งสองกลุ่ม มีขนาดและความเข้มข้นของแถบ HDL ใหญ่ และ ชัดเจนกว่า แถบ LDL ผลจากการอ่านแถบไลโปโปรตีนด้วยเครื่อง densitometer (ตารางที่ 2) พบว่า โคทดลองทั้งสองกลุ่มมีอัตราส่วน HDL สูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของไลโปโปรตีนทั้งหมด ซึ่งอัตราส่วนนี้ สอดคล้องกับ Wendlandt and Davis (1973) ที่ได้รายงานไว้ว่า ชีรั่มไลโปโปรตีนในโค ส่วนใหญ่เป็น HDL (มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับในสัตว์อีกหลายประเภท เช่น หนู สุนัข และ ปลาโลมา อย่างไรก็ตาม ลักษณะเช่นนี้แตกต่างไปจากชีรั่มไลโปโปรตีนของมนุษย์ ซึ่งพบว่า ส่วนใหญ่(ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมดในชีรั่ม)อยู่ในส่วน LDL

ช่วงจำกัดอาหาร (Restricted feeding)

การทดลองพบว่า ในวันที่ 10 ของการจำกัดอาหาร ขนาดและความเข้มข้นของแถบไลโปโปรตีนทั้งสองชนิด คือ HDL และ LDL ชัดเจนขึ้น เมื่อเทียบกับระยะก่อนการจำกัดอาหาร (ภาพที่ 10) ต่อมาในวันที่ 20 ของการจำกัดอาหาร ปรากฏว่าความเข้มข้นของแถบ LDL จางลง ในขณะที่ความเข้มข้นของแถบ HDL ยังคงชัดเจนเช่นเดิม ผลจากการอ่านแถบไลโปโปรตีนด้วยเครื่อง densitometer พบว่า ในช่วงของการจำกัดอาหาร อัตราส่วนของ HDL ในโคทดลองทั้งสองกลุ่ม

เพิ่มขึ้น ในขณะที่ LDL มีอัตราส่วนลดลง (ตารางที่ 2) และเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วน HDL ระหว่างกลุ่มโคทดลอง พบว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันมีอัตราส่วน HDL สูงกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสนตลอดระยะเวลาของการจำกัดอาหาร ($P < 0.05$)



ภาพที่ 10 ลักษณะซีรั่มไลโปโปรตีน ของโคทดลองบนแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท ในช่วงระยะเวลาทดลอง (P₁ = ช่วงก่อนการจำกัดอาหาร P₂ และ P₃ = ช่วงที่โคถูกจำกัดอาหาร ในวันที่ 10 และ 20 ตามลำดับ P₄ = ช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหารเป็นปกติ)
เลน 1-4 = โคสาวลูกผสมบราห์มัน
เลน 5-8 = โคสาวพันธุ์กำแพงแสน

จากการนำอัตราส่วน HDL และ LDL ในซีรัมไลโปโปรตีน ไปคำนวณค่าปริมาณความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์ใน HDL และ LDL โดยอาศัยค่าความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์ในซีรัม ผลจากการคำนวณปรากฏใน ตารางที่ 3 พบว่า เมื่อโคททดลองถูกจำกัดอาหาร ค่าความเข้มข้นของ HDL-TAG เพิ่มขึ้นกว่าค่าปกติของโคในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร (base line) ($P < 0.05$) และจากการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ HDL-TAG ระหว่างกลุ่มโคททดลองพบว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันมีระดับความเข้มข้นของ HDL-TAG สูงกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ทั้งในวันที่ 10 และ 20 ของการจำกัดอาหาร ($P < 0.05$) การที่ระดับความเข้มข้น HDL-TAG ให้ซีรัมของโคทั้งสองกลุ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงระดับการส่งออกของไขมันจากตับ Bertis *et al.* (1992) รายงานว่า สัตว์เลี้ยงอยู่ในภาวะที่สมดุลพลังงานของร่างกายเป็นลบ (negative energy balance) กระบวนการ re-esterification ของกรดไขมันภายในตับจะสูงขึ้น ไขมันเหล่านี้บางส่วนถูกส่งออกจากตับในรูป VLDL เนื่องจากในการทดลองนี้ไม่พบ ไลโปโปรตีนชนิด VLDL ในซีรัมโคททดลองทั้งสองกลุ่ม แต่เนื่องจาก VLDL มีความสัมพันธ์กับ ไลโปโปรตีนชนิด HDL โดย Puppione (1978) ได้อธิบายรูปแบบของความสัมพันธ์ในกระบวนการ เมแทบอลิซึมระหว่างไลโปโปรตีนชนิดต่าง ๆ ภายในร่างกาย และเสนอทฤษฎีความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการเมแทบอลิซึมของ VLDL กับปริมาณ HDL ในกระแสเลือดว่า เมื่อตับส่งออกไขมันในรูป VLDL เพิ่มขึ้น จะทำให้ระดับความเข้มข้น HDL ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะ ในกระบวนการแคแทบอลิซึม (catabolism) ของ VLDL จำเป็นต้องอาศัย apoprotein C บนโมเลกุลของ HDL ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ lipoprotein lipase (LPL) ในกระบวนการสลาย (hydrolysis) ไขมันที่อยู่ในโมเลกุลของ VLDL ดังนั้นเมื่อที่ตับส่งออก VLDL เพิ่มขึ้น จึงจำเป็นต้องอาศัย apoprotein C บนโมเลกุลของ HDL ในปริมาณที่สูงขึ้นตามไปด้วย ลักษณะเช่นนี้ ทำให้ระดับความเข้มข้นของ HDL ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น ผลงานทดลองของ Raphaël *et al.* (1973 b) และ Van Den Top *et al.* (1995) สนับสนุนทฤษฎีนี้ โดยพบว่า โคนมที่อยู่ในระยะของการให้นมมีระดับความเข้มข้นของ HDL ในกระแสเลือดสูงกว่าโคนมแห้ง สำหรับในการทดลองครั้งนี้ เมื่ออาศัยทฤษฎีความสัมพันธ์ระหว่างเมแทบอลิซึมของ VLDL กับปริมาณ HDL สามารถอธิบายลักษณะการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ HDL และความเข้มข้นของ HDL-TAG ในซีรัมโคททดลองได้ว่า เกิดขึ้นเนื่องจากโคททดลองทั้งสองกลุ่มเพิ่มระดับการส่งออกไขมันจากตับ และการที่โคสาวลูกผสมบราห์มันมีระดับความเข้มข้นของ HDL-TAG สูงกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน แสดงว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันส่งไขมันออกจากตับในรูป VLDL ได้มากกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยลิพิดส์แควร์ของ เปอร์เซ็นต์ซีรัม HDL และเปอร์เซ็นต์ซีรัม LDL ในโค
สาวพันธุ์กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มัน (Bra)

| Item | Treatment Period | | | | SE ¹ |
|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-----------------|
| | Full Feeding | Restricted feeding | | Realimentation | |
| | (base line) | (d 10) | (d 20) | (d 30) | |
| % HDL ² | | | | | |
| - KPS | 83.50 ^{ax} | 86.60 ^{bx} | 90.94 ^{cx} | 93.33 ^c | 0.72 |
| - Bra | 87.45 ^{ay} | 91.42 ^{by} | 95.88 ^{cy} | 95.94 ^c | 0.64 |
| % LDL ³ | | | | | |
| - KPS | 16.49 ^{ax} | 13.40 ^{bx} | 9.06 ^{cx} | 6.56 ^c | 0.72 |
| - Bra | 12.55 ^{ay} | 8.58 ^{by} | 4.11 ^{cy} | 4.06 ^c | 0.64 |

¹ standard error.

² High density lipoprotein.

³ Low density lipoprotein.

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{x,y} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่อยู่ภายใต้พารามิเตอร์เดียวกันและมีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยลิสต์สแควร์ความเข้มข้นของ ระดับซีรัม ไตรกลีเซอไรด์ HDL-TAG LDL-TAG และเอนไซม์ SGOT ในโคสาวพันธุ์กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มี (Bra)

| Item | Treatment Period | | | | SE ¹ |
|----------------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|---------------------|-----------------|
| | Full Feeding | Restricted Feeding | | Realimentation | |
| | (base line) | (d 10) | (d 20) | (d 30) | |
| Serum TAG ² , (mg/dl) | | | | | |
| - KPS | 12.68 ^a | 18.64 ^{bx} | 14.35 ^{abx} | 13.35 ^a | 1.17 |
| - Bra | 17.01 ^a | 26.15 ^{by} | 20.49 ^{acy} | 17.57 ^a | 1.04 |
| HDL-TAG ³ , (mg/dl) | | | | | |
| - KPS | 6.40 ^{ax} | 10.57 ^{bx} | 9.53 ^{abx} | 10.22 ^{bx} | 0.88 |
| - Bra | 9.95 ^{ay} | 17.93 ^{by} | 17.02 ^{bcy} | 14.82 ^{cy} | 0.78 |
| LDL-TAG ⁴ , (mg/dl) | | | | | |
| - KPS | 6.28 ^a | 8.07 ^a | 4.81 ^b | 3.16 ^b | 0.63 |
| - Bra | 7.05 ^a | 8.20 ^a | 3.47 ^b | 2.74 ^b | 0.56 |
| SGOT ⁵ , (U/l) | | | | | |
| - KPS | 24.20 ^a | 33.00 ^a | 46.20 ^b | 49.40 ^b | 2.40 |
| - Bra | 22.67 ^a | 34.17 ^{ab} | 35.67 ^b | 58.50 ^c | 2.16 |

¹ Standard error.

² Triacylglycerol.

³ High density lipoprotein-triacylglycerol.

⁴ Low density lipoprotein-triacylglycerol.

⁵ Serum glutamic oxaloacetate transaminase.

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{x,y} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่อยู่ภายใต้พารามิเตอร์เดียวกันและมีอักษรไม่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ผลจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า โคที่ถูกจำกัดอาหารและอยู่ในภาวะสมดุลพลังงานภายในร่างกายเป็นลบ เพิ่มระดับการส่งออกไขมันจากตับ ลักษณะเช่นนี้สอดคล้องกับผลงานทดลองของ Herdt *et al.* (1988) ซึ่งพบว่าแกะที่ถูกอดอาหารมีระดับการสร้าง VLDL เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ขัดแย้งกับผลงานทดลองของ Armentano *et al.* (1991) ซึ่งศึกษาในแพะนม โดยพบว่าเซลล์ตับของแพะในสภาพสมดุลพลังงานของร่างกายเป็นลบ ไม่เพิ่มระดับการสร้าง VLDL สาเหตุความแตกต่างในผลการทดลองนี้อาจเกิดขึ้นเนื่องจากความแตกต่างในวิธีการศึกษา ในการทดลองของ Armentano *et al.* (1991) ศึกษาโดยใช้เซลล์ตับจากแพะสองกลุ่มซึ่งอยู่ในสภาพสมดุลพลังงานของร่างกายเป็นบวกและเป็นลบ เมื่อนำมา incubate กับกรดไขมันโอลิอิก ในระดับสูง (2 มิลลิโมล) เพียงระดับเดียว พบว่า เซลล์ตับของแกะทั้งสองกลุ่ม ผลิตไตรกลีเซอไรด์ออกมาในระดับที่ไม่แตกต่างกัน และสรุปว่า เซลล์ตับของแพะที่อยู่ในสภาพสมดุลพลังงานของร่างกายที่เป็นลบ ไม่เพิ่มระดับการสร้าง VLDL อย่างไรก็ตาม เนื่องจากในสภาพความเป็นจริงทางสรีระ ระดับความเข้มข้นกรดไขมันอิสระในกระแสเลือดของสัตว์ ที่อยู่ในสภาพสมดุลพลังงานของร่างกายเป็นบวกและลบ มีระดับไม่เท่ากัน ซึ่งอาจจะส่งผลต่อปริมาณการสังเคราะห์ไขมันภายในตับ รวมทั้งปริมาณการส่งออกไขมันจากตับด้วย การที่ Armentano *et al.* (1991) ใช้กรดไขมันอิสระระดับสูงเพียงระดับเดียว incubate กับเซลล์ตับของแพะที่อยู่ในสภาพสมดุลพลังงานของร่างกายที่แตกต่างกัน จึงอาจทำให้ ผลสรุปต่อระดับการผลิต VLDL จากตับยังคลุมเครืออยู่

ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ความสามารถในการส่งออกไขมันจากตับในรูป VLDL มีผลต่อระดับการสะสมไขมันในตับ (Grummer, 1993) ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่ได้เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อตับเพื่อศึกษาถึงปริมาณการสะสมไขมัน แต่ เนื่องจากปริมาณการสะสมไขมันในตับมีความสัมพันธ์กับระดับการทำงานของเอนไซม์ SGOT ในซีรัม การเพิ่มขึ้นของระดับเอนไซม์ SGOT แสดงถึงการสะสมไขมันในตับ (Gröhn *et al.*, 1983) ผลจากการศึกษานี้ พบว่าในช่วงที่จำกัดอาหาร โคทดลองทั้งสองกลุ่มมีระดับการทำงานของเอนไซม์ SGOT เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3) จึงสันนิษฐานว่าตับอาจมีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ SGOT ที่เพิ่มขึ้นนี้ ยังอยู่ในพิสัยของค่าปกติในโค Gröhn *et al.* (1983) รายงานว่า ค่าปกติของเอนไซม์ SGOT ในโคนนมมีค่าต่ำกว่า 80 U/l จากค่าระดับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ SGOT ที่พบในการทดลองครั้งนี้ จึงชี้ให้เห็นว่า ระดับไขมันในตับที่อาจสะสมเพิ่มขึ้น ไม่ได้สูงจนทำให้โคทดลองเกิดความผิดปกติ

เมื่อทำการเปรียบเทียบระดับกิจกรรมของเอนไซม์ SGOT ในซีรัมระหว่างโคทดลองทั้งสองกลุ่มพบว่า ในช่วงที่จำกัดอาหาร โคสาวลูกผสมบราห์มันมีระดับการทำงานของเอนไซม์ SGOT ต่ำกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน (35 เปรียบเทียบกับ 46 U/l ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างนี้ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการทดลองครั้งนี้ใช้โคจำนวนน้อย และค่าที่วัดได้ มีความแปรปรวนสูง ทำให้ความแตกต่างในการส่งออกไขมันจากตับระหว่างโคทั้งสองกลุ่ม แสดงผลต่อปริมาณการสะสมไขมันในตับได้ ไม่ชัดเจน

สำหรับระดับความเข้มข้นของ LDL-TAG ในซีรัมโคทดลอง พบว่าช่วงที่โคถูกจำกัดอาหาร ระดับความเข้มข้นของ LDL-TAG ในโคทดลองทั้งสองกลุ่มลดลง โดยเฉพาะในวันที่ 20 ของการจำกัดอาหาร เนื่องจาก LDL เป็นส่วนของเรมีแนนท์ (remnant) ที่เกิดขึ้นเนื่องจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของ VLDL จากการทดลองซึ่งพบว่า ช่วงที่ถูกจำกัดอาหารโคเพิ่มระดับการส่งออกไขมันในรูป VLDL ซึ่งน่าจะส่งผลให้ระดับ LDL ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นตามไปด้วย แต่ผลจากการทดลองครั้งนี้ พบว่า ระดับความเข้มข้นของ LDL-TAG ในซีรัมลดลง สาเหตุอาจเกิดขึ้น เนื่องจากร่างกายโคปรับตัวโดยเพิ่มอัตราการขจัด LDL ออกจากกระแสเลือด Rudling and Peterson (1985) รายงานว่า ระดับ LDL ในกระแสเลือดมีความสัมพันธ์กับปริมาณ LDL receptor (apo B₁₀₀, apo E receptor) ภายในร่างกาย การเพิ่มขึ้นของ LDL-receptor ภายในร่างกาย ทำให้กระบวนการขจัดโมเลกุล LDL ออกจากกระแสเลือดทำได้มากขึ้น และส่งผลให้ระดับความเข้มข้นของ LDL ลดลง ในการทดลองครั้งนี้จึงเป็นไปได้ว่า การลดลงของระดับความเข้มข้น LDL-TAG เกิดขึ้น เนื่องจากร่างกายโคปรับตัวเพิ่มปริมาณ LDL-receptor เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำไขมันเข้าสู่เซลล์ของร่างกาย ซึ่งถ้าเป็นในกรณีนี้ แสดงว่า ในช่วงการจำกัดอาหาร ร่างกายโคปรับตัว โดยเพิ่มการนำไขมันที่อยู่ในโมเลกุลของ LDL ไปใช้ในร่างกายสูงขึ้น

ผลการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า ในสภาพที่ร่างกายขาดแคลนอาหาร โคนำไขมันที่สะสมไว้เป็นแหล่งพลังงานเพิ่มขึ้น โดยโคเพิ่มระดับการส่งออกไขมันจากตับในรูป VLDL รวมทั้งอาจเพิ่มความสามารถในการนำโมเลกุลของ LDL เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งเป็นกระบวนการปรับตัวของโคให้มีประสิทธิภาพในการใช้ไขมันเพิ่มขึ้น เพื่อทดแทนพลังงานที่ขาดหายไปจากการถูกจำกัดอาหาร และ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันมีการส่งออกไขมันจากตับในรูป VLDL สูงกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน

ช่วงของการกลับมาได้รับอาหาร (Realimentation)

จากการศึกษาพบว่า ในช่วงของการกลับมาได้รับอาหาร อัตราส่วน HDL และความเข้มข้นของ HDL-TAG ในซีรัมโคทคลองทั้งสองกลุ่ม มีระดับสูงเช่นเดียวกับในช่วงที่โคถูกจำกัดอาหาร (ตารางที่ 3) ซึ่งเป็นระดับที่สูงกว่าในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร (base-line) ($P < 0.05$) เมื่ออาศัยทฤษฎีความสัมพันธ์ระหว่างเมแทบอลิซึมของ VLDL กับปริมาณ HDL ซึ่ง Puppione (1978) ได้อธิบายไว้ จึงให้เห็นว่า ในช่วงของการกลับมาได้รับอาหาร โคทคลองทั้งสองกลุ่มมีการส่งออกไขมันจากตับสูงในระดับเดียวกับในระยะที่ถูกจำกัดอาหาร จากการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความเข้มข้น HDL-TAG ระหว่างกลุ่มโคทคลอง พบว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันมีค่าสูงกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3) แสดงว่า ในช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหาร โคสาวลูกผสมบราห์มันส่งไขมันออกจากตับสูงกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน

ตับโคเป็นอวัยวะที่มีการสังเคราะห์ไขมันต่ำมาก (Pethick *et al.*, 1984) ไขมันที่ตับส่งออกส่วนใหญ่ ได้มาจากกรดไขมันอิสระในกระแสเลือด ซึ่งตับรับเข้ามา ผลการทดลองพบว่า ตับส่งไขมันออกในระดับสูง แสดงว่า ช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร ตับนำกรดไขมันอิสระจากกระแสเลือดเข้ามาในปริมาณสูงเช่นเดียวกับในระยะการถูกจำกัดอาหาร จากการวัดระดับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ SGOT ในซีรัม (ตารางที่ 3) สนับสนุนปรากฏการณ์นี้ โดยพบว่า ช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร ระดับการทำงานของเอนไซม์ SGOT ในโคทคลองทั้งสองกลุ่มสูงกว่าในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร ($P < 0.05$) เนื่องจากระดับเอนไซม์ SGOT มีความสัมพันธ์กับการสะสมไขมันในตับ (Gröhn *et al.*, 1983) การที่ระดับการทำงานของเอนไซม์ SGOT เพิ่มขึ้น จึงเป็นไปได้ว่า ตับของโคทคลองสะสมไขมันเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของการสะสมไขมันนี้เป็นหลักฐานยืนยันว่า ในช่วงของการกลับมาได้รับอาหารเป็นปกติ ตับของโคทคลองทั้งสองกลุ่มนำกรดไขมันอิสระจากกระแสเลือดเข้ามาในปริมาณมาก การที่โคทั้งสองกลุ่มมีการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ตับ และเพิ่มระดับการส่งออกไขมันจากตับสูงขึ้น เป็นหลักฐานที่แสดงว่า ในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร ร่างกายโคใช้ไขมันที่สลายออกมา เป็นแหล่งพลังงานในระดับสูงเช่นเดียวกับในระยะที่ถูกจำกัดอาหาร

สำหรับค่าความเข้มข้นของ LDL-TAG ในซีรัมโคทคลอง พบว่า มีระดับต่ำไม่แตกต่างไปจากช่วงที่ถูกจำกัดอาหาร (ตารางที่ 3) สันนิษฐานว่า เกิดขึ้นเนื่องจากร่างกายโคนำโมเลกุล LDL เข้าสู่ภายในเซลล์ของร่างกายผ่าน LDL-receptor เพิ่มขึ้น โดยอาจมีสาเหตุเนื่องจากโคทคลองปรับตัวเพื่อให้สามารถใช้ไขมันภายในร่างกาย ให้สูงขึ้น

ผลการทดลองพบว่า ในช่วงที่โคทดลองกลับมาได้รับอาหาร ร่างกายมีกระบวนการใช้ไขมันแตกต่างกันไปจากภาวะปกติ ดับนำกรดไขมันอิสระจากกระแสเลือดเข้ามาในปริมาณมาก และเพิ่มระดับการส่งออกไขมันในรูป VLDL พบว่า ร่างกายโคมีการปรับตัวให้สามารถรับโมเลกุล LDL จากกระแสเลือดได้สูงขึ้น ผลการศึกษาแสดงว่า ในช่วงการกลับมาได้รับอาหาร โคทั้งสองกลุ่มเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย จากภาวะปกติ (ระยะก่อนการจำกัดอาหาร) ไปในลักษณะที่มีการใช้ไขมันที่ร่างกายสร้างขึ้น เป็นแหล่งพลังงาน

การศึกษาที่ 3 ผลการจำกัดอาหารต่อการสูญเสียน้ำหนักตัว และลักษณะการปรับตัวทางเมแทบอลิซึมของการใช้ไขมัน

ปริมาณการกินอาหารและพลังงานใช้ประโยชน์ของโคทดลอง ในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร และช่วงที่ถูกจำกัดอาหารแสดงใน ตารางที่ 4 ในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร โคสาวลูกผสมบราห์มันกินอาหารน้อยกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน อย่างไรก็ตาม ในช่วงที่ถูกจำกัดอาหาร โคทดลองทั้งสองกลุ่มมีระดับการกินอาหาร และ พลังงานใช้ประโยชน์ ไม่แตกต่างกัน โคทดลองกินอาหาร ในระดับพลังงาน 0.85 เท่า ของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ในการดำรงชีพ ตามที่คาดไว้ ในระยะนี้ โคทดลองอยู่ในสถานะของสมดุลพลังงานของร่างกายที่เป็นลบ (negative energy balance) ในระดับความรุนแรงที่เท่าเทียมกัน

ตลอดระยะเวลาของการจำกัดอาหารเป็นเวลานาน 20 วัน พบว่าโคทดลองทั้งสองกลุ่มมีการสูญเสียน้ำหนักตัว (ตารางที่ 5) โดยโคสาวลูกผสมบราห์มันสูญเสียน้ำหนักตัวมากกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน (12 เปรียบเทียบกับ 7.2 กิโลกรัม ตามลำดับ, $P < 0.05$) และเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวเริ่มต้นก่อนการจำกัดอาหาร โคสาวลูกผสมบราห์มันและโคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีการสูญเสียน้ำหนักตัว คิดเป็น 5.1 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวเริ่มต้นตามลำดับ

ในภาวะที่โคขาดแคลนอาหาร โคหน้าไขมันและโปรตีนที่สะสมในร่างกายออกมาใช้เป็นแหล่งพลังงานเพื่อชดเชยส่วนที่ขาดหายไป ส่งผลให้ไขมันและโปรตีนในอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของร่างกายโคลดลง ตารางที่ 6 แสดง ขนาดความหนาของชั้นไขมันใต้ผิวหนังและพื้นที่หน้าตัดของมัดกล้ามเนื้อสันนอก (*longissimus dorsi*) ของโคทดลอง ผลการทดลองพบว่า การจำกัดอาหารทำให้ความหนาของชั้นไขมันใต้ผิวหนังบริเวณสันหลังมีขนาดลดลง โดยโคทดลองทั้งสองกลุ่มมีเปอร์เซ็นต์การลดลงที่ไม่แตกต่างกัน ลักษณะเช่นนี้แสดงว่าโคทดลองทั้งสองกลุ่มสลายไขมันไป

ใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน สำหรับขนาดพื้นที่หน้าตัดของมัดกล้ามเนื้อส่วนนอก ผลการทดลองพบว่า เมื่อเริ่มต้นการจำกัดอาหาร โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีขนาดมัดกล้ามเนื้อส่วนนี้ใหญ่กว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน (ตารางที่ 6) สาเหตุอาจเกิดเนื่องจาก ความแตกต่างของน้ำหนักตัวของโคทดลองทั้งสองกลุ่ม รวมทั้งความแตกต่างของต้นกำเนิดของสายพันธุ์โค อย่างไรก็ตาม แม้ว่าโคสาวลูกผสมบราห์มันมีขนาดมัดกล้ามเนื้อส่วนนอกที่เล็กกว่า แต่ผลจากการทดลองพบว่า เมื่อจำกัดอาหาร ขนาดพื้นที่หน้าตัดของมัดกล้ามเนื้อส่วนนี้ในโคสาวลูกผสมบราห์มันลดลงไป 8.43 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่โคสาวพันธุ์กำแพงแสนสามารถรักษาขนาดของมัดกล้ามเนื้อส่วนนี้ไว้ได้ การลดลงของขนาดมัดกล้ามเนื้อส่วนนอก ในโคสาวลูกผสมบราห์มัน ซึ่งให้เห็นว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันนำโปรตีนจากกล้ามเนื้อ ไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งพลังงาน และเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้สูญเสียน้ำหนักตัวมากกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยลิสต์สแควร์ของปริมาณการกินอาหารในรูปวัตถุแห้งและพลังงานใช้ประโยชน์ในโคสาวพันธุ์กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มันในช่วงที่ถูกจำกัดอาหาร

| Item | Treatment Period | | SE ¹ |
|---|---------------------|--------------------|-----------------|
| | Full Feeding | Restricted Feeding | |
| Dry matter intake, (g/w ^{0.75} .day) | | | |
| - KPS | 123.0 ^{ax} | 57.6 ^b | 0.9 |
| - Bra | 116.0 ^{ay} | 57.0 ^b | 1.7 |
| Metabolizable energy intake, (kcal/ w ^{0.75} .day) | | | |
| - KPS | 241.2 ^{ax} | 112.9 ^b | 1.2 |
| - Bra | 231.8 ^{ay} | 109.1 ^b | 1.1 |

¹ Standard error.

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{x,y} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่อยู่ภายใต้พารามิเตอร์เดียวกันและมีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 5 น้ำหนักตัวเริ่มต้นและการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของโคสาวพันธุ์กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มัน (Bra) ในช่วงที่ถูกจำกัดอาหาร

| Item | Treatment Period | | SE ¹ |
|---------------------------|-------------------|---------------------|-----------------|
| | Full Feeding | Restricted Feeding | |
| Initial weight, (kg) | | | |
| - KPS | 263 | 285 | 6 |
| - Bra | 218 | 236 | 5 |
| Final weight, (kg) | | | |
| - KPS | 285 | 278 | 5 |
| - Bra | 236 | 224 | 6 |
| Body weight changes, (kg) | | | |
| - KPS | 21.4 ^a | -7.2 ^{bx} | 1.5 |
| - Bra | 18.0 ^a | -12.0 ^{by} | 1.4 |
| Body weight changes, (%) | | | |
| - KPS | 8.1 ^a | -2.5 ^{bx} | 1.3 |
| - Bra | 8.3 ^a | -5.1 ^{by} | 1.5 |

¹ Standard error.

^{a,b} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{x,y} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่อยู่ภายใต้พารามิเตอร์เดียวกันและมีอักษรไม่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ผลจากการวิเคราะห์หัตถการสลายไขมันในเนื้อเยื่อไขมัน ในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร และถูกจำกัดอาหารแสดงใน ตารางที่ 6 พบว่า การจำกัดอาหารทำให้อัตราการสลายไขมันเพิ่มขึ้น จากการเปรียบเทียบอัตราการสลายไขมันระหว่างกลุ่มโคทดลอง พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ผลการทดลองครั้งนี้ ชัดแย้งกับผลงานของ Pothoven *et al.* (1975) ซึ่งพบว่า อัตราการสลายไขมันในเนื้อเยื่อไขมันลดลงเมื่อโคถูกจำกัดอาหาร ลักษณะของผลการทดลองที่ขัดแย้งกันนี้ คาดว่าเกิดจากความแตกต่างของระดับความรุนแรงในการจำกัดอาหาร การทดลองของ Pothoven *et al.* (1975) ทำการจำกัดอาหารโคขุน ในระดับที่โคมีอัตราการเจริญเติบโต 67 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด ในขณะที่ในการทดลองครั้งนี้ โคทดลองทั้งสองกลุ่มถูกจำกัดอาหาร ให้ได้รับพลังงานต่ำกว่าความต้องการพลังงานในการดำรงชีพ ซึ่ง โคมีการสูญเสียน้ำหนักตัว O'Donovan (1984) รายงานว่า ระยะเวลาและความรุนแรงของการจำกัดอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อลักษณะการปรับตัวของโค

การสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันในร่างกายอยู่ภายใต้การควบคุมของการทำงานเอนไซม์ HSL (hormone-sensitive lipase) เอนไซม์นี้มีความสำคัญต่อ กระบวนการปรับตัวของสัตว์ในสภาพขาดแคลนพลังงาน McNamara *et al.* (1987) กล่าวว่ากิจกรรมของเอนไซม์ HSL มีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับสมดุลพลังงานของร่างกาย ผลการทดลองโดยการจำกัดอาหารเพื่อให้สมดุลพลังงานของโคทดลองเป็นลบ ยืนยันความสัมพันธ์นี้ และเช่นเดียวกัน ลักษณะการเพิ่มขึ้นของอัตราการสลายไขมันในภาวะที่โคถูกจำกัดอาหาร สอดคล้องกับขนาดความหนาของชั้นไขมันที่ลดลง

การเพิ่มขึ้นของอัตราการสลายไขมันภายในเนื้อเยื่อไขมัน ทำให้ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในพลาสมา (NEFA) รวมทั้งอัลบูมินเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 7) ผลการทดลองพบว่า ในวันที่ 20 ของการจำกัดอาหาร ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้นจากค่าปกติ (base line) ถึง 3 เท่า และไม่พบความแตกต่างของระดับความเข้มข้นนี้ระหว่างกลุ่มโคทดลอง ในภาวะที่กรดไขมันอิสระในกระแสเลือดมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น กรดไขมันอิสระเหล่านี้จะเข้าสู่ตับได้สูงขึ้นไปตามไปด้วย (Herdt *et al.*, 1988) กรดไขมันเหล่านี้ส่วนหนึ่งจะถูก re-esterification กลับมาเป็นไขมัน และส่งออกจกตับในรูป VLDL กรดไขมันอิสระส่วนที่เหลือจะถูกเอนไซม์ CPT I นำเข้าสู่ไมโทคอนเดรีย เพื่อใช้ในกระบวนการออกซิเดชัน และสร้างสารประกอบคีโตน

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ย ลีสท์สแควร์ และ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง ของอัตราการสลายไขมัน ความหนาของชั้นไขมันสันหลังและพื้นที่หน้าตัดมัดกล้ามเนื้อสันนอกของโคสาว พันธุ์กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มัน (Bra) ในช่วงถูกจำกัดอาหาร

| Item | Treatment Period | | | |
|---|---------------------|---------------------|-----------------|------------------------------|
| | Full Feeding | Restricted Feeding | SE ¹ | %Changes ² |
| Rate of lipolysis, (μ mol FFA/gm tissue/2 hrs) | | | | |
| - KPS | 1.049 ^a | 2.704 ^b | 0.226 | 173 \pm 25 |
| - Bra | 1.089 ^a | 3.054 ^b | 0.313 | 180 \pm 23 |
| Back fat thickness, (cm) | | | | |
| - KPS | 0.262 ^a | 0.200 ^b | 0.014 | 22.7 \pm 8.0 |
| - Bra | 0.265 ^a | 0.210 ^b | 0.013 | 20.6 \pm 7.3 |
| Loin area, (cm ²) | | | | |
| - KPS | 47.67 ^x | 47.22 ^x | 0.08 | 0.92 \pm 0.48 ^x |
| - Bra | 37.67 ^{ay} | 34.25 ^{by} | 0.07 | 8.43 \pm 3.37 ^y |

¹ Standard error.

² Mean \pm Standard error.

^{a,b} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{x,y} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่อยู่ภายใต้พารามิเตอร์เดียวกันและมีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P < 0.05)

ระดับความเข้มข้นของ BHBA ในพลาสมาแสดงใน ตารางที่ 7 ในวันที่ 10 ของการจำกัดอาหาร ค่าความเข้มข้นของ BHBA ในโคทดลองทั้งสองกลุ่มเพิ่มขึ้นจากค่าปกติ (base line) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) หลังจากนั้นในวันที่ 20 ของการจำกัดอาหาร พบว่า ค่าความเข้มข้นของ BHBA ในโคสาวพันธุ์กำแพงแสนเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ค่าความเข้มข้นของ BHBA ในโคสาวลูกผสมบราห์มันไม่เปลี่ยนแปลงไปจากค่าความเข้มข้นในวันที่ 10 เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ BHBA ระหว่างกลุ่มโคทดลอง พบว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีระดับความเข้มข้นของ BHBA ในพลาสมาสูงกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สิ่งที่น่าสนใจในกรณีของโคสาวลูกผสมบราห์มัน คือ การที่ความเข้มข้นของ BHBA มีระดับคงที่ภายหลังจากวันที่ 10 ของการจำกัดอาหาร ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้น Rule *et al.* (1985) รายงานว่าในโคเนื้อซึ่งถูกอดอาหาร ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ระดับความเข้มข้นของสารประกอบคีโตนเพิ่มขึ้นตามไปในลักษณะคู่ขนานกัน แต่จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของ BHBA ไม่สัมพันธ์กับปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระในกระแสเลือด อย่างน้อยในโคสาวลูกผสมบราห์มัน ลักษณะเช่นนี้แสดงให้เห็นว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันสามารถปรับกระบวนการทางเมแทบอลิซึมให้สามารถควบคุมปริมาณการสร้างสารประกอบคีโตนจากตับได้

Heitman *et al.* (1987) รายงานกลไกการควบคุมการสร้างสารประกอบคีโตนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง และเสนอความเห็นที่ สัตว์เคี้ยวเอื้องใช้กลไกในรูปแบบที่ไม่พึ่งพาฮอร์โมนอินซูลิน (insulin-independent mechanism) ในการควบคุมการผลิตสารคีโตน กลไกนี้ทำงานโดยอาศัยการเพิ่มกระบวนการ re-esterification กรดไขมันอิสระ ในไซโตซอลของเซลล์ตับ ให้อยู่ในรูป ไกมันไตรกลีเซอไรด์ ทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เข้าสู่ไมโทคอนเดรียลดลง และส่งผลต่อปริมาณการสร้างประกอบคีโตนในที่สุด (Zammit, 1990) จากข้อมูลการส่งออกไขมันจากตับในรูป VLDL ของการศึกษาที่ 2 สนับสนุนความจริงนี้ โดยพบว่า ในช่วงการจำกัดอาหารโคสาวลูกผสมบราห์มันสามารถส่งออกไขมันจากตับในรูป VLDL สูงกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ในกระบวนการเพิ่มการสังเคราะห์โมเลกุล VLDL ตับจำเป็นต้องนำกรดไขมันอิสระไปสังเคราะห์เป็นไตรกลีเซอไรด์ ในปริมาณที่สูงขึ้นตามไปด้วย ลักษณะเช่นนี้แสดงว่า ในตับของโคสาวลูกผสมบราห์มันมีอัตราการ re-esterification กรดไขมันอิสระสูงกว่าในโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ทำให้สามารถควบคุมปริมาณการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ไมโทคอนเดรียของเซลล์ และรักษาระดับการผลิตสารประกอบคีโตนไว้ได้ ด้วยเหตุผลนี้ โคสาวลูกผสมบราห์มันจึงมีระดับของ BHBA ในกระแส

เลือดไม่เปลี่ยนแปลง แม้ว่าระดับกรดไขมันอิสระในกระแสเลือดจะเพิ่มสูงขึ้น ภายหลังจากวันที่ 10 ของการจำกัดอาหารก็ตาม

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยลิสท์สแควร์ความเข้มข้นของระดับเมแทบอลิท์ ในพลาสมาโคสาวพันธุ์
กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มัน (Bra) ในช่วงที่ถูกจำกัดอาหาร

| Item | Treatment Period | | | SE ¹ |
|--------------------------------------|-------------------|---------------------|--------------------|-----------------|
| | Full Feeding | Restricted Feeding | | |
| | (base line) | (d 10) | (d 20) | |
| NEFA ² , (μ mol / l) | | | | |
| KPS | 127 ^a | 293 ^b | 350 ^b | 29 |
| Bra | 126 ^a | 315 ^b | 412 ^c | 26 |
| Albumin, (g / dl) | | | | |
| KPS | 4.0 ^a | 4.3 ^{ax} | 5.1 ^b | 0.1 |
| Bra | 3.9 ^a | 4.7 ^{by} | 4.9 ^b | 0.1 |
| BHBA ³ , (μ mol / l) | | | | |
| KPS | 162 ^a | 242 ^b | 326 ^{cx} | 16 |
| Bra | 166 ^a | 236 ^b | 242 ^{by} | 15 |
| PUN ⁴ , (mg / dl) | | | | |
| KPS | 10.8 ^a | 11.7 ^{abx} | 12.7 ^{bx} | 0.1 |
| Bra | 11.9 ^a | 15.7 ^{by} | 14.5 ^{by} | 0.1 |
| Glucose, (mg / dl) | | | | |
| KPS | 75.3 ^a | 58.3 ^{ab} | 48.1 ^{bx} | 3.6 |
| Bra | 78.4 | 64.4 | 71.1 ^y | 3.3 |

¹ Standard error. ² Non – esterified free fatty acid.

³ β - hydroxy butyrate. ⁴ Plasma urea – nitrogen.

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^{x,y} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่อยู่ภายใต้พารามิเตอร์เดียวกันและมีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจน และกลูโคสของโคทดลองทั้งสองกลุ่มแสดงใน ตารางที่ 7 พบว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนน้อยมาก ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสในพลาสมาลดต่ำกว่าค่ามาตรฐาน (base line) โดยเฉพาะในวันที่ 20 ของการจำกัดอาหาร ($P < 0.05$) ในทางกลับกัน โคสาวลูกผสมบราห์มัน ในภาวะที่ถูกจำกัดอาหาร มีระดับความเข้มข้นของพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนสูงขึ้น และรักษาระดับความเข้มข้นของกลูโคสในกระแสเลือดไว้ได้ ลักษณะความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารเมแทบอลิท์ทั้ง 2 ชนิดในโคทดลองทั้งสองกลุ่มนี้ คาดว่าเป็นผลที่เกิดขึ้นเนื่องจากความแตกต่างของการผลิตสารประกอบคีโตน

Robinson and Williamson (1980); Holtenius and Holtenius (1996) รายงานสอดคล้องกันว่า สารประกอบคีโตนมีผลในการยับยั้งกระบวนการสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อ และลดกระบวนการสังเคราะห์กลูโคส (gluconeogenesis) Palaiologos and Felig (1976) อธิบายกลไกการยับยั้งกระบวนการสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อโดยสารประกอบคีโตนว่า เกิดขึ้นจากสารประกอบคีโตนขัดขวางกระบวนการกลัยโคไลซิส (glycolysis) ในกล้ามเนื้อ ทำให้ปริมาณไพรูเวท (pyruvate) ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (intermediate) ที่สำคัญในกระบวนการทรานแอมมิเนชัน (transamination) ของกรดอะมิโนลดลง ส่งผลให้เกิดการชะลอตัวของกระบวนการสลายโปรตีนในเซลล์กล้ามเนื้อ สารประกอบคีโตนจึงมีผลในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์กลูโคสในทางอ้อม จากผลกระทดลองครั้งนี้ พบว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีระดับความเข้มข้นของ BHBA สูงกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน ในขณะที่มีระดับพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนและกลูโคสต่ำกว่า เป็นไปได้ว่า สารประกอบคีโตนซึ่งมีระดับสูงในโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ทำให้กระบวนการสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อลดลง และส่งผลต่อการสังเคราะห์กลูโคสที่ตับ ทำให้ความเข้มข้นของกลูโคสในกระแสเลือดต่ำ (hypoglycemia) ลักษณะเช่นนี้แตกต่างไปจากโคสาวลูกผสมบราห์มัน ซึ่งมีระดับความเข้มข้นของ BHBA ต่ำกว่า จึงสามารถสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อ และนำกรดอะมิโนที่ได้จากกระบวนการสลายโปรตีนไปใช้ในการสร้างกลูโคส ทำให้รักษาระดับความเข้มข้นของกลูโคสในกระแสเลือด (euglycemia) ไว้ได้ การที่โคสาวลูกผสมบราห์มันสามารถสลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อมาใช้เป็นแหล่งสร้างกลูโคส เป็นเหตุผลสำคัญที่ทำให้ขนาดกล้ามเนื้อสันนอกของโคสาวลูกผสมบราห์มันลดลง เมื่อถูกจำกัดอาหาร

Holtenius and Holtenius (1996) กล่าวถึง เหตุผลที่โคเพิ่มระดับการใช้สารประกอบคีโตน เป็นแหล่งพลังงานในภาวะขาดแคลนอาหารว่า เป็นวิธีการป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้นเนื่องมาจากการสูญเสียโปรตีนของกล้ามเนื้อ ซึ่งจะมีผลทำให้ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อลดลง อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองครั้งนี้ แสดงให้เห็นลักษณะการปรับตัวต่อสภาพการขาดแคลนอาหารของโคที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน โดยเฉพาะโคสาวลูกผสมบราห์มัน แตกต่างออกไป โดยโคพันธุ์นี้ผลิตสารประกอบคีโตนน้อย และสลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อ เพื่อรักษาสมดุลของกลูโคสภายในร่างกาย แสดงว่า ระดับกลูโคสในกระแสเลือดมีความสำคัญต่อการอยู่รอดของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ในช่วงระยะของการขาดแคลนอาหาร Robinson and Williamson (1980) รายงานว่า ในสภาวะปกติสมองใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ แต่ในช่วงที่ร่างกายขาดแคลนอาหาร สมองของสัตว์บางประเภท เช่น สุนัข หนูทดลอง และคน สามารถปรับเปลี่ยนไปใช้สารประกอบคีโตนเป็นแหล่งพลังงานได้ อย่างไรก็ตาม ในสัตว์เคี้ยวเอื้องไม่ได้เป็นเช่นนั้น มีรายงานที่แสดงให้เห็นว่าสมองของสัตว์เคี้ยวเอื้องใช้สารประกอบคีโตนเป็นแหล่งพลังงานได้น้อยมาก (Lindsay and Setchell, 1972; 1974; Pell and Bergman, 1983) เนื่องจากสมองจัดเป็นอวัยวะสำคัญของร่างกาย และมีความต้องการโภชนะสูงมาก (Allden, 1970; Elsasser *et al.*, 2000) การที่สมองของสัตว์เคี้ยวเอื้องมีความจำเพาะในการใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงาน แม้แต่ในสภาพที่ขาดแคลนอาหาร กลูโคสจึงมีความสำคัญต่อความอยู่รอดเป็นอย่างมาก การที่โคสาวลูกผสมบราห์มันสลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อ เพื่อนำไปสร้างเป็นกลูโคส สะท้อนให้เห็นความสำคัญของกลูโคสต่อกระบวนการปรับตัวของโคในเขตร้อน โดยเฉพาะการใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานของสมองที่อยู่ในภาวะที่วิกฤต มากกว่าความจำเป็นในการสวงน โปรตีนไว้ เพื่อความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ความสามารถในการปรับตัวภายใต้สภาวะของการขาดแคลนอาหารในโคเขตร้อน อาจขึ้นกับความสามารถในการรักษาสมดุลกลูโคสภายในร่างกาย

ภายใต้สภาวะการขาดแคลนอาหาร ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารประกอบคีโตนมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการปรับตัวทางเมแทบอลิซึมของร่างกาย โคที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน เช่น โคสาวลูกผสมบราห์มันหลีกเลี่ยงการผลิตสารประกอบคีโตนจำนวนมาก โดยอาศัยกลไกการควบคุมการสร้างสารประกอบคีโตน แบบไม่พึ่งพาฮอร์โมนอินซูลิน จากข้อมูลของการศึกษาครั้งนี้พบว่า ความสามารถในการส่งไขมันออกจากตับในรูปไลโปโปรตีนมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการควบคุมการผลิตสารประกอบคีโตน แม้ว่าการทดลองครั้งนี้จะยังไม่ทราบแน่ชัดถึงปัจจัยสำคัญ ที่ทำให้ความสามารถในการผลิตสารประกอบไลโปโปรตีนในโคทั้งสองสายพันธุ์แตกต่างกัน แต่จากข้อมูลของผลการทดลอง ทำให้คาดว่า ลักษณะความสามารถในการผลิต

สารประกอบไลโปโปรตีน เป็นกุญแจสำคัญในการปรับตัวทางเมแทบอลิคเพื่อความอยู่รอดของโคในเขตร้อน ภายใต้สภาวะการขาดแคลนอาหาร

การศึกษาที่ 4 ผลของการกลับมาได้รับอาหารต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวและลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอลิซึมของการใช้ไขมัน

เนื่องจากช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหารเป็นระยะต่อเนื่องกับช่วงที่โคถูกจำกัดอาหาร ดังนั้นในการนำเสนอ ผลและวิจารณ์ ของงานทดลองส่วนนี้ จึงนำข้อมูลบางส่วนในระยะที่โคถูกจำกัดอาหารเข้ามาประกอบในการพิจารณาร่วมด้วย

ปริมาณการกินอาหารและพลังงานใช้ประโยชน์ที่โคทดลองได้รับแสดงใน ตารางที่ 8 เนื่องจากในช่วง 7 วันแรกของการกลับมาได้รับอาหาร โคทดลองได้รับอาหารเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ เพื่อป้องกันความผิดปกติทางเมแทบอลิซึมที่อาจเกิดขึ้น ทำให้ค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารที่โคทดลองได้รับ ตลอดช่วงระยะของการกลับมาได้รับอาหาร มีค่าต่ำกว่าในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตาม สำหรับปริมาณการกินอาหารและพลังงานใช้ประโยชน์ที่โคทดลองทั้งสองกลุ่มได้รับ ในช่วงของการกลับมาได้รับอาหารนี้ ไม่มีความแตกต่างกัน

ผลการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวและอัตราการเปลี่ยนอาหารโคทดลองแสดงใน ตารางที่ 9 พบว่า เมื่อโคทดลองทั้งสองกลุ่มกลับมาได้รับอาหาร อัตราการเจริญเติบโตของโคไม่แตกต่างไปจากช่วงก่อนการจำกัดอาหาร ($P > 0.05$) แต่จากการศึกษาของ Thomson *et al.* (1982) พบว่า โคพันธุ์สวิสบราวน์ (Swiss Brown) ที่ผ่านการจำกัดอาหาร และต่อมา กลับมาได้รับอาหารเป็นปกติ มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าโคในกลุ่มควบคุม ซึ่งได้รับอาหารอย่างต่อเนื่อง สำหรับการศึกษานี้ เนื่องจาก อัตราการเจริญเติบโตของโคทดลองทั้งสองกลุ่ม ไม่แสดงผลแตกต่างไปจากช่วงก่อนการจำกัดอาหาร คาดว่า เป็นผลที่เกิดจากปริมาณอาหารซึ่งโคทดลองได้รับในช่วงนี้ต่ำกว่าในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร ทำให้ปริมาณโภชนาที่โคได้รับน้อยกว่า และส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโต เมื่อทำการเปรียบเทียบ อัตราการเจริญเติบโตระหว่างโคสาวพันธุ์กำแพงแสนกับโคสาวลูกผสมบราห์มัน พบว่า ช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหาร โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีแนวโน้มของอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน (720 เปรียบเทียบกับ 555 กรัม/วัน) อย่างไรก็ตาม ค่าความแตกต่างนี้ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 9) คาดว่า เกิดจากลักษณะการเจริญเติบโตของโคทดลองทั้งสองกลุ่มมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง และระยะเวลาที่ใช้ใน

การศึกษาสั้น (30 วัน) ทำให้ความแตกต่างของการเจริญเติบโตของโคทั้งสองกลุ่มแสดงผลได้ไม่ชัดเจน สำหรับอัตราการเปลี่ยนอาหาร ผลจากการทดลองแสดงว่า ในช่วงของการกลับมาได้รับอาหาร โคทดลองทั้งสองกลุ่มมีอัตราการเปลี่ยนอาหารดีกว่าในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร (ตารางที่ 9) โดยเฉพาะโคสาวลูกผสมบราห์มัน ซึ่งมีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารดีกว่าในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ลักษณะเช่นนี้สอดคล้องกับ การศึกษาของ Fox *et al.* (1972) ซึ่งพบว่า โคเนื้อพันธุ์เฮียร์ฟอร์ด (Hereford) ที่อยู่ในช่วงการเจริญเติบโตชดเชย มีอัตราการเปลี่ยนอาหารดีขึ้น

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยลิสต์สแควร์ของ ปริมาณการกินอาหาร ในรูปวัตถุแห้งและพลังงานใช้ประโยชน์ ในโคสาวพันธุ์กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มันในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร

| Item | Treatment Period | | | SE ¹ |
|--|---------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| | Full Feeding | Restricted Feeding | Realimentation | |
| | (d 32) | (d 20) | (d 30) | |
| Dry matter intake, (g/W ^{0.75} day) | | | | |
| - KPS | 123.0 ^{ax} | 57.6 ^b | 110.0 ^c | 0.86 |
| - Bra | 116.0 ^{ay} | 57.0 ^b | 108.0 ^c | 0.79 |
| Metabolizable energy intake, (kcal/ W ^{0.75} day) | | | | |
| - KPS | 241.2 ^{ax} | 112.9 ^b | 215.8 ^c | 1.7 |
| - Bra | 231.8 ^{ay} | 109.1 ^b | 211.4 ^c | 1.5 |

¹ Standard error.

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^{x,y} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่อยู่ภายใต้พารามิเตอร์เดียวกันและมีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ผลจากการวัดพื้นที่หน้าตัดมัดกล้ามเนื้อส่วนนอกของโคทดลองแสดงใน ตารางที่ 10 พบว่า ช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหารเป็นปกติ โคสาวลูกผสมบราห์มันมีขนาดพื้นที่หน้าตัดมัดกล้ามเนื้อส่วนนอกเพิ่มขึ้น 12.7 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่โคสาวพันธุ์กำแพงแสน มีขนาดการเปลี่ยนแปลงพื้นที่หน้าตัดมัดกล้ามเนื้อส่วนนี้ เพียง 1.8 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะความแตกต่างของการเพิ่มขนาดมัดกล้ามเนื้อส่วนนอกระหว่างโคทั้งสองพันธุ์ อาจเป็นผลสืบเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของมัดกล้ามเนื้อส่วนนี้ ในช่วงที่โคถูกจำกัดอาหารก่อนหน้านี้ Wilson and Osbourn (1960) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของร่างกายในช่วงที่ถูกจำกัดอาหารมีผลต่อ ลักษณะการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของร่างกายในช่วงการเจริญเติบโตซดเซย ในการทดลองนี้ เนื่องจากในช่วงที่โคถูกจำกัดอาหาร โคสาวลูกผสมบราห์มันมีขนาดพื้นที่หน้าตัดมัดกล้ามเนื้อส่วนนอกลดลง 8.43 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีขนาดของมัดกล้ามเนื้อไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ปรากฏการณ์นี้อาจเป็นเงื่อนไขสำคัญ ที่ทำให้ ช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีขนาดพื้นที่หน้าตัดมัดกล้ามเนื้อส่วนนอกเพิ่มขึ้นน้อยมาก ซึ่งถ้าเงื่อนไขนี้เป็นจริง แสดงว่า การเปลี่ยนแปลงขนาดมัดกล้ามเนื้อส่วนนอกช่วงของการเจริญเติบโตซดเซย อาจขึ้นอยู่กับลักษณะการเปลี่ยนแปลงขนาดของมัดกล้ามเนื้อส่วนนี้ในช่วงที่โคถูกจำกัดอาหารก่อนหน้านี้ ก็เป็นไปได้ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากในช่วงการกลับมาได้รับอาหาร โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างไปจากโคสาวลูกผสม บราห์มัน (ตารางที่ 9) แสดงว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีการสะสมโปรตีนในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน แต่อาจเป็นการสะสมในอวัยวะส่วนอื่นของร่างกาย

ผลจากการวัดความหนาชั้นไขมันใต้ผิวหนังบริเวณสันหลังแสดงใน ตารางที่ 10 พบว่า ในช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหาร ความหนาของชั้นไขมันส่วนนี้เพิ่มขึ้น โดยมีขนาดความหนาไม่แตกต่างไปจากช่วงก่อนการจำกัดอาหาร และเมื่อเปรียบเทียบความหนาของชั้นไขมันใต้ผิวหนังระหว่างโคทดลองทั้งสองกลุ่ม ไม่พบความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) สำหรับปริมาณเซลล์ไขมันใต้ผิวหนังบริเวณด้านข้างทวารหนัก พบว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันมีปริมาณเซลล์ไขมันใหญ่กว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ในทุกระยะของการทดลอง ซึ่งความแตกต่างนี้ เกิดขึ้นจากอิทธิพลของพันธุ์โค จากการคำนวณเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของปริมาณเซลล์ไขมัน ในช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหาร พบว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีค่าสูงกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีอัตราการสะสมไขมันภายในเซลล์ไขมันสูงกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากขนาดของเซลล์ไขมันในโคสาวพันธุ์กำแพงแสนต่ำกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน ทำให้ไม่พบความแตกต่างนี้ในขนาดความหนาของชั้นไขมันใต้ผิวหนังที่เพิ่มขึ้น เมื่อโคกลับมาได้รับอาหาร

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยลิสต์สแควร์ของน้ำหนักตัว เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหาร ในโคสาวพันธุ์กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มัน (Bra) ในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร

| Item | Treatment Period | | | SE ¹ |
|------------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-----------------|
| | Full Feeding | Restricted Feeding | Realimentation | |
| | (d 32) | (d 20) | (d 30) | |
| Initial weight ² , (kg) | | | | |
| - KPS | 263 | 285 | 278 | 5 |
| - Bra | 218 | 236 | 224 | 5 |
| Final weight ² , (kg) | | | | |
| - KPS | 285 | 278 | 300 | 5 |
| - Bra | 236 | 224 | 240 | 4 |
| Body weight changes, (kg) | | | | |
| - KPS | 21.4 ^a | -7.2 ^{bx} | 21.6 ^a | 1.9 |
| - Bra | 18.0 ^a | -12.0 ^{by} | 16.6 ^a | 2.0 |
| Body weight changes, (%) | | | | |
| - KPS | 8.1 ^a | -2.5 ^{bx} | 7.8 ^a | 0.5 |
| - Bra | 8.3 ^a | -5.1 ^{by} | 7.4 ^a | 0.4 |
| Average daily gain, (gm/day) | | | | |
| - KPS | 668 | - | 720 | 74 |
| - Bra | 562 | - | 555 | 67 |
| Feed / gain | | | | |
| - KPS | 12.15 | - | 10.87 | 0.82 |
| - Bra | 13.20 ^a | - | 10.34 ^b | 1.22 |

¹ Standard error.

² ไม่ได้เปรียบเทียบค่าทางสถิติ

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยในแวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{x,y} ค่าเฉลี่ยในแวนดั่งที่อยู่ภายใต้พารามิเตอร์เดียวกันและมีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่10 ค่าเฉลี่ย ลีสทัสแควร์ และ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของปริมาตรเซลล์ไขมัน ความหนาของชั้นไขมันสันหลัง และพื้นที่หน้าตัดมัดกล้ามเนื้อสันนอก ของโคสาวพันธุ์กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มัน (Bra) ในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร

| Item | Treatment Period | | | SE ¹ | % Change ² |
|-------------------------------|------------------------|------------------------------|--------------------------|-----------------|-----------------------|
| | Full Feeding (d 32) | Restricted Feeding (d 20) | Realimentation (d 30) | | |
| Fat cell volume, (pl) | | | | | |
| - KPS | 426 ^{ax} | 164 ^{bx} | 327 ^{ax} | 28 | 146±55 ^x |
| - Bra | 562 ^{ay} | 379 ^{by} | 493 ^{ay} | 27 | 32±17 ^y |
| Back fat thickness, (cm) | | | | | |
| - KPS | 0.262 ^a | 0.200 ^b | 0.284 ^a | 0.009 | 46±15 |
| - Bra | 0.265 ^a | 0.210 ^b | 0.265 ^a | 0.008 | 30±14 |
| Loin area, (cm ²) | | | | | |
| - KPS | 47.67 ^x | 47.22 ^x | 48.00 ^x | 0.41 | 1.8±3.5 ^x |
| - Bra | 37.67 ^{ay} | 34.25 ^{by} | 38.42 ^{ay} | 0.45 | 12.7±3.5 ^y |

¹ Standard error.

² เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงค่าสังเกต ในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร เมื่อเทียบจากช่วงที่ถูกจำกัดอาหารและค่า standard error

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{x,y} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่อยู่ภายใต้พารามิเตอร์เดียวกันและมีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ค่าอัตราการสลายไขมันของเนื้อเยื่อไขมันใต้ผิวหนังแสดงใน ตารางที่ 11 พบว่าช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหาร อัตราการสลายไขมันของโคทดลองทั้งสองกลุ่มอยู่ในระดับสูง ไม่แตกต่างกันไปจากช่วงที่โคถูกจำกัดอาหาร การที่อัตราการสลายไขมันมีระดับสูง อาจเกี่ยวกับการทำงานของระบบฮอร์โมนภายในร่างกาย Herdt (2000) รายงานว่า ขบวนการสลายไขมันภายในเนื้อเยื่อไขมันอยู่ภายใต้ระบบการทำงานของฮอร์โมนหลายชนิด ซึ่งในสภาวะของการกลับมาได้รับอาหาร กลุ่มฮอร์โมนที่อาจมีบทบาทในกระบวนการสลายไขมัน ได้แก่ กลุ่มฮอร์โมนไทรอยด์ซิน (thyroxine)

Greco and Stabenfeldt (2002) รายงานว่า สอร์โมนกลุ่มไทร็อกซีนมีผลในการกระตุ้นการสลายไขมันในเนื้อเยื่อไขมัน Blum *et al.* (1980) ศึกษาพบว่า ในช่วงการเจริญเติบโตของแกะระดับสอร์โมนไทร็อกซีนมีความสัมพันธ์กับภาวะสมดุลของพลังงานและในโตรเจนภายในร่างกาย นอกจากนี้ Fox *et al.* (1974); Blum *et al.* (1985) รายงานสอดคล้องกันว่า โคที่อยู่ในระยะของการเจริญเติบโตของแกะ มีระดับสอร์โมนไทร็อกซีนสูงกว่าโคปกติที่ไม่ถูกจำกัดอาหาร อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้ ไม่มีข้อมูลของระดับ สอร์โมนไทร็อกซีนในโคทดลอง ซึ่งเรื่องนี้น่าจะได้มีการศึกษาในลำดับต่อไป

จากผลการทดลองนี้พบว่า ในช่วงของการกลับมาได้รับอาหาร โคทดลองทั้งสองกลุ่มมีอัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันในระดับสูง เช่นเดียวกับในช่วงของการจำกัดอาหาร แต่ขณะเดียวกัน เนื้อเยื่อไขมันได้ผิวหนังมีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้น เหตุการณ์ทั้งสองอย่างซึ่งเกิดขึ้นพร้อมกันนี้ แสดงว่า ในช่วงการกลับมาได้รับอาหาร ร่างกายโคมีอัตราการหมุนเวียน (turnover rate) ของไขมันภายในเนื้อเยื่อไขมันสูงขึ้น ลักษณะนี้ สอดคล้องกับลักษณะการเปลี่ยนแปลงซีรัมไลโปโปรตีน ซึ่งผลจากการศึกษาที่ 2 พบว่า โคทดลองทั้งสองกลุ่มส่งออกไขมันในรูปแบบ VLDL ออกจากตับสูงกว่าในระยะปกติ (ระยะก่อนการจำกัดอาหาร) ข้อมูลนี้ชี้ให้เห็นว่า โคทั้งสองกลุ่มนำไขมันที่สร้างขึ้นมาใช้ประโยชน์ภายในร่างกายสูง

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยลีทีสแควร์ของอัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันในโคสาวพันธุ์กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มัน (Bra) ในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร

| Item | Treatment Period | | | SE ¹ |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| | Full Feeding | Restricted Feeding | Realimentation | |
| | (d 32) | (d 20) | (d 30) | |
| Rate of lipolysis, (μ mol FFA/gm tissue/2 hrs) | | | | |
| - KPS | 1.049 ^a | 2.704 ^b | 2.262 ^b | 0.305 |
| - Bra | 1.089 ^a | 3.054 ^b | 2.771 ^b | 0.278 |

¹ Standard error.

^{a,b} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับเมแทบอลิซึมในกระแสเลือด แสดงใน ตารางที่ 12 พบว่า ช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหาร อัลบูมินซึ่งเป็นโปรตีนที่มีบทบาทในกระบวนการขนส่งกรดไขมันอิสระภายในร่างกาย มีความเข้มข้นสูงกว่าในช่วงก่อนที่โคจะถูกจำกัดอาหาร (base line) ระดับความเข้มข้นของอัลบูมินที่สูงนี้เป็นหลักฐานอีกชิ้นหนึ่งที่ยืนยันว่า ในช่วงนี้กระบวนการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันมีอัตราสูงกว่าปกติ ทั้งนี้เนื่องจาก การสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันเป็นจำนวนมาก จะทำให้ระดับอัลบูมินในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น เพื่อรองรับปริมาณกรดไขมันอิสระในพลาสมาที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม เมื่อวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในพลาสมา กลับปรากฏว่า ค่าความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระ ในพลาสมาโคทดลองช่วงนี้ ไม่แตกต่างไปจากช่วงก่อนการจำกัดอาหาร (ตารางที่ 12) การที่เนื้อเยื่อไขมันมีอัตราการสลายไขมันสูง แต่ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในพลาสมาต่ำ สันนิษฐานว่า เกิดขึ้นเนื่องจาก กรดไขมันอิสระถูกนำเข้าสู่อวัยวะต่าง ๆ ภายในร่างกาย Pethick *et al.* (1987); Pethick and Dunshea (1993) รายงานลักษณะการนำกรดไขมันอิสระเข้าไปใช้เป็นแหล่งพลังงานภายในกล้ามเนื้อว่า ขึ้นกับสรีรสภาพของสัตว์ในขณะนั้น จากรายงานดังกล่าว พบว่า แกะที่ถูกจำกัดอาหารหรือถูกบังคับให้ออกกำลังภายในร่างกาย นำกรดไขมันอิสระเข้าไปในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น โดยในช่วงที่ออกกำลังภายในร่างกาย นำกรดไขมันเข้าสู่กล้ามเนื้อสูงกว่าในระยะที่ถูกจำกัดอาหาร อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีข้อมูลที่แสดงให้เห็นว่า โคที่อยู่ในช่วงการเจริญเติบโตชดเชยเพิ่มอัตราการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ร่างกายจากภาวะปกติหรือไม่ ซึ่งเรื่องนี้ควรจะได้มีการศึกษาเพิ่มเติม เมื่อเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระระหว่างโคทดลองทั้งสองกลุ่มพบว่า ช่วงของการกลับมาได้รับอาหาร โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในพลาสมาต่ำกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน ($P < 0.05$) (ตารางที่ 12) เนื่องจากโคทั้งสองกลุ่มมีอัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันสูง และไม่แตกต่างกัน การที่ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในพลาสมาของโคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีค่าต่ำกว่า สันนิษฐานว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนนำกรดไขมันอิสระภายในกระแสเลือดเข้าสู่เซลล์ของกล้ามเนื้อ และอวัยวะภายใน ได้มากกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน

ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ยลิสทีสที่สแควร์ความเข้มข้นของระดับเมแทบอลิไทน์ในพลาสมาของโคสาวพันธุ์
กำแพงแสน (KPS) และโคสาวลูกผสมบราห์มัน (Bra) ในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร

| Item | Treatment Period | | | SE ¹ |
|------------------------------------|------------------------|------------------------------|--------------------------|-----------------|
| | Full Feeding (d 32) | Restricted Feeding (d 20) | Realimentation (d 30) | |
| BHBA ² , (μ mol/l) | | | | |
| - KPS | 162 ^a | 326 ^b | 210 ^a | 12 |
| - Bra | 166 ^a | 242 ^b | 200 ^{ab} | 11 |
| Glucose, (mg/dl) | | | | |
| - KPS | 75.3 ^a | 48.1 ^{bx} | 71.1 ^a | 3.9 |
| - Bra | 78.4 | 71.1 ^y | 72.0 | 3.6 |
| NEFA ³ , (μ mol/l) | | | | |
| - KPS | 127 ^a | 350 ^b | 86 ^{ax} | 23 |
| - Bra | 126 ^a | 412 ^b | 174 ^{ay} | 21 |
| Albumin, (g/dl) | | | | |
| - KPS | 4.0 ^a | 5.1 ^b | 4.5 ^c | 0.1 |
| - Bra | 3.9 ^a | 4.9 ^b | 4.6 ^c | 0.1 |
| PUN ⁴ , (mg/dl) | | | | |
| - KPS | 10.8 ^a | 12.7 ^{bx} | 9.2 ^{cx} | 0.18 |
| - Bra | 11.9 ^a | 14.5 ^{by} | 11.3 ^{ay} | 0.18 |

¹ Standard error.

² Non-esterified free fatty acid.

³ β -hydroxybutyrate.

⁴ Plasma urea-nitrogen.

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรไม่เหมือนกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{x,y} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่อยู่ภายใต้พารามิเตอร์เดียวกันและมีอักษรไม่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ผลจากการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของ BHBA ในพลาสมาโคทลดลง ปรากฏว่า ความเข้มข้นลดลงมาอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างไปจากช่วงก่อนการจำกัดอาหาร (ตารางที่ 12) จากผลการทดลองพบว่า ในช่วงนี้ เนื้อเยื่อไขมันสลายไขมันออกมาเป็นจำนวนมาก และดับนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่เซลล์ตับสูง ซึ่งน่าจะส่งผลให้ระดับการผลิตสารประกอบคีโตนของตับสูงขึ้น แต่จากการทดลองพบว่าโคมีระดับการผลิตสารประกอบคีโตนลดลง แสดงว่า ปริมาณกรดไขมันอิสระที่ดับนำเข้าสู่กระบวนการสังเคราะห์สารประกอบคีโตนภายในไมโทคอนเดรียของเซลล์ลดลง ลักษณะเช่นนี้เป็นไปได้ว่า กลไกในการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ไมโทคอนเดรียของเซลล์ตับอาจถูกยับยั้ง Zammit (1990) รายงานว่า กรดโปรไพโอเนิก (propionic acid) ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน รวมทั้ง methyl malonyl-CoA ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่เปลี่ยนแปลงมาจากกรดโปรไพโอเนิก สามารถยับยั้ง การทำงานของเอนไซม์ CPT I ในการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ไมโทคอนเดรียของเซลล์ตับ เนื่องจากช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหาร ระดับการกินอาหารของโคเพิ่มสูงขึ้นกว่าช่วงที่โคถูกจำกัดอาหาร ปัจจัยนี้อาจทำให้ ระดับกรดโปรไพโอเนิกรวมทั้ง methyl malonyl-CoA สูงพอที่จะยับยั้ง การนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ไมโทคอนเดรียของเซลล์ตับ หลักฐานที่ยืนยันว่าระดับกรดโปรไพโอเนิกเพิ่มสูงขึ้น คือ ระดับความเข้มข้นของกลูโคสภายในกระแสเลือด ซึ่งผลจากการทดลองพบว่า ระดับกลูโคสในกระแสเลือดของโคทั้งสองกลุ่มอยู่ในระดับเดียวกับในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร(ตารางที่ 12) Brockman (1993) รายงานว่า ภายใต้อาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องได้รับอาหารเป็นปกติ กลูโคสภายในร่างกายได้มาจากกระบวนการสังเคราะห์กลูโคส (gluconeogenesis) ภายในตับ ซึ่งใช้กรดโปรไพโอเนิกเป็นสารตั้งต้น ดังนั้น การที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสในพลาสมาโคทลดลงมีระดับไม่แตกต่างจากช่วงก่อนการจำกัดอาหาร เป็นหลักฐานแสดงว่า ระดับกรดโปรไพโอเนิกภายในเซลล์ตับ สูงขึ้น และอาจยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CPT I

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนระหว่างระยะการทดลอง (ตารางที่ 12) พบว่า ในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีค่าความเข้มข้นต่ำกว่าในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร ($P < 0.05$) ค่าความเข้มข้นของพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจน เป็นค่าที่ชี้ระดับการสลายโปรตีนภายในร่างกาย การที่โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีค่าความเข้มข้นของพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนต่ำลง แสดงว่า ในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร โคสาวพันธุ์กำแพงแสน มีกระบวนการสลายโปรตีนภายในร่างกายลง Fox *et al.* (1972) รายงานว่า โคพันธุ์เฮียร์ฟอร์ด ที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตชดเชย มีค่าพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนต่ำกว่า กลุ่มควบคุมซึ่งไม่ถูกจำกัดอาหาร และมีระดับการสะสมโปรตีนในร่างกายสูงกว่าปกติ เช่นเดียวกับ ผลการศึกษาของ

Thomson *et al.* (1982) และ Wright and Russel (1991) ซึ่งพบว่า โคที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโต ชดเชยมีระดับการสะสมโปรตีนภายในร่างกายสูงขึ้น เป็นไปได้ว่า ในลักษณะของการเจริญเติบโต ชดเชย โคซึ่งมีระดับการสะสมโปรตีนสูงขึ้น เกิดจากสาเหตุที่อัตราการสลายโปรตีนในร่างกาย ลดลง Garlick (1980) รายงานว่า กระบวนการสะสมโปรตีนขึ้นอยู่กับอัตราการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis) และอัตราการสลายโปรตีน (protein degradation) ภายในร่างกาย การลดลงของอัตราการสลายโปรตีน ทำให้สัตว์สะสมโปรตีนในร่างกายสูงขึ้น ผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า อัตราการสลายโปรตีนภายในร่างกายของโคสาวพันธุ์กำแพงแสนลดลง และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารดีขึ้น จึงอาจเป็นไปได้ว่า ลักษณะการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว ในช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหาร สัมพันธ์กับระดับการสลายโปรตีนในร่างกายที่ลดลง

จากการเปรียบเทียบ ค่าความเข้มข้นของพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนระหว่างกลุ่มโคทดลอง ในช่วงที่กลับมาได้รับอาหาร ผลปรากฏว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนมีค่าต่ำกว่า โคสาวลูกผสม บราห์มัน (ตารางที่ 12) ($P < 0.05$) ข้อมูลนี้แสดงว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนสลายโปรตีนภายในร่างกายต่ำกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน สาเหตุคาดว่า เกิดจากโคสาวพันธุ์กำแพงแสน นำกรดไขมันอิสระจากกระแสเลือดเข้าไปในร่างกายสูงกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน Pethick *et al.* (1984) รายงานว่า กล้ามเนื้อที่ใช้กรดไขมันเป็นแหล่งพลังงานจะทำให้ระดับการสลายโปรตีนภายใน กล้ามเนื้อนั้นลดลง โดยเกิดจาก กล้ามเนื้อเมื่อใช้ไขมันเป็นแหล่งพลังงาน จะทำให้กระบวนการใช้ กลูโคสภายในเซลล์กล้ามเนื้อลดลง (sparing glucose effect) และ ส่งผลให้ระดับกลูโคสภายใน เซลล์สะสมสูงขึ้น ดังนั้นความจำเป็นที่ร่างกายจะสลายโปรตีนเพื่อนำไปใช้ในการสังเคราะห์ กลูโคสที่ดับจึงลดลงตามไปด้วย ร่างกายสามารถสงวนโปรตีนภายในเซลล์ได้ นอกจากนี้ Tischeler (1980) รายงานว่า กล้ามเนื้อกระบังลม (diaphragm) ของหนูทดลอง เมื่อถูกกระตุ้นให้เกิด สภาวะ redox potential ภายในสูงขึ้น จะลดระดับการสลายโปรตีนลง ในกรณีนี้จึงอาจเป็นไปได้ อีกทางหนึ่งว่า การที่โคสาวพันธุ์กำแพงแสนนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่อวัยวะภายในร่างกายสูงขึ้น อาจกระตุ้นให้สภาวะ redox potential ภายในเซลล์สูงขึ้นตามไปด้วย ทั้งนี้เพราะ กรดไขมันเมื่อนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน โดยกระบวนการ β -oxidation จะทำให้ระดับ NADH สูงขึ้น และอาจ ส่งผลต่อ การเพิ่มขึ้นของระดับ redox potential ภายในเซลล์ ทำให้กระบวนการสลายโปรตีน ภายในร่างกายของโคลดลง ก็เป็นไปได้

จากข้อมูล การลดลงของกระบวนการสลายโปรตีนภายในร่างกายของโคพันธุ์กำแพงแสน แสดงให้เห็นว่า เมื่อกรดไขมันอิสระถูกนำเข้าสู่ภาวะภายในร่างกายในปริมาณที่มากพอ ทำให้อัตราการสลายโปรตีนของร่างกายลดลง กลไกในการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ร่างกาย อาจเป็นกลไกสำคัญในการสงวนโปรตีนภายในร่างกายของโค และช่วยให้โคมีการสะสมโปรตีนเพิ่มขึ้น ในระยะของการเจริญเติบโตชัดเจน ก็เป็นไปได้ อย่างไรก็ตาม แม้ว่าผลการทดลองจะชี้ให้เห็นว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนสามารถนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ภาวะภายในร่างกายได้สูง และลดกระบวนการสลายโปรตีนภายในร่างกายลง แต่จากข้อมูลการเปลี่ยนแปลงขนาดพื้นที่หน้าตัดของมัดกล้ามเนื้อสันนอกในช่วงของการกลับมาได้รับอาหาร ผลกลับปรากฏว่า มัดกล้ามเนื้อส่วนนี้มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก เป็นไปได้ว่า การสะสมโปรตีนของร่างกาย ในช่วงที่การกลับมาได้รับอาหารของโคพันธุ์นี้อาจเกิดขึ้นในอวัยวะส่วนอื่น Bulter-Hogg (1984); Carstens *et al.* (1991) รายงานสอดคล้องกันว่า การสะสมโปรตีนในช่วงของการเจริญเติบโตชัดเจนของแกะและโค ส่วนใหญ่เกิดขึ้นในอวัยวะเครื่องใน (visceral organ) มากกว่าส่วนที่เป็นกล้ามเนื้อ ในงานทดลองครั้งนี้ เนื่องจาก การประเมินการสะสมโปรตีนในร่างกายโคทดลอง ทำโดยวัดการเปลี่ยนแปลงขนาดพื้นที่หน้าตัดของมัดกล้ามเนื้อสันนอกเพียงตำแหน่งเดียว ซึ่งตำแหน่งนี้เป็นตำแหน่งที่โคสาวพันธุ์กำแพงแสนไม่ตอบสนองต่อสภาวะการจำกัดอาหาร ทำให้ข้อมูลการสะสมโปรตีนในร่างกายไม่กระจ่างชัดเพียงพอที่ใช้ยืนยัน ผลของการสะสมโปรตีนภายในร่างกายในโคพันธุ์นี้ได้ อย่างชัดเจน

ผลการทดลองครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า ในช่วงที่โคทดลองกลับมาได้รับอาหาร โคสาวทั้งสองพันธุ์นำไขมันที่สร้างขึ้นภายในเนื้อเยื่อไขมันมาใช้เป็นแหล่งพลังงานของร่างกายค่อนข้างสูง ลักษณะนี้แสดงออกโดยการเพิ่มอัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน รวมทั้งเพิ่มระดับการส่งออกไขมันจากตับสูงขึ้นกว่าภาวะปกติ การเพิ่มขึ้นของระดับการใช้ไขมันภายในร่างกายเป็นแหล่งพลังงาน ส่งผลให้โคสาวทั้งสองกลุ่มมีอัตราการเปลี่ยนอาหารดีขึ้น จากข้อมูลระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในพลาสมา และพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจน ชี้ให้เห็นว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนสามารถนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ภาวะต่างๆภายในร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ และลดกระบวนการสลายโปรตีนภายในร่างกายลง คาดว่า กลไกนี้อาจจะมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับลักษณะของการเจริญเติบโตชัดเจนที่เกิดขึ้นเมื่อโคกลับมาได้รับอาหารเป็นปกติ จากลักษณะการเปลี่ยนแปลงระดับเมแทบอลิซึมภายในกระแสเลือด ชี้ให้เห็นว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสนสามารถสงวนโปรตีนภายในร่างกายในช่วงของการกลับมาได้รับอาหารมากกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน

สรุป

ในการศึกษาผลของสมมูลพลังงานต่อลักษณะการปรับตัวของกระบวนการใช้ไขมันภายในร่างกายของโคสาวพันธุ์กำแพงแสนและโคสาวลูกผสมบราห์มัน แบ่งการทดลองเป็น 3 ระยะ คือ

1. ระยะก่อนการจำกัดอาหาร

เป็นระยะเริ่มต้นของการทดลองโดยโคได้รับอาหารในระดับ 1.8 เท่าของพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีพ ลักษณะการเจริญเติบโต รวมทั้งระดับเมแทบอลิซึมในกระแสเลือดของโคทดลองทั้งสองกลุ่มในระยะนี้ ถือเป็นค่ามาตรฐานของโคที่อยู่ในสภาพปกติ

2. ระยะจำกัดอาหาร

เป็นระยะที่โคสาวอยู่ในสภาพสมมูลพลังงานเป็นลบ พบว่า เมื่อจำกัดอาหารโคในระดับ 0.85 เท่าของพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีพ โคสาวลูกผสมบราห์มันมีลักษณะการใช้ไขมันภายในร่างกายแตกต่างไปจากโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ลักษณะการใช้ไขมันภายในร่างกายของโคทดลองทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกัน คือ ความสามารถในการส่งไขมันออกจากตับในรูปไลโปโปรตีน จากการศึกษาพบว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันส่งออกไขมันจากตับได้สูงกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ทำให้ระดับการผลิตสารประกอบคีโตนของโคทดลองทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกัน โดยโคสาวลูกผสมบราห์มันมีระดับความเข้มข้นของ BHBA ในกระแสเลือดต่ำกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ทั้งนี้ในขณะที่ถูกจำกัดอาหารนั้น โคสาวทั้งสองกลุ่มมีอัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันได้ผิวหนัง และระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในกระแสเลือดไม่แตกต่างกัน

การที่โคสาวลูกผสมบราห์มันสามารถควบคุมการผลิตสารประกอบคีโตนในตับไม่ให้สูงเกินไป ทำให้ร่างกายสามารถสลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อมาใช้เป็นแหล่งสำคัญในการผลิตกลูโคส จากการศึกษาพบว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันสามารถรักษาสมดุลของกลูโคสในกระแสเลือดไว้ได้ ลักษณะเช่นนี้แตกต่างไปจากโคสาวพันธุ์กำแพงแสน ซึ่งมีระดับความเข้มข้นของ BHBA ในกระแสเลือดสูง ทำให้สลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อได้น้อย และก่อให้เกิดภาวะน้ำตาลภายในกระแสเลือดลดต่ำลง (hypoglycemia)

เนื่องจากโคทคลองทั้งสองกลุ่มมีระดับการสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อแตกต่างกัน ทำให้น้ำหนักตัวโคทคลองลดลงแตกต่างกัน ผลการทดลองพบว่าโคสาวลูกผสมบราห์มันสูญเสีย น้ำหนักตัวมากกว่าโคสาวพันธุ์กำแพงแสน แม้ว่าการสูญเสียโปรตีนจากกล้ามเนื้อจะทำให้ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อลดลง แต่เมื่อพิจารณาในอีกแง่มุมหนึ่ง การที่โคนำโปรตีนจากกล้ามเนื้อมาใช้ประโยชน์และสูญเสียน้ำหนักตัวเป็นไปอย่างรวดเร็ว ทำให้ความต้องการพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีพลดต่ำลงไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจากพลังงานที่โคใช้ในการดำรงชีพผันแปรไปตามน้ำหนักตัว วิธีนี้จะช่วยให้โคสามารถปรับตัวให้เข้าสู่สมดุลของพลังงานได้เร็วขึ้น สิ่งที่สำคัญยิ่งไปกว่านั้นคือ ในระหว่างที่สมดุลพลังงานภายในร่างกายเป็นลบ การสลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อทำให้โคสามารถรักษาสมดุลของกลูโคสภายในร่างกายได้ เนื่องจากกลูโคสเป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการทำงานของสมองในสัตว์เคี้ยวเอื้อง การรักษาสมดุลของกลูโคสภายในร่างกายจึงอาจหมายถึงความสามารถในการปรับตัวของโคเพื่อความอยู่รอดในสภาพที่เร็นเค้น ซึ่งมีความสำคัญมากกว่าความพยายามรักษาโปรตีนไว้ เพื่อความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ

แม้ว่าข้อมูลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า โคสาวทั้งสองพันธุ์มีระดับการส่งออกไขมันจากตับที่แตกต่างกัน แต่ยังไม่มียข้อมูลที่ทำให้ทราบแน่ชัดว่า ปัจจัยใดที่ทำให้ความสามารถในการส่งออกไขมันจากตับในโคทั้งสองสายพันธุ์นี้แตกต่างกัน ซึ่งเรื่องนี้ควรจะได้มีการศึกษาในลำดับต่อไป

3. ระยะของการกลับมาได้รับอาหาร

เป็นระยะที่โคสาวกลับเข้าสู่ภาวะสมดุลพลังงานเป็นบวกอีกครั้ง ระยะนี้ต่อเนื่องจากระยะที่โคทคลองถูกจำกัดอาหาร โดยโคสาวทดลองได้รับอาหารในระดับ 1.8 เท่าของพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีพ เช่นเดียวกับที่ได้รับในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร ผลการศึกษาพบว่าโคทคลองทั้งสองกลุ่ม มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีขึ้นกว่าช่วงก่อนการจำกัดอาหาร ข้อมูลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า ในระยะของการเจริญเติบโตชดเชยโคทคลองมีอัตราการหมุนเวียนไขมัน (rate of turnover) ภายในเซลล์ไขมันสูงขึ้น โดยพบว่าโคทคลองทั้งสองกลุ่มมีอัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันสูงกว่าในช่วงระยะก่อนการจำกัดอาหาร และในขณะเดียวกันเซลล์ไขมันรวมทั้งความหนาของชั้นไขมันใต้ผิวหนังบริเวณสันหลังมีขนาดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ลักษณะเช่นนี้แสดงว่า โคทคลองมีอัตราการสร้างและอัตราการสลายไขมัน จากเนื้อเยื่อไขมันออกมาใช้ประโยชน์สูง การที่เนื้อเยื่อไขมันมีอัตราการสลายไขมันสูง ส่งผลให้ตับนำกรดไขมันอิสระเข้ามามากขึ้น ซึ่งจาก

ผลการทดลองพบว่า โคทคลองทั้งสองกลุ่มมีระดับของเอนไซม์ SGOT ในกระแสเลือดสูงขึ้น และมีระดับการส่งออกไลโปโปรตีน ออกจากตับสูงกว่าในช่วงก่อนการจำกัดอาหาร ลักษณะเช่นนี้ชี้ให้เห็นว่า ในช่วงของการกลับมาได้รับอาหาร โคณาไขมันที่ร่างกายสร้างขึ้นมาใช้เป็นแหล่งพลังงานสำคัญของร่างกาย

ผลจากการใช้ไขมันสะสมในร่างกายเป็นแหล่งพลังงาน ส่งผลทำให้กระบวนการสลายโปรตีนลดลง จากการศึกษาแสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจน ในโคสาวพันธุ์กำแพงแสนซึ่งมีระดับกรดไขมันอิสระในกระแสเลือดและพลาสมาอยู่เร็ว-ในโตรเจนต่ำกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มันในระยะเดียวกัน แสดงว่า โคสาวพันธุ์กำแพงแสนสามารถนำกรดไขมันอิสระ เข้าสู่กล้ามเนื้อ และเซลล์ของอวัยวะในร่างกาย ได้สูง ทำให้อัตราการสลายโปรตีนของร่างกายลดลง แม้ว่าโคทคลองทั้งสองกลุ่มจะมีอัตราการเจริญเติบโต ในช่วงสั้นๆไม่แตกต่างกัน แต่จากลักษณะการเปลี่ยนแปลงระดับเมแทบอลิซึมในร่างกาย แสดงให้เห็นว่า โคสาวกำแพงแสนมีความสามารถในการสวงนโปรตีนภายในร่างกาย ในช่วงการเจริญเติบโตชดเชย มากกว่าโคสาวลูกผสมบราห์มัน

จากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า ความแตกต่างในการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่เซลล์ภายในร่างกายโคในช่วงการเจริญเติบโตชดเชย มีผลต่อการเพิ่มศักยภาพในการสะสมโปรตีนภายในร่างกาย อย่างไรก็ตาม กลไกที่มีผลต่อความสามารถในการนำกรดไขมันร่างกายเข้าสู่ร่างกายในระยะของการเจริญเติบโตชดเชยนี้ ยังไม่ทราบแน่ชัด ซึ่งเรื่องนี้ควรจะได้มีการศึกษาในลำดับต่อไป

ข้อเสนอแนะ

จากข้อมูลการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของเมแทบอลิท์ของโคสาวทั้งสองพันธุ์ ภายใต้สภาวะการจำกัดอาหารชี้ให้เห็นว่า ระดับการเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในกระแสเลือด สามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดระดับความรุนแรงของการขาดแคลนอาหาร ได้แม่นยำกว่าการใช้ระดับเมแทบอลิท์ตัวอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจากโคทดลองทั้งสองพันธุ์ เมื่อถูกจำกัดอาหารในระดับความรุนแรงที่เท่าเทียมกัน (0.85 เท่าของพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีวิต) ผลการทดลองพบว่า ระดับการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ BHBA กลูโคสและพลาสมายูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือดซึ่งจัดเป็นสารเมแทบอลิท์ที่เกี่ยวกับสภาพสมดุลของพลังงานในร่างกาย มีระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ การนำค่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารเมแทบอลิท์ดังกล่าว มาประเมินความรุนแรงของภาวะการขาดแคลนอาหารของโค อาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้ ลักษณะเช่นนี้แตกต่างไปจากการใช้ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในกระแสเลือด เป็นตัวชี้วัดสภาพการขาดแคลนอาหารในโค ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า โคทั้งสองพันธุ์เมื่อถูกจำกัดอาหารมีระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกัน ข้อมูลนี้ชี้ให้เห็นว่า อิทธิพลของสายพันธุ์โค ไม่มีผลต่อระดับการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันอิสระที่เพิ่มขึ้น ในสภาพที่ถูกจำกัดอาหาร

ในการศึกษารุ่นนี้การวัดระดับการสะสมไขมันที่เพิ่มขึ้นภายในตับ โดยใช้ระดับการทำงานของเอนไซม์ SGOT ภายในซีรัมเป็นตัวชี้วัด พบว่า ในช่วงของการจำกัดอาหารโคทั้งสองกลุ่มมีระดับการส่งออกไขมันจากตับที่แตกต่างกัน แต่ระดับการทำงานของเอนไซม์ SGOT กลับไม่แสดงผลความแตกต่างอย่างชัดเจน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ การใช้ระดับการทำงานของเอนไซม์ SGOT เป็นการวัดทางอ้อม จึงอาจมีปัจจัยที่ยังไม่ทราบแน่ชัดในการทดลองครั้งนี้เข้ามารบกวน ทำให้ผลที่ได้ออกมาไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ดังนั้น ในการศึกษาระดับการสะสมไขมันภายในตับที่นำไปสู่ผลชัดเจน จึงควรใช้วิธีการวัดโดยอาศัยเทคนิคการทำ biopsy เนื้อเยื่อตับ และสกัดไขมันออกจากตัวอย่างเนื้อเยื่อตับมาตรวจสอบ อันเป็นวิธีการวัดโดยตรงจะให้ความแม่นยำมากกว่า

แม้ว่าในการทดลองครั้งนี้ ระดับการทำงานของเอนไซม์ SGOT ไม่สามารถยืนยันผลของการสะสมไขมันภายในตับได้อย่างชัดเจน แต่การที่ระดับการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้เพิ่มสูงขึ้นในช่วงนี้โคกลับมาได้รับอาหาร (ซึ่งเป็นระยะที่สมดุลพลังงานภายในร่างกายเป็นบวก) เป็นจุดที่น่าสนใจ เพราะหากมีการยืนยันได้ว่าช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหารเกิดการสะสมไขมันภายในตับ

เกิดขึ้นจริง แสดงว่ากระบวนการใช้ไขมันภายในตับการเปลี่ยนแปลง จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า ในช่วงที่โคกลับมาได้รับอาหาร โคมิอัตราการสลายไขมันออกมาจากเนื้อเยื่อไขมันเป็นจำนวนมาก ในกรณีที่โคมิการสะสมไขมันภายในตับเพิ่มขึ้น เป็นไปได้ว่า ช่องทางในการเปลี่ยนกรดไขมันไปเป็นสารเมแทบอลิท์ตัวอื่นมีการเปลี่ยนแปลง จากผลการทดลองซึ่งพบว่า ระดับความเข้มข้นของ BHBA ในกระแสเลือดของโคลดลง แสดงว่า กระบวนการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่ไมโทคอนเดรียอาจถูกยับยั้ง และทำให้ไขมันเพิ่มระดับการสะสมภายในตับ ก็เป็นไปได้ การศึกษาเรื่องนี้เพิ่มเติม จะช่วยให้เกิดแนวทางในการป้องกันการเกิดการสะสมไขมันในตับของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ในสภาวะที่สมดุลพลังงานภายในร่างกายเป็นบวก

ประเด็นสำคัญที่น่าสนใจอีกประเด็นหนึ่ง คือ การเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนภายในสภาวะการขาดแคลนอาหาร และเมื่อกลับมาได้รับอาหารอีกครั้ง เนื่องจากฮอร์โมนหลายชนิดมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการใช้ประโยชน์ของสารเมแทบอลิท์ที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย ฮอร์โมนเหล่านี้ ได้แก่ ฮอร์โมนกลุ่ม catecholamine ฮอร์โมนกลุ่มอินซูลิน (insulin) และกลูคาγον (glucagon) รวมทั้งฮอร์โมนกลุ่มไทร็อกซิน สิ่งที่พบในการศึกษาครั้งนี้ และอาจเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน คือ การที่ระดับกลูโคสในกระแสเลือดของโคสาวลูกผสมบราห์มัน ในสภาวะของการขาดแคลนอาหาร ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ปกติกลูโคสเป็นสารเมแทบอลิท์ที่ยับยั้งกระบวนการสลายไขมันในเนื้อเยื่อไขมัน (antilipolytic substance) แต่ผลจากการศึกษาพบว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันมีอัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันสูง และไม่แตกต่างไปจากโคสาวกำแพงแชนซึ่งมีระดับกลูโคสในกระแสเลือดต่ำกว่า ลักษณะเช่นนี้คาดว่า โคสาวลูกผสมบราห์มันเกิดภาวะ glucose intolerance ขึ้นภายในร่างกาย ทำให้ไม่ตอบสนองต่อระดับกลูโคสในกระแสเลือดขณะนั้น ภาวะนี้อาจเกี่ยวข้องกับ ระบบการทำงานของฮอร์โมน catecholamine รวมทั้งระดับอินซูลินและกลูคาγον การวัดการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเหล่านี้จะช่วยตอบคำถามเหล่านี้ได้ นอกจากนี้ ในการทดลองภายใต้สภาวะของการกลับมาได้รับอาหาร พบว่า โคทั้งสองกลุ่มมีอัตราการหมุนเวียนไขมันภายในร่างกายค่อนข้างสูง โดยการสะสมไขมันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วพร้อมกับมีอัตราการสลายไขมันสูง กลไกที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการใช้ไขมันของโคในช่วงนี้ อาจสัมพันธ์กับระดับการทำงานของฮอร์โมนหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ฮอร์โมนไทร็อกซิน เนื่องจากฮอร์โมนกลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการใช้ไขมัน และโปรตีนภายในร่างกาย จึงเป็นไปได้ว่า การเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนไทร็อกซินในช่วงนี้มีความสัมพันธ์กับศักยภาพในการเจริญเติบโตของโคในแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งเรื่องนี้ควรจะได้มีการศึกษาในลำดับต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- Allden, W. G. 1970. The effects of nutritional deprivation on the subsequent productivity of sheep and cattle. **Nutr. Abs. Rev.-series B.** 40: 1167-1184.
- Armentano, L.E., R.R. Grummer, S.J. Bertics, T.C. Skaar and S.S. Donkin. 1991. Effects of energy balance on hepatic capacity for oleate and propionate metabolism and triglyceride secretion. **J. Dairy Sci.** 74: 134-139.
- Balasse, E.O., J. De Graef and M.A. Neef. 1985. Alanine turnover in normal and diabetic dogs. **Horm. Metabol. Res.** 17: 554-558.
- Bauchart, D. 1993. Lipid absorption and transport in ruminants. **J. Dairy Sci.** 76: 3864-3881.
- Bell, A.W. 1981. Lipid metabolism in liver and selected tissues and in the whole body of ruminant animals. pp. 363-410. *In* W.W. Christie, ed. **Lipid Metabolism and Ruminant Animals.** Pergamon Press, Oxford.
- Berg, J.M., J.L. Tymoczko and L. Stryer. 2002. **Biochemistry.** 5th ed. W.H. Freeman and Company, New York.
- Bertics, S. J., R.R.Grummer, C. Cadorniga-Valino and E.E.Stoddard. 1992. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. **J. Dairy Sci.** 75: 1914-1922.
- Bjorntorp, P. 1966. Effect of ketone bodies on lipolysis in adipose tissue *in vitro*. **J. Lipid Res.** 7: 621-626.

- Blum, J. W., M. Gingsins, P. Vitins and H. Bickel. 1980. Thyroid hormone levels related to energy and nitrogen balance during weight loss and regain in adult sheep. **Acta Endocrinol.** 93: 440-447.
- , W. Schnyder, P. L. Kunz, A. K. Blom, H. Bickel and A. Schürch. 1985. Reduced and compensatory growth: Endocrine and metabolic changes during food restriction and refeeding in steers. **J. Nutr.** 115: 471-424.
- Brockman, R.P. 1993. Glucose and short-chain fatty acid metabolism. pp. 249-265. *In* J.M. Forbes and J. France, eds. **Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. C.A.B. Internation.** University Press, Cambridge.
- Brumby, P.E. and V.A. Welch. 1970. Fractionation of bovine serum lipoproteins and their characterization by gradient gel electrophoresis. **J. Dairy Res.** 37: 121-128.
- Bruss, M.L. 1997. Lipids and ketone. pp.83-113. *In* J.J. Kaneko, J.W. Harvey and M.L. Bruss, eds. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** Academic Press, San Diego, California.
- Butler-Hogg, B. W. 1984. Growth patterns in sheep: changes in the chemical composition of the empty body and its constituent parts during weight loss and compensatory growth. **J. Agric. Sci. (Camb.)** 103: 17-24.
- Carstens, G. E., D. E. Johnson, M. A. Ellenberger and J. D. Tatum. 1991. Physical and chemical components of the empty body during compensatory growth in beef steers. **J. Anim. Sci.** 69: 3251-3264.
- Chilliard, Y. 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: A Review. **J. Dairy Sci.** 76: 3897-3931.

- Curtis, C.R., H.N. Erb, C.J. Sniffen, D.R. Smith and D.S. Kronfeld. 1985. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. **J.Dairy Sci.** 68: 2347-2360.
- Dunshea, F.R., A.W. Bell and T.E.Trigg. 1988. Relations between plasma non-esterified fatty acid metabolism and body tissue mobilization during chronic undernutrition in goats. **British J. of Nutr.** 60: 633-644.
- Elsasser, T.H. , K.C. Klasing, N.Filipov and F.Thompson. 2000. The metabolic consequences of stress: Targets for stress and priorities of nutrient use. pp. 77-110. *In* G.P. Mobery and J.A. Mench, eds. **The Biology of Animal Stress, Basic Principles and Implications for Animal Welfare.** CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Ferreri, L. F. and D.H. Gleockler. 1970. Electrophoretic characterization of bovine lipoprotein subfractions isolated by agarose gel chromatography. **J. Dairy Sci.** 62: 1577-1582.
- Fox, D. G.,R. R. Johnson, R. L. Preston, T. R. Dockerty and E. W. Klosterman. 1972. Protein and energy utilization during compensatory growth in beef cattle. **J. Anim. Sci.** 34: 310-318.
- _____, R. L. Preston, B. Senft and R. R. Johnson. 1974. Plasma growth hormone levels and thyroid secretion rates during compensatory growth in beef cattle. **J. Anim. Sci.** 38: 437-441.
- Frisch, J.E. and J.E. Vercoe. 1984. An analysis of growth of different cattle genotypes reared in different environments. **J. Agric. Sci. (Camb.)** 103: 137-153.
- Garlick, P.J. 1980. Assessment of protein metabolism in the intact animal. pp. 51-67. *In* P.J. Buttery and D.B. Lindsay, eds. **Protein Deposition in Animal.** Butterworths, London.

- Gerloff, B.J., T.H. Herdt, W. W. Wells, J.S. Liesman and R.S.Emery. 1986. Inositol and lipidosis. I Effect of inositol supplementation and time from parturition on liver and serum lipids in dairy cattle. **J. Anim. Sci.** 62: 1682-1692.
- Girolamo, M.D., S. Mendlinger and J. W. Fertig. 1971. A simple method to determine fat cell size and number in four mammalian species. **Am. J. Physiol.** 221: 850-858.
- Glascock, R.F., V.A. Welch, C.Bishop, T. Davies, E.W. Wright and R. C. Noble. 1966. An investigation of serum lipoproteins and of their contribution to milk fat in the dairy cow. **Biochem. J.** 98: 149-156.
- Greco, D. and G.H. Stabewfeldt. 2002. Endocrine glands and their function. pp. 341-372. *In* J.G.Cunningham, ed. **Textbook of Veterinary Physiology.** W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Gröhn, Y., L. A. Lindberg, M.L. Bruss and T. B. Farver. 1983. Fatty infiltration of liver in spontaneously ketotic dairy cows. **J. Dairy Sci.** 66: 2320-2328.
- Gruffat, D. D. Durand, Y. Chilliard, P. Williams and D. Bauchart. 1997. Hepatic gene expression of apolipoprotein B₁₀₀ during early lactation in underfed, high producing dairy cows. **J. Dairy Sci.** 80: 657-666.
- Grummer, R. R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.** 76: 3882-3896.
- _____ and D.J. Carroll. 1991. Effect of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **J. Anim. Sci.** 69: 3838-3852.
- _____, L.E. Armentano and M.S. Marcus. 1987. Lactation response to short-term abomasal infusion of choline, inositol, and soy lecithin. **J.Dairy Sci.** 70: 2518-2524.

- Grummer, R. R., S.J. Bertics, D.W. Lacount, J.A. Snow, M.R. Dentine and R.H. Stauffacher. 1990. Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 73: 1537-1543.
- Heitman, R. N., D. J. Dawes and S. C. Sensenig. 1987. Hepatic ketogenesis and peripheral ketone body utilization in the ruminant. **J. Nutr.** 117: 1174-1180.
- Herdt, T.H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influence on the etiology of ketosis and fatty liver. pp. 215-230. In T.H. Herdt, ed. **The Veterinary Clinics of North America; Food Animal Practice.** Saunders company, Philadelphia, Pennsylvania.
- _____, J.S. Liesman, B.J. Gerleff and R.S.Emery. 1983. Reduction of serum triacylglycerol-rich lipoprotein concentrations in cows with hepatic lipidosis. **Am. J. Vet. Rev.** 44: 293-296.
- _____, T. Wensing, H. P. Haagsman, L. M. G. Van Golde and H. J. Breukink. 1988. Hepatic triacylglycerol synthesis during a period of fatty liver development in sheep. **J. Anim. Sci.** 66: 1997-2013.
- Holm, C.,T. Østerlund, H. Laurell and J.A. Contreras. 2000. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. **Annual Rev. Nutr.** 20: 365-393.
- Holtenius, P. and K. Holtenius. 1996. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: A Review. **J. Vet. Med. A.** 43: 579-587.
- Kris-Etherton, P.M. and T. D. Etherton. 1982. The role of lipoproteins in lipid metabolism of meat animals. **J. Anim. Sci.** 55: 804-817.
- Lindsay, D.B. 1975. Fatty acids as energy sources. **Proc. Nutr. Soc.** 34: 241-248.

- _____. 1993. Metabolism of the portal-drained viscera. pp. 267-289. *In* J.M. Forbes and J. France, eds. **Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism**. C.A.B. International. University Press, Cambridge.
- _____ and B. P. Setchell. 1972. Cannulation of the sagittal sinus for the determination of cerebral ketone body metabolism in sheep. **J. Physiol. (Lond.)** 226: 51-52.
- _____. 1974. The oxidation of glucose and β -hydroxybutyrate by the brain and heart of the sheep. **J. Physiol. (Lond.)** 242: 29-30.
- Littlejohn, E.T., J.W. Young and D.C. Beitz. 1981. Common metabolic diseases of cattle: ketosis, milk fever, grass tetany, and downer-cow complex. **J. Dairy Sci.** 64: 1465-1482.
- Mc Namara, J. P. and J.K. Hillers. 1986. Adaptations in lipid metabolism of bovine adipose tissue in lactogenesis and lactation. **J. Lipid Res.** 27: 150-157.
- _____, D.C. Mc Farland and S. Bai. 1987. Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 3. Adaptation of hormone-sensitive and lipoprotein lipases. **J. Dairy Sci.** 70: 1377-1384.
- Menke, K. H., L. Raab, A. Selewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schneider. 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. **J. Agri. Sci. (Camb)** 93: 217-222.
- NRC. 1976. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 5th ed. National Academy Press, Washington, D. C.

- O' Donovan, P. B. 1984. Compensatory gain in cattle and sheep. **Nutr. Abs. Rev.-series B.** 54: 389-410.
- Palaiologos, G. and P. Felig. 1976. Effects of ketone bodies on amino acid metabolism in isolated rat diaphragm. **Biochem J.** 154: 709-716.
- Palmquist, D. L. and W. Mattos. 1978. Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat of dietary (1 carbon 14) linoleic acid in lactating cows. **J. Dairy Sci.** 61: 561-565.
- Pell, J. M. and E. N. Bergman. 1983. Cerebral metabolism of amino acids and glucose in fed and fasted sheep. **Am. J. Physiol.** 244 (Endocrinol. Metab) 7: E282-E289.
- Pethick, D. W and F. R. Dunshea. 1993. Fat metabolism and turnover. pp. 291-311. In J.M. Forbes and J. France, eds. **Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism.** C. A. B. International. University Press, Cambridge.
- _____, A. W. Bell and E. F. Annison. 1984. Fats as energy sources in animal tissues. pp. 225-248. In J. Wiseman, ed. **Fats in Animal Nutrition.** Butterworths, London.
- _____, N. Harman and J. K. Chong. 1987. Non-esterified long-chain fatty acid metabolism in fed sheep at rest and during exercise. **Aust. J. Biol. Sci.** 40: 221-234.
- Pothoven, M. A., D. C. Beitz and J. H. Thornton. 1975. Lipogenesis and lipolysis in adipose tissue of *ad libitum* and restricted-feed beef cattle during growth. **J. Anim. Sci.** 40: 957-962.
- Pullen, D.L., D.L. Palmquist and R.S.Emery. 1989. Effect of days of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. **J. Dairy. Sci.** 72: 49-58.

- _____, J.S. Liesman and R.S. Emery. 1990. A species comparison of liver slice synthesis and secretion of triacylglycerol from nonesterified fatty acids in the media. **J. Anim. Sci.** 68: 1395-1399.
- Puppione, D. L. 1978. Implications of unique features of blood lipid transport in the lactating cow. **J. Dairy Sci.** 61: 651-659.
- Raphäel, B. C., P. S. Dimick and D. L. Puppione. 1973(a). Electrophoretic characterization of bovine serum lipoproteins throughout gestation and lactation. **J. Dairy Sci.** 56: 1411-1414.
- _____. 1973(b). Lipid characterization of bovine serum lipoproteins throughout gestation and lactation. **J. Dairy Sci.** 56: 1025-1032.
- Reid, I.M., R.A. Collins, G.D. Baird, C.J. Roberts and H.W. Symonds. 1979. Lipid production rates and pathogenesis of fatty liver in fasted cows. **J. Agric. Sci.(Camb.)** 93: 253-256.
- Robinson, A. M. and D. H. Williamson. 1980. Physiological roles of ketone bodies as substrates and signals in mammalian tissues. **Physiol. Rev.** 60: 143-187.
- Rudling, M. J. and C.O. Peterson. 1985. LDL receptors in bovine tissues assayed as the heparin-sensitive binding of ¹²⁵I-labeled LDL in homogenates: relation between liver LDL receptors and serum cholesterol in the fetus and post term. **Biochim. Biophys. Acta.** 836: 96-104.
- Rukkwamsuk, T., T. Wensing and M. J. H. Geelen. 1998. Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period. **J. Dairy Sci.** 81: 2904-2911.

- Rule, D. C., D. C. Beitz, G. De Boer, R. R. Lyle, A. H. Trenkle and J. W. Young. 1985. Changes in hormone and metabolite concentrations in plasma of steers during a prolonged fast. **J. Anim. Sci.** 61: 868-875.
- Sakagami, T. and D. B. Zilversmit 196. Separation of dog serum lipoproteins by ultracentrifugation, dextran sulfate precipitation, and paper electrophoresis. **J. Lipid Res.** 2: 271-277.
- SAS. 1997. **SAS/STAT User's Guide.** SAS Institute Inc, Cary, North Carolina. 584p.
- Siddle, K. and C.N. Hales. 1975. Hormonal control of adipose tissue lipolysis. **Proc. Nutr. Soc.** 34: 233-239.
- Smith, S. W. 1975. A new salting-out technique for colorimetric free fatty acid assays. **Anal. Biochem.** 67: 531-539.
- Snoswell, A.M. and G.D. Henderson. 1970. Aspects of carnitine ester metabolism in sheep liver. **Biochem. J.** 119: 59-65.
- Thomson, E.F., H. Bickel and A. Schürch. 1982. Growth performance and metabolic changes in lambs and steers after mild nutritional restriction. **J.Agric. Sci (Camb).** 98: 183-194.
- Tischler, M.E. 1980. Is regulation of proteolysis associated with redox-state changes in rat skeletal muscle? **Biochem. J.** 192: 963-966.
- Van Den Top, A.M., T.W. ensing, M.J.H. Geelen, G.H. Wentink, A.T. Van' t Klooster and A.C. Beynen. 1995. Time trends of plasma lipids and enzymes synthesizing hepatic triacylglycerol during postpartum development of fatty liver in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 78: 2208-2220.

- Vernon, R.S. 1988. The partition of nutrients during the lactation cycle. pp. 32-35. *In* P.C. Garnsworthy, ed. **Nutrition and Lactation in the Dairy Cow**. Butterworths, London.
- Wendlandt, R. M. and C. L.Davis. 1973. Characterization of bovine serum lipoproteins. **J. Dairy Sci.** 56: 337-339.
- Wilson, P.N. and D.F. Osbourn. 1960. Compensatory growth after undernutrition in mammals and bird. **Biol. Rev.** 36: 324-363.
- Williamson, D.H., M.W. Bates, M.A. Page and H.A. Krebs. 1971. Activities of enzymes involved in acetoacetate utilization in adult mammalian tissues. **Biochem. J.** 121: 41-47.
- Wright, I.A. and A.J.F. Russel. 1991. Changes in the body composition of beef cattle during compensatory growth. **Anim. Prod.** 52: 105-113.
- Zammit, V. A. 1990. Ketogenesis in the liver of ruminants-adaptations to a challenge. **J. Agric. Sci. (Camb)**. 115: 155-162.

ภาคผนวก

1. การแยกซีรัมไลโปโปรตีนโดยเทคนิคการตกตะกอนด้วย เด็กซ์แทรนซัลเฟต (Glascock *et al.*, 1966)

1.1 สารเคมี

1.1.1 เด็กซ์แทรนซัลเฟต (Dextran sulfate)

1.1.2 เกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

1.1.3 เกลือแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂)

1.1.4 เกลือโซเดียม ซิเตรท (Sodium citrate)

1.2 วิธีการเตรียมสารเคมี

1.2.1 เตรียม สารละลาย CaCl₂ ความเข้มข้น 1 M และ 0.1 M

1.2.2 เตรียม สารละลาย NaCl ความเข้มข้น 5% W/V

1.2.3 เตรียม สารละลาย sodium citrate ความเข้มข้น 3.4% W/V

1.2.4 เตรียม สารละลาย dextran sulfate ความเข้มข้น 10% W/V

1.2.5 เตรียม สารละลาย dextran sulfate reagent โดยใช้ สารละลาย dextran sulfate ความเข้มข้น 10% W/V ผสมกับ สารละลาย CaCl₂ ความเข้มข้น 1 M ในอัตราส่วน 1:5 (V:V)

1.3 วิธีการแยก

นำตัวอย่างซีรัมที่ต้องการแยกไลโปโปรตีนมาผสมกับ dextran sulfate reagent ในอัตราส่วน ซีรัม 1 มิลลิลิตร ต่อ dextran sulfate reagent 0.14 มิลลิลิตร นำสารละลายตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้น นำสารละลายออกมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 2,800 x g ณ อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สารละลายจะตกตะกอน ส่วนที่เป็นสารละลายใสด้านบน (supernatant) จะเป็นส่วนไลโปโปรตีนชนิด HDL แยกสารละลายส่วนนี้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับส่วนตะกอนนำมาละลายใหม่ โดยใช้ สารละลาย NaCl 5% W/V ในอัตราส่วน 1:20 ของ ปริมาตร ซีรัมเมื่อเริ่มต้น เขย่าหลอดทดลอง แล้วแยกสารละลายที่ละลายได้ออก จดบันทึกปริมาณ สารละลายที่แยกได้ จากนั้น นำสารละลายที่แยกออกนี้ ไปทำการตกตะกอนอีกครั้ง ด้วย

สารละลาย CaCl_2 0.1 M โดยใช้ในอัตราส่วน 10 เท่า ของ ปริมาตรสารละลายที่แยกได้ นำสารละลายผสมนี้ไปตั้งทิ้งไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน $2 \frac{1}{2}$ ชั่วโมง หลังจากนั้น นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 2,800 x g ณ อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังจากการปั่น สารละลายจะตกตะกอน ส่วนที่เป็นตะกอนจะเป็นส่วนของไลโปโปรตีน ชนิด LDL ทำการดูดสารละลายใสด้านบนออกทิ้งไป นำส่วนตะกอนมาละลาย กับสารละลาย sodium citrate 3.4% W/V ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ ปริมาตรของซีรัมเมื่อเริ่มต้น สารละลายส่วนนี้ จะเป็นสารละลายของไลโปโปรตีน ชนิด LDL

2. การแยกซีรัมไลโปโปรตีนโดย เทคนิคเซลลูโลส-อะซิเตท อีเล็กโทรโฟริซิส (Helena Lipoprotein Electrophoresis Procedure)

2.1 สารเคมี

2.1.1 ทริส-บาร์บิทัล-โซเดียม บาร์บิทัล (Tris-barbital sodium barbital)

2.1.2 สีย้อม oil red O.

2.1.3 สารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 N

2.1.4 เมทธานอล

2.1.5 กลีเซอริน (Glycerine)

2.2 การเตรียมสารเคมี

2.2.1 สารละลาย Tris-barbital-sodiumbarbital buffer pH 8.8 เตรียมโดย นำ ทริส-บาร์บิทัล-โซเดียมบาร์บิทัล จำนวน 18 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ให้ได้ปริมาตร 650 มิลลิลิตร

2.2.2 สารละลายสีย้อม oil red O. เตรียมโดยละลาย สีย้อม oil red O ในเมทธานอล ให้มีความเข้มข้น 0.2% (W/V) จากนั้นนำสารละลายนี้ จำนวน 30 มิลลิลิตรไปผสมกับ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 N จำนวน 10 มิลลิลิตร สารละลายผสมนี้ ให้เตรียมก่อนใช้

2.2.3 สารละลาย glycerine เตรียมโดย ผสม กลีเซอริน 3 ส่วน กับ เมทธานอล 1 ส่วน (V/V)

2.3 วิธีการแยกซีรัมไลโปโปรตีน

นำแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตทแช่ในสารละลาย Tris-barbital-sodium barbital เป็นเวลา 20 นาที ในขณะที่เดียวกัน นำสารละลายบัฟเฟอร์นี้รินลงไปในห้องเบอร์ (chamber) ทั้ง 2 ข้าง ของเครื่อง อิเล็กโทรโฟรีซิส ข้างละ 100 มิลลิลิตร ใช้กระดาษกรอง พาดกั้นระหว่างห้องเบอร์ โดยให้ปลายด้านหนึ่งของกระดาษกรอง จุ่มลงไปในห้องเบอร์ ปิดฝาเครื่อง อิเล็กโทรโฟรีซิส เพื่อป้องกันการระเหยของสารละลายบัฟเฟอร์ บรรจุซีรัมที่ต้องการแยก ชนิดไลโปโปรตีนลงในช่องบรรจุสารละลาย ช่องละ 5 μ l เมื่อครบเวลา 20 นาที นำแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท ขึ้นมาจากสารละลายบัฟเฟอร์ ซับแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท ด้วยกระดาษกรอง นำไปวางบนฐานวางแผ่น (plate) โดยหงายแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตทขึ้น นำ applicator กดลงในช่องบรรจุซีรัม 3-4 ครั้ง จากนั้น นำ applicator มากดบนแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท นาน 5 วินาที (ในกรณีของซีรัมโค ควรทำซ้ำ 2 ครั้ง) นำแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตทมาวางพาดระหว่างห้องเบอร์โดยวางคว่ำหน้าลง ใช้แผ่นสไลด์วางทับบนแผ่นตัวกลาง ปิดฝาเครื่อง จากนั้น เปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า โดยตั้งค่าความต่างศักย์ของกระแสไฟฟ้าไว้ที่ 180 โวลต์ (volts) เป็นเวลา 25 นาที นำแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท ออกมาย้อมสี ด้วยสารละลายสีย้อม oil red O. โดยวางแผ่นหงายขึ้น ทำการย้อมสีเป็นเวลา 25 นาที ระหว่างย้อมสี ให้ทำการเขย่าสารละลายไปมาเบา ๆ เมื่อสิ้นสุดเวลาย้อมสี จะปรากฏ แถบของไลโปโปรตีนขึ้นบนแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท นำแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตทขึ้นจากสารละลายสีย้อม และนำไปล้างด้วยน้ำเปล่า ใช้กระดาษกรองซับแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท นำแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตท ไปอ่าน ขนาดและความเข้มของแถบไลโปโปรตีนที่เกิดขึ้น โดยใช้เครื่อง densitometer ที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร บันทึกค่าที่อ่านได้ จากนั้น นำแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตทมาแช่ลงในสารละลาย glycerine เพื่อเก็บรักษาแผ่นเซลลูโลส-อะซิเตทนี้ไว้

3. การวัดขนาดปริมาตรเซลล์ไขมัน (Girolamo et al., 1971)

3.1 สารเคมี

3.1.1 กลูโคส

3.1.2 เมทิลีนบลู (methylene blue)

3.1.3 Bovine serum albumin, fraction V (BSA)

3.1.4 Krebs-Ringer bicarbonate solution (KRBS) ซึ่งประกอบด้วย 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 0.63 mM CaCl₂, 1.16 mM MgSO₄ 0.7 H₂O, 1.16 mM KH₂PO₄ และ 25 mM NaHCO₃

3.1.5 เอนไซม์คอลลาจีเนส (enzyme collagenase type II, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo)

3.1.6 Phosphate buffer saline/EDTA (PBS/EDTA) ประกอบด้วย 2.7 mM KCl, 1.5 mM KH₂PO₄, 136.9 mM NaCl, 8.1 mM Na₂HPO₄ .7 H₂O และ 1 mM EDTA

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1 สารละลาย BSA buffer concentration เตรียมโดยละลาย 12 กรัม ของ BSA และ 900 μ mol ของกลูโคส ในสารละลาย KRBS ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.2.2 สารละลาย Collagenase buffer concentration เตรียมโดยละลาย เอนไซม์คอลลาจีเนส 150 มิลลิกรัม ใน KRBS ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.2.3 สารละลาย Washing buffer solution เตรียมโดยละลาย BSA 4 กรัม ใน PBS/EDTA ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.2.4 สารละลาย Methylene blue buffer solution เตรียมโดยละลาย เมทิลีนบลู 25 มิลลิกรัม ใน PBS/EDTA ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

วิธีการแยกเซลล์ไขมัน

นำตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมัน ที่ต้องการแยกเซลล์ไขมัน ขนาด 100-200 มิลลิกรัม โดยประมาณ ใช้กรรไกรตัดชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อออกเป็นชิ้นย่อย ๆ นำตัวอย่างเนื้อเยื่อใส่ลงใน flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารละลาย KRBS, BSA buffer concentration และ Collagenase buffer concentration ลงไป อย่างละ 1 มิลลิลิตร (ก่อนเติมสารละลาย ต้องอุ่นสารละลายทั้ง 3 ชนิดนี้ ให้ได้ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที) สารละลายผสมนี้ จะประกอบด้วย BSA 4 เปอร์เซ็นต์ เอนไซม์คอลลาจีเนส 0.05 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า osmolality เท่ากับ 260 mOsm/liter

นำ flask ซึ่งบรรจุ เนื้อเยื่อไขมัน และสารละลาย ไป incubate ในตู้เขย่าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (shaker incubator) โดยตั้งรอบการเขย่าไว้ที่ 60 รอบ ต่อนาที ทำการ incubate ไว้ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จากนั้น นำ flask ออกจากตู้เขย่า และใช้แท่งพลาสติกที่เคลือบ

ด้วยซิลิโคนกวนสารละลายแต่เพียงเบา ๆ เซลล์ไขมันจะหลุดออกมาจากเนื้อเยื่อไขมัน ใช้เข็มคีบเนื้อเยื่อออกจากสารละลาย เทสารละลายที่มีเซลล์ไขมันปนอยู่ลงในหลอด polyethylene จากนั้นนำไปปั่น ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ 400 x g เป็นเวลา 1 นาที เซลล์ไขมันจะลอยขึ้นมาบนผิวของสารละลาย ใช้ไซริงค์ ขนาด 10 มิลลิลิตร ต่อบลาด้วยท่อพลาสติก คูณส่วนที่ตกตะกอนออกทิ้งไป (ส่วนที่ตกตะกอน ส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มเซลล์ พวกร stromal vascular cell) จากนั้นเติมสารละลาย Washing buffer solution ลงไป ให้ได้ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำหลอด polyethylene ไปปั่นเหวี่ยง ที่ 400 x g เป็นเวลา 1 นาที แยกส่วนที่ตกตะกอนออกทิ้งไป ทำการล้างเซลล์เช่นนี้ 3 ครั้ง หลังจากนั้น คูณสารละลายที่มีเซลล์ไขมันปนอยู่ขึ้นมา 1 มิลลิลิตร นำไปผสมกับสารละลาย Methylene blue buffer solution จำนวน 4 มิลลิลิตร นำสารละลายส่วนนี้ไป incubate ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้น คูณสารละลายขึ้นมา 0.2 มิลลิลิตร ถ่ายลงบนแผ่นซิลิโคนสไลด์ นำไปวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไขมัน โดยใช้ micrometer ที่ติดอยู่ในกล้องจุลทรรศน์ ด้วย กำลังขยาย 100 เท่า บันทึกจำนวนเซลล์ และเส้นผ่าศูนย์กลางที่วัดได้ โดยใน 1 ตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมัน ควรใช้ จำนวนเซลล์ในการวัด 500-600 เซลล์

หาค่า ปริมาตรของเซลล์ไขมัน โดยใช้สูตร

$$V = \frac{\pi D^3}{6}$$

โดย V เป็น ค่าปริมาตรของเซลล์ไขมัน

D เป็น ค่าเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไขมัน

จากค่า ปริมาตรของเซลล์ ที่ได้นำมาหา ค่าเฉลี่ยของปริมาตรเซลล์ ในเนื้อเยื่อไขมัน ได้จากสูตร

$$\text{ค่าเฉลี่ย ของปริมาตรเซลล์ไขมัน} = \frac{\sum(V_i \cdot f_i)}{n}$$

โดย Σ = ผลรวม

V_i = ปริมาตรของเซลล์ไขมัน

F_i = จำนวนเซลล์ไขมัน ที่มีปริมาตร V_i

n = จำนวนเซลล์ทั้งหมด ที่อ่านได้ในตัวอย่างเนื้อเยื่อไขมัน

4. การวิเคราะห์ อัตราการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน (McNamara and Hillers, 1986)

4.1 สารเคมี

4.1.1 กลูโคส

4.1.2 Bovine serum albumin, fraction V (BSA)

4.1.3 Krebs-Ringer bicarbonate solution (KRBS) ซึ่งประกอบด้วย 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.26 mM CaCl₂, 1.16 mM Mg SO₄·7 H₂O, 1.16 mM KH₂PO₄ และ 25 mM NaHCO₃

4.2 การเตรียมสารละลาย

เตรียม สารละลาย buffer media โดย ใน 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วย Bovine serum albumin 20 มิลลิกรัม กลูโคส 1 มิลลิกรัม และ สารละลาย Krebs-Ringer bicarbonate solution ทำการปรับ pH ของ สารละลาย buffer media โดยใช้ NH₄OH ให้ได้ 7.4 ที่ 37 องศา เซลเซียส

4.3 วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่าง เนื้อเยื่อไขมัน ขนาดประมาณ 200 มิลลิกรัม มาตัดแบ่งด้วยกรรไกรออกเป็น 4 ส่วน (น้ำหนักส่วนละ 50 มิลลิกรัม โดยประมาณ) นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อใส่ลงใน flask ขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้น เติมสารละลาย buffer media ลงไป 3 มิลลิลิตร นำ flask ที่บรรจุเนื้อเยื่อไขมัน ไป incubate ในตู้เขย่า ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (shaker incubator) โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 37 องศา เซลเซียส และเขย่าโดยใช้รอบการเขย่า 50 รอบ ต่อนาที ทิ้งไว้ 20 นาที จากนั้น นำ flask ออกจากตู้เขย่า เทสารละลาย buffer media ทิ้งไป เพื่อกำจัดไขมันบริเวณผิวของเนื้อเยื่อ ซึ่งเกิดจากการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อไขมัน เติมสารละลาย buffer media ใหม่ 3 มิลลิลิตร จากนั้น นำ flask กลับไป incubate ในตู้เขย่าอีกครั้ง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบ 2 ชั่วโมง นำ flask ออกจากตู้เขย่า แล้วแช่ลงในถังที่บรรจุน้ำแข็ง เพื่อหยุดปฏิกิริยาของการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน กรองสารละลาย buffer media ผ่านกระดาษกรอง Whatman no.4 เก็บสารละลายที่กรองได้ ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศา เซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในสารละลาย นำค่าความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระที่หาได้ มาคำนวณหา ปริมาณกรดไขมันอิสระในสารละลาย buffer media ค่าที่ได้ เป็น ปริมาณกรดไขมันอิสระ ที่ปลดปล่อยออกจากเนื้อเยื่อขนาดที่ใช้ ในเวลา 2 ชั่วโมง

5. การวิเคราะห์กรดไขมันอิสระ โดยวิธี salting- out technique for colorimetric (Smith, 1975)

5.1 สารเคมี

- 5.1.1 คลอโรฟอร์ม (Chloroform)
- 5.1.2 เฮปเทน (Heptane)
- 5.1.3 เมทานอล (Methanol)
- 5.1.4 เอทานอล (Ethanol)
- 5.1.5 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Conc. HCl)
- 5.1.6 Na_2SO_4
- 5.1.7 LiSO_4
- 5.1.8 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- 5.1.9 ไตรเอทานอลามีน (Triethanolamine)
- 5.1.10 1-ไนโตรโซ-2-แนปทอล (1-Nitroso-2-naphthol)
- 5.1.11 กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid) ความหนาแน่น 0.89 กรัม ต่อ มิลลิลิตร

5.2 วิธีการเตรียมสารเคมี

5.2.1 Working solution เตรียมโดย ผสม คลอโรฟอร์ม เฮปเทน และเมทานอล ในอัตราส่วน 4:3:2 (โดยปริมาตร) เตรียมก่อนใช้

5.2.2. กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.035 N เตรียมโดย ใช้ 3 มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร (สามารถเก็บไว้ใช้ได้โดยไม่จำกัดเวลา)

5.2.3 Stock salt solution เตรียมโดย นำ Na_2SO_4 200 กรัม LiSO_4 100 กรัม และ $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

5.2.4. Salt reagent เตรียมโดย นำ stock salt solution ที่เตรียมได้ ในข้อ 3 จำนวน 100 มิลลิลิตร มาผสมกับ 8 มิลลิลิตร ของไตรเอทานอลามีน (เตรียมก่อนใช้อย่างน้อย 15 นาที)

5.2.5. Indicator solution เตรียมโดย ใช้ 0.2 กรัมของ 1-ไนโตรโซ-2-แนปทอล ละลายในเมทานอล ปริมาตร 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา (สามารถเก็บไว้ได้โดยไม่จำกัดเวลา)

5.3 วิธีการวิเคราะห์

เทสารละลาย working solution จำนวน 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่สะอาด จากนั้นเติม 100 ไมโครลิตร ของสารละลายที่ต้องการหา ปริมาณกรดไขมันอิสระ (ในกรณีที่เป็น blank sample ใช้เฮปเทน) ปิดฝาหลอดทดลอง เขย่าเป็นเวลา 5 นาที โดยใช้ vortex mixer หลังจากนั้นเติม 1 มิลลิลิตรของ 0.035 N กรดไฮโดรคลอริก ปิดฝาหลอดทดลองแล้ว เขย่าอีก 3 นาที จากนั้นนำไปปั่น ที่ 2,200 rpm นาน 3 นาที สารละลายจะแยกเป็น 2 ชั้น คูดสารละลายชั้นบนออกทิ้งไป (ในกรณีที่ตัวอย่าง เป็นพลาสติกหรือซีรัม ให้ระวังการคูดสารละลาย อย่าให้กระทบชั้นโปรตีนที่คั่นระหว่าง สารละลายชั้นบน และชั้นล่าง) จากนั้นเติม 2 มิลลิลิตรของ salt reagent ปิดฝาหลอดทดลอง เขย่าเป็นเวลา 3 นาที แล้วจึงนำไปปั่น ที่ 2,200 rpm นาน 5 นาที สารละลายจะแยกเป็น 2 ชั้น คูดสารละลายชั้นบนออกมา เทใส่ในหลอดทดลองที่สะอาด เติม 1 มิลลิลิตรของ indicator solution เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 15-20 นาที เพื่อให้สารละลายเกิดปฏิกิริยาจนสมบูรณ์ ถ่ายสารละลายไปยัง round cuvette นำไปอ่าน ค่าการดูดกลืนแสงที่ 435 nm ค่าที่ได้นำไปคำนวณ ปริมาณกรดไขมันอิสระ โดยเทียบกับ standard curve ที่ได้จาก กรดไขมัน โอลิอิก

5.4 การทำ standard curve

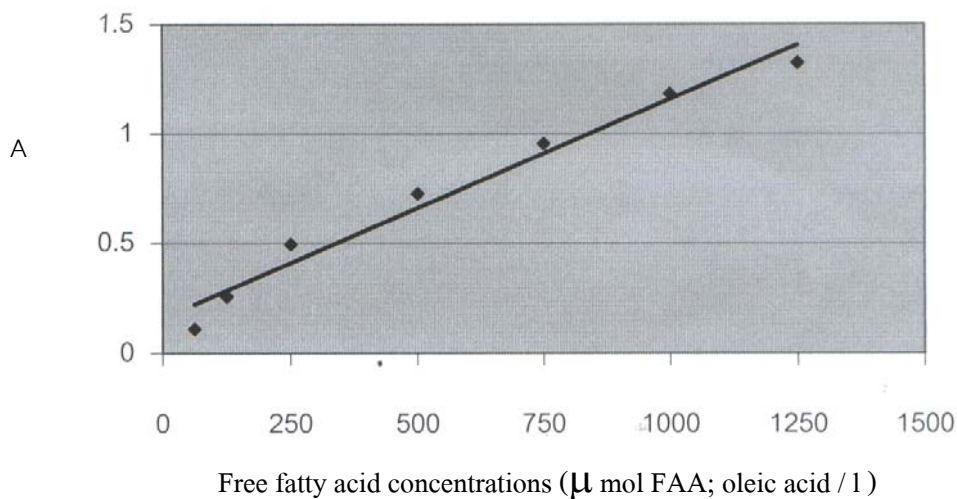
ละลาย กรดไขมัน โอลิอิกใน เฮปเทน ให้มีความเข้มข้น 62.5 125 250 500 750 1,000 และ 1,250 $\mu\text{mol/l}$ นำสารละลาย ที่ผสมขึ้นได้ไปวิเคราะห์ ตามวิธีการวิเคราะห์ กรดไขมันอิสระ ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ค่าดูดกลืนแสงที่ได้ นำไปพล็อตกับ ค่าความเข้มข้นของกรดไขมัน จะได้ standard curve ที่ใช้ในการหาปริมาณ กรดไขมันอิสระ ในตัวอย่างต่าง ๆ ได้

ในการทดลองครั้งนี้ ทำ standard curve จำนวน 4 ครั้ง ค่าเฉลี่ย ของการดูดกลืนแสงที่ได้จาก สารละลายโอลิอิก ความเข้มข้นต่าง ๆ ปรากฏดัง ในตารางผนวกที่ 1 และเมื่อนำไปเขียนกราฟ จะได้ดัง รูปผนวกที่ 1 โดยให้ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระ เป็นแกน X และค่าการดูดกลืนแสงเป็น แกน Y

ตารางผนวกที่ 1 ค่าความเข้มข้นของ กรดไขมันอิสระ และค่าการดูดกลืนแสง

| Free fatty acid concentrations (μ mol/l) | Absorbance readings at 435 nm ¹ |
|---|--|
| 62.5 | 0.111 |
| 125 | 0.259 |
| 250 | 0.494 |
| 500 | 0.724 |
| 750 | 0.952 |
| 1000 | 1.181 |
| 1250 | 1.323 |

¹ Mean absorbance reading from 4 independent assays.



ภาพผนวกที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ของค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของสารละลายกรดไขมัน โอลีอิกใน ความเข้มข้นต่าง ๆ

หมายเหตุ: A เป็นค่า Absorbance ที่ 435 nm.

จากรูปผนวกที่ 1 ค่า linear regression มีสมการเป็นดังนี้

$$[\text{FFA}] = 977.86 A - 142.04$$

โดย [FFA] เป็น ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระ มีหน่วยเป็น $\mu\text{mol/l}$

A เป็น ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 435 นาโนเมตร

สมการนี้มีค่า correlation coefficient 0.9



ภาพผนวกที่ 2 รูปโคสาวทดลองพันธุ์กำแพงแสน



ภาพผนวกที่ 3 รูปโคสาวทดลองลูกผสมบราห์มัน x ฟีนเมือง

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

| | |
|----------------------|---|
| ชื่อ | นายพงศชัย กลิ่นหอม |
| เกิดวันที่ | 6 ตุลาคม พ.ศ. 2501 |
| สถานที่เกิด | กรุงเทพมหานคร |
| ประวัติการทำงาน | วท.บ (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (พ.ศ. 2524) วท.ม (การผลิตสัตว์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2528) |
| ตำแหน่งปัจจุบัน | อาจารย์ |
| สถานที่ทำงานปัจจุบัน | โปรแกรมวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ | ได้รับทุนสนับสนุนการศึกษาสำหรับอาจารย์และข้าราชการ สังกัดมหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร |