



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: ผลของการใช้โพรพิลีนไกลคอลต่อกระบวนการสร้างกลูโคสในตับโค

โดย นายธีระ รักความสุข

๑๔ สิงหาคม ๒๕๔๖

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: ผลของการใช้โพรพิลีนไกลคอลต่อขบวนการสร้างกลูโคสในตับโค

ผู้วิจัย

สังกัด

- | | |
|-----------------------|--|
| 1. นายธีระ รักความสุข | ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140 |
| 2. นางอภัสสรา ชูเทศะ | ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน |
| 3. Dr. Theo Wensing | Faculty of Veterinary Medicine
Utrecht University
Yalelaan 7, 3584 CL Utrecht
The Netherlands |

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : TRG4580002

ชื่อโครงการ : ผลของการใช้ไฟรฟลิ้นไกลคอลต่อขบวนการสร้างกลูโคสในตับโค

ชื่อนักวิจัย : 1. นายธีระ รักความสุข มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 2. นางอาภัสสร ชูเทศะ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 3. Dr. Theo Wensing Utrecht University

E-mail Address : theera.r@ku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 1 ปี (กรกฎาคม 2545 ถึง มิถุนายน 2546)

ศึกษาผลของการป้อนไฟรฟลิ้นไกลคอลในช่วงระยะคลอดต่อการเกิดภาวะการสะสมของไขมันและขบวนการสร้างกลูโคสในตับโค คัดเลือกแม่โคโฮลสไตน์ ฟรีเซียน จำนวน 23 ตัว โดยแบ่งแม่โคออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมจำนวน 9 ตัว และกลุ่มทดสอบจำนวน 14 ตัวซึ่งได้รับไฟรฟลิ้นไกลคอลในขนาด 400 มิลลิกรัมต่อตัวต่อวัน เริ่มตั้งแต่ 7 (6 ± 4) วันก่อนกำหนดคลอดจนถึง 7 วันหลังคลอด เก็บตัวอย่างเลือดและตับของแม่โคทุกตัวที่ 1 สัปดาห์ก่อนคลอด และ 2 และ 4 สัปดาห์หลังคลอด ตัวอย่างเลือดนำไปตรวจหาความเข้มข้นของกลูโคส กรดไขมันอิสระ เบต้าไฮดรอกซีบิวไทเรต กลอสเตอรอล ตัวอย่างตับนำไปตรวจหาความเข้มข้นของไตรเอซิลกลีเซอรอล ไกลโคเจน และการทำงานของเอนไซม์ฟรุคโตส 1,6 บิสฟอสฟาเตส และทำการบันทึกปริมาณน้ำนมรายตัวของแม่โคทุกตัว เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของกลูโคสก่อนคลอดพบว่าความเข้มข้นของกลูโคสภายหลังคลอดโคทั้ง 2 กลุ่มลดลง แต่ไม่ปรากฏความแตกต่างของความเข้มข้นของกลูโคสระหว่างกลุ่ม ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระก่อนคลอดของโคทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน ภายหลังคลอดความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในโคกลุ่มควบคุมเพิ่มขึ้น 239% ส่วนในกลุ่มทดสอบเพิ่มขึ้น 118 % และกลุ่มควบคุมมีความเข้มข้นสูงกว่ากลุ่มทดสอบทั้งที่ 2 และ 4 สัปดาห์หลังคลอด สำหรับความเข้มข้นของเบต้าไฮดรอกซีบิวไทเรต ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ 1 สัปดาห์ก่อนคลอด แต่ที่ 2 สัปดาห์หลังคลอดความเข้มข้นในกลุ่มควบคุมสูงกว่าในกลุ่มทดสอบ ตลอดช่วงการเก็บตัวอย่าง ความเข้มข้นของกลอสเตอรอลไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่ม อย่างไรก็ตามความเข้มข้นที่ 4 สัปดาห์หลังคลอดของทั้ง 2 กลุ่มจะสูงกว่าความเข้มข้นที่ 1 สัปดาห์ก่อนคลอดและที่ 2 สัปดาห์หลังคลอด ผลความเข้มข้นของไตรเอซิลกลีเซอรอลในตับพบว่า ที่ 1 สัปดาห์ก่อนคลอดความเข้มข้นของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน แต่ความเข้มข้นในกลุ่มควบคุมเพิ่มขึ้น 245% ที่ 2 สัปดาห์หลังคลอดขณะที่ ในกลุ่มทดสอบเพิ่มขึ้น 125% และความเข้มข้นในกลุ่มควบคุมสูงกว่ากลุ่มทดสอบทั้งที่ 2 และ 4 สัปดาห์หลังคลอด ความเข้มข้นของไกลโคเจนไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทั้งที่ 1 สัปดาห์ก่อนคลอด และ 2 หรือ 4 สัปดาห์หลังคลอด นอกจากนี้การทำงานของเอนไซม์ฟรุคโตส 1,6 บิสฟอสฟาเตส ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างก่อนและหลังคลอด และไม่พบความแตกต่างกัน

ระหว่างกลุ่ม โคทั้ง 2 กลุ่มมีผลผลิตน้ำมันในช่วง 30 วันหลังคลอดไม่แตกต่างกัน โดยปริมาณน้ำมันเฉลี่ยเท่ากับ 29.1 ± 5.3 และ 30.2 ± 4.1 กิโลกรัมต่อตัวต่อวันสำหรับกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบตามลำดับ ผลการศึกษาในครั้งนี้กล่าวได้ว่า การป้อนโปรไฟลีนไกลคอลให้แก่แม่โคในขนาด 400 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน สามารถช่วยลดปัญหาพลังงานขาดสมดุลให้แก่แม่โคซึ่งจะทำให้แม่โคมีการสลายไขมันน้อยลง ส่งผลให้แม่โคมีการสะสมของไขมันในตับลดลง แม้ว่าโปรไฟลีนไกลคอลจะไม่ได้มีส่วนช่วยให้การทำงานของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกลูโคสในตับโคเพิ่มขึ้น แต่อาจกล่าวได้ว่าการเพิ่มโปรฟิออนเตในกระเพาะรูเมนโดยใช้โปรไฟลีนไกลคอลทำให้ระดับอินซูลินสูงขึ้นและส่งผลต่อการยับยั้งการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน ดังนั้นการใช้โปรไฟลีนไกลคอลป้อนให้แก่แม่โคในช่วง 7 วันก่อนคลอดถึง 7 วันหลังคลอดจะช่วยลดปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการสะสมของไขมันในตับและจะทำให้ประสิทธิภาพการผลิตของโคนมระยะหลังคลอดดีขึ้น

คำหลัก : โคนม การสะสมไขมันในตับ ขบวนการสร้างกลูโคส โปรไฟลีนไกลคอล

[illegible]

Journal of Management Education 36(7) 809–827

1. *Journal of the American Medical Association*, 1997; 277: 1039-1043.

[illegible]

concentrations did not differ between the two groups at all intervals. Hepatic fructose 1,6 biphosphatase activities did not change throughout the experimental period in both groups, and the activities were similar in both groups at all intervals. Average 30-d milk yields were 29.1 ± 5.3 and 30.2 ± 4.1 kg/d for control and treated groups, respectively, and the milk yields did not differ between the two groups of cows. Our results indicated that dairy cows drenched with propylene glycol at a dosage of 400 ml/cow/day could improve negative energy balance and could alleviate a massive mobilization of fat, consequently lower triacylglycerol accumulation in the liver. Though propylene glycol did not seem to increase hepatic gluconeogenesis, it could be suggested that increased ruminal propionate by propylene glycol administration raises blood insulin concentrations, and this phenomena could inhibit lipolysis in adipose tissue. In conclusion, propylene glycol giving between 7 days before expected calving date and 7 days postpartum could be used in practices to alleviate fatty liver problems and their consequences in postparturient dairy cows.

Key words: dairy cow, fatty liver, gluconeogenesis, propylene glycol

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบคุณ คุณมาโนช นาน่วม น.สพ.อนุโรจน์ ปัญญาวรรณ น.สพ.วีริศ วุฒิรัตนฤทธิ์ และ น.สพ.กรวิชัย อนุกุลวุฒิพงศ์ ที่ช่วยในการให้ข้อมูล และเก็บตัวอย่างที่ฟาร์ม และขอบคุณคนเลี้ยงโคนมทุกท่านที่ดูแลโคนมเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาการวิจัยในครั้งนี้

เนื้อหางานวิจัย

บทนำ

การขาดสมดุลของพลังงาน (negative energy balance) เป็นภาวะที่เกิดขึ้นได้ในโคนมระยะหลังคลอดโดยเฉพาะในช่วง 0-4 สัปดาห์แรก ทั้งนี้เนื่องจาก พลังงานที่ได้รับจากอาหารไม่เพียงพอกับพลังงานที่โคนมต้องการเพื่อการดำรงชีพและการสร้างน้ำนม ดังนั้นโคนมจะมีการตอบสนองต่อภาวะการขาดสมดุลของพลังงานนี้โดยการสลายพลังงานที่สะสมไว้ในร่างกาย ได้แก่ ไขมัน และ โปรตีน การสลายตัวของไขมัน (lipolysis) ที่เกิดขึ้นจะส่งผลให้มีการปล่อยกรดไขมันอิสระ (free fatty acids หรือ non-esterified fatty acids) เข้าสู่กระแสโลหิตในปริมาณมาก ซึ่งส่งผลให้มีการสะสมของไขมันในรูปไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerols) ที่ตับในปริมาณสูง การสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลในตับทำให้การทำหน้าที่ของตับถูกรบกวน โดยเฉพาะหน้าที่ในการสร้าง (gluconeogenesis) และหน้าที่ในการกำจัดสารพิษ (detoxification) ซึ่งจะสัมพันธ์กับปัญหาสุขภาพ ผลผลิต และ ระบบสืบพันธุ์ในโคนม ปัจจุบันได้มีการศึกษาหาวิธีการลดการสลายไขมันในโคนมระยะหลังคลอด ได้แก่ การใช้สารที่ให้พลังงานสูงเช่น propylene glycol ป้อนให้แก่โคนมในระยะดังกล่าวทั้งนี้เพื่อไปทดแทนพลังงานส่วนที่โคนมต้องการทำให้ลดการสลายตัวของไขมันลง ซึ่งในที่สุดจะช่วยลดปัญหาการสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลในตับโค และทำให้โคนมมีผลผลิตดีขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยลดปัญหาระบบสืบพันธุ์และปัญหาสุขภาพที่เป็นผลมาจากการสลายตัวของไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันและการสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลในตับด้วย

โดยปกติโคนมจะมีปัญหาขาดสมดุลของพลังงาน (negative energy balance) ในระยะหลังคลอดทั้งนี้เนื่องจากในระยะนี้โคนมมีความต้องการพลังงานอย่างมากโดยเฉพาะเพื่อการสร้างน้ำนมซึ่งพลังงานที่ต้องการนี้ไม่สามารถได้รับอย่างเพียงพอจากการกินอาหาร (Harrison et al., 1990) ผลที่ตามมาคือโคนมต้องมีการสลายพลังงานที่สะสมไว้ในร่างกายโดยเฉพาะจากไขมัน การสลายไขมันทำให้มีการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระ (free fatty acids หรือ non-esterified fatty acids) ในเลือด (Rukkwamsuk et al., 1998) กรดไขมันอิสระเหล่านี้จะถูกเมตาโบไลต์ที่ตับ โดยขบวนการที่สำคัญ 2 ประการคือ re-esterification และ oxidation การ re-esterification ของกรดไขมันอิสระที่ตับจะได้ไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerols) ซึ่งจะต้องขับออกจากตับในรูปของ very low density lipoproteins (VLDL) (Bruss, 1993) จากการศึกษาพบว่าในกรณีที่มีตับมีการสร้างไตรเอซิลกลีเซอรอลมากเกินไปทำให้การขนส่งไตรเอซิลกลีเซอรอลออกจากตับผ่านทาง VLDL ถูกรบกวน ดังนั้นไตรเอซิลกลีเซอรอลจะสะสมอยู่ในตับทำให้เกิดภาวะที่เรียกว่า fatty liver (Rukkwamsuk et al., 1998) สำหรับการ oxidation ของกรดไขมันอิสระในตับจะทำให้เกิดสารคีโตน ซึ่งได้แก่ acetone, acetoacetate และ 3-hydroxybutyrate (Bruss, 1993) ทั้งการสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลในตับหรือภาวะ fatty liver และการเพิ่มของสารคีโตนในเลือดมีความสัมพันธ์กับปัญหาสุขภาพทั้งโรคทางระบบเมตา

โบลีซึม เช่น milk fever, ketosis เป็นต้น และโรคติดเชื้อต่างๆ เช่น เต้านมอักเสบ มดลูกอักเสบ เป็นต้น (Rukkamsuk et al., 1999a; Wentink et al., 1997) มีการศึกษาเบื้องต้นพบว่าปัญหาดังกล่าวข้างต้นส่วนหนึ่งมีความสัมพันธ์กับหน้าที่ของตับถูกรบกวนโดยเฉพาะหน้าที่ในการสร้างกลูโคส (gluconeogenesis) (Rukkamsuk et al., 1999b) และหน้าที่ในการขับสารพิษ (detoxification) (West, 1990) ทั้งนี้เนื่องมาจากการสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลในตับ

ปัจจุบันมีการนำสารให้พลังงานสูง เช่น propylene glycol มาใช้ป้อนให้แก่แม่โคในระยะคลอดเพื่อให้แม่โคได้รับพลังงานที่เพียงพอทำให้ขบวนการสลายไขมันของเนื้อเยื่อไขมันลดลง propylene glycol เป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์เป็น glucogenic ซึ่งภายหลังจากที่สัตว์กินเข้าไปส่วนหนึ่งจะเปลี่ยนเป็น propionate ซึ่งเป็น gluconeogenic precursors และส่วนที่เหลือจะเปลี่ยนเป็นกลูโคสที่ตับ ผลของ propylene glycol จะช่วยลดความเข้มข้นของ non-esterified fatty acids และ 3-hydroxybutyrate ในกระแสเลือดและยังช่วยลดการสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลในตับโค (Studer et al., 1993; Grummer et al., 1994; Christensen et al., 1997) อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวไม่ได้อธิบายผลของ propylene glycol ต่อขบวนการ gluconeogenesis ในตับ โดยเฉพาะในโคระยะก่อนและหลังคลอด

เทคนิคการเก็บตัวอย่างเนื้อตับผ่านทางผิวหนัง (percutaneous liver biopsy technique) นำมาใช้ในเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อตับเพื่อตรวจหาปริมาณไตรเอซิลกลีเซอรอลที่สะสมอยู่ในตับโคในช่วงก่อนและหลังคลอด และตรวจหา activity ของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการ gluconeogenesis เพื่อหาความสัมพันธ์ของการใช้ propylene glycol ต่อขบวนการ gluconeogenesis และการสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลในตับโค

วิธีทำการทดลอง

โคทดลอง อาหารและการให้อาหาร

งานวิจัยนี้ทำที่ฟาร์มโคนมแห่งหนึ่งในจังหวัดนครราชสีมาที่เลี้ยงในระบบ evaporative cooling system โดยโคนมในฟาร์มนี้ประกอบด้วย แม่โครีดนม 503 ตัว โคแห้งนม 171 ตัว ลูกโคและโคสาวทดแทน 414 ตัว ปริมาณน้ำนมเฉลี่ยในฟาร์มคือ 20.5 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ทำการคัดเลือกโคนมโฮลสโตน์ ฟรีเซียน ที่ตั้งท้องและอยู่ในระยะแห้งนม จำนวน 23 ตัว โดยแบ่งโคออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มทดสอบจำนวน 14 ตัวและกลุ่มควบคุมจำนวน 9 ตัว รายละเอียดของโคทั้ง 2 กลุ่ม แสดงใน Table 1 โคนมได้รับอาหารตามความต้องการโดยโคนมได้รับอาหาร 2 ครั้งต่อวันในระยะแห้งนม และระยะใกล้คลอด และได้รับอาหาร 4 ครั้งต่อวันในระยะหลังคลอด โดยองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในโคทั้งระยะแห้งนมและระยะหลังคลอดแสดงใน Table 2 โคนมกลุ่มทดสอบได้รับ propylene glycol ในขนาด 400 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวันในช่วง 1 สัปดาห์ก่อนคลอดและ 1 สัปดาห์หลังคลอด ภายหลังคลอด โคนมเหล่านี้ได้รับการรีดนมจำนวน 2 ครั้งต่อวัน และบันทึกผลผลิตน้ำนมรายตัวตลอดระยะเวลาทำการศึกษ

Table 1. Descriptions of control and experimental cows.

Group	Cow number	Age at start exp. (year)	305-d-ylaid (kg)	Dry period (day)	Drenching
					period (day)
Control	512	2.85	7160	53	-
	523	2.80	6835	82	-
	532	2.77	6925	55	-
	537	2.75	6524	58	-
	9043	3.63	6601	57	-
	9084	3.29	5260	56	-
	9154	3.06	5733	47	-
	9160	3.05	6355	67	-
	9205	2.92	7320	59	-
Average	-	3.01	6523.7	59	-
s.d.	-	0.29	666.5	10	-
Treated	520	2.80	7265	52	7
	521	2.80	7162	53	9
	539	2.74	5972	63	20
	9034	3.68	6185	55	11
	9099	3.23	6641	60	16
	9113	3.17	7862	52	8
	9126	3.13	7415	53	10
	9138	3.10	5534	54	10
	9148	3.07	6840	57	14
	9165	3.03	6971	56	13
	9189	2.96	6169	57	14
	9197	2.94	7246	59	16
	9199	2.93	5972	59	16
	9204	2.92	7471	55	12
Average	-	3.04	6764.6	56.1	12.6
s.d.	-	0.24	695.7	3.3	3.7

Table 2. Composition of total mixed rations (TMR) as fed basis.

Ingredient	Dry period	Transition period	Lactating period
	kg as fed		
PCL-3 ¹	1.3
PCL-P ²	...	2.0	...
PCL-F ³	3.8
Wet brewer grain	8.0	7.0	10.0
Corn silage	8.0	12.5	12.5
Peanut hay	2.0	6.0	6.0
Rice straw	3.5
Cassava chips	...	1.0	1.3
Whole cotton seed	...	0.6	2.0
Ground corn	1.0
Molasses	1.0	0.5	0.5
Premixes	0.5	0.5	1.0

¹ Consisting of 33.0% soybean meal, 27% canola meal, 22.5% wheat bran, 11% dried brewer grain, 4.1% limestone, and 2.4% salts.

² Consisting of 54.5% soybean meal, 15.0% canola meal, 13.0% dried brewer grain, 11.0% corn gluten meal, 4.7% salts, and 1.8% biophos.

³ Consisting of 50.0% soybean meal, 27.0% corn gluten meal, 14.0% canola meal, 5.5% dried brewer grain, 1.9% salts, and 1.6% limestone.

การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างเนื้อเยื่อตับ

เก็บตัวอย่างตับจำนวน 3 ครั้ง คือ 1 สัปดาห์ก่อนคลอด และ 2, 4 สัปดาห์หลังคลอด ตัวอย่างเนื้อเยื่อตับที่ได้แบ่งออกเป็นสองส่วนคือ ส่วนที่ 1 นำตัวอย่างเนื้อเยื่อตับใส่ลงในหลอดแก้วที่มี normal saline solution เพื่อนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของไตรเอซิลกลีเซอรอล และวิเคราะห์ activity ของ gluconeogenic enzymes (fructose 1,6 bisphosphatase) และส่วนที่ 2 นำตัวอย่างเนื้อเยื่อตับปริมาณ 50 มิลลิกรัม ใส่ลงใน 20% KOH เพื่อนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของไกลโคเจน

ตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดจาก jugular vein ปริมาณ 20 ml เมื่อนำไปแยกซีรัมแล้วเก็บไว้ที่ตู้แช่อุณหภูมิต่ำ -20 °C จนกระทั่งวิเคราะห์ความเข้มข้นของ glucose, non-esterified fatty acids, β -hydroxybutyrate, and total cholesterol

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตรวจความเข้มข้นของไตรเอซิลกลีเซอรอลและไกลโคเจนในเนื้อเยื่อตับ activity ของ gluconeogenic enzymes ในเนื้อเยื่อตับ และความเข้มข้นของ glucose, non-esterified fatty acids, β -hydroxybutyrate และ total cholesterol ในเลือดด้วยวิธี spectrophotometry

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลความเข้มข้นของไตรเอซิลกลีเซอรอลและไกลโคเจนในตับ ความเข้มข้นของ glucose, non-esterified fatty acids, β -hydroxybutyrate และ total cholesterol ในเลือด และ activity ของ gluconeogenic enzyme ของตับ และผลผลิตน้ำนม ด้วยวิธี repeated measures ของ ANOVA โดยมีกลุ่มเป็นปัจจัยหลักและเวลาเป็นปัจจัยซ้ำ ทำการเปรียบเทียบพารามิเตอร์ระหว่างก่อนคลอดและหลังคลอดด้วยวิธี *Paired t test* และเปรียบเทียบพารามิเตอร์ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบในแต่ละช่วงเวลา ด้วยวิธี *Student t test*

ผลการทดลอง

ผลผลิตน้ำนม

ปริมาณน้ำนมระยะ 30 วัน ของโคนมกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ แสดงใน Figure 1.

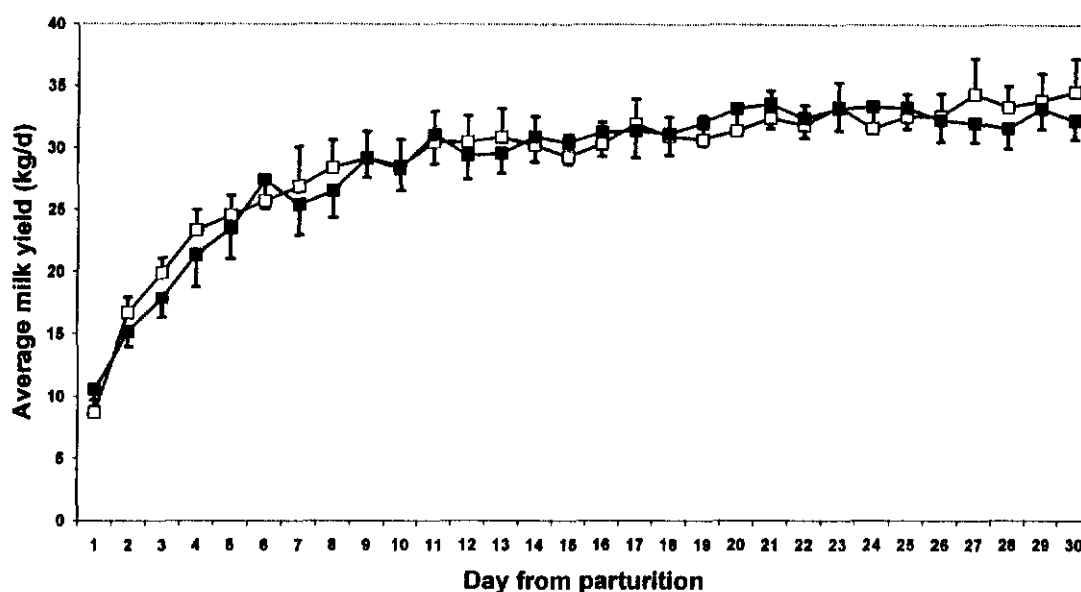


Figure 1. Comparison of milk yield during the first 30 d of lactation between control cows (\square ; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (\blacksquare ; n = 14). Data are means (\pm SEM).

ไตรเอซิลกลีเซอรอลและไกลโคเจนในตับ

ความเข้มข้นของไตรเอซิลกลีเซอรอลและไกลโคเจนในตับของโคนมกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบแสดงใน Figure 2 และ Figure 3.

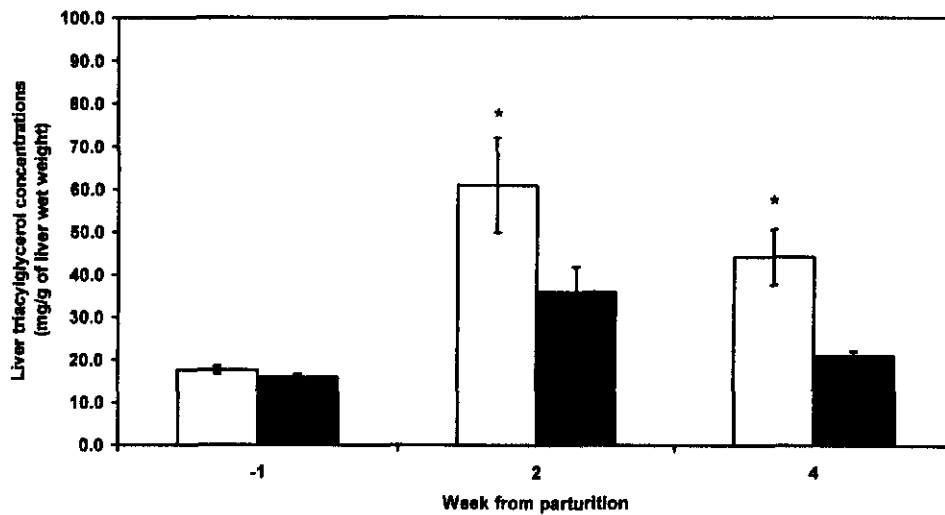


Figure 2. Comparison of triacylglycerol concentrations in the liver measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM). Asterisks indicate the time during which the different in mean concentrations of triacylglycerol in the liver was significant ($P \leq 0.05$) between control cows and cows drenched with propylene glycol.

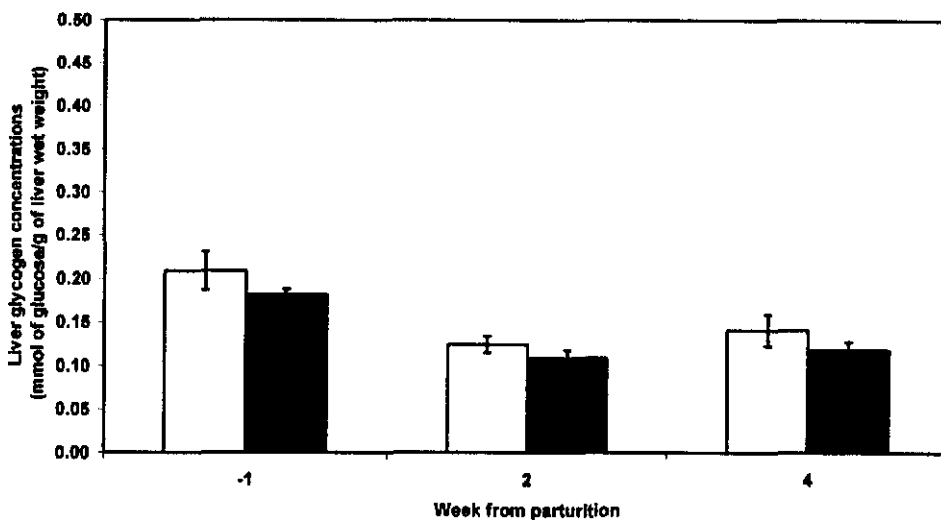


Figure 3. Comparison of glycogen concentrations in the liver measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM).

กลูโคส กรดไขมันอิสระ คอเลสเตอรอล และ เบต้าไฮดรอกซีบิวไทเรตในซีรัม

ความเข้มข้นของกลูโคส กรดไขมันอิสระ เบต้าไฮดรอกซีบิวไทเรต และคอเลสเตอรอลในซีรัมของโคนมกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบแสดงใน Figure 4, 5, 6 และ 7.

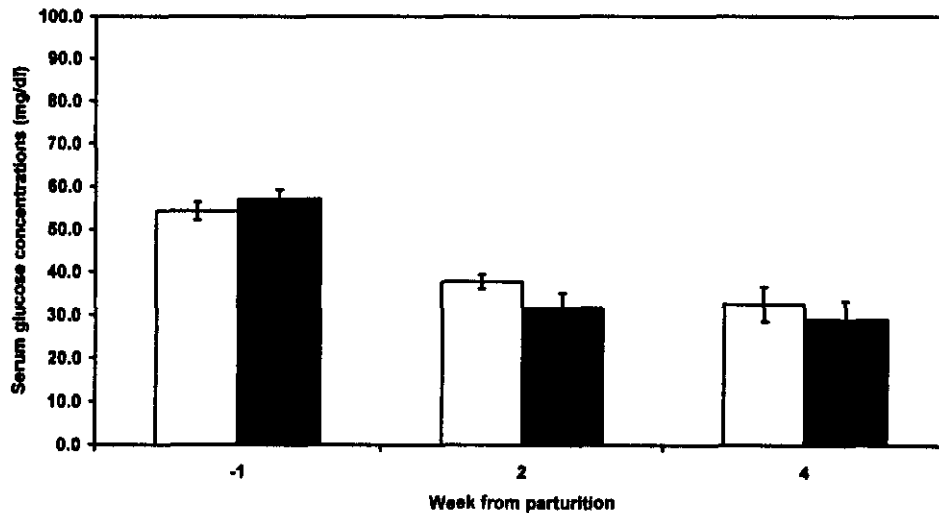


Figure 4. Comparison of glucose concentrations in the serum measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM).

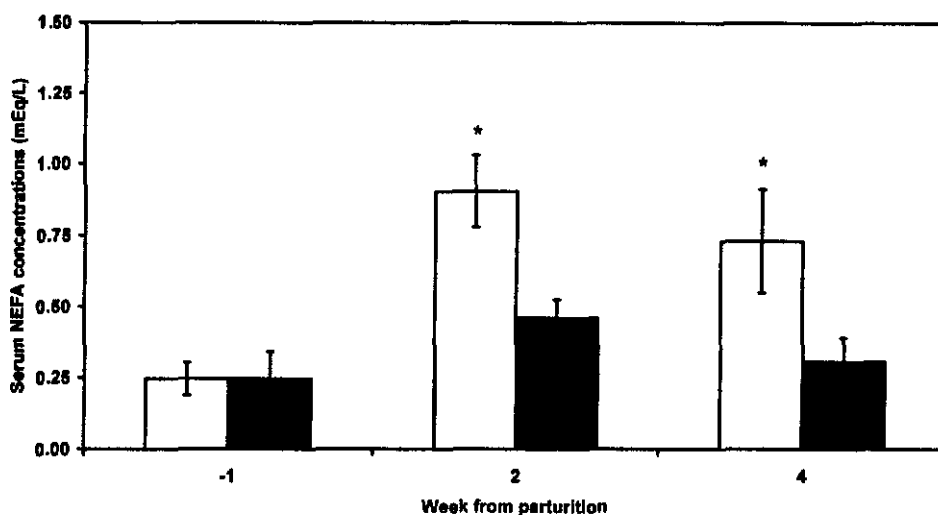


Figure 5. Comparison of non-esterified fatty acids (NEFA) concentrations in the serum measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM). Asterisks indicate the time during which the different in mean concentrations of NEFA in the serum was significant ($P \leq 0.05$) between control cows and cows drenched with propylene glycol.

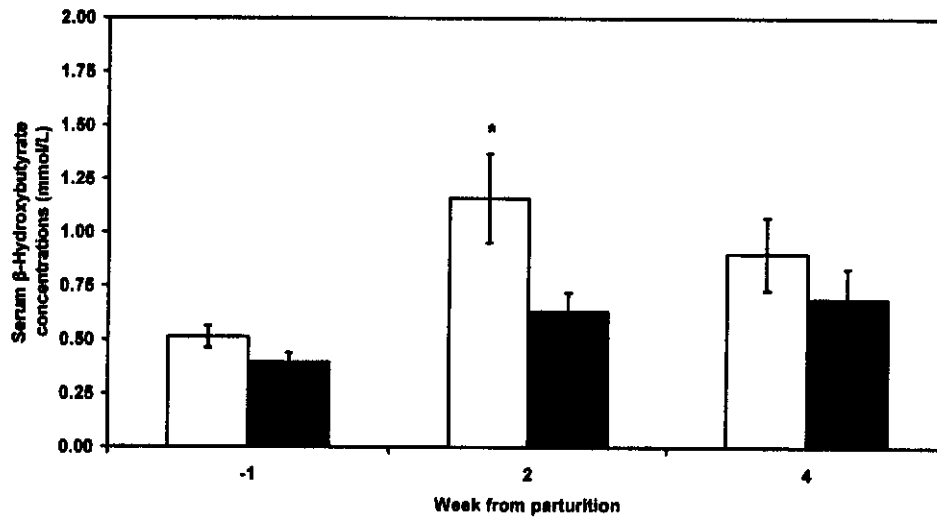


Figure 6. Comparison of β -hydroxybutyrate concentrations in the serum measured before and after parturition between control cows (\square ; $n = 9$) and cows that were drenched with propylene glycol (\blacksquare ; $n = 14$). Data are means (\pm SEM). Asterisks indicate the time during which the different in mean concentrations of β -hydroxybutyrate in the serum was significant ($P \leq 0.05$) between control cows and cows drenched with propylene glycol.

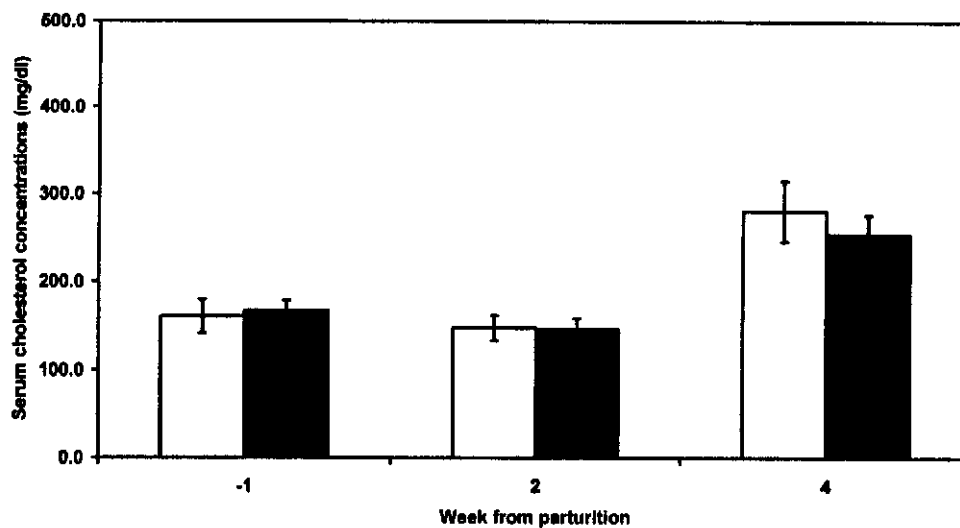


Figure 7. Comparison of total cholesterol concentrations in the serum measured before and after parturition between control cows (\square ; $n = 9$) and cows that were drenched with propylene glycol (\blacksquare ; $n = 14$). Data are means (\pm SEM).

การทำงานของเอ็นไซม์ในกระบวนการสร้างกลูโคสในตับโค

การทำงานของเอ็นไซม์ฟรุคโตส บิสฟอสฟาเตส ในตับของโคนมกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบแสดงใน Figure 8

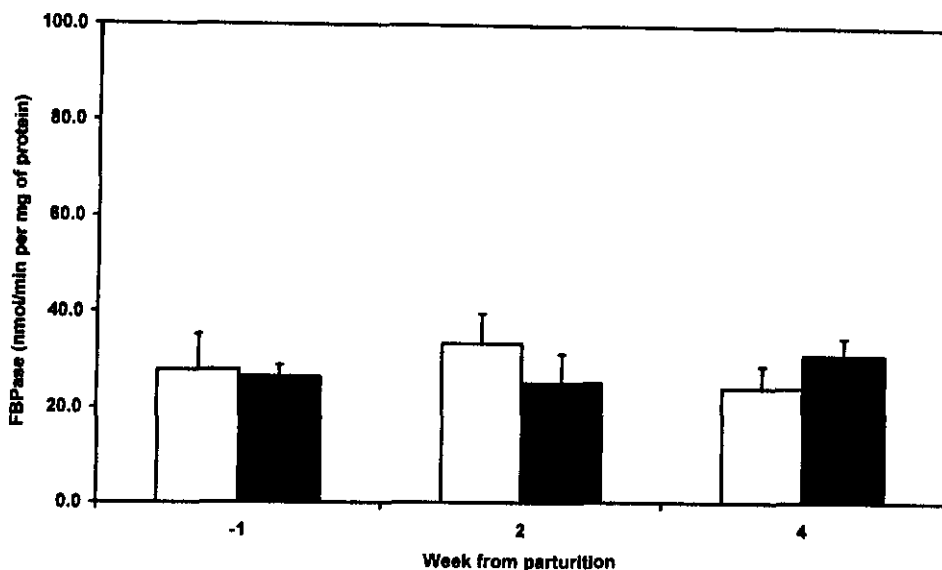


Figure 8. Comparison of activities of fructose 1,6 bisphosphatase (FBPase) in the liver measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM).

บทวิจารณ์

จากผลการศึกษาพบว่าโคนมทั้งกลุ่มที่ได้รับโปรไพลีนไกลคอล และกลุ่มที่ไม่ได้รับโปรไพลีนไกลคอลมีผลผลิตน้ำนมไม่แตกต่างกันในช่วงระยะ 30 วันของการให้นม จากรายงานพบว่าปัญหาแม่โคจะมีภาวะพลังงานขาดสมดุลที่จุดต่ำที่สุดประมาณ 2-3 วันหลังคลอด ซึ่งในช่วงนี้แม่โคในกลุ่มทดสอบจะได้รับโปรไพลีนไกลคอลเป็นพลังงานเสริม ซึ่งสารดังกล่าวนี้จะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนกรดไพรูวอิกต่อกรดอะซิติกและกรดปิวัทริกในกระเพาะรูเมน ส่งผลให้มีการสร้างกลูโคสเพิ่มขึ้นที่ตับ ทำให้แม่โคที่ได้รับโปรไพลีนไกลคอลมีปัญหาภาวะพลังงานขาดสมดุลที่ไม่รุนแรง กล่าวคือการลดลงของระดับกลูโคสหรืออินซูลินเกิดขึ้นไม่มาก การตอบสนองของเนื้อเยื่อไขมันในอันที่จะสลายกรดไขมันอิสระมาใช้ทดแทนพลังงานที่ขาดหายไปนั้นจึงไม่รุนแรงเท่ากับในกลุ่มควบคุม ซึ่งผลที่เกิดขึ้นนี้สอดคล้องกับการพบความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในกระแสเลือดของโคนมกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่าในกลุ่มทดสอบ ด้วยเหตุนี้โคนมกลุ่มควบคุมจึงมีการสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลในเซลล์ตับมากกว่าในกลุ่มทดสอบและยังส่งผลให้แม่โคในกลุ่มควบคุมมีปัญหาเกี่ยวกับการเพิ่มขึ้นของเบต้าไฮดรอกซี ปิวัไทเรต ซึ่งเป็นสารคีโตนชนิดหนึ่งในตัวสัตว์ จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การเพิ่มขึ้นของไตรเอซิลกลีเซอรอลที่สะสมในตับโคหลังคลอดทั้ง 2 กลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด แม้ว่าการใช้โปรไพลีนไกลคอลจะไม่ส่งผลต่อการกระตุ้นให้ตับของแม่โคมีการปรับตัวต่อการเพิ่มการสร้างกลูโคสในตับ

หลังจากผ่านช่วงสัปดาห์แรกหลังคลอดได้ แต่การใช้โปรไฟลีนไกลคอลป้อนให้แก่แม่โคในช่วง 1 สัปดาห์ก่อนและ 1 สัปดาห์หลังคลอด จะช่วยให้แม่โคผ่านภาวะวิกฤตของพลังงานขาดสมดุลไปได้อย่างราบรื่น ซึ่งทำให้แม่โคมีการสลายไขมันที่ไม่รุนแรง อันส่งผลต่อดัชนีการสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลอยู่ในเกณฑ์ที่ดีว่าไม่รุนแรง ซึ่งคาดหวังว่าผลกระทบอันเกิดจากภาวะพลังงานขาดสมดุลและปัญหาการสะสมไขมันในตับในแม่โคหลังคลอดนี้จะไม่รุนแรง อย่างไรก็ตามควรมีการทำงานวิจัยเพิ่มเติม เพื่อรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับผลของโปรไฟลีนไกลคอลต่อองค์ประกอบน้ำนม ตลอดจนประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ของแม่โคที่ได้รับสารนี้ เพื่อนำผลที่ได้ไปปรับใช้กับการจัดการฟาร์มโคนมให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดต่อไปในอนาคต

หนังสืออ้างอิง

1. Bruss, M. L. 1993. Metabolic fatty liver of ruminants. In: Cornelius C. E., ed. *Advances in veterinary science and comparative medicine*. San Diego: Academic Press Inc. Pages 421-422.
2. Christensen, J. O., R. R. Grummer, F. E. Rasmussen, and S. J. Bertics. 1997. Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. *J. Dairy Sci.* 80:563-568.
3. Grummer, R. R., J. C. Winkler, S. J. Bertics, and V. A. Studer. 1994. Effect of propylene glycol during feed restriction on metabolites in blood of prepartum Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 77:3618-3623.
4. Harrison, R. O., S. P. Ford, J. W. Young, A. J. Conley, and A. E. Freeman. 1990. Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73:2749-2758.
5. 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.
6. Rukkwamsuk, T., T. Wensing, and T.A.M. Kruip. 1999a. Relationship between triacylglycerol concentration in the liver and first ovulation in postparturient dairy cows. *Theriogenology*. 51:1133-1142.
7. Rukkwamsuk, T., T. Wensing, and M.J.H. Geelen. 1999b. Effect of fatty liver on hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 500-505.
8. Studer, V. A., R. R. Grummer, and S. J. Bertics. 1993. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:2931-2939.

9. Wentink, G. H., V.P.M.G. Rutten, T.S.G.A.M. Van den Ingh, A. Hoek, K. E. Muller, and T. Wensing. 1997. Impaired specific immunoreactivity in cows with hepatic lipidosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 56:77-83
10. West, H. J. 1990. Effect on liver function of acetonemia and the fat cow syndrome in cattle. *Res. Vet. Sci.* 48:221-227.

ประโยชน์ที่ได้จากโครงการวิจัย

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ประโยชน์ที่เกิดขึ้นกับเกษตรกร

ผลงานวิจัยชิ้นนี้ชี้ให้เห็นว่าโปรไฟลีนไกลคอลซึ่งเป็นสารให้พลังงานที่มีราคาถูกสามารถนำไปใช้ในการป้องกันปัญหาพลังงานขาดสมดุลในแม่โคนมระยะก่อนและหลังคลอดได้ โดยจะช่วยทำให้แม่โคนมมีการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันลดลงและลดการสะสมของไขมันในตับของโคนมในช่วงระยะหลังคลอดได้ด้วย หากแม่โคนมหลังคลอดมีปัญหาเหล่านี้ลดลง จะส่งผลให้มีโคมีประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมที่สมบูรณ์ดี ตลอดจนมีความสมบูรณ์พันธุ์เพิ่มขึ้น กล่าวคือโอกาสที่แม่โคเหล่านี้จะกลับมาแสดงอาการเป็นสัตภายหลังคลอดจะเร็วขึ้น ทำให้แม่โคสามารถผสมติดได้ในระยะเวลาที่ต้องการ อันจะส่งผลต่อผลผลิตน้ำนมที่ดีขึ้นของฟาร์มต่อไป

ประโยชน์ที่เกิดขึ้นทางด้านวิชาการและงานวิจัย

ผลงานวิจัยชิ้นนี้จะใช้เป็นแหล่งข้อมูลอ้างอิงเกี่ยวกับการเกิดภาวะพลังงานขาดสมดุลและปัญหาการสะสมของไขมันในตับโคนม ซึ่งมีรายงานน้อยมากในประเทศไทย โดยอาจทำให้นักวิจัยที่ทำงานด้านโคนมหันมาให้ความสนใจกับปัญหาการสะสมของไขมันในตับโคที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ และปัญหาสุขภาพ ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญของการเลี้ยงโคนมในประเทศไทย นอกจากนี้นักวิชาการด้านโภชนาศาสตร์โคนมอาจให้ความสนใจในการใช้หรือพัฒนารูปแบบการใช้โปรไฟลีนไกลคอลในอาหารสัตว์เพื่อความสะดวกและลดต้นทุนการผลิตอาหารสัตว์ต่อไปในอนาคต

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเทคนิคต่างๆ โดยเฉพาะเทคนิคด้านการตรวจวัดการทำงานของเอ็นไซม์ สามารถนำไปปรับใช้ในการศึกษาด้านเอ็นไซม์ตัวอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับเมตาโบลิซึมต่างๆ ทั้งนี้เพื่อหาสารสกัดชีวภาพที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพการผลิต โดยไม่จำกัดเฉพาะการศึกษาในโคนมเท่านั้น

ผลงานตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ

ผลงานวิจัยชิ้นนี้อยู่ระหว่างการเตรียมต้นฉบับส่งไปตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ คาดว่า จะส่งไปที่ The Journal of Dairy Science ซึ่งเป็นวารสารทางวิชาการเฉพาะด้านโคนม (ต้นฉบับอยู่ในส่วนภาคผนวก)

ภาคผนวก

ส่วนที่ 1

บทความสำหรับการเผยแพร่การนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์

ส่วนที่ 2

**Manuscript title : Effect of Propylene Glycol on Fatty Liver Development and
Hepatic Gluconeogenesis In Periparturient Dairy Cows
(In preparation to submit to the Journal of Dairy Science)**

ส่วนที่ 1

บทความสำหรับการเผยแพร่การนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์

บทความสำหรับเผยแพร่

ปัญหาพลังงานขาดสมดุลระยะคลอดในแม่โค

ปัญหาพลังงานขาดสมดุล หรือ negative energy balance มักเกิดขึ้นกับแม่โคในระยะคลอด โดยพบว่าแม่โคในระยะนี้จะมีการกินได้ต่ำทำให้พลังงานที่ได้รับจากอาหารไม่เพียงพอกับพลังงานที่ร่างกายต้องการโดยเฉพาะเพื่อการสร้างน้ำนมเหลืองและน้ำนม ดังนั้นพลังงานของแม่โคในระยะนี้มักจะขาดสมดุล ซึ่งร่างกายแม่โคจะตอบสนองต่อภาวะดังกล่าวโดยพบว่าจะมีการลดต่ำลงของความเข้มข้นของกลูโคสในกระแสเลือด ส่งผลให้มีระดับความเข้มข้นของอินซูลินลดต่ำลง ภาวะเช่นนี้จะกระตุ้นให้มีการสลายของไขมันที่สะสมไว้ในเนื้อเยื่อไขมันออกมามากขึ้น ผลของการสลายไขมันจะทำให้ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมาก ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้จะเกิดการสะสมในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอลในระดับของโค ทำให้เกิดปัญหาการสะสมของไขมันในตับหรือเรียกว่า fatty liver มีรายงานวิจัยอย่างต่อเนื่องพบว่าปัญหาพลังงานขาดสมดุลและปัญหาการสะสมของไขมันตับโคมีผลกระทบในทางลบต่อผลผลิตน้ำนม ระบบสืบพันธุ์ และสุขภาพของโคนมหลังคลอด ดังนั้นจึงมีงานวิจัยมากมายพยายามหามาตรการหรือแนวทางในการลดปัญหาของทั้งพลังงานขาดสมดุลและปัญหาการสะสมของไขมันในตับ ทั้งนี้เพื่อลดผลกระทบดังกล่าวและทำให้ประสิทธิภาพการผลิตของฟาร์มโคนมเพิ่มขึ้นด้วย

ปัญหาการสะสมของไขมันในตับโคในฟาร์ม

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเซียน ที่นำมาเลี้ยงในระบบที่มีการปรับอากาศของโรงเรือน ด้วย evaporative cooling system มีปัญหาเกี่ยวกับการสะสมของไขมันในตับในระยะหลังคลอดประมาณ 70% ของแม่โคหลังคลอดทั้งหมด โดยพบว่าในตับของแม่โคเหล่านี้มีไตรเอซิลกลีเซอรอลสะสมอยู่มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อกรัมของตับ และผลของการสะสมของไขมันในตับเหล่านี้ทำให้เซลล์ของตับมีรูปร่างเปลี่ยนแปลงไป กล่าวคือมีหยดไขมันทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่สะสมอยู่ในไซโตพลาสซึม ซึ่งอาจส่งผลต่อการทำหน้าที่ปกติของเซลล์ตับได้ เช่นหน้าที่ในการกำจัดสารพิษหรือสารเมตาโบไลต์ต่างๆ ในร่างกาย เป็นต้น มีรายงานว่า การสะสมของไขมันในตับโคจะสัมพันธ์กับการตกไข่ครั้งแรกหลังคลอด กล่าวคือ โคที่มีการสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลหลังคลอดมากขึ้นจะมีระยะหลังคลอดถึงการตกไข่ครั้งแรกมากขึ้น ซึ่งเป็นเหตุให้แม่โคที่มีปัญหาพลังงานขาดสมดุลและการสะสมของไขมันในตับมีประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าแม่โคที่มีปัญหาการสะสมของไขมันในตับยังพบปัญหาความผิดปกติของเมตาโบลิซึมเพิ่มขึ้นเช่น ดีโตซิส ใช้น้ำนม กระเพาะแพ่บิด เป็นต้น โรคหรือปัญหาต่างๆ เหล่านี้จะทำให้ผลผลิตน้ำนมของแม่โคลดลง อาจกล่าวได้ว่าปัญหาการสะสมของไขมันในตับเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบรุนแรงในแม่โคระยะหลังคลอดและในที่สุดทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจแก่ธุรกิจการเลี้ยงโคนม

การใช้โพรไฟลีนไกลคอลในโคนระยะคลอด

เนื่องจากปัญหาพลังงานขาดสมดุลเป็นปัญหาที่ไม่อาจหลีกเลี่ยงได้ในแม่โคระยะคลอด ดังนั้นการลดความรุนแรงของภาวะพลังงานขาดสมดุลในระยะนี้จะช่วยทำให้แม่โคไม่ประสบกับปัญหาที่เกิดจากการสะสมของไขมันในตับหรือปัญหาจากโรคหลังคลอดอื่นๆ ตามมา ในทางปฏิบัติวิธีการหนึ่งที่สามารถลดปัญหาการขาดสมดุลของพลังงานและผลที่เกี่ยวข้องกับการสลายไขมันที่มากเกินไปโดยเฉพาะปัญหาการสะสมของไขมันในตับ คือการป้อนสารที่ให้พลังงานสูงแก่แม่โคในระยะที่แม่โคต้องการพลังงานอย่างมาก คือระยะคลอด ซึ่งในระยะนี้แม่โคจะมีการกินอาหารลดลงอยู่แล้วตามการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและระบบฮอร์โมนในร่างกาย ดังนั้นการป้อนสารอาหารที่ให้พลังงานเสริมให้แม่โคจะช่วยทำให้แม่โคสามารถผ่านระยะวิกฤตนี้ไปได้อย่างราบรื่นและทำให้ผลกระทบจากการที่พลังงานขาดสมดุลในช่วงดังกล่าวไม่รุนแรงนัก จากงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการป้อนโพรไฟลีนไกลคอลในขนาด 400 มิลลิกรัมต่อตัวต่อวัน เริ่มประมาณ 7 วันก่อนคลอดจนถึง 7 วันหลังคลอด จะช่วยลดการสลายไขมันจากเนื้อเยื่อไขมันลงได้ ทำให้การสะสมของไตรเอซิลกลีเซอรอลในตับของโคเหล่านี้ลดลง แม้ว่าการป้อนโพรไฟลีนไกลคอลจะไม่ได้ช่วยให้ตับของแม่โคเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการสร้างกลูโคสเพิ่มขึ้นภายหลังคลอดก็ตาม แต่การป้อนโพรไฟลีนไกลคอลในช่วงสั้นๆ นั้นทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนของกรดไขมันที่ระเหยได้ในกระเพาะหมัก กล่าวคือมีการสร้างโพรพิออนเนตในสัดส่วนที่มากกว่าอะซิเตตและบิวไทเรต สัดส่วนที่เพิ่มขึ้นนี้ส่งผลให้มีการหลั่งอินซูลินมากขึ้น ระดับอินซูลินที่เพิ่มสูงขึ้นนี้ ทำให้ขบวนการสลายไขมันของเนื้อเยื่อไขมันลดลง ผลกระทบต่างๆ อันจะเกิดจากภาวะพลังงานขาดสมดุล หรือ ปัญหาการสะสมของไขมันในตับก็จะลดลงด้วย อาจกล่าวได้ว่าการป้อนโพรไฟลีนไกลคอล จะช่วยลดปัญหาอันอาจเกิดจากพลังงานขาดสมดุลและการสะสมของไขมันในตับ และยังเป็นโอกาสในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตของแม่โคด้วย

งานวิจัยในอนาคต

เนื่องจากโพรไฟลีนไกลคอล เป็นสารให้พลังงานที่มีราคาถูก หากมีการนำมาใช้ในแม่โคระยะคลอดเพื่อป้องกันปัญหาพลังงานขาดสมดุลและปัญหาการสะสมของไขมันในตับแม่โค ควรมีการทำงานวิจัยเพิ่มเติมเพื่อศึกษาประสิทธิผลของการใช้โพรไฟลีนไกลคอล โดยพิจารณาด้านคุณภาพของน้ำนมดิบ ประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ และ การเกิดโรคหลังคลอดต่างๆ ควบคู่ไปด้วย ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลครบทุกด้าน อันจะนำไปประกอบการพิจารณาใช้สารตัวนี้อย่างกว้างขวางเพื่อให้ได้ประโยชน์สูงสุดสำหรับอุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนในประเทศต่อไป

ส่วนที่ 2

**Manuscript title : Effect of Propylene Glycol on Fatty Liver Development and
Hepatic Gluconeogenesis in Periparturient Dairy Cows
(In preparation to submit to the Journal of Dairy Science)**

Effect of Propylene Glycol on Fatty Liver Development and Hepatic Gluconeogenesis in Periparturient Dairy Cows

Theera Rukkwamsuk,* Soonthorn Rungruang,† Apassara Choothesa,*
and Theo Wensing‡

*Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaengsaen,
Nakhon-Pathom 73140, Thailand

†Pakthongchai Dairy Farm, Nakhonrachasima, Thailand

‡Utrecht University, Utrecht, The Netherlands

ABSTRACT

Twenty-three Holstein Friesian cows were randomly allocated into 2 groups; a control group of 9 cows and a treated group of 13 cows that were drenched with 400 ml of propylene glycol once daily from 7 (6 ± 4) days before anticipated calving date until 7 days after calving. At -1, 2, and 4 wk from parturition, blood samples were collected from all cows for determination of serum glucose, non-esterified fatty acid, β -hydroxybutyrate, and total cholesterol concentrations; and biopsied liver samples were collected from all cows for determination of triacylglycerol and glycogen concentrations. At all intervals, hepatic fructose 1,6 biphosphatase activities were also measured. Milk yields were recorded daily. Compared with the concentrations at -1 wk, serum glucose concentrations decreased sharply at 2 and 4 wk, and the concentrations did not differ between the two groups at all intervals. Serum non-esterified fatty acid concentrations did not differ between the two groups at -1 wk, the concentrations at 2 wk increased 269% and 118% for control and treated groups, respectively. The concentrations were higher at 2 and 4 wk for control group than for treated group. Serum β -hydroxybutyrate concentrations did not differ between the two groups at -1 wk, the concentrations increased after calving and were higher for control than for treat group at 2 wk. At all intervals, serum cholesterol concentrations did not differ between groups, the concentrations were higher at 4 wk than at -1 and 2 wk for both groups. Triacylglycerol concentrations in the liver increased 245% at 2 wk in the control group, but only 125% in the treated group. At -1 wk, hepatic triacylglycerol concentrations did not differ between the two groups; however, the concentrations were higher at 2 and 4 wk for the control group than for the treated group. Hepatic glycogen concentrations decreased at 2 wk when compared with the concentrations at -1 wk; however, the concentrations did not differ between the two groups at all intervals. Hepatic fructose 1,6 biphosphatase activities did not change throughout the experimental period in both groups, and the activities were similar in both groups at all intervals. Average 30-d milk yields were 29.1 ± 5.3 and 30.2 ± 4.1 kg/d for control and treated groups, respectively, and the milk yields did not differ between the two groups of cows. Our results indicated that dairy cows drenched with propylene glycol at a dosage of 400 ml/cow/day could improve negative energy balance and could alleviate a massive mobilization of fat, consequently lower triacylglycerol accumulation in the liver. Though propylene glycol did not seem to increase hepatic gluconeogenesis, it could be suggested that ruminal propionate raises blood insulin concentrations, and this phenomena could inhibit lipolysis in adipose tissue. In conclusion, propylene glycol giving between 7 days before expected calving date and 7 days postpartum could be used in practices to alleviate fatty liver problems and their consequences in periparturient dairy cows.

Key words: dairy cow, triacylglycerol, histopathology, liver

Abbreviation key: NEB = negative energy balance, NEFA = non-esterified fatty acid, TAG = triacylglycerol(s),

INTRODUCTION

Dairy cows usually go into a period of energy shortage or negative energy balance (NEB) during periparturient period because feed intake of the cows during that period cannot always provide sufficient energy to meet their requirements (Rukkwamsuk et al., 1999a). Thus, the energy supply must be derived from lipolysis and proteolysis. Lipolysis in adipose tissue raises the concentration of non-esterified fatty acids (NEFA) in the blood (Rukkwamsuk et al., 1998). The mobilized NEFA are absorbed by the liver, which are metabolized to yield CO₂ and water or are re-esterified to triacylglycerols (TAG) (Bruss, 1993). The TAG are secreted from the liver in the form of very low density lipoproteins. Evidence exist that more intensive lipolysis as occurring in cows with severe NEB, plasma NEFA concentrations increase more substantially, resulting in hepatic lipidosis or fatty liver (Van den Top et al., 1995; Rukkwamsuk et al., 1998; Rukkwamsuk et al., 1999c). It is well documented that negative energy balance or fatty liver has adverse effects on health, production, and reproduction in dairy cows, partly due to some consequences of intensive lipolysis causing fatty liver or hepatic lipidosis (Gerloff et al., 1986; West, 1990; Rukkwamsuk et al., 1999b; Rukkwamsuk et al., 1999d).

Several researches have tried to alleviate the accumulation of TAG in the liver of periparturient dairy cows using different methods. For example, a 14-day intravenous infusion of glucagon decreases the degree of fatty liver in early lactation dairy cows (Hippen et al., 1999) because this hormone, counter-regulatory to insulin, is responsible for the prevention of hypoglycemia. Oral administration of 1-L propylene glycol once daily during the final week of gestation decreases postpartum plasma NEFA and β -hydroxybutyrate concentrations (Studer et al., 1993). In addition, prepartum oral administration of propylene glycol also reduced hepatic triacylglycerol concentrations by 32 and 42% at 1 and 21 d postpartum. The effect of propylene glycol on reducing triacylglycerol accumulation in the liver could be directed to the consistent lower acetate to proprionate ratio when feeding propylene glycol (Cozzi et al., 1996), which elicits a greater insulin response. This situation favors adipose tissues for lipogenesis, rather than lipolysis. It is documented that propylene glycol administered as an oral drench or mixed with concentrate and fed separately from forage appeared to be more effective than feeding propylene glycol as part of TMR (Christensen et al., 1997). It is well known that dairy cows already go into a period of NEB few days before calving and extend to few weeks after calving, with the nadir of NEB occurs mostly during the first week of lactation. Therefore, prevention of NEB during that period could be beneficial for the cows in that lipolysis of adipose tissue could be lowered and that fatty liver could be reduced. Moreover, it could be hypothesized that reducing effect of propylene glycol on fatty liver development could strengthen the liver ability to synthesis glucose via stimulating the hepatic gluconeogenic enzyme activities.

The objective of this study was to determine the effect of propylene glycol on fatty liver development and hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows. The experiment was designed to test the hypothesis that propylene glycol will alleviate triacylglycerol accumulation, thereby increasing hepatic gluconeogenesis.

MATERIALS AND METHODS

Farm, Animals and Diets

The study was conducted in a commercial dairy farm at Pakthongchai District, Nakornrachasima Province, Thailand. The farm consisted of 503 lactating cows, 171 dry cows, and 414 replacement calves and heifers. The average milk production of the farm was 20.5 kg/cow/d. The close-up and lactating cows were kept in a free-stall housing with an evaporative cooling system, which controls the inside temperature between 25-28 °C. All cows in the evaporating barn were fed ad libitum with total mixed rations as shown in Table 1.

Twenty-three healthy, pregnant, multiparous Holstein Friesian cows were randomly selected; mean age was 3.0 yr (SD = 0.3), mean 305-d cumulative milk yield was 6670 kg (SD = 680) at the start of the experiment.

Table 1. Composition of total mixed rations (TMR) as fed basis.

Ingredient	Dry period	Transition period	Lactating period
	kg as fed		
PCL-3 ¹	1.3
PCL-P ²	...	2.0	...
PCL-F ³	3.8
Wet brewer grain	8.0	7.0	10.0
Corn silage	8.0	12.5	12.5
Peanut hay	2.0	6.0	6.0
Rice straw	3.5
Cassava chips	...	1.0	1.3
Whole cotton seed	...	0.6	2.0
Ground corn	1.0
Molasses	1.0	0.5	0.5
Premixes	0.5	0.5	1.0

¹Consisting of 33.0% soybean meal, 27% canola meal, 22.5% wheat bran, 11% dried brewer grain, 4.1% limestone, and 2.4% salts.

²Consisting of 54.5% soybean meal, 15.0% canola meal, 13.0% dried brewer grain, 11.0% corn gluten meal, 4.7% salts, and 1.8% biophos.

³Consisting of 50.0% soybean meal, 27.0% corn gluten meal, 14.0% canola meal, 5.5% dried brewer grain, 1.9% salts, and 1.6% limestone.

Sampling and Assay Procedures

The liver and bloods were collected about 2 wk (10 ± 5 d) before the anticipated calving date and at 2 (10 ± 3 d) and 4 (28 ± 3 d) wk after parturition.

Liver biopsy was obtained using the percutaneous biopsy method as described by Van den Top (1995). During collection, the liver samples were placed on filter paper, were removed from any connective tissue and blood clots, and were divided into two parts. The first part was placed in a tube with 0.5 ml of 20% KOH for determination of glycogen concentrations. The second part was placed in a tube with physiological saline and was kept on ice for determination of TAG; thereafter in the laboratory, these samples were dried on the filter paper and any remaining connective

tissue or blood clots were removed. The samples were weighed in separated tubes for determination of TAG and FBPase (EC 3.1.3.11) activity, and were kept at -20°C until analysis. For determination of FBPase activity, the liver samples were homogenated in 9 volumes of a buffer (pH 8.0) containing 25 mM HEPES and 5 mM β -mercapto-ethanol. The homogenate was centrifuged at $25000 \times g$ for 10 min. The supernatant was used for analysis of enzyme activity. Liver TAG concentrations were assayed by spectrophotometry with the use of a commercial kit (Triglyceride GPO-PAP; CLASS-1 Laboratories Co., Ltd., Bangkok, Thailand). Liver glycogen concentrations were determined as described by Van den Top et al. (1994). The activity of FBPase was determined spectrophotometrically (Ulm et al., 1975).

Blood samples were collected from jugular veins and allowed to clot at room temperature. Serum samples were harvested and stored at -20°C until analyses. Concentrations of serum glucose (Glucose GOD-PAP, CLASS-1 Laboratories Co., Ltd., Bangkok, Thailand), NEFA (NEFA C, Wako Pure Chemical Industries Ltd., Osaka, Japan), β -hydroxybutyrate (RB 1007, Randox Laboratories, San Diego, CA), and total cholesterol (CHOD-PAP, CLASS-1 Laboratories Co., Ltd., Bangkok, Thailand) were measured enzymatically with commercially available kits as indicated.

Statistical Analyses

Data were statistically analyzed using an SPSS computer program (SPSS Advance Statistic™, 1994). Data were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test, and the homogeneity of variances was verified using the Levene's test. Normally distributed data were subject to ANOVA using groups as a fixed main effect and sampling days as a repeated measure. Within group, comparison of data between sampling days was performed using the paired Student *t* test. Data of cows between groups were compared using Student *t* test. The two-sided level of statistical significance was preset at $P \leq 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Milk yield

All cows calved normally. During the first 30 days of lactation, average milk yields were 29.1 ± 5.3 and 30.2 ± 4.1 kg/d for control and treated groups, respectively, and the milk yields did not differ between the two groups of cows (Figure 1). This observation was in agreement with other studies (Miyoshi et al., 2001; Studer et al., 1993). The same result is also reported when propylene glycol was used in the mid-lactating cows (Cozzi et al., 1996). It could be suggested that propylene glycol drenching once daily at the dosage of 400 ml per cow during the period around calving did not increase milk yield.

Serum glucose, NEFA, β -hydroxybutyrate, and cholesterol

Mean concentrations of serum glucose, NEFA, β -hydroxybutyrate and cholesterol is demonstrated in Figure 2-5. Serum glucose concentrations at -1 wk from parturition did not differ between groups, and the concentrations were $54.2 (\pm 6.2)$ and $56.9 (\pm 8.6)$ mg/dl in control and in treated cows, respectively (Figure 2). Serum glucose concentrations for the two groups decreased after calving. At 2 wk

postpartum, the concentrations were $37.7 (\pm 4.3)$ and $31.4 (\pm 13.5)$ mg/dl in control and in treated cows, respectively. The concentrations did not differ between the two groups at all intervals. Because the blood sample was not collected during the drenching period, the glucose concentrations in our study did not show any differences between the two groups. However, it is documented that plasma glucose concentrations are increased after drenching with propylene glycol (Miyoshi et al., 2001). It could be suggested that during the first week of lactation when cows are likely to suffer from hypoglycemia and hypoinsulinemia, propylene glycol administered orally to the cows could improve this situation by increasing the proportion of ruminal propionate (Grummer et al., 1994), resulting in an elevation of blood insulin concentrations (Miyoshi et al., 2001). The increased insulin concentrations in the blood results in a lower lipolytic activity as observed in this study that cows drenched with propylene glycol had lower serum NEFA concentrations at either 2 or 4 wks after parturition (Figure 3). The serum NEFA concentrations were similar in both groups at -1 wk from parturition. The concentrations increased after parturition in both groups, the increase were 269% and 118% in control and treated cows, respectively. Results also showed that control cows had greater serum NEFA concentrations at 2 and 4 wks from parturition. The increase of serum NEFA concentrations corresponded well with the results of serum β -hydroxybutyrate concentrations (Figure 4). Our results confirm again that increased NEFA concentrations in the blood predispose a cow to clinical ketosis (Rukkwamsuk et al., 1999d). Therefore, propylene glycol is an efficient compound to treat ketosis in postparturient dairy cows.

Serum cholesterol concentrations did not differ between the two groups at any intervals (Figure 5). However, for both groups, the concentrations were higher at 4 wk than at either -1 wk or 2 wk from parturition. This observation was similar to previous study (Van den Top et al., 1995).

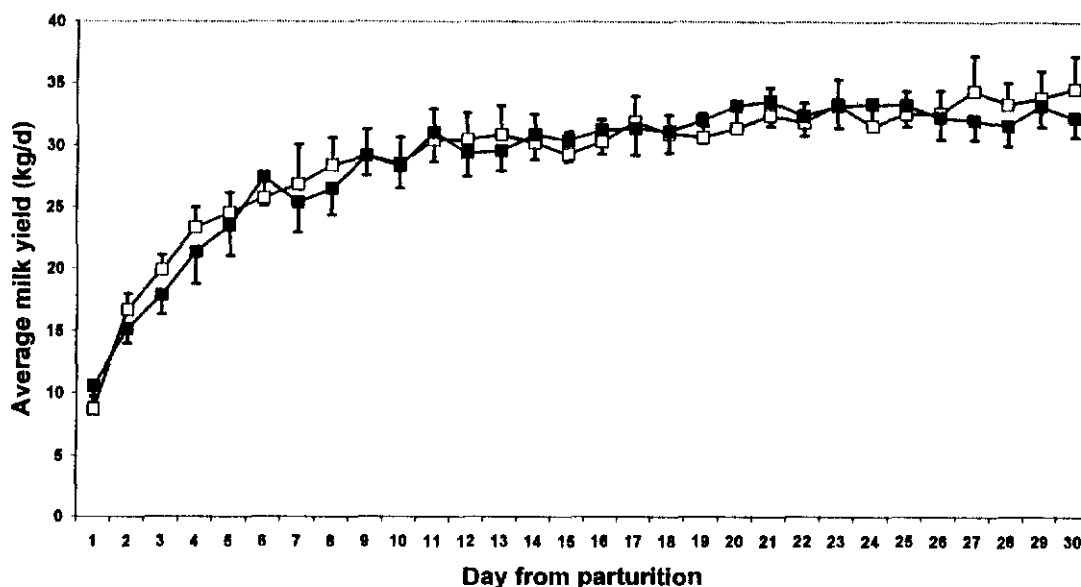


Figure 1. Comparison of milk yield during the first 30 d of lactation between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM).

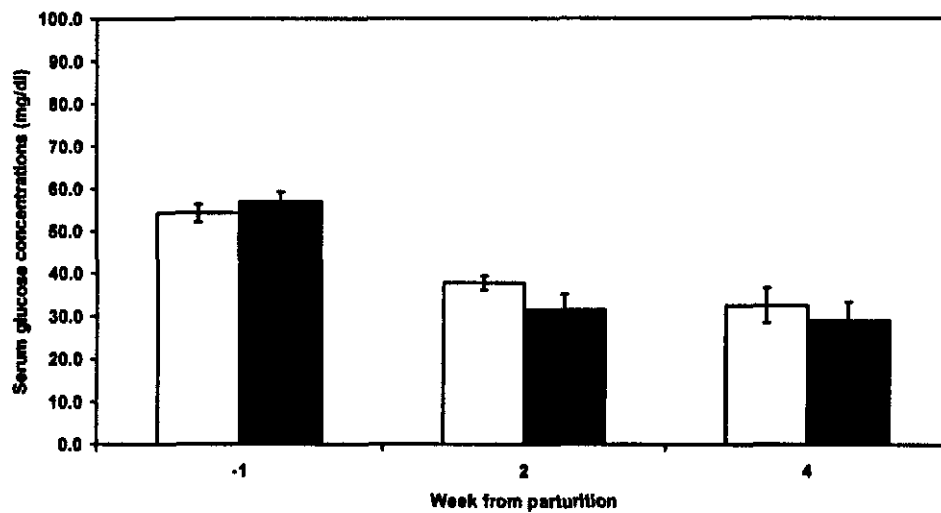


Figure 2. Comparison of glucose concentrations in the serum measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM).

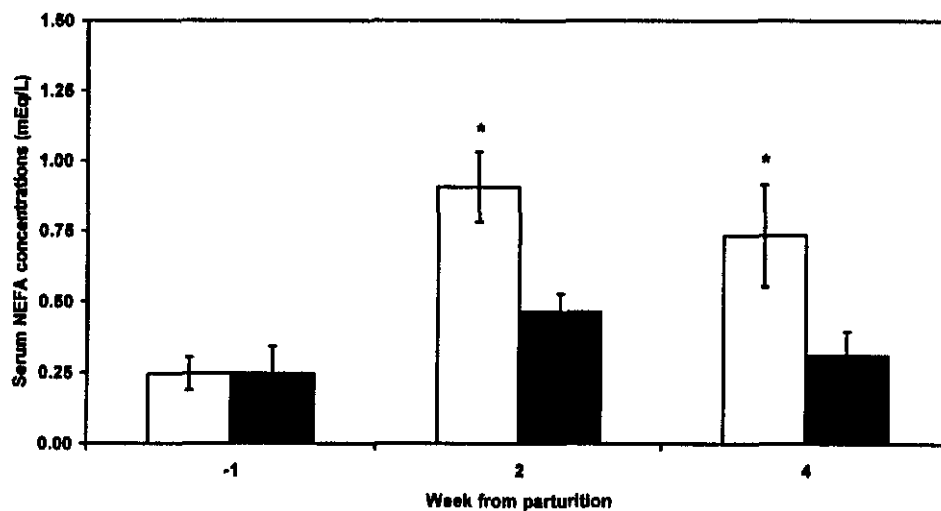


Figure 3. Comparison of non-esterified fatty acids (NEFA) concentrations in the serum measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM). Asterisks indicate the time during which the different in mean concentrations of NEFA in the serum was significant ($P \leq 0.05$) between control cows and cows drenched with propylene glycol.

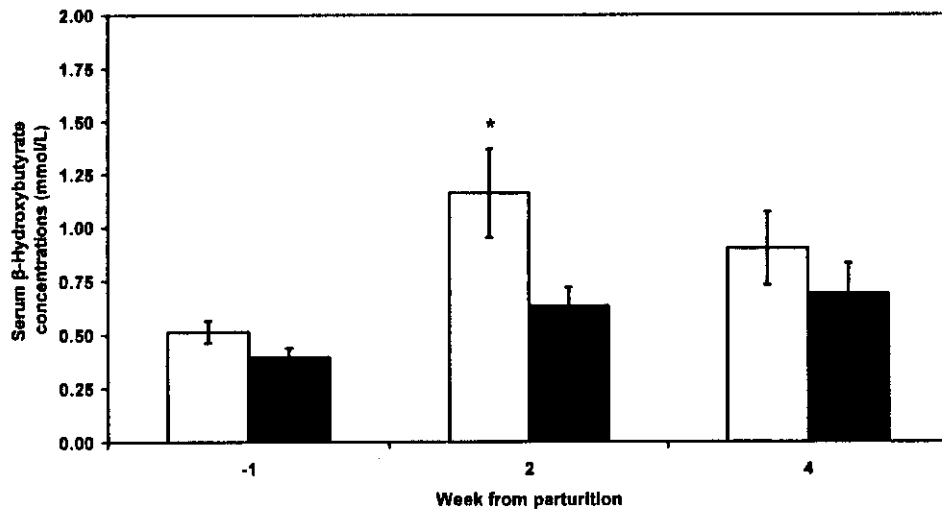


Figure 4. Comparison of β -hydroxybutyrate concentrations in the serum measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM). Asterisks indicate the time during which the different in mean concentrations of β -hydroxybutyrate in the serum was significant ($P \leq 0.05$) between control cows and cows drenched with propylene glycol.

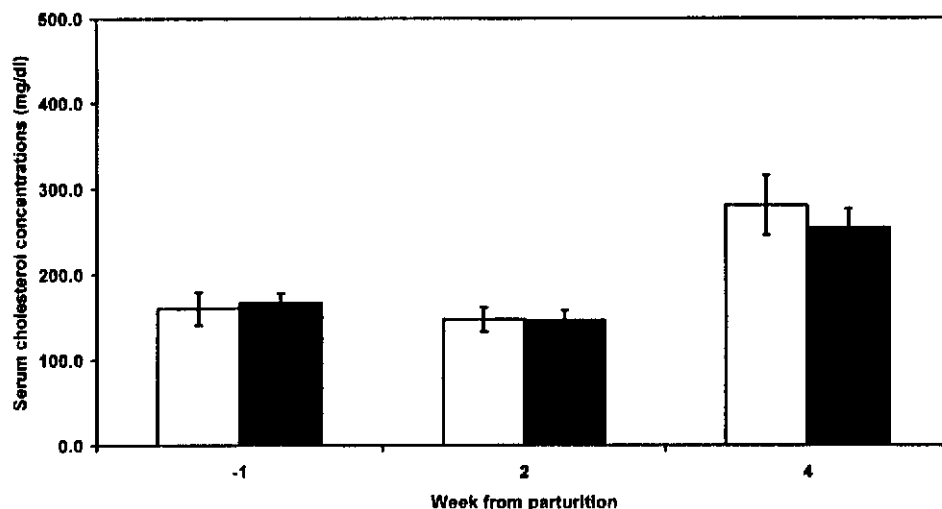


Figure 5. Comparison of total cholesterol concentrations in the serum measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM).

Liver Triacylglycerols, glycogen and FBPase activity

Mean concentrations of TAG and glycogen in the liver of control and treated cows is presented in Figure 6-7. At -1 wk from parturition, the hepatic TAG concentrations did not differ between the two groups, the concentration increased after parturition (Figure 6). At 2 wk from parturition, the concentrations were 245% and 125% as much as the concentrations before parturition. The concentrations at either 2 wk or 4 wk were greater for control than for treated cows. This result was due

to the fact that cows drenching with propylene glycol had significantly lower serum NEFA concentrations (Figure 3). Increased NEFA concentrations in the circulation is strongly associated with an increase of TAG accumulation in the liver (Rukkwamsuk et al., 1999a; 1999c). Mean glycogen concentration in the liver did not differ between groups at all intervals (Figure 7). Compared with the concentrations at -1 wk, the concentrations decreased after parturition and remained lower concentrations during the entire experimental period. Although, propylene glycol is a gluconeogenic compound, drenching with this compound during the periparturient period did not stimulate glycogen storage in the liver, possibly due to the fact that cows during the early month of lactation require a greater energy for increasing milk production. Therefore, most gluconeogenic precursors were used to produce glucose available for the requirements, rather than converted to glycogen.

At -1 wk from parturition, the activity of FBPase did not differ between the two groups (Figure 8). The same observation occurred at 2 wk and 4 wk from parturition. Although cows drenching with propylene glycol had an alleviation of serum NEFA concentrations and had a lower TAG accumulation in the liver, the activity of FBPase did not show any improvement when compared to those activity in control cows. As in previous study (Rukkwamsuk et al., 1999b), it is found that cows with greater amount of TAG in the liver tended to have a lower activity of FBPase. The difference between these results could be due to the difference in hepatic triacylglycerol concentrations, which were about 2 times as high as the concentrations observed in this study.

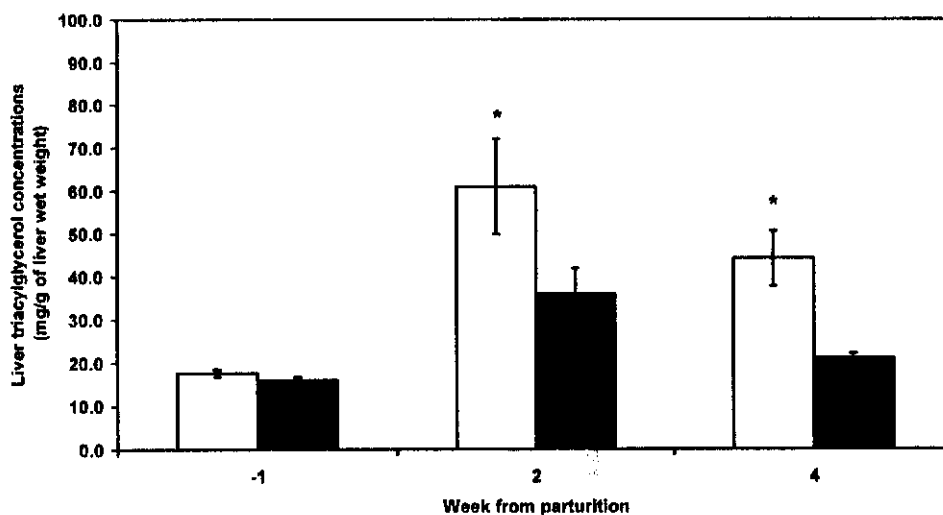


Figure 6. Comparison of triacylglycerol concentrations in the liver measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM). Asterisks indicate the time during which the different in mean concentrations of triacylglycerol in the liver was significant ($P \leq 0.05$) between control cows and cows drenched with propylene glycol.

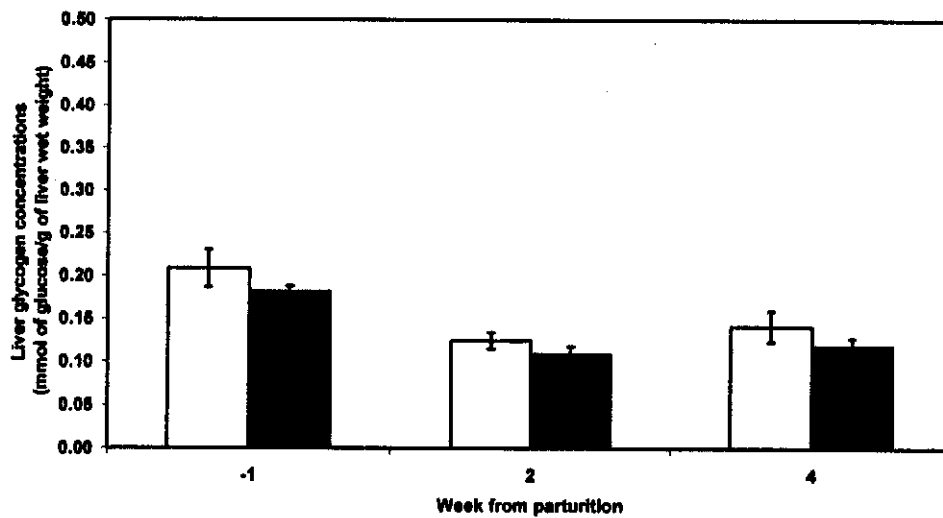


Figure 7. Comparison of glycogen concentrations in the liver measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM).

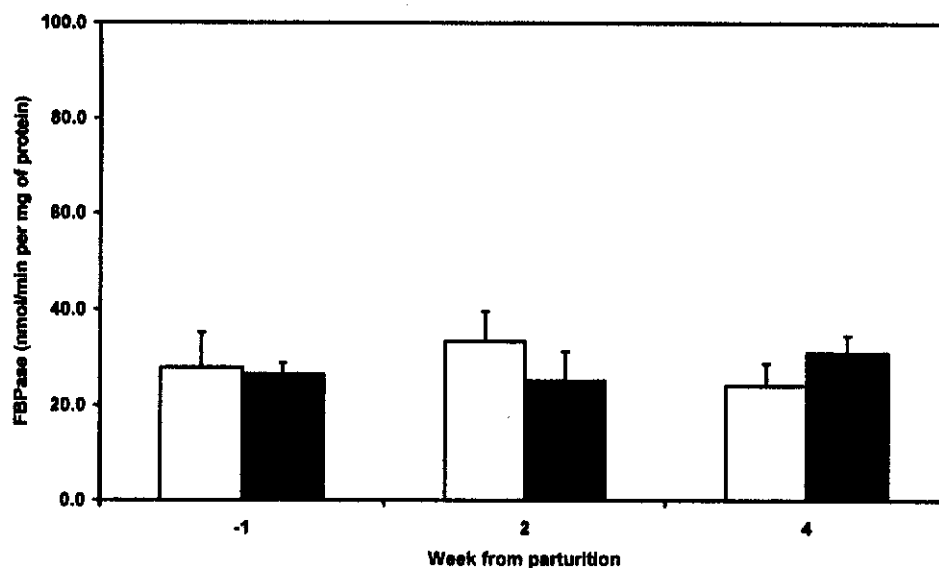


Figure 8. Comparison of activities of fructose 1,6 biphosphatase (FBPase) in the liver measured before and after parturition between control cows (□; n = 9) and cows that were drenched with propylene glycol (■; n = 14). Data are means (\pm SEM).

CONCLUSIONS

Drenching propylene glycol to a cow from 7 d before expected calving to 7 d after calving could alleviate fat mobilization from adipose tissue at least during the first month of lactation. As a result, the cows drenched with propylene glycol had a remarkable reduction in TAG accumulation in the liver. In this study, the positive carry-over effect of propylene glycol on the increase of FBPase activity was not found. The result may be related to the degree of the TAG accumulation. Although propylene glycol did not show any positive effect on milk production, the effect on alleviation of lipolysis and fatty liver development could be worthwhile to use this compound in the periparturient dairy cows. However, additional research is still required to determine the effect of propylene glycol on the milk composition, reproduction as well as the health of periparturient dairy cows, particularly in tropical countries.

REFERENCES

- Bruss, M. L. 1993. Metabolic fatty liver of ruminants. Pages 421-422 in *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*. C. E. Cornelius, ed. Academic Press Inc., San Diego.
- Cozzi, G., P. Berzaghi, F. Gottardo, G. Gabai, and I. Andrighetto. 1996. Effects of feeding propylene glycol to mid-lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Tech.* 64:43-51.
- Cirstensen, J. O., R. R. Grummer, F. E. Rasmussen, and S. J. Bertics. 1997. Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. *J. Dairy Sci.* 80:563-568.
- Gerloff, B. J., T. H. Herdt, and R. S. Emery. 1986. Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188:845-850.
- Grummer, R. R., J. C. Winkler, S. J. Bertics, and V. A. Studer. 1994. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of peripartum Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 77:3618-3623.
- Hippen, A. R., P. She, J. W. Young, D. C. Beitz, G. L. Lindberg, L. F. Richardson, and R. W. Tucker. 1999. Alleviation of fatty liver in Dairy Cows with 14-day intravenous infusions of glucagons. *J. Dairy Sci.* 82:1139-1152.
- Miyoshi, S., J. L. Pate, and D. L. Palmquist. 2001. Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 68:29-43.
- 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.
- Rukkwamsuk, T., T.A.M. Kruip, G. A. Meijer, and T. Wensing. 1999a. Hepatic fatty acid composition in periparturient dairy cows with fatty liver induced by intake of a high energy diet in the dry period. *J. Dairy Sci.* 82:280-287.
- Rukkwamsuk, T., T. Wensing, and M.J.H. Geelen. 1999b. Effect of fatty liver on hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:500-505.
- Rukkwamsuk, T., T. Wensing, and M.J.H. Geelen. 1999c. Effect of overfeeding during the dry period on the rate of esterification in adipose tissue of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 82:1164-1169.

- Rukkwamsuk, T., T. Wensing, and H. J. Breukink. 1999d. Clinical-biochemical observations in dairy cows experimentally induced with fatty liver. Pages 339-343 in *Proc. 25th Ann. Conf. Thai Vet. Med. Assoc.*, Bangkok.
- SPSS Advance Statistic™ Version 6.1. 1994. SPSS Inc., Chicago. IL.
- Studer, V. A., R. R. Grummer, and S. J. Bertics. 1993. Effect of prepartum polyethylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:2931-2939.
- Ulm, E. H., B. M. Pogell, M. M. deMaine, C. B. Libby, and S. J. Benkovic. 1975. Fructose-1,6-bisphosphatase from rabbit liver. Pages 369-374 in *Methods in Enzymology*. Vol. 42. W. A. Wood, ed. Acad. Press, New York, NY.
- Van den Top, A. M., T. Wensing, and A. C. Beynen. 1994. The influence of calcium palmitate and oleate feeding on hepatic lipid metabolism in dry goats. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 72:44-55.
- Van den Top, A. M., T. Wensing, M.J.H. Geelen, G. H. Wentink, A. T. van't Klooster, and A. C. Beynen. 1995. Time trends of plasma lipids and hepatic triacylglycerol synthesizing enzymes during postpartum fatty liver development in dairy cows with unlimited access to feed during the dry period. *J. Dairy Sci.* 78:2208-2220.
- West, H. J. 1990. Effect on liver function of acetonemia and the fat cow syndrome in cattle. *Res. Vet. Sci.* 48:221-227.