

تأثير التجويع على بعض الإنزيمات في أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio L.*

رياض عدنان التميمي، و خالدة سالم النعيم، و قصي حامد الحمداني*

قسم الأسماك والثروة البحرية، كلية الزراعة،

*قسم الفقريات البحرية، مركز علوم البحار،

جامعة البصرة، البصرة، العراق

dr.raltameme@gmail.com

المستخلص. استخدمت في التجربة 48 سمكة كارب شائع *Cyprinus carpio* (معدل الوزن 41.51 ± 3.51 غم)، وزعت الأسماك على ستة أحواض (كل حوض يمثل فترة تجويع) بمعدل ثمانية أسماك لكل حوض، بعد فترة أقلمة لمدة أسبوعين غذيت خلالها الأسماك لحد الإشباع على عليقة تجارية لتقليل الفروقات الفردية في الحالة التغذوية بين الأسماك قبل بدء التجربة، عرضت بعدها الأسماك للتجويع على فترات 2 و 4 و 6 و 8 و 10 اسابيع، تم وزن الأسماك كل أسبوعين مع أخذ عينة (5 اسماك) لقياس تركيز إنزيمات Glutamic Oxaloacetic و Alkaline Phosphatase (ALP) و Transaminase (GOT) و Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT) و Creatine Kinase (CK) و Lactate Dehydrogenase (LDH) في مصل الدم. أظهرت الدراسة انخفاض أوزان الأسماك بشكل ملحوظ نتيجة استهلاك بعض مكونات الجسم لإدامة الفعاليات الحيوية،

فضلا عن ذلك أظهرت الأسماك ارتفاعاً ملحوظاً ومعنوياً ($P \leq 0.05$) بعد مرور أسبوعين على التجويع في تركيز جميع الإنزيمات المدروسة عدا إنزيم ALP، مما يشير إلى حدوث حالة Glyconeogenesis. استمرت حالة الارتفاع في تركيز الإنزيمات وبشكل معنوي ($P \leq 0.05$) أيضا بعد مرور أربعة أسابيع وستة أسابيع من التجويع. توقفت الزيادة المعنوية ($P \geq 0.05$) في تركيز إنزيمات ALP و GPT و LDH خلال الأربعة أسابيع الأخيرة من التجربة. بينما استمرت الزيادة المعنوية ($P \leq 0.05$) في تركيز إنزيمي GOT و CK حتى بعد مرور ثمانية أسابيع من التجويع.

المقدمة

تستطيع الأسماك تحمل البقاء بدون غذاء لفترة طويلة من الزمن، وبالنسبة للعديد من أنواع الأسماك فان فترات التجويع تشكل جزءاً طبيعياً من دورة الحياة الطبيعية. إذ تعتبر أشهر الشتاء وهجرة التكاثر ومرحلة ما قبل وضع البيض فترات انقطاع طبيعية عن التغذية لبعض أنواع الأسماك. لذلك فان العديد من أنواع الأسماك تستطيع تحمل التجويع لعدة أشهر، فضلا عن إمكانية عودتها إلى حالتها الطبيعية بعد عودتها إلى تناول الغذاء (Shimeno *et al.*, 1990). لذلك فإن هذه الأنواع تكيفت بشكل جيد لاستخدام مخزونات الجسم وحتى مكونات الجسم للبقاء على قيد الحياة خلال فترة انقطاع التغذية (Navarro and Gutierrez, 1995). أنجزت بعض الدراسات حول تأثير التجويع على إنزيمات الكبد في الأسماك، وأشارت النتائج إلى إن التأثير يختلف حسب نوع الأسماك وموسم التجربة وفترتها (Shimeno *et al.*, 1990). إن ازدياد المعرفة بكمياء حياتية الدم تعدّ حالة سريرية مهمة في الأسماك، والتغيرات الحاصلة في فسلفة الدم تمثل المرآة العاكسة للظروف التي يتعرض لها الكائن المائي (Miller, 2002)، لهذا السبب فإن مقاييس الدم تعدّ مؤشرات للحالات المرضية ولحالات الإجهاد البيئي ومنها التجويع. يعدّ

أنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) Alkaline phosphatase من الأنزيمات المحللة ويوجد في الكبد والأمعاء والعظام والقلب والكليتين (Johnston *et al.*, 1994). أما ناقلات الأمين (GOT) Glutamic Oxaloacetic Transaminase (يسمى بالوقت الحاضر (AST) Aspartate Transaminase) و (GPT) Alanine Transaminase (يسمى بالوقت الحاضر (ALT)) فإنها تساعد على انتقال المجموعة الأمينية NH_2 في حامض أميني إلى حامض كيتوني، ويعدّ هذا الانتقال من العمليات الحياتية المهمة في تمثيل الأحماض الأمينية ضمن عمليات أيض المواد البروتينية (Zubay *et al.*, 1995). ينتشر أنزيم GOT و GPT في أنسجة قلب وكبد وكليتي وعضلات الأسماك (Das *et al.*, 2004). كما يحتوي كبد وقلب وعضلات الأسماك على أنزيم Lactate Dehydrogenase (LDH) ويصحب تلف هذه الأنسجة ارتفاعاً في مستوى الأنزيم في مصل الدم (Martinez *et al.*, 2004). ويعتبر قياس تركيز أنزيم Creatine Kinase (CK) في مصل الدم للأسماك أهمية في تشخيص الاضطرابات العامة التي تؤثر في العضلات (Luskova *et al.*, 2002). تهدف الدراسة الحالية إلى متابعة تأثير عملية التجويع طويل الأمد على تركيز إنزيمات ALP و GOT و GPT و CK و LDH في بلازما الدم لأسماك الكارب الشائع.

الأدوات وطرائق العمل

أجريت تجربة التجويع داخل المختبر واستمرت لمدة عشرة أسابيع تمثلت في خمس فترات تجويع، كل فترة مدتها أسبوعين باستخدام ستة أحواض زجاجية ذات أبعاد $60 \times 40 \times 30$ سم وبلغ حجم الماء في كل حوض 60 لتراً تقريباً، مزودة بنظام تهوية باستخدام مضخات هواء كهربائية، جُهزت الأحواض بشبكات بلاستيكية كأغطية لمنع الأسماك من القفز خارج الحوض، تم تخصيص الحوض

الأول للعينة الضابطة، بينما خصصت الأحواض الخمسة المتبقية لفترات التجويع الخمسة، بمعدل حوض واحد لكل فترة، جُلِبَت إصبعيات أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* المستخدمة في التجربة من محطة استزراع الأسماك التابعة لمركز علوم البحار، جامعة البصرة، استخدمت 48 سمكة وزعت على الأحواض بمعدل 8 أسماك لكل حوض، أجريت التجربة بعد فترة إقلمة استمرت أسبوعين على عليقة تجارية (رطوبة 5.94٪، بروتين 30.21٪، كاربوهيدرات 43.73٪، دهن 12.56٪، رماد 7.56٪) لتقليل الفروق الفردية في الحالة التغذوية للأسماك، غذيت خلالها الأسماك لحد الإشباع يوميا، بلغ معدل الوزن الفردي للأسماك المستخدمة (48 سمكة) عند بداية التجربة 41.51 ± 3.51 غم. قبل البدء بالتجربة (التجويع) وبعد انتهاء فترة الأقلمة اخرجت جميع الأسماك من الحوض رقم 1 ووزنت ثم أخذت منها عينة (5 أسماك) وأجريت عليها التحاليل الخاصة بتقدير تراكيز الإنزيمات لاستخدامها كعينة ضابطة. بعد انتهاء كل فترة تجويع والتي تستمر لمدة اسبوعين أخرجت جميع الأسماك أيضا من الحوض الخاص بفترة التجويع وأخذت منها عينة (5 أسماك) وبعد إخراج الأسماك من الماء قتلت بضربة على الرأس ووزنت باستخدام ميزان إلكتروني لغاية 0.01 غم، قطعت السويقة الذنبية خلف الزعنفة المخرجية، ثم حملت الأسماك باليد بشكل عمودي وضغط عليها، وبعد تدفق الدم من الوريد الذنبية تم ملء الأنابيب الشعرية غير الحاوية على مادة مانعة للتخثر، غلق أحد طرفيها بالطين الاصطناعي ونقلت إلى جهاز الطرد المركزي من نوع MSE موديل HJ-488A بسرعة 1500 دورة في الدقيقة لمدة دقيقتين، وبعد انفصال المصل عن البلازما تم سحبه بواسطة محقنة دقيقة حجم 100 ميكرو لتر، ونقل إلى أنابيب اختبار، وحفظت في التجميد لحين الاستخدام، ثم أجريت الفحوصات الأنزيمية لمصل الدم والتي تمثلت بقياس تراكيز الإنزيمات التالية:

قياس أنزيم (ALP)

تم قياس أنزيم ALP في مصل الدم لأسماك العينة الضابطة، والأسماك المجموعة بواسطة عدة Kit من شركة Biomerieux الفرنسية (Belfield and Goldberg, 1971)، وذلك بواسطة جهاز المطياف الضوئي على طول موجي قدره 510 نانوميتر ووفق المعادلة الآتية:-

تركيز إنزيم ALP (وحدة/لتر) = [قراءة العينة - قراءة العينة الضابطة]/القراءة القياسية] x 142.

قياس أنزيم (GOT)

تم قياس أنزيم GOT في مصل الدم لأسماك العينة الضابطة والأسماك المجموعة بواسطة عدة Kit من شركة Randox الأمريكية (Reitman and Frankel, 1971a)، وذلك بواسطة جهاز المطياف الضوئي على طول موجي قدره 546 نانوميتر. أما حساب التركيز فكان من حاصل الفرق مابين القراءتين للنموذج الواحد (قراءة الاختبار - قراءة التحكم) إذ أن الفرق بينهما يعطي قيمة معينة تحول إلى ما يقابلها باستخدام جدول مثبت في التعليمات الخاصة بعدة العمل حيث يكون التركيز بالوحدة القياسية (وحدة/لتر).

أنزيم (GPT)

تم قياس أنزيم GPT في مصل الدم لأسماك العينة الضابطة والأسماك المجموعة بواسطة عدة Kit من شركة Randox الأمريكية (Reitman and Frankel, 1971b)، وذلك بواسطة جهاز المطياف الضوئي على طول موجي قدره 546 نانوميتر. أما حساب التركيز فكان من حاصل الفرق مابين القراءتين للنموذج الواحد (قراءة الاختبار - قراءة التحكم) إذ أن الفرق بينهما يعطي قيمة معينة تحول

إلى ما يقابلها باستخدام جدول مثبت في التعليمات الخاصة بعدة العمل حيث يكون التركيز بالوحدة القياسية (وحدة/لتر).

قياس أنزيم (CK)

تم قياس إنزيم CK في مصل الدم لأسماء العينة الضابطة والأسماء المجموعة بواسطة عدة Kit من شركة Randox الأمريكية (Allain, 1974) وذلك بواسطة جهاز المطياف الضوئي على طول موجي قدره 560 نانوميتر ووفق المعادلة الآتية:

تركيز إنزيم CK (وحدة/لتر) = [قراءة العينة - قراءة العينة الضابطة]/القراءة القياسية $\times 205$.

قياس أنزيم (LDH)

تم قياس أنزيم LDH في مصل الدم لأسماء العينة الضابطة والأسماء المجموعة بواسطة عدة Kit من شركة Randox الأمريكية (Doumas *et al.*, 1971) وذلك بواسطة جهاز المطياف الضوئي على طول موجي قدره 520 نانوميتر. حسب تركيز هذا الأنزيم باستخدام جدول مثبت في التعليمات الخاصة بعدة العمل حيث يكون التركيز بالوحدة القياسية (وحدة/لتر).

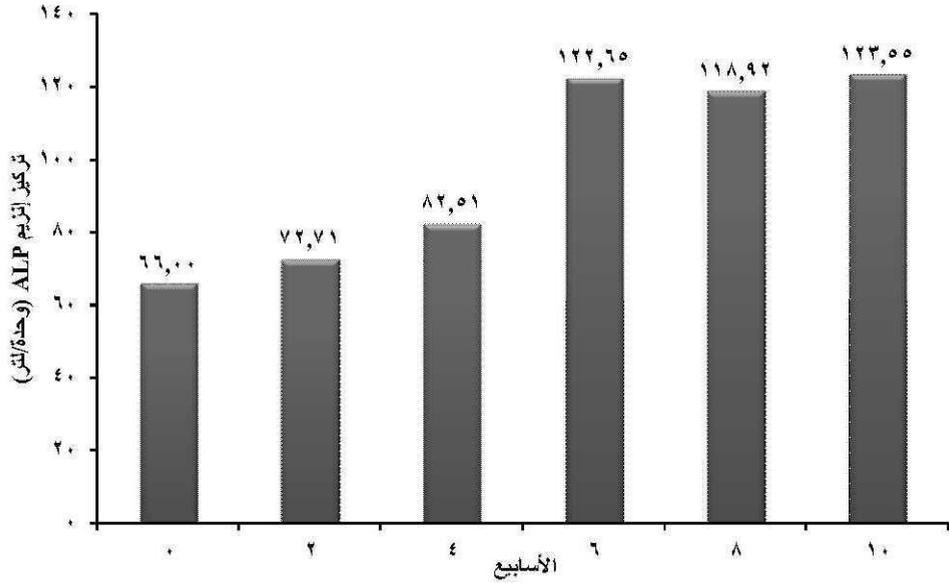
تم تحليل البيانات إحصائياً باستخدام تحليل التباين ANOVA (التصميم العشوائي الكامل) بواقع 5 مكررات لكل معاملة للمقارنة بين تراكيز الانزيمات خلال فترات التجويع المختلفة، على مستوى معنوية 0.05 بالاعتماد على الهيتي (2004) وبواسطة الحاسوب، ومن خلال استخدام البرنامج الإحصائي (Statistical package for social sciences SPSS) الإصدار 16.0.

النتائج

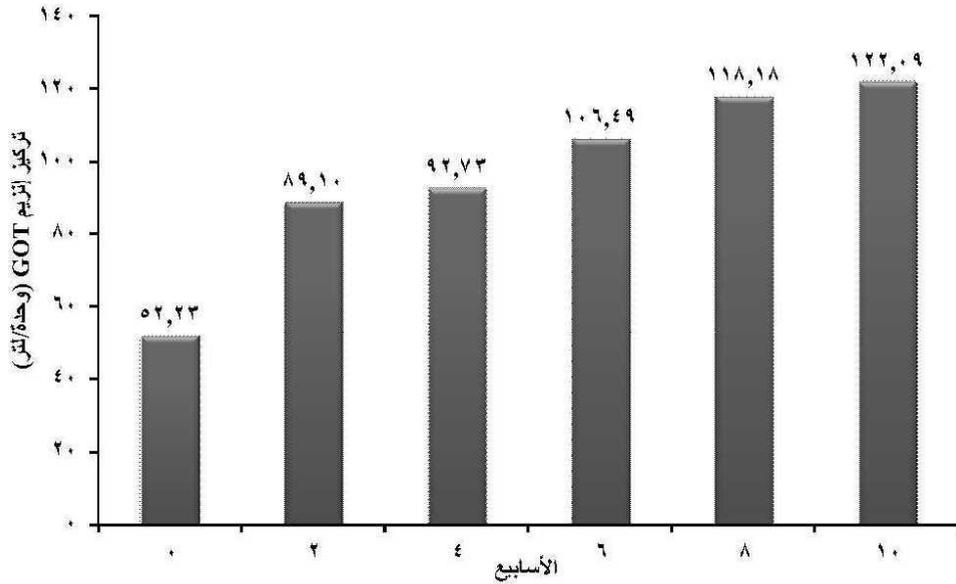
لم تحدث وفيات نتيجة التجويع خلال فترة التجربة لكن تناقصت معدلات وزن الجسم تدريجياً كنتيجة مباشرة لعملية التجويع (جدول 1). أظهرت النتائج تأثيراً واضحاً للتجويع على إنزيمات ALP و GOT و GPT و CK و LDH في أسماك الكارب. أظهرت النتائج زيادة في تركيز جميع الإنزيمات المدروسة في التجربة الحالية وبشكل معنوي $P \leq 0.05$ (عدا إنزيم ALP) بعد مرور أسبوعين من التجويع (الأشكال 1 و 2 و 3 و 4 و 5). استمرت الزيادة في نشاط الإنزيمات بعد مرور أربعة أسابيع من التجويع، ولكن لوحظ إن هذه الزيادة كانت طفيفة وغير معنوية $P \geq 0.05$. أظهرت جميع الإنزيمات زيادة ملحوظة ومعنوية في تراكيزها بعد مرور ستة أسابيع، مقارنة بتراكيزها بعد مرور أربعة أسابيع. توقفت الزيادة في تركيز إنزيمات ALP و GPT و LDH (الأشكال 1 و 3 و 5) بعد مرور ثمانية أسابيع على التجويع، واستمرت حتى نهاية التجربة. بينما تواصلت الزيادة في تركيز إنزيمي GOT و CK (الأشكال 2 و 4) بعد مرور ثمانية أسابيع، وتوقفت الزيادة المعنوية في تركيز هذين الإنزيمين خلال الأسبوعين الأخيرين من التجربة.

جدول 1. التغيرات في وزن الجسم (الكتلة الحية غم) في أسماك الكارب المجموعة.

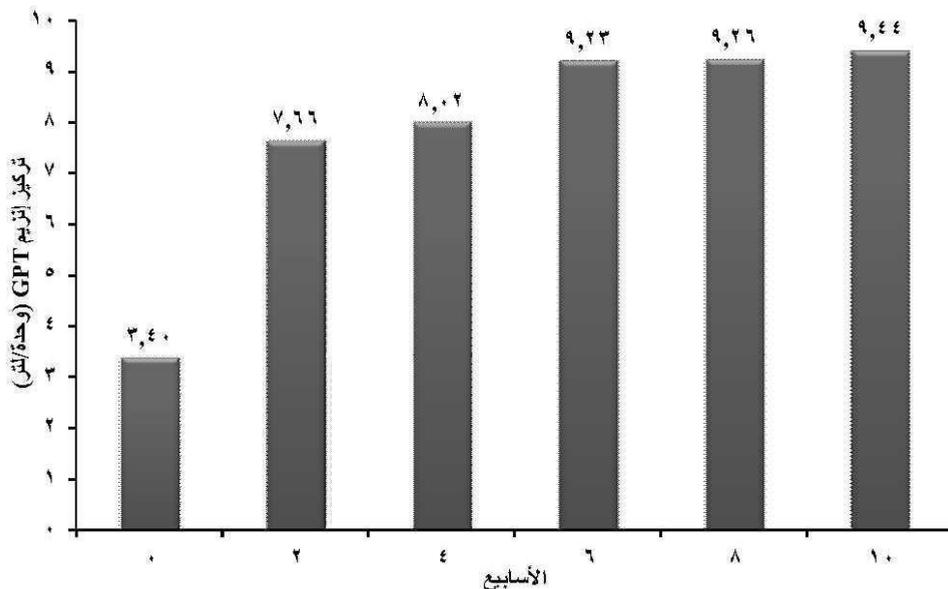
وقت التجويع (أسابيع)					بداية التجربة	رقم الحوض
10	8	6	4	2		
-	-	-	-	-	364.42	1
-	-	-	-	281.05	309.02	2
-	-	-	279.43	303.20	324.02	3
-	-	268.75	292.52	309.07	326.06	4
-	308.29	310.65	327.66	347.30	368.08	5
229.33	240.72	246.08	265.72	284.10	301.11	6
229.33	274.51	275.16	291.33	304.94	332.12	المعدل



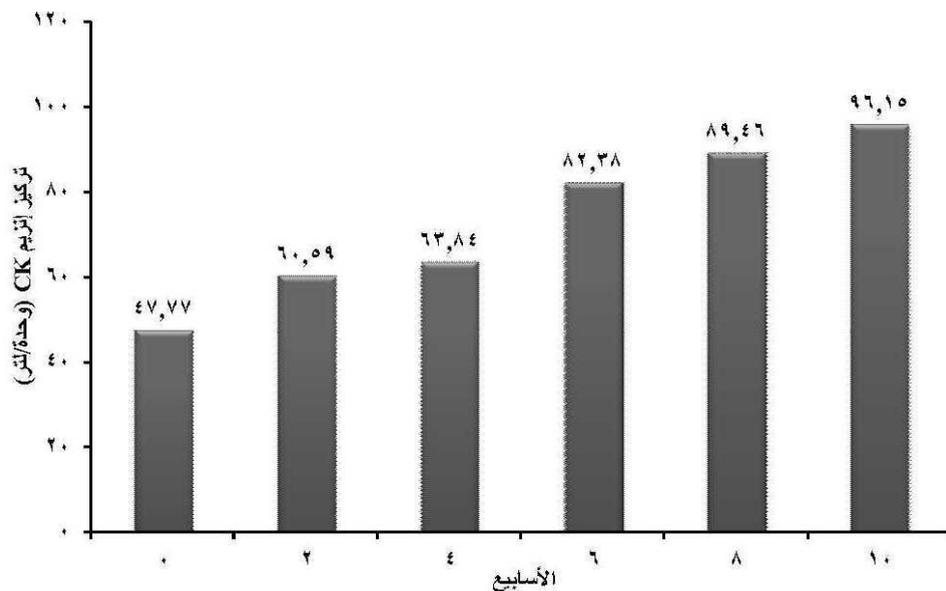
شكل 1. التغيرات في تركيز إنزيم ALP في مصل الدم لأسماك الكارب الشائع خلال فترات التجويع.



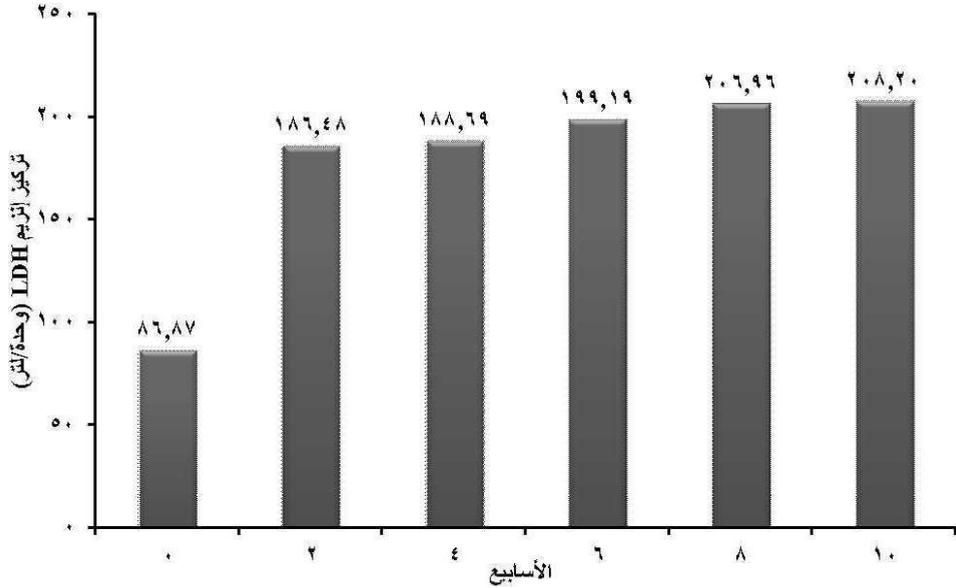
شكل 2. التغيرات في تركيز إنزيم GOT في مصل الدم لأسماك الكارب الشائع خلال فترات التجويع.



شكل 3. التغيرات في تركيز إنزيم GPT في مصلى الدم لأسماك الكارب الشائع خلال فترات التجويع.



شكل 4. التغيرات في تركيز إنزيم CK في مصلى الدم لأسماك الكارب الشائع خلال فترات التجويع.



شكل 5. التغيرات في تركيز إنزيم LDH في مصل الدم لأسماك الكارب الشائع خلال فترات التجويع

المناقشة

أوضحت العديد من الدراسات إن التجويع يؤثر على نشاط الإنزيمات في العديد من أنواع الأسماك (Frick *et al.*, 2008; Tripathi and Verma, 2003; and Shimeno *et al.*, 1990). وبالمثل أشارت الدراسة الحالية إلى ارتفاع تركيز إنزيمات GOT و GPT و LDH بعد مرور أسبوعين على التجويع، إذ تواصلت الزيادة في إنزيمي GPT و LDH لغاية مرور ستة أسابيع من التجويع بينما استمرت الزيادة في تركيز إنزيم GPT لغاية ثمانية أسابيع من التجويع. أشار Perez (2007) و Jimenez *et al.* (2007) و Navarro and Gutierrez (1995) إلى أن ارتفاع تركيز هذه الإنزيمات يمكن أن يعتبر مؤشرا واضحا لحدوث عملية Glyconeogenesis التي تحدث خلال التجويع، والصيام، وحالات النشاط الحركي الشديد. إذ يلعب

إنزيم LDH دورا كبيرا في عملية Glyconeogenesis من خلال نقل اللاكتيت إلى الكبد، إذ يتحول هناك إلى البايروفيت بدورة كوري، ويعتبر البايروفيت المادة الأساس في مسارات Glyconeogenesis والذي يمكن أن يستخدم لاحقا لإنتاج الجلوكوز. كما أن إنزيمي GPT و GOT ومن خلال دورهما في عمليتي Transamination و Deamination للأحماض الأمينية مما يسهل عملية دخول هيكلها الكاربوني في دورة حامض الستريك بشكل بايروفيت أو أوكزالو أسيتيت Oxaloacetate. هذا الارتفاع في نشاط عملية Glyconeogenesis اقترح في العديد من أنواع الأسماك مثل European eels بعد مرور 95 يوم من التجويع من خلال ملاحظة ارتفاع تركيز إنزيم GOT (Larsson and Lewander, 1973) وأسماك Rainbow trout خلال الشهر الثاني من التجويع من خلال ارتفاع إنزيمي GOT و LDH (Morata *et al.*, 1982) وأسماك Sockeye salmon المهاجرة (المجموعة) من خلال ارتفاع تركيز إنزيم GPT (French *et al.*, 1983). كما يمكن أن يعزى الارتفاع في تركيز هذه الإنزيمات فضلا عن إنزيمي CK و ALP إلى التلف الذي يحدث في الخلايا نتيجة التجويع أو الإجهاد، إذ أشار Olsen *et al.* (2005) إلى أن الارتفاع في تركيز إنزيم GOT في بلازما الدم لأسماك Rainbow trout المعرضة للتجويع قد يكون ناجمًا عن التلف الحاصل في أنسجة الجسم. كما أشار Olsen *et al.* (2008) أيضا إلى أن أسماك Atlantic cod المجموعة أظهرت عملية نضح أكبر بالنسبة لإنزيمي GOT و GPT إلى بلازما الدم مقارنة بالأسماك غير المجموعة. كما أشار الهواري وعز الدين (1986) إلى أن إنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP يتحرر إلى بلازما الدم من الخلايا نتيجة حدوث التلف فيها، وبعد مؤشراً على الحالة المرضية أو حالة الإجهاد لكونه من الأنزيمات التي ليس لها وظيفة في بلازما الدم.

المراجع

أولاً: المراجع العربية

- الهوراي، محمد فتحي، وعز الدين، فؤاد وهبي (1986). الكيمياء السريرية. دار التقني للطباعة والنشر، بغداد: 346 صفحة.
- الهيئي، صلاح الدين حسين (2004). الأساليب الإحصائية في العلوم الإدارية (تطبيقات باستخدام SPSS). دار وائل للطباعة والنشر، عمان، الأردن. 555 ص.

ثانياً: المراجع الأجنبية

- Allain, C.C. (1974) Creatine kinase. *Clin. Chem.*, **20**: 470-475.
- Belfield, A. and Goldberg, D.M. (1971) Phosphatase alkaline-kit. *Enzyme*, **12**: 561.
- Das, P.C., Ayyappan, S., Jena, J.K. and Das, B.K. (2004) Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquat. Res.*, **35**: 134-143.
- Doumas, B.T., Watson, W.A. and Biggs, H.G. (1971) Lactate dehydrogenase. *Clin. Chem. Acta*, **31**: 90-94
- French, C.J., Hochachka, T.P. and Mommsen, T.P. (1983) Metabolic organization of liver during spawning migration of sockeye salmon. *Am. J. Physiol.*, **245**: 827-830.
- Frick, N.T., Bystriansky, J.S., Ip, Y.K., Chew, S.F. and Ballantyne, J.S. (2008) Carbohydrate and amino acid metabolism in fasting and aestivating African lungfish (*Protopterus dolloi*). *Comparative Biochem. Physiol.*, Part A. **151**: 85-92.
- Johnstoen, C.E., Horney, B.S., Deluca, S., Mackanzia, A., Eales, J.G. and Angus, R. (1994) Changes in alkaline phosphatase isoenzyme activity in tissues and plasma of Atlantic salmon, *Salmo salar* before and during smoltification and gonadal maturation. *Fish Physiol. Biochem.*, **12**: 485-497.
- Larsson, A.C. and Lewander, K. (1973) Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla* L. *Comp. Biochem. Physiol.* **44**(A): 367-374.
- Luskova, V., Svoboda, M. and Koarova, J. (2002) The effect of diazion on blood plasma biochemistry in carp. (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Vet. Brno.*, **71**: 117-123.
- Martinez, M.L., Chapman, L.J., Grody, J.M. and Rees, B.B. (2004) Interdemic variation in haematocrit and lactate dehydrogenase in the African cyprinid *Barbus neumayeri*. *J. Fish Biol.* **65**: 1056-1069.
- Miller, C. (2002) Disease treatment helps for aquarium fish. <http://www.aquasite.com>.
- Morata, P., Vargas, A.M., Sanchez-Medina, E., Garca, M., Carnette, G. and Zamora, S. (1982) Evolution of gluconeogenic enzyme activities during starvation in liver and kidney of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.* **74**(B): 65-70.
- Navarro, I. and Gutierrez, J. (1995) Fasting and starvation. In: Hochachka P. W. and Mommsen T. P. (eds). *Biochemistry and molecular biology of fishes*. Elsevier, Amsterdam. **4**: 393-434.
- Olsen, R.E., Sundell, K., Mayhew, T.M., Myklebust, R. and Ringo, E. (2005) Acute stress alters intestinal function of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture*, **250**: 480-495.
- Olsen, R.E., Sundell, K., Ringo, E., Myklebust, R., Hemre, G.I., Hansen, T. and Karlsen, O. (2008) The acute stress response in fed and food deprived Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture* **280**: 232-241.

- Perez, Jimenez A., Guedes, M.J., Morales, A.E. and Oliva-Teles, A.** (2007) Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture*. **265**: 325-335.
- Reitman, S. and Frankel, S.A.** (1971a) Determination of serum aspartate aminotransferase (GOT). *J. Clin. Pathol.*, **28**: 56-61
- Reitman, S. and Frankel, S.A.** (1971b) Determination of serum alanine aminotransferase (GPT). *J. Clin. Pathol.*, **28**: 68-71
- Shimeno, S., Kheyvyali, D. and Takeda, M.** (1990) Metabolic adaptation to prolonged starvation in carp. *Nippon Suis. Gak.*, **56**: 35-41.
- Tripathi, G. and Verma, P.** (2003) Starvation-induced impairment of metabolism in a freshwater catfish. *Z. Naturforsch.* **58**: 446-451.
- Zubay, G.L., Parson, W.W. and Vance, D.E.** (1995) *Principles of biochemistry*. Wm. C. Brown Co. Publ., Dubuque: 863 pp.

Effect of Starvation on Some Enzymes in Common Carp *Cyprinus carpio* L.

**Riyadh A. Al-Tameemi, Khalidah S. Al-Niaeem
and Qusay H. Al-Hamadany***

Department of Fisheries and Marine Resources, College of Agriculture,

**Department of Marine Vertebrates, Marine Science Centre, University
of Basrah, Basrah, Iraq.*

dr.raltameme@gmail.com

Abstract. The experiment was conducted using 48 fish, common carp *Cyprinus carpio* (average weight 41.51 ± 3.51), The fish were distributed on 6 aquaria each one represents a starvation period and contain 8 individuals, after two weeks acclimatization on commercial diet to reduce individual differences in nutritional status, fish was exposed to starvation periods (2, 4, 6, 8, and 10 weeks), fish weighed and the concentration of Alkaline Phosphatase (ALP), Glutamic Oxaloacetic Transaminase (GOT), Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT), Creatine Kinase (CK) and Lactate Dehydrogenase (LDH) enzymes in blood serum were analyzed. Fish weight decreased noticeably as a result of consumption of some components of the body to sustain essential activities, as well as the fish showed a significant increase ($P \leq 0.05$) after two weeks of starvation in the concentration of all enzymes studied except for ALP enzyme, which indicates an increase in glycconeogenesis. The significant ($p \leq 0.05$) increase in the concentration of enzymes was continued after four and six weeks of starvation. The significant increase ($P \geq 0.05$) in the concentration of enzymes ALP, GPT and LDH was stopped during the last four weeks of the experiment. While the significant increase ($P \leq 0.05$) in concentration of enzyme GOT and CK was continued even after eight weeks of starvation.