"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2023.1963441.1375

Evaluation of some diagnostic indices of subclinical pregnancy toxemia in Lori-Bakhtiari ewes

Changalvaie, N.[1], Kheradmand, A.[2*], Rocky, A.[3], Maleki, Sh.[3]

1- DVM Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
2- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
*Corresponding author's email: Kheradmand.a@lu.ac.ir
(Received: 2022\9\20 Accepted: 2023\1\16)

Abstract

Pregnancy toxemia is known as an important metabolic disorder in pregnant ewes, which often causes damage to the animal husbandry industry in the final months of pregnancy by increasing the number of casualties or reducing the productivity of ewes. This study was performed to investigate the relationship between subclinical pregnancy toxemia and litter size in Lori-Bakhtiari ewes and the relationship between BHBA (Beta-hydroxybutyric acid), glucose, cholesterol and triglyceride concentrations in non-pregnant and pregnant (singleton and twins) ewes. Jugular vein blood samples were obtained from 103 Lori-Bakhtiari ewes including 30 non-pregnant ewes (control group) and 73 pregnant ewes in their fifth month of pregnancy (68 singleton and 5 twins). Concentration of BHBA, glucose, triglyceride and cholesterol in serum samples were measured using commercial kits and photometry. There was no significant difference regarding BHBA and cholesterol between the three studied groups. There was a significant difference in serum glucose concentration between the control group with singleton pregnant and twin pregnant groups (p<0.05). Triglyceride concentration in twin pregnant group was significantly higher than the other two groups (p<0.05). Pearson's test in twin pregnant ewes indicated a significant negative correlation between BHBA and glucose (p<0.001 and r=-0.402); While there was no significant relationship between BHBA and triglyceride, and BHBA and cholesterol in twin pregnant group. The results of the present study showed that BHBA, glucose and triglyceride are reliable indicators for subclinical pregnancy toxemia detection in the last month of pregnancy of Lori-Bakhtiari ewes; however, measurement of cholesterol is not useful in this regard.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Beta hydroxybutyric acid, Glucose, Lori-Bakhtiari ewe, Pregnancy toxemia, Triglyceride.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2023.1963441.1375

ارزیابی برخی شاخص‌های تشخیصی مرتبط با مسمومیت آبستنی تحت‌بالینی در میش‌های نژاد لری-بختیاری

ناهید چنگلوائی[۱]، آرش خردمند[۲*]، علیرضا راکی[۳]، شهرام ملکی[۳]

۱- دانش‌آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

۲- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

۳- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: Kheradmand.a@lu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۶/۲۹ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱۰/۲۶)

چکیده

مسمومیت آبستنی یک اختلال متابولیکی مهم در میش‌های آبستن بوده که اغلب در ماه‌های آخر آبستنی با افزایش شمار تلفات و یا کاهش بازده میش‌ها موجب ایجاد خسارت مادی به صنعت دامداری می‌شود. پژوهش حاضر به منظور بررسی ارتباط مسمومیت آبستنی تحت‌بالینی و چندقلوزایی در میش‌های نژاد لری-بختیاری و ارتباط غلظت BHBA (Betahydroxybutyric acid)، گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید در میش‌های غیرآبستن و آبستن (تک‌قلو و دوقلو) و مقایسه این شاخص‌ها با تعداد جنین‌ها انجام شد. بدین منظور خون وداجی از ۱۰۳ رأس میش لری-بختیاری شامل ۳۰ رأس میش غیرآبستن (گروه شاهد) و ۷۳ رأس میش آبستن در ماه پنجم آبستنی (۶۸ رأس تک‌قلو و ۵ رأس دوقلو آبستن) اخذ شده و غلظت BHBA، گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول نمونه‌های سرمی تهیه شده اندازه‌گیری شدند. بر اساس یافته‌ها، تفاوت آماری معنی‌داری در غلظت BHBA و کلسترول سرمی میش‌های ۳ گروه مورد مطالعه مشاهده نشد. اما تفاوت آماری معنی‌داری در غلظت گلوکز سرم حیوانات شاهد و گروه‌های آبستن تک‌قلو و آبستن دوقلو وجود داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین غلظت تری‌گلیسرید سرم در میش‌های دوقلو آبستن بطور معنی‌داری نسبت به ۲ گروه دیگر بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). آزمون پیرسون هم در میش‌های دوقلو آبستن ارتباط منفی معنی‌داری بین غلظت BHBA و گلوکز نشان داد ($p<۰/۰۰۱$ و $r=-۰/۴۰۲$)؛ درحالی‌که بین غلظت BHBA و تری‌گلیسرید و غلظت BHBA و کلسترول در گروه دوقلو آبستن ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نشد. مطالعه حاضر نشان داد BHBA، گلوکز و تری‌گلیسرید شاخص‌های مناسبی جهت تشخیص مسمومیت آبستنی تحت‌بالینی در ماه آخر آبستنی میش‌های لری-بختیاری هستند، درحالی‌که سنجش کلسترول در تشخیص بیماری کارآیی مناسبی ندارد.

کلیدواژه‌ها: بتاهیدروکسی بوتیریک اسید، تری‌گلیسرید، گلوکز، مسمومیت آبستنی، میش لری-بختیاری.

مقدمه

مسمومیت آبستنی یک بی‌نظمی متابولیکی اغلب کشنده است که به علت یک دوره توازن منفی انرژی در اواخر دوره آبستنی گوسفند، بز و همچنین آهو و خوک در اثر افزایش نیاز به گلوکز برای رشد سریع جنین و دریافت ناکافی آن اتفاق می‌افتد (Hosseini *et al*., 2018). اسامی دیگر عارضه مذکور، کتوز آبستنی و فلجی بره‌زایی است، که به ۲ فرم بالینی و تحت‌بالینی در گله رخ می‌دهد (Marteniuk and Herdt, 1988). فرم تحت‌بالینی اغلب به‌صورت نهفته در گله اتفاق می‌افتد که گاهی تبدیل به فرم بالینی شده و باعث مرگ‌ومیر جنین و مادر می‌شود (Lacetera *et al*., 2001).

در طول دوره آبستنی بافت‌های مادری درگیر چالش فراهم کردن نیازهای متابولیکی و انرژی مورد نیاز جنین یا جنین‌های در حال رشد و نمو هستند. مسمومیت آبستنی به طور معمول در آبستنی‌های با بیش از یک جنین روی می‌دهد. در حدود ۶۰ درصد رشد جنین در دوره نهایی آبستنی اتفاق می‌افتد که طی این مدت ۳۳ تا ۳۶ درصد گلوکز گردش خون جهت تأمین انرژی مورد نیاز جنین به طور مستقیم به جفت وارد می‌شود. در توانایی تأمین نیازهای انرژی جنین توسط مادر عواملی نظیر سن میش، نژاد، وضعیت تغذیه، سرعت رشد جنین و فصل تأثیرگذار است (Hay *et al*., 1983; Yokus *et al*., 2006). اندازه‌گیری گلوکز سرم جهت تشخیص اختلالات متابولیکی از جمله مسمومیت آبستنی و افت گلوکز خون به عنوان منبع مهم انرژی بدن اغلب به‌کار گرفته می‌شود (Rezapour *et al*., 2011). طی دوره‌های تعادل منفی انرژی و پیش از شیرواری ممکن است از غلظت گلوکز خون به مقدار کمی کاسته شود و نسبت انسولین به گلوکاگن کاهش یابد. انسولین نقش کلیدی بر روی متابولیسم بافت‌های چربی طی آبستنی میش دارد. کاهش پاسخ‌دهی بافت هدف نسبت به انسولین در اواخر دوره آبستنی، موجب افزایش احتمالی غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین‌های خون میش آبستن می‌شود (Schlumbohm *et al*., 1997). میزان لیپوژنز تحریک‌شده با انسولین در میش‌های آبستن در مقایسه با میش‌های غیرآبستن افزایش می‌یابد (Guesnet *et al*., 1991). اسیدهای چرب آزاد حاصله از تجزیه بافت چربی ممکن است در کبد، با تلفیق دوباره با گلیسرول برای تولید تری‌گلیسرید مصرف شده و یا از طریق بتااکسیداسیون به استیل‌کوآنزیمA، تبدیل شوند. استیل‌کوآنزیمA با اکسالواستات ترکیب می‌شود تا جهت تولید انرژی وارد چرخه تری‌کربوکسیلیک اسید گردد. این روند با مصرف اکسالواستات در گلوکونئوژنز رقابت می‌کند. اگر اگزالواستات به اندازه کافی در دسترس نباشد، استیل‌کوآنزیمA به اجسام کتونی تبدیل می‌شود (Constable *et al*., 2016). اجسام کتونی شامل استون، استواستات و BHBA هستند که به‌دنبال اکسیداسیون ناقص اسیدهای چرب تولید می‌شوند (Nelson *et al*., 2008). روک در سال ۲۰۰۰ بیان کرد به منظور مدیریت بهتر و ارزیابی سلامتی گله گوسفند از نظر مسمومیت آبستنی و بالانس منفی انرژی، اندازه‌گیری BHBA سرمی یا پلاسما، آزمون تشخیصی انتخابی است (Rook, 2000). اجسام کتونی به طور طبیعی در جریان خون حضور دارند و غلظت آن‌ها، نتیجه تعادل بین تولید کبدی و مصرف بافتی ترکیبات مذکور می‌باشد. غلظت اجسام کتونی در خون پستاندارانی که به خوبی

تغذیه شده‌اند، به‌طور طبیعی کمتر از ۰/۳ میلی‌مول در لیتر است (Nelson *et al*., 2008). البته غلظت این ترکیبات در بدن نشخوارکنندگان به علت تشکیل ۳-هیدروکسی‌بوتیرات از اسیدبوتیریک (از محصولات تخمیر شکمبه در جدار لوله گوارش) کمی بیشتر است. مقدار طبیعی BHBA خون گوسفند بین ۰/۷ تا ۰/۸۶ میلی‌مول در لیتر گزارش شده‌است (Robinson, 1980; Lacetera *et al*., 2001). اجسام کتونی در غلظت‌های فیزیولوژیک خود سوخت‌های مهمی هستند و بخشی از برنامه هومئوستاز انرژی بدن را تشکیل می‌دهند (Klein, 2013)، که متعاقب دگرگونی در شرایط فیزیولوژیکی و یا بروز موارد پاتولوژیکی دچار تغییر می‌شوند (Ramos *et al*., 1994; Baranowski, 1995) و افزایش غلظت آن‌ها می‌تواند موجب بی‌اشتهایی شده و تعادل منفی انرژی را تداوم بخشد (Constable *et al*., 2016). ترکیبات مذکور مشخصهٔ چندین بیماری مرتبط با ناهنجاری‌های هومئوستاز انرژی از جمله مسمومیت آبستنی در گوسفند و بز و کتوز در گاو هستند (Klein, 2013). اختلال در گلوکونئوژنز کبدی باعث کاهش گلوکز خون، افزایش متابولیسم چربی‌ها، کتونمی و کتونوری می‌شود (Duehlmeier *et al*., 2013). در حیوان‌های چاق به دلیل این‌که چربی ذخیره‌شده در کبد مانع متابولیسم است کتونمی ایجاد می‌شود (Rook, 2000; Hay *et al*., 1983).

از جمله عوامل زمینه‌ساز در ایجاد مسمومیت آبستنی می‌توان به تغذیه ناکافی، درخواست بالای گلوکز توسط جنین یا جنین‌های در حال تکوین و BCS (body condition score) کمتر از ۲ یا بیش از ۴ اشاره کرد (Noble *et al*., 1970; Hentges and Martin, 1987). فراوانی مسمومیت آبستنی در بین گوسفندها و بزهای آبستن می‌تواند تا ۲۰ درصد و با مرگ و میر ۸۰ درصدی حیوان‌های درگیر برسد (Rook, 2000). تشخیص اولیه مسمومیت آبستنی در حیوان‌های حساس برای درمان موفق ضروری است (Constable *et al*., 2016). اگر درمان صورت نگیرد، میزان مرگ‌ومیر حیوانات مبتلا به ۱۰۰ درصد می‌رسد و در گله‌هایی که این بیماری را تجربه می‌کنند، میزان مرگ‌ومیر بره‌های متولد شده بیشتر خواهدبود (Hassanpour *et al*., 2007). برای کنترل این اختلال متابولیکی تصحیح عدم بالانس انرژی، نظارت بیوشیمیایی گله و ارزیابی وضعیت بدنی حیوانات باید مدنظر قرارگیرد (Constable *et al*., 2016).

نظر براین‌که اطلاعات اندکی در ارتباط با تغییرات بیوشیمیایی خون در دوره آبستنی و شیردهی میش‌های نژاد لری-بختیاری وجود دارد، از این رو در پژوهش حاضر رخداد مسمومیت آبستنی تحت‌بالینی و تأثیر تعداد جنین با بررسی غلظت سرمی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و BHBA و همچنین همبستگی این شاخص‌های بیوشیمیایی در میش‌های آبستن نژاد لری-بختیاری مورد بررسی قرارگرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع کاملاً تصادفی و تجربی بوده و طی دی ماه لغایت بهمن ماه ۱۳۹۷ انجام گرفت که برای انجام آن به مجتمع کشت و صنعت فجر صفای لرستان واقع در حومه شهر خرم‌آباد مراجعه و تعداد ۱۰۳ رأس میش لری-بختیاری با سن ۴-۲ سال بعد از اطمینان از وضعیت آبستنی (آبستن بودن یا آبستن

نبـودن) و BCS (body condition score) ۲ تـا ۳/۵ (میش‌های غیرآبستن ۲ تا ۲/۵ و میش‌هـای آبسـتن ۳/۵) انتخـاب شـدند. در طـول مطالعـه همگـی حیوانـات در شرایط یکسانی از نظـر مکـان نگـه‌داری، نـوع تغذیـه و سـلامت بـالینی قـرار داشـتند و طبـق برنامـه سـازمان دامپزشکی واکسینه شـده و داروی ضـد انگـل دریافـت می‌کردند. پیش از شروع تحقیق، میش‌هـای آبسـتن (۷۳ رأس) از طریق اسفنج‌گذاری، همزمانی فحلـی و سـپس تلقیح شده و آبستنی آن‌ها از طریـق سـونوگرافی مـورد تأیید قرارگرفته‌بود. گوسفندان مذکور پس از زایـش بـه گروه‌های آبستن تک‌قلو و آبستن دوقلو تقسیم شـدند و ۳۰ رأس میش غیرآبستن نیز به عنـوان گـروه شـاهد بـه طور اتفاقی از همان گله انتخاب گردید.

در اواخر ماه پنجم آبسـتنی از میش‌هـای آبسـتن و گروه شاهد در یک نوبت و در ساعت ۸ صـبح، قبـل از دریافت جیره غذایی نوبت صبح، نمونـه خـون از وریـد وداج با سرنگ ۵ میلی‌لیتری (شرکت سها، ایران) اخذ و بـه لولـه‌های ویـژه جداسـازی سـرم (CAT Serum Separator Clot Activator, Greiner, Bio-One, Austria) منتقل شد. در ادامه و پس از انتقال نمونـه‌های فـوق بـه آزمایشـگاه کلینیکـال پـاتولوژی بیمارسـتان تخصصی دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرسـتان در کمتـر از ۹۰ دقیقه، بعد از منعقد شدن خون، لولـه‌های حـاوی خون لخته شده با اسـتفاده از دسـتگاه سـانتریفیوژ (TL 300, Selecta Lab, China) بـه مـدت ۱۰ دقیقـه در شتاب ۳۵۰۰g، سانتریفیوژ شـده و سـرم نمونـه‌ها جـدا گردید. نمونه‌های سرمی تا زمان سـنجش شـاخص‌های بیوشیمیایی (حدود یـک مـاه)، داخـل میکروتیوب‌هـای (شرکت پارس پیوند، ایران) ۱/۵ میلی‌لیتـری، در فریـزر (سامسونگ، کره جنوبی) ۲۰- درجه سلسـیوس ذخیـره شدند.

شاخص‌های بیوشیمیایی مـورد بررسـی در مطالعـه حاضر، شامل غلظت سرمی BHBA، گلـوکز، کلسـترول و تری‌گلیسرید بود. اندازه‌گیـری شـاخص‌هـا بـه روش رنگ‌سنجی با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی تجـاری و توسـط دسـتگاه فتـومتر بیوشـیمی (Stat–Fax 330, Awareness, USA) انجام گرفت. لازم به ذکر اسـت کـه پیش از سنجش هر کـدام از شـاخص‌های بیوشـیمیایی، جهت حصول اطمینان از صحت نتایج، دسـتگاه فتـومتر بـرای سـنجش گلـوکز، کلسـترول و تری‌گلیسـرید بـا استفاده از محلول اسـتاندارد Trucal-U (پـارس‌آزمـون، ایران) و جهت سـنجش BHBA بـا اسـتفاده از محلـول استاندارد تهیه شده از شرکت Randox تنظیم شد.

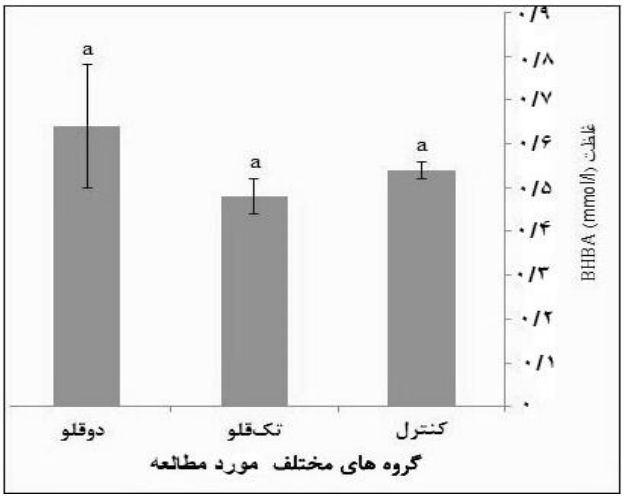
BHBA سـرمی بـه روش آنزیمـی در طـول مـوج ۳۴۰ نانومتر با استفاده از کیت شـرکت رانـدوکس (Ranbut, Randox, UK) انـدازه‌گیـری شـد. ایـن روش بـر پایـه اکسیداسیون ۳-D-هیدروکسی‌بوتریت به استواسـتات در مجاورت آنزیم ۳-هیدروکسی‌بوتریت‌دهیدروژناز انجـام می‌شود. همراه این اکسیداسـیون، کوفـاکتور NAD^+ بـه NADH احیاء می‌شود و تغییر جذب نوری بـا غلظـت ۳-Dهیدروکسـی‌بوتریت رابطـه مسـتقیم دارد. اخـتلاف جذب نوری در ۳ دقیقـه توسـط دسـتگاه محاسـبه و در ضریب واکنش ضرب شده و عدد نهایی محتوای غلظت BHBA نمونه بـر حسـب میلـی‌مـول در لیتـر گـزارش می‌شود. گلوکز سرم هـم بـه روش آنزیمـی- کـالیمتری GOD-PAP (Glucose oxidase-Peroxidase) بـــا استفاده از کیت ساخت شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شـده و غلظـت آن برحسـب میلـی‌گـرم در دسـی‌لیتـر

اندازه‌گیری و ثبت شد. کلسترول سرم نیز به روش آنزیمی- کالری‌متری (CHOD-PAP) با استفاده از کیت ساخت شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شده و غلظت آن بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر اندازه‌گیری و ثبت شد. همچنین تری‌گلیسرید سرم به روش (GPO-PAP) با استفاده از کیت تجاری ساخت شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شده و غلظت آن بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر اندازه‌گیری و ثبت گردید.

تحلیل آماری داده‌ها: تمامی داده‌ها براساس میانگین±انحراف استاندارد (mean±SEM) ارائه گردیدند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) انجام شد. در ابتدا داده‌ها از لحاظ نرمال بودن و یکنواختی واریانس‌ها ارزیابی شدند، سپس مقایسه داده‌های آماری بین گروه‌های غیرآبستن، تک‌قلو آبستن و دوقلو آبستن به روش آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام گرفت. همبستگی BHBA با سایر شاخص‌های مورد بررسی در میش‌های دوقلو آبستن با استفاده از آزمون ضریب همبستگی پیرسون (Pearson's correlation test) ارزیابی گردید. سطح معنی‌داری داده‌ها، $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

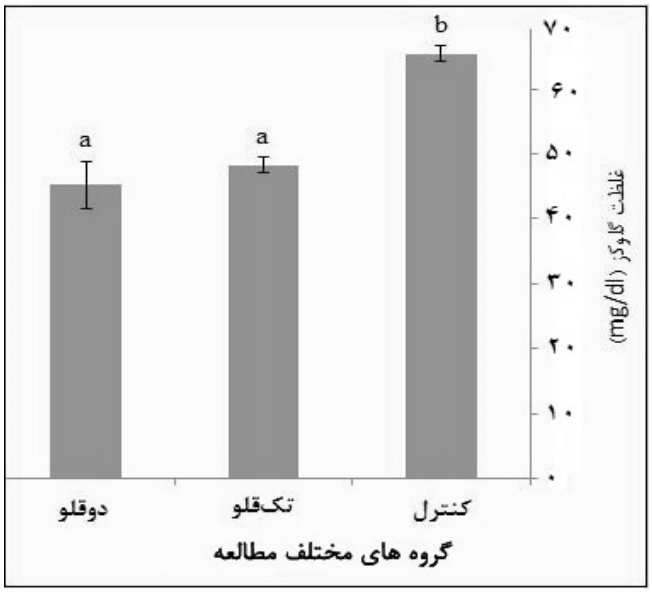
یافته‌ها

پس از زایمان میش‌ها مشخص شد که ۶۸ رأس از آن‌ها، تک قلو و ۵ رأس هم دوقلو آبستن بودند. نتایج حاصله از اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی سرم میش‌های مورد مطالعه، در نمودارهای ۱ تا ۴ ارائه شده‌است. برمبنای یافته‌های ارائه شده در نمودار ۱، مقادیر میانگین±خطای استاندارد غلظت BHBA در گروه میش‌های غیرآبستن، میش‌های تک‌قلو آبستن و میش‌های دوقلو آبستن، به‌ترتیب ۰/۰±۵۴/۰۲، ۰/۰±۴۸/۰۴ و ۰/۶۴±۰/۱۴ میلی‌مول در لیتر بود که علی‌رغم افزایش نسبی BHBA در میش‌های دوقلو آبستن، در بین ۳ گروه مورد آزمایش، از این نظر، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۱).



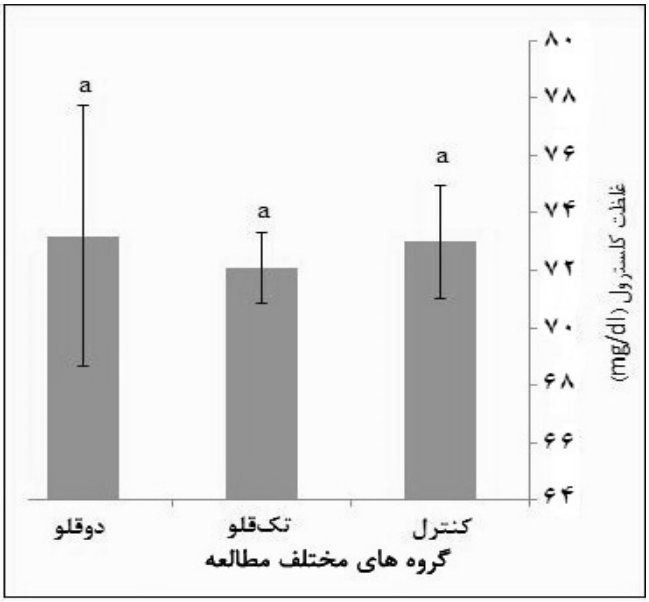
نمودار ۱- میانگین± خطای استاندارد غلظت BHBA برحسب میلی‌مول درلیتر در سرم میش‌های غیرآبستن، تک‌قلو آبستن و دوقلو آبستن مورد مطالعه.
a: حرف انگلیسی یکسان در همه ستون‌ها، نشان می‌دهد که تفاوت آماری معنی‌داری در مورد شاخص فوق، در بین ۳ گروه وجود ندارد ($p\geq۰/۰۵$).

همچنین مقادیر میانگین±خطای استاندارد غلظت گلوکز سرم در گروه میش‌های غیرآبستن، میش‌های تک‌قلو آبستن و میش‌های دوقلو آبستن در مطالعه حاضر به‌ترتیب ۱/۱۷±۶۵/۴۳، ۱/۱۷±۴۸/۲۸ و ۲۰/۵۹±۴۵/۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود که میانگین غلظت گلوکز در سرم دام‌های گروه غیرآبستن به‌طور معنی‌داری از ۲ گروه دیگر بالاتر بود ($p<۰/۰۵$)، درحالی‌که با مقایسه غلظت این شاخص در سرم میش‌های گروه آبستن تک‌قلو با آبستن دوقلو، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۲).



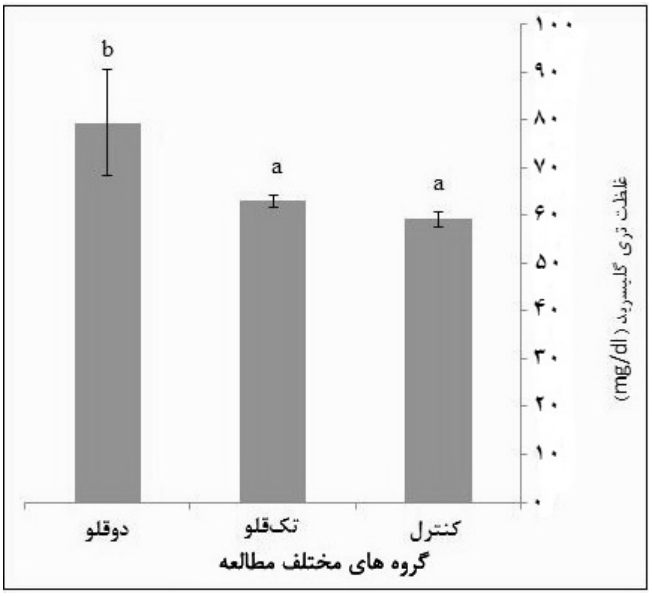
نمودار ۲- میانگین± خطای استاندارد غلظت گلوکز برحسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر، در سرم میش‌های غیرآبستن، تک‌قلو آبستن و دوقلو آبستن مورد مطالعه. a, b: حروف غیرمشابه، نشانگر وجود تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

براساس نتایج ارائه شده در نمودار ۳ نیز، مقادیر میانگین±خطای استاندارد غلظت کلسترول سرم میش‌های غیرآبستن، میش‌های تک‌قلو آبستن و میش‌های دوقلو آبستن در مطالعه حاضر به‌ترتیب ۰۰/۹۷±۷۳/۱، ۰۵/۲۳±۷۲/۱ و ۴/۵۳±۷۳/۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود که با مقایسه میانگین غلظت کلسترول در سرم حیوانات ۳ گروه فوق، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد.



نمودار ۳- میانگین± خطای استاندارد غلظت کلسترول برحسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر، در سرم میش‌های غیرآبستن، تک‌قلو آبستن و دوقلو آبستن.
a: حرف انگلیسی یکسان در همه ستون‌ها، نشان می‌دهد که تفاوت آماری معنی‌داری در مورد شاخص فوق، در بین ۳ گروه وجود ندارد ($p\geq$۰/۰۵).

مقادیر میانگین±خطای استاندارد غلظت تری‌گلیسرید سرم میش‌های غیرآبستن، میش‌های تک‌قلو آبستن و میش‌های دوقلو آبستن هم در مطالعه حاضر، به‌ترتیب ۱/۵۸±۵۹/۲۳، ۱/۱۹±۶۲/۹۸ و ۴۰/۱۵±۷۹/۱۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. میانگین غلظت تری‌گلیسرید در سرم میش‌های گروه آبستن دوقلو نسبت به گروه شاهد و آبستن تک‌قلو، به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($p<$۰/۰۵)، در حالی که بین گروه شاهد و آبستن تک‌قلو، از نظر مقدار فاکتور سرمی مذکور، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده‌نشد (نمودار ۴).



نمودار ۴- میانگین± خطای استاندارد غلظت تری‌گلیسرید برحسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر، در سرم میش‌های غیرآبستن، تک‌قلو آبستن و دوقلو آبستن.
a, b: حروف غیرمشابه، نشانگر وجود تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).

از طرف دیگر نتایج همبستگی بین غلظت BHBA و دیگر شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده در سرم میش‌های دوقلو آبستن هم در جدول ۱ ارائه شده است. بر این اساس، بین غلظت سرمی BHBA و گلوکز، ارتباط منفی معنی‌دار مشاهده شد (r = -۰/۴۰۲ و p<۰/۰۰۱)، در حالی که بین غلظت سرمی BHBA و کلسترول و نیز غلظت سرمی BHBA و تری‌گلیسرید، ارتباط آماری معنی‌داری ملاحظه نشد.

جدول ۱- همبستگی بین غلظت سرمی بتاهیدروکسی‌بوتیریک‌اسید با گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید در میش‌های دوقلو آبستن

همبستگی غلظت سرمی بتاهیدروکسی‌بوتیریک‌اسید	ضریب همبستگی (r)	سطح معنی‌داری (p)
با غلظت سرمی گلوکز	-۰/۴۰۲	۰/۰۰۰۵
با غلظت سرمی کلسترول	-۰/۰۲۷	۰/۸۲۲
با غلظت سرمی تری‌گلیسرید	-۰/۱۲۸	۰/۲۸۵

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی خون به‌طور گسترده توسط دامپزشکان برای ارزیابی سلامتی، وضعیت تغذیه‌ای و متابولیکی نشخوارکنندگان به‌کار گرفته می‌شود. مسمومیت آبستنی به عنوان یک اختلال متابولیکی مهم در میش‌های آبستن شناخته می‌شود که اغلب در ماه‌های نهایی آبستنی با افزایش شمار تلفات و یا کاهش بازده میش‌ها موجب وارد شدن خسارت مادی به دامدار می‌شود. مسمومیت آبستنی از طریق پایش شماری شاخص‌های بیوشیمیایی از جمله غلظت

BHBA، گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید خون قابل شناسایی و در مواردی قابل پیشگیری است (Constable *et al*., 2016).

با توجه به تحقیقات انجام شده، حد آستانه متفاوتی از مقدار BHBA برای تشخیص مسمومیت آبستنی گوسفندان گزارش شده‌است. لیسترا و همکاران در سال ۲۰۰۱ و رامین و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش کردند که گوسفندان با غلظت سرمی BHBA بیش از ۰/۸۶ میلی‌مول در لیتر به مسمومیت آبستنی تحت‌بالینی مبتلا هستند (Lacetera *et al*., 2001; Ramin *et al*., 2005). با توجه به نمودار ۱، میانگین±خطای استاندارد غلظت سرمی BHBA در هر ۳ گروه میش‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر، در بازه طبیعی مقادیر گزارش شده برای گوسفند قرار دارد (در گروه میش‌های غیرآبستن، میش‌های تک‌قلو آبستن و میش‌های دوقلو آبستن، به‌ترتیب ۰/۰±۵۴/۰۲، ۰/۰±۴۸/۰۴ و ۰/۱۴±۰/۶۴ میلی‌مول در لیتر). نتایج مشابهی نیز در مطالعه لطف‌اللهزاده و همکاران در سال ۲۰۱۶ که بر روی گوسفندان افشاری انجام گرفته (میانگین غلظت سرمی BHBA مطالعه ایشان در بازه طبیعی یعنی ۰/۷ تا ۰/۸۶ میلی‌مول در لیتر قرار داشت)، به دست آمده‌است (Lotfollahzadeh *et al*., 2016). از طرف دیگر ارزیابی آماری مقادیر میانگین غلظت سرمی BHBA در بین هر ۳ گروه میش مورد مطالعه (غیرآبستن، تک‌قلو آبستن و دوقلو آبستن)، مشخص کرد که علی‌رغم افزایش نسبی غلظت BHBA در گروه میش‌های دوقلو آبستن، تفاوت آماری معنی‌داری از نظر فاکتور مذکور با یکدیگر نداشتند که این یافته، با نتایج تحقیق الفتی و مقدم در سال ۲۰۱۴ همسو است (Olfati and Moghaddam, 2014)، که ممکن است به دلیل مناسب بودن نوع تغذیه، BCS و یا شرایط مدیریتی گله مورد مطالعه باشد، در حالی که زکیان و همکاران در سال ۲۰۱۸ در تحقیقی که بر روی گوسفندان نژاد عربی داشتند، نشان دادند که غلظت سرمی BHBA در میش‌های آبستن نسبت به غیرآبستن و در میش‌های دوقلو آبستن نسبت به تک‌قلو آبستن، به‌طور معنی‌داری بالاتر است (Zakian *et al*., 2018). همچنین در تحقیق حاضر مشخص شد که از بین ۷۳ رأس میش آبستن، در ۷ رأس میش (۹/۵۸ درصد) غلظت BHBA بیش از ۰/۸۶ میلی‌مول در لیتر بود که از این تعداد ۵ رأس تک قلو آبستن (از ۶۸ رأس) و ۲ رأس دوقلو آبستن (از ۵ رأس) بودند. با توجه به این نتایج، می‌توان عنوان کرد که تعداد جنین در افزایش غلظت سرمی BHBA گوسفندان نژاد لری-بختیاری تأثیرگذار است و نتایج حاصله، تاثیر نوع تغذیه، BCS و شرایط مدیریتی را بر غلظت BHBA، تایید می‌کند.

محدوده طبیعی گلوکز خون گوسفند ۵۰ تا ۸۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر گزارش شده‌است (Rezapour *et al*., 2011) که با تغییر شرایط فیزیولوژیک و در بیماری‌ها تغییر می‌یابد (Symonds *et al*., 1986; Ford *et al*., 1990; Firat and Ozpinar *et al*., 1996). البته کال-پریرا و همکاران در سال ۲۰۱۵، محدوده گلوکز سرمی گوسفندان مبتلا به مسمومیت آبستنی تحت‌بالینی را ۲۴/۳ تا ۳۲/۹۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر گزارش کردند (Cal-Pereyra *et al*., 2015). در مطالعه حاضر هم میانگین غلظت گلوکز در سرم گوسفندان گروه شاهد در بازه طبیعی قرار داشت و در مورد گروه‌های تک‌قلو و دوقلو آبستن اندکی پایین‌تر از بازه طبیعی بود. غلظت

سرمی گلوکز در میش‌های آبستن تک‌قلو و دوقلو نسبت به میش‌های غیرآبستن در این مطالعه به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود (نمودار ۲)، که این وضعیت را می‌توان به آبستنی و نیاز بیشتر جنین به انرژی در اواخر دوره آبستنی به علت رشد سریع جنین نسبت داد. در این ارتباط اعلام شده که گلوکز منبع اصلی برای تأمین نیاز انرژی جنین و میش آبستن است که در اواخر آبستنی به دلیل رشد سریع جنین، نیاز به آن افزایش می‌یابد (Firat and Ozpinar, 2002) و بر این اساس مهم‌ترین عامل موازنه منفی انرژی در گوسفند و بز افزایش نیاز به انرژی به ویژه در ماه آخر آبستنی است (Constable *et al*., 2016). در مطالعات فیریت و ازپینار در سال ۱۹۹۶ و رامین و همکاران در سال ۲۰۰۵ هم غلظت گلوکز سرمی در گوسفندان آبستن نسبت به غیرآبستن، پایین‌تر بود (Firat and Ozpinar, 1996; Ramin *et al*., 2005). البته در مقابل، در مطالعه الشریف و اسد در سال ۲۰۰۱ که بر روی گوسفندان نژاد برکی انجام گرفته، غلظت گلوکز در گروه آبستن نسبت به میش‌های غیرآبستن بالاتر گزارش شده است (El-Sherif and Assad, 2001). از طرف دیگر در همین رابطه، آل-کودا در سال ۲۰۱۱، تفاوت آماری معنی‌داری بین غلظت گلوکز سرم خون میش‌های آبستن و غیرآبستن مشاهده نکرد (Al-Qudah, 2011). در مطالعه حاضر هم، هر چند میانگین غلظت گلوکز در سرم میش‌های گروه دوقلو آبستن کمتر از تک‌قلو آبستن بود، ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود، درحالی‌که در تحقیق بروزوز و همکاران در سال ۲۰۱۱ و همچنین زکیان و همکاران در سال ۲۰۱۸ غلظت سرمی گلوکز در میش‌های دوقلو آبستن نسبت به تک قلو آبستن‌ها در اواخر آبستنی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بوده است (Brozos *et al*., 2011; Zakian *et al*., 2018). به نظر می‌رسد که دلیل این اختلافات در نتایج را می‌توان به تفاوت‌های نژادی و یا نوع و کیفیت جیره، نحوه تغذیه و BCS میش‌های مورد مطالعه نسبت داد.

همچنین در تحقیق حاضر، یک ارتباط منفی معنی‌دار بین غلظت‌های سرمی گلوکز و BHBA در میش‌های دوقلو آبستن مشاهده شد که با نتیجه مطالعه لطف‌الله‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۶ که بر روی گوسفندان نژاد افشاری انجام گرفته، همسو بود (Lotfollahzadeh *et al*., 2016)، درحالی‌که در مطالعه وست در سال ۱۹۹۶ (در مورد گوسفندان آبستن) و مطالعه رامین و همکاران در سال ۲۰۰۵ (در مورد گوسفندان غیرآبستن)، ارتباط آماری معنی‌داری بین غلظت‌های سرمی گلوکز و BHBA مشاهده نشد (West, 1996; Ramin *et al*., 2005). به نظر می‌رسد که این امر نشان می‌دهد افزایش شمار جنین‌ها، احتمال افت غلظت گلوکز خون و متعاقب آن وقوع مسمومیت آبستنی تحت‌بالینی بر اساس غلظت BHBA سرمی را در میش‌های آبستن لری-بختیاری افزایش می‌دهد. به‌طوری‌که در تحقیق حاضر در بررسی انفرادی که بر روی گوسفندان انجام گرفت از مجموع ۱۰۳ رأس میش مورد مطالعه، ۲ رأس میش تک‌قلو آبستن با غلظت سرمی گلوکز ۲۳ و ۳۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در بازه تعیین‌شده مسمومیت آبستنی تحت‌بالینی توسط کال-پریرا و همکاران قرار گرفتند (Cal-Pereyra *et al*., 2015) که غلظت سرمی BHBA دو میش مذکور، به ترتیب ۲/۳۱ و ۲/۰۳ میلی‌مول در لیتر بود. در این ارتباط گزارش شده که در مراحل نهایی آبستنی به علت

وزن‌گیری چند برابری جنین، نیاز شدید به گلوکز برای مادر ایجاد می‌شود (Rezapour *et al*., 2008)، از طرف دیگر، با کاهش فضای شکمی (به دلیل افزایش جثه جنین و حجم مایعات جنینی) مصرف خوراک مادر محدود می‌شود، از این رو ذخایر بافت چربی مادر به‌طور روزافزون برای تأمین انرژی مصرف می‌شوند که موجب افزایش اسیدهای چرب آزاد و اجسام کتونی در خون می‌گردد (Sano *et al*., 1992). به نظر می‌رسد غلظت بالای اجسام کتونی نیز مصرف غذا را کاهش داده و تعادل منفی انرژی را تداوم می‌بخشد. همچنین بر اساس نتایج مطالعات، مشخص شده که افزایش غلظت اجسام کتونی خون باعث سرکوب اندوژن تولید گلوکز در موارد تعادل منفی انرژی در دام‌های آبستن (به ویژه دوقلو آبستن) می‌شود (Schlumbohm and Harmeyer, 2004).

در تحقیق حاضر، در ارتباط با غلظت کلسترول سرم، تفاوت آماری معنی‌داری در بین میش‌های گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد (نمودار ۳) که با نتایج الفتی و مقدم در مطالعه‌ای که بر روی میش‌های تک‌قلو و دوقلو آبستن نژاد بلوچی‌مغانی در سال ۲۰۱۴ داشتند، همسو بود (Olfati and Moghaddam, 2014)، اما در مقابل بروزوز و همکاران در سال ۲۰۱۱ غلظت کلسترول را در میش‌های دوقلو آبستن نسبت به میش‌های آبستن تک‌قلو بالاتر گزارش کردند (Brozos *et al*., 2011). ممکن است این اختلاف ناشی از تفاوت نژادی باشد که مطالعات بیشتری در این زمینه ضروری می‌باشد. همچنین در مطالعه حاضر غلظت تری‌گلیسرید سرم، در میش‌های دوقلو آبستن در مقایسه با میش‌های غیرآبستن و تک‌قلو آبستن مورد مطالعه به طور معنی‌داری بالاتر بود (نمودار ۴). در مطالعه لطف‌اللهزاده و همکاران در سال ۲۰۱۶ هم غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید در سرم میش‌های دوقلو آبستن نژاد افشاری نسبت به میش‌های تک‌قلو آبستن و غیرآبستن بالاتر بوده‌است (Lotfollahzadeh *et al*., 2016). در تحقیق بالیکسی و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید در روز ۱۰۰ و ۱۵۰ آبستنی در مقایسه با روزهای ۶۰ آبستنی و ۴۵ پس از زایمان در سرم میش‌های دوقلو و تک‌قلو آبستن بالاتر بوده‌است (Balıkci *et al*., 2007). در اواخر دوره آبستنی و بخصوص در میش‌های دو قلو و سه قلو آبستن به دلیل نیاز زیاد به انرژی در پاسخ به رشد سریع جنین، لیز شدن چربی‌ها در بدن اتفاق می‌افتد که با افزایش اسیدهای چرب آزاد همراه می‌باشد (Constable *et al*., 2016). پاسخ متابولیکی مشاهده شده در اواخر آبستنی، نتیجه متابولیسم بیشتر چربی‌ها در پاسخ به سطح بالای انرژی مورد نیاز است (Christie, 2014) و به دوره آبستنی، شمار جنین‌ها و شرایط تغذیه‌ای وابسته است (Schlumbohm and Harmeyer, 2008). بنابراین بالاتر بودن غلظت تری‌گلیسرید در میش‌های دوقلو آبستن نسبت به دو گروه دیگر را احتمالاً بتوان به افزایش تعداد جنین نسبت داد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آبستنی موجب افزایش غلظت سرمی تری‌گلیسرید در ماه آخر آبستنی میش‌های نژاد لری-بختیاری می‌شود و میزان افزایش این شاخص در میش‌های دوقلو آبستن بیشتر از موارد تک‌قلو آبستن است. بر اساس نتایج پژوهش سایر محققین این انتظار وجود داشت که در مطالعه حاضر غلظت کلسترول نیز مانند تری‌گلیسرید در گروه‌های آبستن بیشتر از گروه شاهد و در گروه

دوقلو آبستن بیشتر از تک‌قلو آبستن باشد. علت این تفاوت می‌تواند به جیره مناسب دام‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر و BCS آنها نسبت داده شود. هفناوی و همکاران در سال ۲۰۱۱ کاهش معنی‌دار در میزان کلسترول و تری‌گلیسرید را در مسمومیت آبستنی اثبات کردند و نشان دادند که رخداد بیماری با منشأ کبدی ناشی از فراخوانی چربی‌ها است و به علت کاهش دریافت مواد غذایی توسط دام و آسیب کبدی یا لیپیدوز کبدی است (Hefnawy *et al.*, 2011). در تحقیق بانی‌ایسمعیل و همکاران در سال ۲۰۰۸ غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید سرم در بزهای مبتلا به مسمومیت آبستنی تحت‌بالینی در مقایسه با گروه شاهد افزایش نیافته بود که علت این موضوع را تنوع در متابولیسم چربی و حساسیت کبد بین گونه‌های مختلف نشخوارکنندگان بیان کردند (Bani Ismail *et al.*, 2008).

از طرف دیگر در یافته‌های مطالعه حاضر، بین غلظت‌های BHBA و کلسترول و نیز غلظت‌های BHBA و تری‌گلیسرید در سرم میش‌های دوقلو آبستن، ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). درحالی‌که در مطالعه‌ای که کشی‌پور و همکاران در سال ۲۰۱۸ روی گوسفندان آبستن نژاد قزل انجام دادند، مشاهده کردند که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت سرمی BHBA با مقادیر سرمی تری‌گلیسرید و کلسترول در زمان ۲۱ روز مانده به زایمان وجود دارد (Keshipour *et al.*, 2018). همچنین انوشه‌پور و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه روی گوسفندان هایپرکتونومیک در ماه آخر آبستنی، گزارش کردند که ارتباط مثبت و معنی‌داری بین مقدار سرمی BHBA و اسیدهای چرب غیراستریفیه وجود دارد (Anoushepour *et al.*, 2014).

نتایج حاصله از پژوهش حاضر نشان داد که آبستنی دوقلو در میش‌های نژاد لری- بختیاری می‌تواند به‌طور معنی‌داری غلظت گلوکز خون میش‌ها را در ماه آخر آبستنی کاهش دهد و باعث افزایش معنی‌داری در غلظت تری‌گلیسرید خون شود، اما علی‌رغم افزایش نسبی غلظت BHBA در خون میش‌های دوقلو آبستن، این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود که می‌تواند به دلیل مناسب بودن نوع تغذیه و BCS این میش‌ها در مجتمع کشت و صنعت فجر صفای لرستان باشد. با توجه به اینکه اندازه‌گیری BHBA سرمی یا پلاسما آزمون تشخیصی انتخابی به منظور سلامتی گله گوسفند از نظر مسمومیت آبستنی است به نظر می‌رسد که این شاخص در تعیین ارتباط مسمومیت آبستنی با چندقلوزایی به شدت تحت تاثیر مباحث مدیریتی و تغذیه‌ای در گله می‌باشد. موید این مطلب در پژوهش حاضر، وجود شرایط تغذیه‌ای و وضعیت مدیریتی گله در مجتمع کشت و صنعت فجر صفای لرستان می‌باشد که نسبت به گله‌هایی که به صورت سنتی نگه‌داری می‌شوند شرایط تغذیه‌ای و وضعیت مدیریتی مناسب‌تری دارند که می‌تواند در کاهش وقوع موارد مسمومیت آبستنی در گله مؤثر باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان به خاطر تامین هزینه اجرای این تحقیق قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تعارض منافع ندارند.

منابع

- Al-Qudah, K.M. (2011). Oxidant and antioxidant profile of hyperketonemic ewes affected by pregnancy toxemia. Veterinary Clinical Pathology, 40(1): 60-65.
- Anoushepour, A., Mottaghian, P. and Sakha, M. (2014). The comparison of some biochemical parameters in hyperketonemic and normal ewes. European Journal of Experimental Biology, 4(3): 83-87.
- Balıkcı, E., Yıldız, A. and Gürdoğan, F. (2007). Blood metabolite concentrations during pregnancy and postpartum in Akkaraman ewes. Small Ruminant Research, 67(2-3): 247-251.
- Bani Ismail, Z.A., Al-Majali, A.M., Amireh, F. and Al-Rawashdeh, O.F. (2008). Metabolic profiles in goat does in late pregnancy with and without subclinical pregnancy toxemia. Veterinary Clinical Pathology, 37(4): 434-437.
- Baranowski, P. (1995). Certain blood haematological and biochemical indicators and enzyme activities in Polish Merino and Suffolk ewes during pregnancy and lactation. Animal Science Papers and Reports, 13(1): 27-33.
- Brozos, C., Mavrogianni, V.S. and Fthenakis, G.C. (2011). Treatment and control of periparturient metabolic diseases: pregnancy toxemia, hypocalcemia, hypomagnesemia. Veterinary Clinics: Food Animal Practice, 27(1): 105-113.
- Cal-Pereyra, L., Benech, A., González-Montaña, J.R., Acosta-Dibarrat, J., Da Silva, S. and Martín, A. (2015). Changes in the metabolic profile of pregnant ewes to an acute feed restriction in late gestation. New Zealand Veterinary Journal, 63(3): 141-146
- Christie, W.W. (2014). Lipid metabolism in ruminant animals. First ed., Britain: Elsevier, pp: 196-198.
- Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H. and Gruenberg, W. (2017). A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. 11th ed., New York: Saunders Elsevier, pp: 1662-1669, 1722-1726, 2218.
- Duehlmeier, R., Fluegge, I., Schwert, B. and Ganter, M. (2013). Insulin sensitivity during late gestation in ewes affected by pregnancy toxemia and in ewes with high and low susceptibility to this disorder. Journal of Veterinary Internal Medicine, 27(2): 359-366.
- El-Sherif, M.M.A. and Assad, F. (2001). Changes in some blood constituents of Barki ewes during pregnancy and lactation under semi arid conditions. Small Ruminant Research, 40(3): 269-277.
- Firat, A. and Özpinar, A. (1996). The study of changes in some blood parameters (glucose, urea, bilirubin, AST) during and after pregnancy in association with nutritional conditions and litter size in ewes. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 20(5): 387-393.
- Firat, A. and Ozpinar, A. (2002). Metabolic profile of pre-pregnancy, pregnancy and early lactation in multiple lambing Sakiz ewes. Annals of Nutrition & Metabolism, 46(2): 57.
- Ford, E.J.H., Evans, J. and Robinson, I. (1990). Cortisol in pregnancy toxaemia of sheep. British Veterinary Journal, 146(6): 539-542.
- Guesnet, P.M., Massoud, M.J. and Demarne, Y. (1991). Regulation of adipose tissue metabolism during pregnancy and lactation in the ewe: the role of insulin. Journal of Animal Science, 69(5): 2057-2065.

- Hassanpour, A., Moghaddam, G., Amoughli Tabrizi, B., Mirzaie, H. and Hajipour Sofiani, K. (2007). Investigation of the occurrence of pregnancy toxemia in the sheep of Sofian area of Tabriz. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 1(1): 21-26. [In persian]
- Hay Jr, W.W., Sparks, J.W., Wilkening, R.B., Battaglia, F.C. and Meschia, G. (1983). Partition of maternal glucose production between conceptus and maternal tissues in sheep. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 245(4): 347-350.
- Hefnawy, A., Shousha, S. and Youssef, S. (2011). Hematobiochemical profile of pregnant and experimentally pregnancy toxemic goats. Journal of Basic and Applied Chemistry, 1(8): 65-69.
- Hentges, W. and Martin, R.J. (1987). Serum and lipoprotein lipids of fetal pigs and their dams during gestation as compared with man. Neonatology, 52(3): 127-134.
- Hosseini, S., Moghaddam, G., Rafat, A. and Bakhshayesh Khiabani, A. (2018). Study of the incidence of pregnancy toxemia by measuring some blood elements, metabolites and cortisol levels in Ghezel ewes. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 11(4): 325-337. [In persian]
- Keshipour, H., Anassori, E. and Jalilzadeh-Amin, G. (2018). Evaluation of energy related blood metabolites and its relation to blood copper status of ghezel ewes in late pregnancy. Iranian Veterinary Journal, 14(2): 47-57. [In persian]
- Klein, B.G. (2013). Cunningham's textbook of veterinary physiology-E-book. 5th ed., China: Elsevier, pp: 343-357.
- Lacetera, N., Bernabucci, U., Ronchi, B. and Nardone, A. (2001). Effects of subclinical pregnancy toxemia on immune responses in sheep. American Journal of Veterinary Research, 62(7): 1020-1024.
- Lotfollahzadeh, S., Zakian, A., Tehrani-Sharif, M. and Watson, D.G. (2016). Assessment the alterations of some biochemical parameters in Afshari sheep with possible metabolic disorders. Small Ruminant Research, 145(12): 58-64.
- Marteniuk, J.V. and Herdt, T.H. (1988). Pregnancy toxemia and ketosis of ewes and does. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 4(2): 307-315.
- Nelson, D.L., Lehninger, A.L. and Cox, M.M. (2008). Lehninger Principles of Biochemistry. 5th ed., New York :Macmillan, pp: 666-668.
- Noble, R.C., Steele, W. and Moore, J.H. (1970). The composition of ewe's milk fat during early and late lactation. Journal of Dairy Research, 37(2): 297-301.
- Olfati, A. and Moghaddam, G. (2014). Evaluation of blood metabolites and survey with pregnancy toxemia in Iranian crossbreed ewes. Journal of Animal Science Research, 24(3): 123-131. [In persian]
- Ramin, A.G., Asri, S. and Majdani, R. (2005). Correlations among serum glucose, beta-hydroxybutyrate and urea concentrations in non-pregnant ewes. Small Ruminant Research, 57(2-3): 265-269.
- Ramos, J.J., Verde, M.T., Marca, M.C. and Fernandez, A. (1994). Clinical chemical values and variations in Rasa Aragonesa ewes and lambs. Small Ruminant Research, 13(2): 133-139.
- Rezapour, A., Majidi, J. and Tahmouzy, M. (2008). The effect of β–hydroxybutyrate and estradiol on the process of phagocytosis of ovine neutrophils in vitro. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 2(7): 209-215. [In persian]
- Rezapour, A., Taghinezhad, M. and Assadnasab, G.H. (2011). Effects of food restriction on serum concentration of glucose, triacylglycerol, beta-hydroxy butyrate, non-esterified fatty acids and urea in pregnant ewes. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 5(17): 1083-1092. [In persian]
- Robinson, J. J. (1980). Energy requirements of ewes during late pregnancy and early lactation. The Veterinary Record, 106(13): 282-284.
- Rook, J.S. (2000). Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 16(2): 293-317

- Sano, H., Matsunobu, S., Abe, T. and Terashima, Y. (1992). Combined effects of diet and cold exposure on insulin responsiveness to glucose and tissue responsiveness to insulin in sheep. Journal of Animal Science, 70(11): 3514-3520.
- Schlumbohm, C. and Harmeyer, J. (2004). Hyperketonemia impairs glucose metabolism in pregnant and nonpregnant ewes. Journal of Dairy Science, 87(2): 350-358.
- Schlumbohm, C. and Harmeyer, J. (2008). Twin-pregnancy increases susceptibility of ewes to hypoglycaemic stress and pregnancy toxaemia. Research in Veterinary Science, 84(2): 286-299.
- Schlumbohm, C., Sporleder, H.P., Gürtler, H. and Harmeyer, J. (1997). Effect of insulin on glucose and and fat metabolism in ewes during various reproductive states in normal and hypocalcemia. DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 104(9): 359-365.
- Symonds, M.E., Bryant, M.J. and Lomax, M.A. (1986). The effect of shearing on the energy metabolism of the pregnant ewe. British Journal of Nutrition, 56(3): 635-643.
- West, H.J. (1996). Maternal undernutrition during late pregnancy in sheep. Its relationship to maternal condition, gestation length, hepatic physiology and glucose metabolism. British Journal of Nutrition, 75(4): 593-605.
- Yokus, B., Cakir, D.U., Kanay, Z., Gulten, T. and Uysal, E. (2006). Effects of seasonal and physiological variations on the serum chemistry, vitamins and thyroid hormone concentrations in sheep. Journal of Veterinary Medicine Series A, 53(6): 271-276.
- Zakian, A., Haji-Hajikolaei, M.R., Tehrani-Sharif, M., Faramarzian, K. and Safaei, P. (2018). Evaluation of negative energy balance and some metabolic disorders on peri-partum period in Arabian ewes, Khuzestan. Veterinary Journal, 63(3): 141-146. [In persian]