فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی۵۴، جلد۱۵، شماره۱، زمستان ۱۴۰۰، صفحه ۸۵ تا ۹۵
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۹۸۸۰-۱۷۳۵

ارزیابی و مقایسه تغییرات برخی شاخص‌های متابولیکی و اکسیداتیو در قبل و بعد از زایش در گاوهای شیری نژاد هلشتاین

مریم کریمی دهکردی[۱]، فروغ محمدی[۲]، مجید غلامی آهنگران[۱]
۱-گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. ma_karimivet58@yahoo.com
۲-گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۱/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۶

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اهمیت دوره انتقال گاوهای شیری در سیکل تولید و تحقیقات اندک در خصوص وضعیت اکسیداتیو در این دوران، هدف از این مطالعه بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو در دوره انتقال در گاوهای شیری است.

روش کار: تعداد ۴۲ راس گاو شیری هلشتاین از یکی از گاوداری های صنعتی در شهرکرد انتخاب شد. خون گیری در دو نوبت(دو هفته قبل و دو هفته بعد از زایمان) صورت گرفت و سرم برای اندازه گیری مالون دی آلدهید، گلوتاتیون احیا، آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتایتون پراکسیداز و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به منظور مقایسه میانگین هر یک از این پارامترها در قبل و بعد از زایمان از روش آماری T-test استفاده گردید.

یافته ها: میانگین مالون دی آلدهید خون بعد از زایمان(۱/۰۸ میکرومول در لیتر) در مقایسه با قبل از زایمان(۰/۷۷۲میکرمول در لیتر) افزایش یافت، هر چند از لحاظ آماری معنی دار نبود(p>۰/۰۵). میانگین ظرفیت تام آنتی اکسیدانی خون بعد از زایمان(۳۷٤/۱۹ نانومول در لیتر) در مقایسه با قبل از زایمان(٤٤۲/٦ نانومول در لیتر) کاهش معنی دار یافت(p<۰/۰۵). سطح گلوتاتیون خون بعد از زایمان(۲۸/۵۸ نانومول در لیتر) در مقایسه با قبل از زایمان(۷۱/۹۸ نانومول در لیتر) کاهش معنی دار یافت(p<۰/۰۵). هم چنین سطح آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتایتون پراکسیداز بعد از زایمان نسبت به قبل از زایمان کاهش معنی داری داشت(p<۰/۰۵).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج این پژوهش می توان نتیجه گرفت که گاوهای شیری در طول دوره انتقال در معرض استرس اکسیداتیو قرار گرفته، هر چند علایم بالینی را نشان نمی دهند. در نتیجه لزوم توجه به استفاده از آنتی اکسیدان ها در دوره انتقال از اهمیت فراوانی برخوردار می باشد.

واژه های کلیدی: استرس اکسیداتیو، شاخص متابولیک، گاو شیری، دوره انتقال.

مقدمه

دوره انتقال زایش گاوهای شیری که به سه هفته قبل زایش تا سه هفته بعد از زایش منتهی می شود، مهم‌ترین مرحله زندگی گاو شیری می باشد که سلامت و ماندگاری گله منوط به عبور موفقیت آمیز از این دوره می باشد. بیشترین ناهنجاری های سیکل تولید در این دوره اتفاق افتاده و بنابر برخی گزارشات بیش از نیمی از هزینه های مربوط به درمان در صنعت گاوشیری مربوط به این دوره زمانی است(۳). دوره انتقال از لحاظ تغییر گاو آبستن و بدون شیر به گاو غیر آبستن و تولید کننده شیر، باعث تغییرات فراوان متابولیکی در حیوان می شود که ممکن است این تغییرات وسیع از طریق القاء شرایط استرس اکسیداتیو اثرات منفی بر روی سلامت حیوان

بگذارد(۱۳). بیمارهای متابولیک و عفونی جزء مهم‌ترین عوامل تهدید کننده سلامت حیوان در این دوره حساس می‌باشد(۲۳). اگرچه عوامل متعددی در ایجاد و پیشرفت بیماری‌های متابولیکی و عفونی گاوهای شیری دخیل هستند ولی امروزه نقش استرس اکسیداتیو و اکسی رادیکال های آزاد در پاتوژنز بیماری‌های متابولیک و عفونی دوره انتقال گاوهای شیری بیشتر مورد توجه قرار گرفته و ارزیابی شاخص های مربوط به آن رهیافت روشنی برای درک مکانیسم بیماری های متابولیک و عفونی در دوره انتقال گاوهای شیری فراهم می کند(۴). Weiss و همکاران(۲۰۰۵) در پژوهشی نشان دادند که شیوع ورم پستان و بیماری‌های متابولیک در گله‌های گاوهای شیری که در دوره انتقال آنتی اکسیدان دریافت کرده بودند نسبت به گله کنترل منفی در طول دوره تولید، به علت کاهش شدت استرس اکسیداتیو، پایین‌تر می‌باشد.متاسفانه علی رغم اهمیت فراوان وضعیت استرس اکسیداتیو در دوره انتقال گاوهای شیری، در پاتوژنز بیماری‌های مختلف پس از زایمان، تا به امروز تحقیقات اندکی در این مورد انجام شده است(۳۷). اکسی رادیکال های آزاد به صورت فیزیولوژیک در طی فعالیت های متابولیک تولید می شوند، ولی میزان آن می‌تواند تحت تأثیر فرآیندهای پاتولوژیک و غیر پاتولوژیک به شدت افزایش یابد(۲۴). تحت شرایط فیزیولوژیک این اکسی رادیکال ها توسط سیستم دفاع آنتی اکسیدانی خنثی می شوند. استرس اکسیداتیو در شرایطی رخ می دهد که بین تولید رادیکال‌های آزاد و توانایی بدن برای غیرفعال کردن آن‌ها تعادل نباشد که نتیجه آن آسیب به ساختار مواد بیولوژیک بوده که در نهایت این اکسی رادیکال های فعال، به صورت مستقیم یا غیر مستقیم سلامت حیوان را به خطر می اندازد. اثرات مستقیم شامل پراکسیداسیون چربی و سایر ماکرومولکول‌های مهم و اثرات غیر مستقیم تغییر در سیالیت غشای سلول، اندامک های سلولی و تغییر مسیر چرخه های متابولیکی بدن می باشد. وضعیت استرس اکسیداتیو توسط اندازه گیری مواد بیولوژیک مختلف مورد ارزیابی قرار داده می شود(۲۱). اندازه گیری مالون دی آلدهید(MDA)، گلوتاتیون احیا(GSH) و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام(TAC) از مهم‌ترین ابزارهای بررسی شرایط استرس اکسیداتیو می باشد(۱۰). افزایش تقاضای اکسیژن جهت سوخت و ساز و سایتوکاین های التهابی در پیرامون زایمان منجر به تولید بیش از حد گونه های فعال اکسیژنی می شود. عدم توازن ROS با توان یا ظرفیت ضد اکسیداتیو، تنش اکسیداتیو را به دنبال دارد. مطالعات نشان می دهند تنش اکسیداتیو عالم آسیب‌رسان اغلب ناهنجاری های متابولیک و پاسخ های التهابی گاوهای شیری است و مکمل های آنتی اکسیدانی همانند عناصر معدنی، ویتامین ها و ترکیبات فنولیک وضعیت ضد اکسیداتیو را بهبود می دهند (۹،۲۹). مکانیسم های دفاعی متعددی برای خنثی سازی رادیکال های آزاد تولید شده و جلوگیری از بروز آسیب های اکسیداتیو در بدن وجود دارد که شامل سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی مانند کاتالاز، گلوتایتون پراکسیداز، سوپراکسید دسموتاز و سیستم آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی مانند گلوتایتون، بیلی روبین، اسید اوریک و ویتامین های E و C می باشد(۱۳). علی رغم وجود این سیستم های دفاعی در بدن و خنثی سازی رادیکال های واکنش پذیر اکسیژن، فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی بدن به هم خورده و بالانس منفی انرژی ایجاد می شود که به دنبال این به هم خوردن تعادل، آسیب های اکسیداتیو در سلول ها و بافت های بدن به وجود می آید(۸). مالون دی آلدهید به عنوان بیومارکر شرایط استرس اکسیداتیو و ظرفیت تام آنتی اکسیدان و گلوتاتیون به عنوان توان آنتی اکسیدانی در مطالعه شرایط استرس اکسیداتیو مورد سنجش قرار می گیرند(۱۰). مالون دی آلدهید محصول

پراکسیداسیون لیپیدها می باشد که متعاقب شرایط استرس اکسیداتیو ایجاد می شود. مولکول های چربی نسبت به سایر ماکرومولکول ها انرژی کمتری برای شروع فرآیند اکسیداسیون نیاز داشته در نتیجه بیشتر از سایر ماکرومولکول ها مستعد پراکسیداسیون بوده و جزء شاخص های اصلی استرس اکسیدتیو می باشد(۲۵). گلوتاتیون مهم ترین آنتی اکسیدان سلولی می باشد که از طریق خنثی سازی اکسی رادیکال های ایجاد شده باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می شود. در صورت کاهش گلوتاتیون پلاسما، اکسی رادیکال ها باعث آسیب به ماکرومولکول های حیاتی از جمله DNA و کاهش مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو می شود(۱۷). سوپراکسیدیسموتاز(SOD) باعث تسریع در تقسیم رادیکال سوپراکسید سمی به پراکسید هیدروژن می شود و اولین دفاع درون سلولی در برابر گونه های اکسیژن واکنش پذیر محسوب می شود. تعیین SOD در ارزیابی وضعیت آنتی اکسیدان، در شرایط فیزیولوژیکی یا پاتولوژیک مهم است(۲۸). گاوهای شیری اصولاً در قبل از زایش و بلافاصله بعد از زایش در تعادل منفی انرژی هستند و این بیشتر به علت کاهش چشم گیر در ماده خشک مصرفی و افزایش احتیاجات انرژی برای نگهداری، آبستنی و تولید شیر می باشد(۱۸). چالش اصلی گاوهای شیری در دوران انتقال افزایش ناگهانی و قابل ملاحظه نیازهای تغذیه ای جهت تولید شیر است. در دوران پس از زایمان علی رغم نیازهای تغذیه ای بسیار شدید، میزان دریافت ماده خشک توسط دام در حد دوران قبل از زایش باقی می ماند. این کاهش و تغییرات ایجاد شده در فرآیندهای هورمونی منجر به افزایش مقادیر اسیدهای چرب غیر استریفه و کتون بادی‌ها می گردد و در نتیجه به بیماری های متابولیک، کاهش تولید شیر و کاهش کارائی تولید مثلی منتهی می گردد(۱۴). با توجه به این که در ایران، گزارش ها در ارتباط با چگونگی تغییر در غلظت گلوکز، کلسیم، Betahydroxy butirare (BHB) و Non-estrified fatty acid (NEFA) خون در دوره انتقال محدود است، انجام این تحقیق با این هدف صورت پذیرفت. BHB فرم غالب اجسام کتونی موجود در خون می باشد. افزایش این ترکیبات در خون در هفته های اول پس از زایمان، در واقع نوعی مکانیسم جبرانی در بدن گاوهای شیری به منظور جلوگیری از افت سطح گلوکز خون می‌باشد. به طوری که علی رغم نیاز بسیار بالا برای گلوکز در این زمان، سطح گلوکز خون تنها افت کمی را در یکی دو هفته اول پس از زایمان نشان می دهد(۳۶). لذا افزایش بیش از حد این دو ترکیب در خون نشان دهنده یک تطابق ضعیف با موازنه منفی انرژی در بدن گاو می باشد(۱۸). کمبود املاح معدنی، یکی از اختلالات متابولیک مهم در ابتدای دوره شیردهی در گاو شیری می باشد. در بین عناصر معدنی مورد نیاز بدن، کلسیم در درجه اول اهمیت قرار دارد. نگرانی اصلی در مورد تغذیه گاوهای خشک می باشد که باید در این زمان میزان کلسیم و فسفر در حد مطلوبی فراهم شود تا بتوان بعد از زایمان خطر ابتلا به تب شیر را در گاوها کاهش داد(۱۸،۳۶).با توجه به نقش تعیین کننده وضعیت اکسیداتیو در حفظ و ارتقای سلامت و بروز بیماری های متابولیکی در دوره انتقال، آگاهی از وضعیت اکسیداتیو و آنتی اکسیدانی گاوهای شیری در این دوران دارای اهمیت فراوانی می باشد که تا کنون کمتر به این امر مهم پرداخته شده است؛ لذا هدف از انجام این مطالعه بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو و توان آنتی اکسیدانی با استفاده از اندازه گیری ظرفیت تام انتی اکسیدانی، مالون دی آلدهید و گلوتاتیون احیا و هم چنین تعیین سطح آنزیم های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز(SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز(GPx) و کاتالاز(CAT) سرم بود.

مواد و روش ها

نمونه گیری

در این تحقیق ۴۲ رأس گاو هلشتاین چند شکم زاییده(۲ تا ۵ شکم) و به ظاهر سالم متعلق به یک گاوداری صنعتی در اطراف شهرکرد مورد مطالعه قرار گرفت. خون گیری در دو نوبت(۲ هفته قبل و ۲ هفته بعد از زایمان) انجام شد. از هر رأس گاو ۵ سی سی نمونهٔ خون در لوله های حاوی EDTA جمع آوری و در ۲۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد. نمونه های سرم مربوط به قبل از زایمان و پس از زایمان در هر گاو به صورت جداگانه در میکروتیوپ جمع آوری و جهت اندازه گیری مالون دی آلدئید، ظرفیت کل آنتی اکسیدانی و گلوتاتیون پلاسما در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شد. به‌منظور اندازه گیری مالون دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در سرم به ترتیب از روش TBARS(۷) و روش FRAP(۶) استفاده شد. علاوه بر آن، برای اندازه گیری شاخص های بتا هیدروکسی بوتیرات(BHB)، اسیدهای چرب غیر اشباع(NEFA)، گلوکز و کلسیم از کیت های تجاری راندوکس(انگلیس) و پارس آزمون(ایران) به کمک اتوآنالایزر(BT-3000، آلمان) استفاده شد.

مالون دی آلدهید(MDA)

در این مطالعه از روش تیوباربیتوریک اسید Thiobarbituric acid reactive substances assay (TBARS) برای اندازه‌گیری غلظت سرمی MDA استفاده شد. اساس واکنش اتصال یک مولکول مالون دی الدهید با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید و تشکیل کمپلکس مالون دی الدهید-تیوباربیتوریک اسید قرمز رنگ می باشد. جذب نوری کمپلکس تشکیل شده در طول موج ۵۳۲ اندازه گیری شد، سپس غلظت تیوباربیتوریک اسید در مقایسه با منحنی استاندارد مالون دی الدهید محاسبه شد(۷).

ظرفیت تام آنتی اکسیدانی(TAC)

ظرفیت تام آنتی اکسیدانی با استفاده از روش FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)، توانایی پلاسما در احیای یون فریک، اندازه گیری شد. در این روش به نمونه ها، ۳ گروه معرف FRAP حاوی TPTZ اضافه و سپس حداکثر جذب نوری کمپلکس TPTZ+Fe+2در طول موج ۵۹۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد(۶).

گلوتاتیون احیا(GSH)

سطح گلوتاتیون احیاء با استفاده از روش المن اندازه گیری شد. بر اساس این روش ۲۵ میکرولیتر از سرم با ۱۴۰ میکرولیتر تریس اتیلن دی آمین ترا استیک اسید ۲ مولار دارای pH =۸ و ۳۰ میکرولیتر دی تیو –بیس- ۲- نیتروبنزوئیک اسید ۱ مولار مخلوط و کمپلکس دی تیو- نیتروبنزئیک اسید-گروه سولفدریل احیا زردرنگ در طول موج ۴۱۲ با استفاده از اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد(۱۵).

سوپراکسید دسموتاز

به‌منظور تعیین میزان آنزیم سوپراکسید دسموتاز، از کیت‌های شرکت(ZB-SOD96) zellbio و طبق پروتکل موجود در کیت استفاده شد. به‌منظور اندازه‌گیری میزان سوپراکسید دسموتاز، میزان ۱۰ میکرولیتر از هر سرم مورداستفاده قرار گرفت و بعد از افزودن محلول‌های موجود در کیت، میزان جذب آن در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

کاتالاز

به‌منظور تعیین میزان آنزیم کاتالاز، از کیت‌های شرکت (ZB-CAT96) zellbio و طبق پروتکل موجود در کیت استفاده شد. به‌منظور اندازه‌گیری میزان کاتالاز، میزان ۱۰ میکرولیتر از هر سرم مورداستفاده قرار گرفت و بعد از افزودن محلول‌های موجود در کیت، میزان جذب آن در طول‌موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

گلوتاتیون پراکسیداز

به‌منظور تعیین میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، از کیت‌های شرکت zellbio(ZB-GPX96) و طبق پروتکل و سوبسترای پراکسید هیدروژن موجود در کیت استفاده شد. به‌منظور اندازه‌گیری میزان گلوتاتیون پراکسیداز، میزان ۱۰ میکرولیتر از هر سرم مورداستفاده قرار گرفت و بعد از افزودن محلول‌های موجود در کیت، میزان جذب آن در طول‌موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد.

تحلیل آماری

نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS و انجام آزمون های آماری T-test برای مقایسهٔ میانگین پارامترها در قبل و پس از زایمان مورد در سطح معنی دار ۰/۰۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی اختلاف میانگین در گروه های مختلف از روش آنالیز واریانس یک طرفه داده ها استفاده شد.

نتایج

نتایج تغییرات سطح مالون دی الدهید، گلوتاتیون احیا و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی پلاسما در قبل و بعد از زایمان در جدول ۱ آورده شده است. همان گونه که مشخص است سطح مالون دی آلدهید قبل از زایمان با بعد از زایمان تفاوت معنی داری نداشت (P≥۰/۰۵)، هر چند سطح مالون دی آلدهید بعد از زایمان بیشتر از قبل از زایمان بود. نتایج اندازه گیری ظرفیت تام آنتی-اکسیدانی و نیز گلوتاتیون احیا نشان می دهد که سطح آن ها بعد از زایمان در مقایسه با قبل از زایمان کاهش معنی دار داشته است(P≤۰/۰۵). نتایج سنجش آنزیم های SOD، GPX و CAT نشان داد که سطح آنزیم های نامبرده بعد از زایمان نسبت به قبل از زایمان به طور معنی داری کاهش می یابد(P<0.05). به طوری که سطح SOD، GPX و CAT بعد از زایمان به ترتیب به میزان ۱/۲۴، ۲/۸۴ و ۱/۵۳ برابر نسبت به قبل از زایمان کاهش یافته است. نتایج در جدول ۱ نشان داده شده است.تغییر در غلظت های گلوکز، کلسیم، BHB و NEFA در قبل و پس از زایمان در جدول شماره ۲ آورده شده است. غلظت گلوکز سرم به دنبال زایمان به مقدار قابل توجهی کاهش و غلظت BHB و NEFA افزایش یافته است(p<۰/۰۵). این در حالی است که تغییر معنی دار در غلظت کلسیم در این مدت مشاهد نشد.

جدول ۱- پارامترهای استرس اکسیداتیو در گاوهای شیری نژاد هلشتاین قبل و بعد از زایمان (میانگین ± انحراف معیار)

پارامترهای استرس اکسیداتیو	قبل از زایمان	بعد از زایمان
مالون دی‌آلدهید (میکرومول در لیتر)	۰/ ۷۷۲ ± ۰/۵۷[a]	۱/۰۸±۰/۹۷[a]
ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (نانومول در لیتر)	۴۴۲/۶ ± ۷۴/۸۸[a]	۳۷۴/۱۹±۶۷/۷۵[b]
گلوتاتیون (نانومول در لیتر)	۷۱/۹۸±۲۳/۴۶[a]	۲۸/۵۸±۶[b]
سوپراکسید دیسموتاز (واحد در میلی‌لیتر)	۱۲۰±۱۰/۷۲[a]	۹۵±۷/۰۸[b]
کاتالاز (واحد در میلی‌لیتر)	۲۵/۰۵±۴/۸۹[a]	۱۴/۰۸±۳/۶[b]
گلوتاتیون پراکسیداز (واحد در میلی‌لیتر)	۱۵۰/۴۶±۱۹/۱۸[a]	۶۰±۱۰ /۵۸[b]

مقادیری که در یک سطر قرار دارند و با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند با هم اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

جدول ۲- پارامترهای متابولیکی در گاوهای شیری نژاد هلشتاین قبل و بعد از زایمان (میانگین ± انحراف معیار)

پارامترهای متابولیکی	قبل از زایمان	بعد از زایمان
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴۸/۵۶ ± ۱/۶۷[a]	۴۱/۸ ± ۱/۴[b]
کلسیم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۹/۳۷ ± ۰/۹[a]	۹/۱۸ ± ۰/۲[a]
BHB (میکرومول در لیتر)	۵۰۲/۷ ± ۲۱/۷[a]	۷۰۴/۸۵ ± ۵۵[b]
NEFA (میکرومول در لیتر)	۳۱۳/۳۴ ± ۰/۳۱[a]	۶۷۸/۹ ± ۴۹/۴[b]

مقادیری که در یک سطر قرار دارند و با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند با هم اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش افزایش سطح مالون دی آلدهید بعد از زایمان نسبت به قبل از زایمان دیده شد، هر چند این اختلاف معنی دار نبود. این نتایج با پژوهش Castillo و همکاران(۲۰۰۵) در توافق بود(۱۰). Wachter و همکاران(۱۹۹۹) بیان کردند که احتمالاً گاوهای شیری بعد از زایمان نسبت به قبل از زایمان به علت دفع مواد آنتی اکسیدانی محلول در چربی به داخل شیر، از توان آنتی‌اکسیدانی کمتر برخوردار بوده که در نهایت موجب ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو و افزایش مالون دی آلدهید می شود(۳۴). به نظر می رسد کاهش ظرفیت تام انتی اکسیدانی و گلوتاتیون در این پژوهش می تواند در تایید این مکانیسم ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو در دوره انتقال باشد. در توضیح معنی دار نبودن سطح مالون دی آلدهید Bell(۱۹۹۵) بیان کرد که تولید شیر موجب تغییرات وسیع متابولیکی در گاوهای شیری شده و مستلزم آداپتاسیون وسیع توسط حیوان می باشد که این قدرت تطابق بین گاوهای شیری درون یک گله با نژاد یکسان، از واریانس بالایی برخوردار می باشد(۳). تا به امروز علت این پدیده مشخص نشده و مستلزم پژوهش های بیشتر می باشد. نتایج این مطالعه نشان دهنده کاهش شاخص های آنتی اکسیدانی مرتبط با بروز استرس اکسیداتیو در اوایل دوره پس از زایمان در گاوهای شیری است. در این مطالعه، کاهش فعالیت GPX در تمام مجموعه های خون پس از زایمان ثبت شده است که مطابق با مطالعه Píšťková و همکاران(۲۰۱۸) است که در آن تفاوت معنی داری در فعالیت GPx بلافاصله و در ۱ هفته پس از زایمان دیده شد(۲۸). هم چنین Konvičná و همکاران(۲۰۱۵) کاهش فعالیت GPx را در ۱ هفته پس از زایمان به عنوان دلیلی برای افزایش استرس اکسیداتیو این دوران گزارش داد(۱۹). کاهش گلوتاتیون بعد از زایمان با پژوهش Adela و همکاران(۲۰۰۶) در توافق بود. طبق این پژوهش به نظر می رسد افزایش ناگهانی تولید رادیکال های آزاد در هفته های نخست زایمان گاوهای شیری در نتیجه نیاز شدید به انرژی و سرعت پایین بیان mRNA سلولی برای ساخت تری پپتید گلوتایتون باعث کاهش گلوتایتون پلاسما می شود(۲). Mytilineou و همکاران(۲۰۰۲) بیان کردند که در شروع وضعیت استرس اکسیداتیو، بدن با کاهش گلوتاتیون مواجه می شود(۲۴). با توجه به نتایج کاهش گلوتاتیون پلاسما پس از زایمان در این پژوهش، به نظر می رسد فرضیه اولیه ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو در دوره انتقال تایید شود. شاخص ظرفیت تام انتی اکسیدان بیان گر تعامل تمام اجزای آنتی اکسیدانی شناخته شده و ناشناخته بدن می باشد. در این پژوهش با کاهش این شاخص در بعد زایمان نسبت به قبل زایمان دیده شد که حاکی از کاهش توان آنتی اکسیدانی بدن در طول دوره انتقال می باشد. Toescu و همکاران(۲۰۰۴) در بررسی زنان باردار مبتلا به دیابت نشان دادند که افراد در معرض استرس اکسیداتیو با کاهش شاخص ظرفیت تام آنتی اکسیدانی مواجه می باشند(۳۳) که با نتایج این پژوهش مبنی بر القای شرایط

استرس اکسیداتیو در دوره انتقال هم خوانی دارد. Balari و همکاران در سال ۲۰۲۰ میزان MDA و TAC را در گاوهای شیری پس از زایمان به ترتیب ۰/۱±۲/۰۲ و ۰/۷۹±۹/۱۸ میکرومول بر لیتر گزارش کردند(۲). Mousavi Tashar و همکاران در سال ۲۰۲۰ مقادیر کاتالاز و SOD را در ۲۱-۷ روز بعد از زایمان در گاوهای شیری هلشتاین، به ترتیب ۱/۱±۱۲/۰۷ واحد بر لیتر و ۳/۸±۳۶/۴ در صد گزارش نمودند(۲۲). Castillo و همکاران(۲۰۰۵) در بررسی تغیرات شاخص ظرفیت تام آنتی اکسیدانی در قبل و بعد از زایمان نشان دادند که ظرفیت تام انتی اکسیدانی در طول این دوره تغییر معنی دار نداشت. به نظر می رسد به علت تفاوت در نژاد، مدیریت گله، تغذیه، شاخص های سلامت و روش های آماری مورد استفاده، دلیل این تفاوت باشد(۱۰). کاهش گلوتاتیون بعد از زایمان با پژوهش Adela و همکاران(۲۰۰۶) در توافق بود. طبق این پژوهش به نظر می رسد افزایش ناگهانی تولید رادیکال های آزاد در هفته های نخست زایمان گاوهای شیری در نتیجه نیاز شدید به انرژی و سرعت پایین بیان mRNA سلولی برای ساخت تری پپتید گلوتایتون باعث کاهش گلوتایتون پلاسما می شود(۱). Mytilineou و همکاران(۲۰۰۲) بیان کردند که در شروع وضعیت استرس اکسیداتیو، بدن با کاهش گلوتاتیون مواجه می شود(۲۴). با توجه به نتایج کاهش گلوتاتیون پلاسما پس از زایمان در این پژوهش، به نظر می رسد فرضیه اولیه ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو در دوره انتقال تایید شود. مطالعه ی ما حاکی از کاهش SOD پس از زایمان بود. در همین راستا Bnabuchi و همکاران(۲۰۰۵) نیز بالاترین فعالیت SOD را در ۴ روز قبل از زایمان ثبت کرد(۴). هم چنین Pintea و همکاران(۲۰۰۶) کاهش قابل توجهی از فعالیت SOD در گاوهای شیری در هفته اول پس از زایمان گزارش کرد که با شروع هفته دوم افزایش یافت و پس از شش هفته به کنترل نزدیک بود(۲۶). با این حال، Gall و همکاران(۲۰۰۶) افزایش قابل توجهی از فعالیت SOD در هنگام زایش را در مقایسه با گروه کنترل(قبل و بعد از زایمان) یافت(۱۵). همان طور که توسط De Quiroga و همکاران(۱۹۹۲) گزارش شده است، به نظر می رسد سیستم آنتی اکسیدانی تحت کنترل هورمواستاتیک است(۱۱). افزایش فعالیت GPx و SOD قبل از زایمان می تواند نتیجه تلاش برای کنار آمدن با افزایش مقدار ROS باشد(۴). با این حال، مقدار ناکافی آنتی اکسیدان ها و افزایش مداوم ROS منجر به کاهش فعالیت GPx می شود. هم چنین افزایش فعالیت SOD در طول کل آزمایش Píšťková K و همکاران(۲۰۱۹) نیز معنی دار نبوده و ادعا شده این افزایش برای جلوگیری از بروز استرس اکسیداتیو کافی نیست(۲۸). همسو با نتایج حاضر، Pintea و همکاران(۲۰۰۶) نشان داد فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی هم چون SOD، GPX و کاتالاز در هفته اول پس از زایمان کمتر است و پس از آن افزایش می یابد و در طی شش هفته به مقدار طبیعی می رسد(۲۶). از طرفی از آن جا که فعالیت SOD باعث افزایش تولید H_2O_2 می شود، محافظت در برابر اکسیژن فعال فقط با افزایش هماهنگ فعالیت های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز انجام می شود بنابراین انتظار می رود که یک ارتباط مثبت و معنادار بین فعالیت کاتالاز و فعالیت SOD وجود داشته باشد(۲۰). بنابراین کاهش کاتالاز به دلیل کاهش SOD و GPX قابل توجیه است. با این وجود، Sharma و همکاران(۲۰۱۱) افزایش غیرشاخص کاتالاز را پس از زایمان گزارش کردند(۳۰). در مطالعه Sharma اگرچه همبستگی مثبت معناداری بین استرس اکسیداتیو(پراکسیداسیون لیپید) و وضعیت آنتی اکسیدان(کاتالاز) در گاوهای باردار مشاهده شد، ولی پس از زایمان این همبستگی به طور غیر معنی داری کاهش یافت. همراه با اواخر بارداری،

زایمان و شروع شیردهی انتظار می رود تولید گونه های اکسیژن فعال(ROS) را افزایش دهد و استرس اکسیداتیو حاصل شود. این استرس ناشی از زایمان، علاوه بر کاهش جذب و سطح پلاسمای آنتی اکسیدان های مهم تغذیه ای به دلیل افزایش تقاضا برای مواد معدنی و ویتامین ها در دوران بارداری، تأثیر بیشتری در این عدم تعادل دارد. در مطالعه حاضر مشخص شد که غلظت گلوکز سرم خون به دنبال زایمان به مقدار قابل توجهی کاهش یافته است در حالی که غلظت BHB و NEFA افزایش داشته است($p<0/05$). روزهای آغازین پس از زایمان در گاو شیری همراه است با کاهش سطح گلوکز خون و در عین حال هم چنان که مطالعه حاضر و سایر مطالعات نشان می دهند(۱۶)، غلظت BHB و NEFA خون در این زمان نسبت به قبل از زایمان افزایش داشته است. این دو متابولیت به عنوان شاخص های بالانس انرژی معروف هستند و تغییر در غلظت آن ها به دلیل تغییر در وضعیت توازن انرژی در بدن گاو شیری، مصادف با دوره حساس پیرامون زایمان می باشد. در پاسخ به کاهش سطح گلوکز خون در این دوره اسیدهای چرب غیر اشباع از ذخایر چربی بدن آزاد می شوند. این ترکیبات به وسیله کبد گرفته شده و بعد از این یا به طور کامل اکسید شده و تولید انرژی می کنند و یا دچار اکسیداسیون نسبی شده که در اثر آن اجسام کتونی تولید می شود. میزان این ترکیبات در فاصله روزهای ۷ تا ۱۳ پس از زایمان به حداکثر مقدار خود می رسد و پس از آن به تدریج کم می شود(۱۶). همان گونه که در نتایج این مطالعه دیده شد، عیار سرمی کلسیم گاوها، طی دو هفته پس از زایمان (۰/۲±۹/۱۸ میلی گرم بر دسی لیتر) تغییر معنی داری نسبت به قبل از زایمان(۰/۹±۹/۳۷ میلی گرم بر دسی لیتر) نداشت($p>0/05$). در گاوهای شیری در زمان زایمان یا مدت کوتاهی پس از آن، هایپوکلسمی که با کاهش کلسیم خون کمتر از ۸ mg/dl مشخص می شود امری حتمی و اجتناب ناپذیر است. از آن جایی که آغوز، منبع سرشاری از کلسیم و فسفر است، به دنبال زایمان مقدار زیادی از این عناصر از بدن دام دفع می شود که منجر به یک چالش عظیم در توانایی گاو برای نگهداری کلسیم خون در حد نرمال می شود. از طرف دیگر بزرگی جنین در ماه های آخر آبستنی بر شکمبه فشار آورده و کاهش حجم این عضو و درنهایت کاهش دریافت غذا در دام را باعث می شود. علاوه بر این، ترشح استروژن در حول و حوش زایمان به کاهش اشتهای دام پس از زایش کمک می کند. از آن جایی که برگشت اشتهای متناسب با تولید شیر از ماه دوم پس از زایش رخ می دهد، احتمال ابتلا به برخی از بیماری ها در حول حوش زایمان مثل تب شیر بیشتر می شود(۱۲). در این مطالعه، عیار سرمی کلسیم، ۲۴ ساعت پس از زایمان که حساس ترین زمان برای بروز بیماری تب شیر می باشد، اندازه گیری نشده است. لذا تغییرات کلسیم در دوره پس از زایمان مشاهده نشد. در مطالعه ای توسط Timothy و همکاران(۲۰۱۱) در آمریکا مشخص شد که شیوع هایپوکلسیمی تحت بالینی در ۴۸ ساعت پس از زایمان($\leq$۸mg/dl) با افزایش سن افزایش می یابد و به ترتیب در شکم اول تا ششم ۲۵٪، ۴۱٪، ۵۱٪، ۵۴٪ و ۴۲٪ بود(۳۲). با توجه به نتایج این پژوهش می توان نتیجه گرفت که گاوهای شیری در طول دوره انتقال در معرض تغییرات متابولیکی و شرایط استرس اکسیداتیو قرار می گیرند در نتیجه لزوم توجه به استفاده از آنتی اکسیدان ها در دوره انتقال از اهمیت فراوانی برخوردار می باشد.

منابع

1.Adela, P., Zinveliu, D., Pop, R.A., Andrei, S., Kiss, R. (2006). Antioxidant status in dairy cows during lactation. Buletin USAMV-CN, 50(12); 1454-2382.

2.Balari Mahyari, F., Karimi Dehkordi, M., Nazem, M.R. (2020). Evaluation of oxidative status in dairy cattle with subclinical ketosis and clinical endometritis. Veterinary Clinical Pathology, 13(52); 385-397 [In Persian]
3.Bell, A.W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation, J Anim Sci, 73; 2804-2819
4.Benzie, I.F., Szeto, Y.T. (1999). Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. J Agri Food Chem, 47(2); 633-636.
5.Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., Nardone, A. (2002). Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. J Dairy Sci, 85; 2173-2179.
6.Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., Nardone, A. (2005). Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. J Dairy Sci, 88(6); 2017-2026.
7.Bilici, M., Efe, H., Köroğlu, M.A., Uydu, H.A., Bekaroğlu, M., Değer, O. (2001). Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression; alterations by Ellman G.L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. Arch Biochem Bioph, 82; 70–77.
8.Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organ J, 5(1); 9-19.
9.Buelo, A., Hernandez, J., Benedito, J.L., Castillo, C. (2016). Association of oxidative status and insulin sensitivity in periparturient dairy cattle; An observational study. J Anim Physiol An N, 100; 279-286.
10. Castillo, C., Hernandez, J., Bravo, A., Lopez-Alonso, M., Pereira, V., Benedito, J.L. (2005). Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. Vet J, 169(2); 286-92.
11. De Quiroga, G.B., Lopez-Torres, M., Perez-Campo, R. (1992). Relationship between antioxidants, lipid peroxidation and aging. Free radicals and aging: Springer; 109-123.
12. Divers, T.J., Peek, S.F. (2008). Rebhum's diseases of dairy cattle. (2th ed.) Saunders Elsevier publishing. Philadelphia, USA.
13. Drackley, J.K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? J Dairy Sci, 82; 2259-2273.
14. Duffield, T. (2000). Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. Vet Clin North Am Food Anim Pract, 16; 231-253.
15. Gaál, T., Ribiczeyné-Szabó, P., Stadler, K., Jakus, J., Reiczigel, J., Kövér, P. (2006). Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidant system in the blood of cows and newborn calves around calving. Comp Biochem Physiol B, Biochem Mol Biol, 143(4); 391-396.
16. Grummer, R.R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. J Anim Sci, 73; 2820-2833.
17. Hayes, J.D., McLellan, L.I. (1999). Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a Co-ordinately regulated defence against oxidative stress. Free Radic Res, 31(4); 273-300.
18. Herdt, T.H. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance. Vet Clin N Am-Food A, 16(2); 215-230.
19. Konvičná, J., Vargová, M,. Paulíková, I., Kováč, G., Kostecká, Z. (2015). Oxidative stress and antioxidant status in dairy cows during prepartal and postpartal periods. Acta Vet Brno, 84(2); 133-140.
20. Maurya, P.K., Aggarwal, A., Singh, S., Chandra, G., Singh, A., Chaudhari, B. (2014). Effect of vitamin e and zinc on cellular antioxidant enzymes in karan fries cows during transition period. Indian J Anim Res, 48(2); 109-119.
21. Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci, 7 (9); 405-410.
22. Mousavi Tashar, N., Karimi Dehkordi, M., Nazem, M.R. (2020). The effect of serum catalase and superoxide dismutase activity on subclinical ketosis and conception rate at first service in Holstein dairy cows. Iranian veterinary Journal, accepted [In Persian]
23. Mulligan, F.J., Doherty, M.L. (2008). Production diseases of the transition cow. Vet J, 176(1); 3-9.
24. Mytilineou, C., Kramer, B.C., Yabut, J.A. (2002). Glutathione depletion and oxidative stress. Parkinsonism Relat Disord, 8; 385–387.
25. Nielsen, F., Mikkelsen, B.B., Nielsen, J.B., Andersen, H.R., Grandjean, P. (1997). Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. Clin Chem, 43(7);1209-1214.
26. Pintea, A., Zinveliu, D., Pop, R.A., Andrei, S., Kiss, E. (2006). Antioxidant status in dairy

cows during lactation. Bull Univ Agric Sci Vet Med Cluj Napoca Vet Med, 63(1-2);110-120.
27.Píšťková, K., Kazatelová, Z., Procházková, H., Danielová, L., Illek, J. (2018). Antioxidant status and concentration levels of malondialdehyde(MDA) in dairy cows during periparturient period. Magy Allatorvosok. Proceedings, XVIII Middle-European Biuatrics Congress; 120-123.
28.Píšťková, K., Illek, J., Kadek, R. (2019). Determination of antioxidant indices in dairy cows during the periparturient period. Acta Vet Brno, 88(1); 3-9.
29. Safari, M., Ghasemi, E., Alikhani, M., Ansari-Mahyari, S. (2018). Supplementation effects of pomegranate by-products on oxidative status, metabolic profile, and performance in transition dairy cows. J Dairy Sci, 101(12); 11297-11309.
30. Sharma, N., Singh, N., Singh, O., Pandey, V., Verma, P. (2011). Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows. Asian-Austral J Anim Sci, 24(4); 479-84.
31. Sordillo, L.M., Aitken, S.L. (2009). Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle.Vet Immunol Immunopathol, 15;104-109.
32. Timothy, A., Reinhardt, T., John, D., Lippolis. B., Brian, J., McCluskey, J.P., Goff Ronald, L. (2011). Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. Vet J, 188; 122-124.
33. Toescu, V., Nuttall, S.L., Martin, U., Nightingale, P., Kendall, M.J., Brydon, P. (2002). Changes in plasma lipids and markers of oxidative stress in normal pregnancy and pregnancies complicated by Diabetes. Clin Sci, 106(1); 93-98.
34. Wachter, C.M., McDaniel, B.T., Whitlow, L.W., Pettyjohn, S. (1999). Genetics of antioxidant activity in Holsteins and Jerseys: associations with various traits. J Dairy Sci, 82(Suppl. 1); 31-38.
35. Walsh, R.B., Walton, J.S., Kelton, D.F., LeBlanc, S.J., Leslie, K.E., Duffield, T.F. (2007). The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. J Dairy Sci, 90; 2788-2796.
36. Wathes, D.C., Bourne, N., Cheng, Z., Mann, G.E., Taylor, V.J. Coffey, M.P. (2007). Multiple correlation analyses of metabolic and endocrine profiles with fertility in primiparous and multiparous cows. J Dairy Sci, 90; 1310-1325.
37. Weiss, W.P., Hogan, J.S. (2005). Effect of selenium source on selenium status, neutrophil function, and response to intramammary endotoxin challenge of dairy cows. J Dairy Sci, 88(12); 4366-4374.
.

Evaluation and comparison of changes in some metabolic and oxidative parameters before and after calving in Holstein dairy cows

M.Karimi-Dehkordi[1], F. Mohammadi[2], M.Gholami-Ahangaran[1]

1.Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. **Ma_karimivet58@yahoo.com**

2.Department of veterinary, Agriculture Faculty, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran**.**

Received:2021.12.4 **Accepted: 2021.26.4**

Abstract

Inroduction & Objective: In the recent years, due to the role of oxidative stress in the pathogenesis of various diseases, oxidative stress markers have become a useful tool in the prevention and treatment of various diseases. Regarding the importance of dairy cattle transition period and little research on the state of oxidative stress during the transition period, the aim of this study was to investigate the status of oxidative stress during the transition period using Malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and total antioxidant capacity (GSH) two weeks before and after parturition in Holstein dairy cows in Shahrekord dairy farms.

Materials and Methods: 42 dairy were selected from one of the industrial dairy farms in Shahrekord. Blood samples were taken two times (two weeks before and after pregnancy) and was transferred to the laboratory for measurement of Malondialdehyde, glutathione and total antioxidant capacity. T-test was used to compare the mean of each of these parameters before and after pregnancy.

Results: The mean serum Malondialdehyde level after parturition in comparison to before parturition increased, although it was not statistically significant (P>0/05). The mean glutathione and total antioxidant capacity of the blood after delivery in comparison with the prepartum were significantly decreased (P<0/05). Also, the levels of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase enzymes decreased significantly after delivery compared to before delivery (P <0.05).

Conclusion: According to the results of this study, it can be concluded that dairy cows are exposed to oxidative stress during the transition period, although they do not show clinical symptoms. As a result, it is important to pay attention to the use of antioxidants during the transition period.

Keywords: Oxidative Stress, Metabolic index, Transition Period, Dairy Cow.