نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد دوم، شماره سوم، ۱۳۹۳
http://ejrr.gau.ac.ir

اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیر الیافی زیاد بر عملکرد تولیدی، القاء التهاب و تغییرات مولکولی سیستم ایمنی ذاتی گاوهای شیری جرزی

*فرخ کفیل زاده[۱]، گلناز تأسلی[۲]، داراب قدیمی[۳] و مایکل بالو[۴]

[۱]استاد و [۲]دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه، [۳]استادیار گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقاتی مکس رابنر، کیل، آلمان، [۴]دانشیار گروه علوم دامی و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تکنولوژی تگزاس، آمریکا

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۷/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۹/۲۶

چکیده

هدف اصلی این آزمایش ارزیابی اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر عملکرد تولید، القاء التهاب، پاسخ نوتروفیل و برخی نشانگرهای التهابی در گاوهای شیری‌نژاد جرزی بود. برای انجام آزمایش از ۷ رأس گاو چند شکم‌زا (۰/۵±۲/۵) با میانگین روزهای شیردهی ۳±۷۱ و میانگین تولید شیر ۶/۶±۲۸ کیلوگرم استفاده شد. تمامی گاوها در دو هفته اول آزمایش جیره شاهد (حاوی ۳۴ درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی) و در هفته سوم، جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد (حاوی ۴۰ درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی) را دریافت کردند. میزان انرژی و پروتئین هر دو جیره یکسان بود. مصرف خوراک هر حیوان و تولید شیر اندازه‌گیری شد. جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد ماده خشک مصرفی را کاهش داد (P<۰/۰۵) ولی تولید شیر تحت تأثیر قرار نگرفت. سه نشانگر التهابی بیگانه‌خواری، انفجارتنفسی و تولید پروتئین ال-سلکتین بر سطح نوتروفیل‌ها اندازه‌گیری شد. تولید ال-سلکتین در اثر مصرف جیره با کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد افزایش(P<۰/۰۵) و بیگانه‌خواری کاهش یافت (P<۰/۱۰). انفجارتنفسی تحت تأثیر جیره قرار نگرفت. هاپتوگلوبین و روی به‌عنوان دیگر شاخص‌های مهم التهاب و سایتوکاین پیش التهابی تومور نکروسیس فاکتور آلفا در پلاسما اندازه‌گیری شد. میزان‌هاپتوگلوبین پلاسما افزایش و روی

*نویسنده مسئول: kafilzadeh@razi.ac.ir

پلاسما کاهش یافت. افزایش معنی‌داری در مقدار تومور نکروسیس فاکتور آلفا مشاهده نشد (P>۰/۰۵). افزایش تولید ال-سلکتین و میزان هاپتوگلوبین پلاسما و کاهش روی پلاسما همراه با کاهش ماده خشک مصرفی و بیگانه‌خواری حاکی از القاء التهاب با مصرف جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد می‌باشد.

واژه‌های کلیدی : کربوهیدرات‌های غیرالیافی، التهاب، ایمنی ذاتی، گاو شیری.

مقدمه

استفاده از جیره‌هایی که حاوی میزان زیاد کربوهیدرات‌های غیرالیافی[1] می‌باشد، امری رایج در تغذیه گاوهای شیری پرتولید می باشد تا نیاز شیردهی آنها تأمین شود. کربوهیدرات‌های غیرالیافی شامل نشاسته، پکتین و قندهای محلول می‌باشد و مقدار آن در جیره‌هایی با نسبت علوفه به کنسانتره ٤٠ به ٦٠ درصد می‌تواند تا ٤٠ درصد هم افزایش یابد (گرنت و کونونوف، ۲۰۰۷). اگرچه، شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد سیستم ایمنی گاوهای شیری می‌تواند با مصرف جیره‌های حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد، تحریک شود (امتاج و همکاران، ۲۰۱۰). جیره‌های حاوی سطح بالای کربوهیدرات‌های غیرالیافی باعث آزاد شدن ترکیبات سمی باکتریایی در دستگاه گوارش به ویژه شکمبه حیوان می‌شود (امتاج و همکاران، ۲۰۱۰). از جمله این ترکیبات سمی لیپوپلی‌ساکاریدها دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی هستند که عمده‌ترین سموم داخلی آزاد شده محسوب می‌شوند. این سموم وارد سیستم گردش خون شده و می‌توانند باعث القاء التهاب شوند. در هنگام التهاب سایتوکاین‌های پیش‌التهابی[2] مانند تومور نکروسیس فاکتور آلفا[3] از ماکروفاژها ترشح شده و منجر به تولید پروتئین‌های فاز حاد[4] در کبد می‌شود (امتاج و همکاران، ۲۰۱۰). پروتئین‌های فاز حاد شامل بیش از ۲۰۰ پروتئین می‌باشد که به‌دنبال عفونت، التهاب و یا جراحی تغییرات محسوسی در غلظت آنها در سرم ایجاد می‌شود. پروتیین‌های فاز حاد در دو گروه مثبت و منفی دسته‌بندی می‌شوند که در اثر تحریک به‌ترتیب میزان آنها در سرم افزایش یا کاهش می‌یابد. آلبومین و ترانسفرین مثال‌هایی از دسته

1- Non fibrous carbohydrates
2- Pro inflammatory Cytokines
3- Tumor Necrosis Factor alpha (TNF)- α
4- Acute Phase Proteins (APP)

منفی و هـاپتوگلوبین، سرولوپلاسـمین، فیبرونـوژن و سـرم آمیلورویـد A مثال‌هـایی از دسـته مثبـت هستند.هاپتوگلوبین یکی از پروتئین‌های فاز حاد و از اولین سازوکارهای پاسخ ایمنی بدن است. در گاو شیری هاپتوگلوبین از مهم‌ترین پروتئین‌های فاز حاد می‌باشد. مقدار آن در گاو سالم انـدک اسـت و در شرایط التهاب میزان آن افزایش می‌یابد. خاصیت ضد التهابی و جلوگیری از تنش اکسایشـی از دیگـر نقش‌های هاپتوگلوبین می‌باشد (صارمی، ۲۰۱۳). بر اساس برخی پـژوهش‌هـا میـزان هـاپتوگلوبین در هنگام استفاده از جیره‌های القاء کننده اسیدوز افزایش می‌یابـد (گـوژو و همکـاران، ۲۰۰۵؛ امانویـل و همکاران، ۲۰۰۸).

نوتروفیل‌ها، اولین سلول‌های مهاجر از خون به جایگاه التهاب می‌باشند و با ابزارهای متنوعی بـرای مقابله با عوامل عفونی از راه می‌رسند. انفجار تنفسی[1] یکی از اجزاء ضروری و اساسی عملکـرد کشـنده نوتروفیل‌ها است. انفجار تنفسی که بعضی اوقات انفجار اکسایشی نامیده می‌شود، آزاد شدن سریع انواع اکسیژن انفعالی (رادیکال سوپراکسید و پراکسید هیدروژن) از انواع مختلف سلول‌ها است و معمـولاً بـه معنی آزاد شدن این مواد شیمیایی از سلول‌های ایمنی از قبیل نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها می‌باشد (هوانلو و همکاران، ۲۰۰۹). پژوهش‌های برون تنی با کشـت سـلول‌هـای خـون انسـان نشـان داده اسـت کـه انکوباسیون نوتروفیل‌ها با گلوکز باعث نقص در انفجـار تنفسـی و کـارکرد آنهـا مـی‌شـود (نیلسـون و هیندسون، ۱۹۸۹). اولین بار در سال ۱۹۷۵ گزارش شد که افزایش غلظت قند (گالاکتوز و گلـوکز) بـر فرآیند بیگانه‌خواری[2] اثر گذاشته و باعث اختلال در بلع باکتری ای-کولای توسط ماکروفاژهای خوکچه هندی شد (ویچفیلد و ولز، ۱۹۷٦).

ال – سلکتین[3] یکی از اعضای خانواده سلکتین‌ها می‌باشد که به صورت مولکول چسبان سلولی بـر سطح لنفوسیت‌های محیطی، مونوسیت‌ها و نوتروفیلها بارز[4] می‌شود (والچک و همکاران، ۱۹۹٦). ایـن مولکول نقش کلیدی در شروع مهاجرت گلبول‌های سفید از عروق به داخل بافت‌های لنفاوی یا نواحی مختلف التهاب موضعی دارد (تدر و همکاران، ۱۹۹۵). سلکتین نقش مهمی در فراخـوانی گلبـول‌هـای سفید به جایگاه التهاب، فعال شدن آنها و تعاملات بین گلبول‌های سـفید و سـلول‌هـای انـدوتلیال دارد (اسنپ و همکاران، ۱۹۹۸). عملکرد نوتروفیل با اندازه‌گیری سه نشانگر التهابی تولید ال-سـلکتین بـر

1- Oxidative Burst
2- Phagocytosis
3- L_Selectin
4- Expression

سطح نوتروفیل، انفجار تنفسی و بیگانه‌خواری مورد بررسی قرار می‌گیرد. در پژوهش‌های بسیار معدودی اثر جیره حاوی میزان زیادی از کربوهیدرات‌های غیرالیافی بر عملکرد نوتروفیل ارزیابی شده است. از اینرو، هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر جیره حاوی سطح زیاد کربوهیدرات‌های غیرالیافی بر القاء التهاب و برخی نشانگرهای التهابی در گاوهای شیری بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گاوداری تکزیکو جرزی[1] واقع در ایالت نیومکزیکو کشور آمریکا انجام شد و تمامی بخش‌های آزمایشگاهی آن در گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تگزاس- تک انجام گرفت. برای انجام آزمایش از ۸ رأس گاو شیری نژاد جرزی با میانگین وزن (٤٠٧ ±١٧/٩) کیلوگرم و میانگین تولید شیر (٢٨ ± ٦/٦) کیلوگرم استفاده شد که در روز (٧١± ٣) پس از زایش بودند. این گاوها در دوره دوم یا سوم شیردهی بودند (٠/٥±٢/٥). هنگام اجرای آزمایش یک رأس از گاوها به دلیل بیماری حذف گردید و آزمایش با ۷ رأس گاو ادامه یافت. در طول دوره آزمایش دام‌ها در جایگاه‌های انفرادی با ابعاد ٤×١٠ متر نگه‌داری شدند و به آب تمیز و خوراک دسترسی داشتند و دو بار در روز (٦ صبح و ٦ عصر) به سالن شیردوشی برده می‌شدند. جیره دام‌ها بر اساس جداول پژوهش‌های ملی کشور آمریکا [2] (٢٠٠١) متوازن گردید. دو نوع جیره با میزان انرژی یکسان ولی با میزان کربوهیدرات‌های غیرالیافی متفاوت در آزمایش استفاده گردید. ترکیب مواد تشکیل دهنده و مواد مغذی جیره‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. نسبت علوفه به کنسانتره در هر دو جیره ثابت و برابر ٤٠ به ٦٠ بود. تمامی گاوها در دو هفته اول آزمایش جیره شاهد (حاوی ٣٤ درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی) و در هفته سوم، جیره با میزان کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد (حاوی ٤٠ درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی) را دریافت کردند. خوراک مصرفی هر حیوان روزانه در ساعت ۸ صبح پس از توزین به‌صورت کاملاً مخلوط داده شد. در طی دوره آزمایش مصرف اختیاری خوراک هر حیوان اندازه‌گیری شد و نمونه‌های خوراک در هفته دوم مصرف جیره شاهد و هفته مصرف جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد به صورت یک روز در میان جمع آوری شده و به آزمایشگاه مواد خوراکی برای تجزیه مواد مغذی ارسال گردید.

1- Texico Jersey Farm
2- National Research Council

نمونه‌های خون در روز صفر (انتهای روز ١٤، که گاوها جیره شاهد دریافت کرده‌اند)، پیش از توزیع غذا و روزهای ۲، ٤ و ۷ (پس از تغییر جیره) و از ورید وداج هر گاو گرفته شد. برای اندازه‌گیری نشانگرهای التهابی، خون به درون لوله‌های آزمایش حاوی هپارین ریخته شد. سه نشانگر مهم التهابی بیگانه‌خواری، انفجارتنفسی و تولید پروتئین ال-سلکتین بر سطح نوتروفیل‌ها با دستگاه فلوسایتومتر[1] و با روش هولبرت و همکاران (۲۰۱۲) اندازه‌گیری شد. هاپتوگلوبین پلاسما با استفاده از کیت الایزا[2] به روش گوژو و همکاران (۲۰۰۵) اندازه‌گیری شد. مقدار روی پلاسما با دستگاه جذب اتمی و طول موج ۲۱۳/۹ نانومتر تعیین شد. برای اندازه‌گیری تومور نکروسیس فاکتور آلفا از کیت الایزا[3] استفاده شد.

نمونه‌های شیر نیز در روزهای نمونه‌گیری خون جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در داخل ظروف پلاستیکی ۵۰ سی‌سی از پیش بر چسب زده شده حاوی دی کرومات پتاسیم ریخته شد. نمونه‌های مربوط به هر گاو برای تعیین میزان پروتئین، چربی به آزمایشگاه ارسال شد. بر اساس درصد پروتئین و چربی شیر تولید روزانه آن‌ها محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از این پژوهش با نرم‌افزار آماری (SAS, ۲۰۰۳) و با استفاده از رویه مدل مختلط[4] و به‌صورت داده‌های تکرار شده در زمان تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه اثرات معنی‌داری با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار صورت گرفت. برای تخمین میانگین حداقل مربعات از روش حداکثر درست نمایی محدود شده استفاده شد. توزیع نرمال داده‌ها و همگنی واریانس برای باقیمانده‌ها با رویه همبسته مورد آزمون قرار گرفت. اثرات معنی‌داری در سطح احتمال کم‌تر یا مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شدند و تمایل به معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۱۰-۰/۰۵ بحث شد.

1- Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA
2- TP-801, Tri-Delta Diagnostics Inc., Morris Plains, NJ, USA
3- R&D Systems, Minneapolis, MN, USA
4 -Mixed Model

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده و مواد مغذی جیره‌ها و ترکیبات شیمیایی

مواد خوراکی (درصد)	جیره شاهد	جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد
علف چاودار	۸/۲	۱۱
علف یونجه	۲۲/۹	۲۲/٤
علف سورگوم	٤/۱	---
ساقه ذرت	٤/۳	۵/۲
گلوتن ذرت (خشک)[1]	۱۲/۲	---
بقایای ذرت پس از تولید اتانول	۱۲/۱	۳
تخم پنبه	۵/۲	---
ذرت ورقه شده	۲٦/۵	۲۷/٦
جو ورقه شده با بخار	---	۱۳/۸
کنجاله کانولا	---	۱۳
مکمل چربی	.۰/٤	---
مکمل مواد معدنی	٤/۱	٤/۱
مواد مغذی (درصدی از ماده خشک)		
پروتئین خام	۱٦/۷	۱٦/۷
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۳۳/۸	۳۰/۲
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۱٦/٤	۱۵/۵
کربوهیدراتهای غیرالیافی[1]	۳٤/۳	٤۰/۷
نشاسته	۲۳/٦	۲۸
چربی خام	٦/۱	۳/۹
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری بر کیلوگرم)	۱/۵۷	۱/۵٤

۱. بر اساس جداول انجمن پژوهش‌های ملی سال ۲۰۰۱ محاسبه شد.

نتایج و بحث

ماده خشک مصرفی، تولید و ترکیب شیر: اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر مصرف ماده خشک و تولید و ترکیب شیر در جدول ۲ نشان داده شده است. مصرف ماده خشک به‌طور

1- Corn gluten feed dry

معنی‌داری کاهش یافت به‌طوری‌که در روز دوم، مصرف ماده خشک نسبت به روز صفر ۱۶ درصد کاهش داشت. چنین روند کاهشی هم در تولید شیر وجود داشت، اگرچه معنی‌دار نبود. برخی از پژوهش‌ها نشان داده است که مصرف جیره‌های با کنسانتره بالا، باعث تغییر جمعیت میکروبی شکمبه و کاهش pH (امانویل و همکاران، ۲۰۰۸؛ خفی‌پور و همکاران، ۲۰۰۹) و به‌دنبال آن کاهش مصرف خوراک می‌شود. افزایش سموم داخلی در خون و در نتیجه ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند اینترلوکین-۱ و تومور نکروسیس فاکتور آلفا از ماکروفاژها، مصرف خوراک را در گونه‌های مختلف کم می‌کند (پرتر و همکاران، ۱۹۹۸). با توجه به افزایش ترشح سایتوکاین پیش التهابی تومور نکروسیس فاکتور آلفا در آزمایش حاضر (جدول ٤)، همین مورد نیز می‌تواند یکی از علل کاهش ماده خشک مصرفی باشد. جیره حاوی گندم و جو حبه شده با القاء اسیدوز تحت حاد باعث کاهش ۱۵ درصدی در ماده خشک مصرفی شده اند (خفی‌پور و همکاران، ۲۰۰۹). این نوع کاهش مصرف خوراک ممکن است به‌دلیل اثرات هایپوفاژی افزایش سطح پروپیونات شکمبه (ابا و آلن، ۲۰۰۳) و یا افزایش اسمولاریته شکمبه (آلن، ۲۰۰۰) باشد.

تولید شیر تحت تأثیر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد قرار نگرفت که همسو با نتایج لی و همکاران (۲۰۱۲) بود که از دو نوع جیره، یکی با استفاده از یونجه حبه شده و دیگری با استفاده از غلات زیاد (جو غلتک زده و ذرت) برای القای التهاب استفاده کردند و میزان کربوهیدرات‌های غیرالیافی در آن جیره‌ها به‌ترتیب ۳٦ و ٤۰ درصد بود. در آزمایش آنها مقدار پروپیونات در جیره‌های القاءکننده اسیدوز تحت حاد افزایش یافت. این گونه جیره‌ها با تأمین پروپیونات، پیش ساز اصلی گلوکز و به تبع آن لاکتوز شرایط مناسب تولید شیر را فراهم می نماید. در آزمایش حاضر اگرچه مقدار پروپیونات اندازه‌گیری نشد ولی به نظر می‌رسد چنین حالت مشابهی وجود داشته است. در پژوهش خفی‌پور و همکاران (۲۰۰۹) که از جیره حاوی گندم و جو حبه شده برای القاء اسیدوز تحت حاد استفاده شد و میزان کربوهیدرات‌های غیرالیافی به رقم ٤۰ درصد، مشابه آزمایش حاضر رسید، تولید شیر تمایل به کاهش معنی‌داری داشت. درصد چربی شیر تمایل به معنی‌دار شدن (P=۰/۰۸) داشت و تولید آن در روز هفتم نسبت به روز صفر افزایش معنی‌داری داشت. جیره‌های پرکنسانتره با کاهش نسبت استات به پروپیونات اغلب منجر به کاهش درصد چربی شیر می‌شوند. اما این حالت در آزمایش حاضر دیده نشد و حتی چربی شیر (کیلوگرم) افزایش یافت. تغذیه با جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد باعث افزایش غلظت پروپیونات در شکمبه می‌شود. این احتمال وجود دارد که

پروپیونات با افزایش تولید NADPH از مسیر پنتوز فسفات باعث صرفه‌جویی در میزان استات و در نتیجه افزایش بیوسنتز چربی در بافت پستانی شده (هورتود و همکاران، ۱۹۹۸) و چربی شیر (کیلوگرم) افزایش یافته است. چربی شیر به میزان زیادی تحت تأثیر ترکیب جیره قرار می‌گیرد و میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی در جیره یکی از این عوامل تأثیرگذار است. جیره‌های با میزان کم الیاف نامحلول در شوینده خنثی (کمتر از میزان توصیه شده احتیاجات غذایی گاوهای شیری (۲۰۰۱)) با کاهش نسبت استات به پروپیونات منجر به کاهش درصد چربی شیر می‌شوند. الیاف نامحلول در شوینده خنثی در جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد در این آزمایش ۳۰ درصد بود و در دامنه توصیه شده احتیاجات غذایی گاوهای شیری (۲۰۰۱) قرار دارد که این مورد هم می‌تواند علت دیگری برای جلوگیری از کاهش درصد چربی شیر باشد. درصد پروتئین شیر تمایل به کاهش معنی‌داری ($P<۰/۱۰$) از خود نشان داد که ناهم‌سو با یافته‌های خفی‌پور و همکاران (۲۰۰۹) بود که از جیره حاوی گندم و جو حبه شده برای القاء اسیدوز تحت حاد استفاده کردند و درصد پروتئین شیر در پژوهش آنها تمایل به افزایش معنی‌دار داشت. از آنجا که تولید پروتئین شیر (کیلوگرم) در آزمایش حاضر تغییری نداشت، در کل می‌توان گفت که درصد پروتئین شیر نیز کاهشی نداشته است.

جدول ۲- اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر ماده خشک مصرفی و تولید و ترکیب شیر.

	جیره‌شاهد	جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد			خطای	سطح
	روز صفر	روز دوم	روز چهارم	روز هفتم	استاندارد	احتمال
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم برروز)	۱۹/۶^{a}	۱۶/۴^{b}	۱۷/۳^{b}	۱۷/۵^{b}	۰/۴۸	<۰/۰۰۱
تولید شیر (کیلوگرم برروز)	۲۷/۹	۲۵/۵	۲۹	۲۷/۶	۱/۲۱	۰/۲۵
چربی شیر (کیلوگرم برروز)	۰/۹۷^{a}	۰/۹۰^{a}	-----[1]	۱/۰۶^{b}	۰/۰۴	۰/۰۳
چربی شیر (درصد)	۳/۵۵	۳/۵۷	-----	۳/۸۵	۰/۰۹	۰/۰۸
پروتئین شیر (کیلوگرم برروز)	۰/۹۳	۰/۸۲	-----	۰/۸۶	۰/۰۴	۰/۲۰
پروتئین شیر (درصد)	۳/۳۴^{a}	۳/۲۱^{a}	-----	۳/۱۲^{b}	۰/۰۶	۰/۰۶

۱: به‌دلیل برخی مشکلات در آزمایشگاه شیر، اندازه‌گیری میزان پروتئین و چربی نمونه‌های شیر در روز چهارم نمونه‌گیری مقدور نشد.

عدم درج حروف به معنای نبود تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P>۰/۰۵$).

اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر سیستم ایمنی

عملکرد نوتروفیل: اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر عملکرد نوتروفیل در جدول ۳ نشان داده شده است. تولید ال-سلکتین بر سطح نوتروفیل در روز دوم پس از تغییر جیره افزایش یافت و با ادامه آزمایش روند کاهشی داشت. افزایش بروز ال-سلکتین بر سطح نوتروفیل به عنوان یکی از شاخص‌های عملکرد نوتروفیل در روز دوم مصرف جیره حاوی سطح بالای کربوهیدرات‌های غیرالیافی می تواند نشانه‌ای از وقوع التهاب ملایم باشد که سیستم ایمنی ذاتی تحت تأثیر قرار گرفته است. درصد بیگانه‌خواری پس از استفاده از جیره حاوی سطح بالای کربوهیدرات‌های غیر الیافی به طور معنی‌داری کاهش یافت و در روز چهارم نسبت به روز صفر ۲۱ درصد کاهش داشت. عبیدات و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که در گوساله‌های شیرخوار، تغذیه با میزان زیاد انرژی باعث افزایش بروز ال-سلکتین بر سطح نوتروفیل شد ولی بیگانه‌خواری و انفجار تنفسی تحت تأثیر قرار نگرفتند، اگرچه سیستم گوارش گوساله‌های شیرخوار متفاوت از گاوهای شیری می‌باشد اما این گونه آزمایشات حاکی از اثر متقابل تغذیه و عملکرد نوتروفیل است. شواهدی وجود دارد که در جوندگان نیز سطح انرژی جیره بر عملکرد نوتروفیل مؤثر است (استاپلتون و همکاران، ۲۰۰۱). عملکرد نوتروفیل بخشی از پاسخ سیستم ایمنی ذاتی و از اولین سازوکارهای دفاعی بدن است که فعال شدن آن زمینه را برای آغاز پاسخ سیستم ایمنی اکتسابی فراهم می‌کند.

جدول ۳- اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر عملکرد نوتروفیل.

	جیره‌شاهد	جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد			خطای استاندارد	سطح احتمال
	روز صفر	روز دوم	روز چهارم	روز هفتم		
بیگانه‌خواری (درصد)	٤٩/٩٩^{a}	٤٤/٤٨^{ab}	٣٩/٤٥^{b}	٥١/٥٥^{a}	٣/٥٢	٠/٠٨
انفجارتنفسی(میانگین‌هندسی‌تراکم‌فلوروسنس)	٩٧/٤٧	٧٩/٢٦	٧٨/٦٨	٩٨/٩٠	١١/٣٨	٠/٤٣
تولید ال‌سلکتین (میانگین هندسی تراکم فلوروسنس)	١٨٠٢^{b}	٢٢١٨^{a}	١٤٨٩^{c}	١٠١٣^{d}	٧٤/٤٦	<٠/٠٠١

عدم درج حروف به معنای نبود تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P>٠/٠٥).

دیگر نشانگرهای التهابی: جدول ٤ اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد را بر غلظت هاپتوگلوبین پلاسما، عنصر روی و تومور نکروسیس فاکتور آلفا نشان می‌دهد. استفاده از جیره حاوی سطح بالای کربوهیدرات‌های غیرالیافی غلظت هاپتوگلوبین را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. افزایش میزان هاپتوگلوبین به عنوان یکی از شاخص‌های اصلی التهاب عمومی در نظر گرفته می‌شود. هاپتوگلوبین در هنگام التهاب تولید می‌شود و با اتصال به هموگلوبین، آهن را از دسترس باکتری‌ها که برای رشد و تکثیر به آن نیاز دارند خارج می‌کند (صارمی، ۲۰۱۳). زبلی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند که هاپتوگلوبین شاخص مناسبی برای شرایط التهابی تحت حاد و مزمن است تا شرایط التهابی حاد. نتایج آزمایشات پیشین (خفی‌پور و همکاران، ۲۰۰۹؛ امانویل و همکاران ۲۰۰۸؛ گوژو و همکاران، ۲۰۰۵) نشان می‌دهد که جیره‌های حاوی سطوح بالای غلات با القاء التهاب باعث افزایش معنی‌دار میزان هاپتوگلوبین می‌شوند. بر خلاف نتایج آزمایش حاضر، امانویل و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که در جیره‌های حاوی سطوح بالای جو، هاپتوگلوبین افزایش معنی‌داری نداشت، اگرچه سایر پروتئین‌های مرتبط با التهاب افزایش داشتند. این نوع اختلاف‌ها در نتایج آزمایش‌ها می‌تواند به‌دلیل تفاوت در نوع جیره‌ها به لحاظ نوع غله، ترکیب شیمیایی آنها، مدت زمان و شرایط آزمایش باشد.

غلظت پلاسمایی روی اغلب به‌عنوان شاخص بیوشیمیایی روی در نظر گرفته می‌شود (زبلی و همکاران، ۲۰۱۰) که کاهش غلظت آن از نشانه‌های التهاب به شمار می‌رود. در این آزمایش غلظت روی پلاسما از لحاظ عددی تحت تأثیر جیره کاهش یافت. گزارش شده که در انسان غلظت روی پلاسما پس از التهاب به سرعت کاهش می‌یابد (دهورتی و همکاران، ۲۰۰۱). این کاهش غلظت روی در واقع بخشی از پاسخ ایمنی است (سوگارمان، ۱۹۸۳). در هنگام اندوتوکسمیا سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند اینترلوکین ٦ باعث آزاد شدن متالوتایونین شده و روی را از دسترس خارج می‌کنند (شرودر و کوسینس، ۱۹۹۰) ، چون افزایش میزان روی باعث نقص در فعالیت‌های فاگوسایتیک می‌شود (سوگارمان، ۱۹۸۳).

سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در پاسخ به عوامل بیماری‌زا از ماکروفاژها آزاد می‌شوند. پژوهش‌هایی که اثر تغذیه را بر روی ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در گونه‌های مختلف بررسی می‌کند، نتایج متفاوتی را نشان می‌دهد. ترشح تومور نکروسیس فاکتورآلفا در آزمایش حاضر معنی‌داری نشد ولی با سطح احتمال ۱۰ درصد تمایل به معنی‌داری شدن داشت. همسو با این نتایج عبیدات و همکاران (۲۰۱۳) گزارش نمودند که ترشح تومور نکروسیس فاکتور آلفا در سلول‌های تک‌هسته‌ای تحریک شده

با لیپوپلی ساکاریدهای باکتریایی در گوساله‌های تغذیه شده با سطوح زیاد و کم انرژی تفاوت معنی‌داری نداشت. نشان داده شده که در جوندگان (استاپلتون و همکاران،۲۰۰۱) و گوساله‌های گوشتی (شوارتنر و همکاران، ۲۰۱۰)، تغذیه ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. شوارتنر و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که در گوساله‌های گوشتی تغذیه شده با جیره پرکنسانتره، ترشح تومور نکروسیس فاکتور آلفا در سلول‌های تک‌هسته‌ای تحریک شده با لیپوپلی ساکاریدهای باکتریایی افزایش یافت.

جدول ٤ – اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر غلظت هاپتوگلوبین، روی پلاسما و تومور نکروسیس فاکتور.

	جیره‌شاهد		جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد		خطای استاندارد	سطح احتمال
	روز صفر	روز دوم	روز چهارم	روز هفتم		
هاپتوگلوبین(میکروگرم‌برمیلی‌لیتر)	٦٢/٤^{a}	٧٤/٩ ^{ab}	٥٩ ^{a}	١٤٢/٣^{b}	٢٩/٣٤	٠/٠٥
روی(میلی‌گرم‌برمیلی‌لیتر)	١/٧٨	١/٥٢	١/٥٨	١/٤١	٠/١٥٠	٠/٣٨
تومورنکروسیس‌فاکتور(پیکوگرم‌برمیلی‌لیتر)	٧٧/٤	١٠٦	١٠٢/٩	١١٥/٧	٢٦/٤٢	٠/١٠

عدم درج حروف به معنای نبود تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P>٠/٠٥).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از جیره حاوی سطح بالای کربوهیدرات‌های غیرالیافی در گاوهای شیری سیستم ایمنی ذاتی را متأثر می‌کند. بروز ال-سلکتین بر سطح نوتروفیل افزایش و بیگانه‌خواری که از شاخص‌های عملکردی نوتروفیل است کاهش یافت. کاهش مصرف خوراک همراه با افزایش هاپتوگلوبین و کاهش غلظت روی پلاسما در این آزمایش نشان‌دهنده القاء التهابی ملایم در نتیجه مصرف جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بود.

تشکر و قدردانی

از همکاری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تگزاس-تک به‌دلیل فراهم نمودن امکانات و تجهیزات مورد نیاز در اجرای این آزمایش تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Allen, M.S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83:1598–1624.

Ametaj, B.N., Zebeli, Q. and Iqbal, S. 2010. Nutrition, microbiota, and endotoxin-related diseases in dairy cows. R. Bras. Zootec., 39: 433-444.

Doherty, C.P., Weaver, L.T. and Prentice, A.M. 2002. Micronutrient supplementation and infection: A double-edged sword? J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 34:346–352.

Emmanuel, D.G.V., Dunn, S.M. and Ametaj, B.N. 2008. Feeding high proportions of barley grain stimulates an inflammatory response in dairy cows. J. Dairy Sci. 91:606–614.

Emmanuel, D.G.V., Madsen, K.L., Churchill, T.A., Dunn, S.M. and Ametaj, B.N. 2007. Acidosis and lipopolysaccharide from Escherichia coli B: 055 cause hyperpermeability of rumen and colon tissues. J. Dairy Sci. 90:5552–5557.

Gozho, G.N., Plaizier, J.C., Krause, D.O., Kennedy, A.D. and Wittenberg, K.M. 2005. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. J. Dairy Sci. 88:1399–1403.

Gozho, G.N., Krause, D.O. and Plaizier, J.C. 2007. Ruminal lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain induced subacute ruminal acidosis in dairy cows. J. Dairy Sci., 90:856–866.

Grant, R. and Kononoff, P.J. 2007. Feeding to maximize milk protein and fat yields. Neb Guide. University of Nebraska, Lincolne.

Havanlou, F., Karimi, F. and Zar, A. 2009. The effect of exercise with low and high intensity on respiratory burst activities and neutrophils counts. Hormozgan medical journal. 4: 253-260.(In Persian).

Hulbert, L.E., Cobb, C.J., Carroll, J.A. and Ballou, M.A. 2012. Effects of changing milk replacer feedings from twice to once daily on Holstein calf innate immune responses before and after weaning. J. Dairy Sci. 94:2557–2565.

Hurtaud, C., Rulquin, H. and Verite. R. 1998. Effects of graded duodenal infusions of glucose on yield and composition of milk from dairy cows. 1. diets based on corn silage. J. Dairy Sci. 81:3239–3247.

Khafipour, E., Krause, D.O. and Plaizier, J.C. 2009. A grain based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. J. Dairy Sci. 92:1060–1070.

Li, S., Gozho, G.N., Gakhar, N., Khafipour, E., Krause, D.O. and Plaizier, J.C. 2012. Evaluation of diagnostic measures for subacute ruminal acidosis in dairy cows. Can. J. Anim Sci. 92:353-364.

Litchfield, W.J. and Wells, W.W. 1976. Inhibitory action of D-galactose on phagocyte metabolism and function. Infect Immun, 13(3): 728-734.

Nielson, C.P. and Hindson, D.A. 1989. Inhibition of polymorphonuclear leukocyte respiratory burst by elevated glucose concentrations in vitro. Diabetes 38: 1031-1035.

NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

Porter, M.H., Arnold, M. and Langhans, W. 1998. TNF-α tolerance blocks LPS-induced hypophagia but LPS tolerance fails to prevent TNF-α-induced hypophagia. Am. J. Physiol. 274:741–745.

Oba, M. and Allen, M.S. 2003. Extent of hypophagia caused by propionate infusion is related to plasma glucose concentration in lactating dairy cows. J. Nutr. 133:1105–1112.

Obeidat, B.S., Cobb, C.J., Sellers, M.D., Pepper-Yowell, A.R., Earleywine, T.J. and Ballou, M.A. 2013. Plane of nutrition during the preweaning period but not the grower phase influences neutrophil activity of Holstien calves. J. Dairy. Sci. 96:7155-7166.

Saremi, B. 2013. Characterization of insulin sensitivity and inflammation related factors in dairy cows receiving conjugated linoleic acids (CLA) or a control fat supplement during lactation. Dissertation. Bonn University. Germany.

SAS. 2003. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 edition. NC, USA: SAS Inst., Inc., Cary.

Schroeder, J.J. and Cousins, R.J. 1990. Interleukin 6 regulates metallothionein gene expression and zinc metabolism in hepatocyte monolayer cultures. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:3137–3141.

Schwertner, L.R., Galyean, M.L., Hulbert, L.E., Carroll, J.A. and Ballou, M.A. 2011. Effects of dietary source and intake of energy on immune competence and the response to an infectious bovine rhinotracheitis virus (IBRV) challenge in cattle. Livest. Sci. 141:259–266.

Snapp, K.R., Ding, H., Atkins, K., Warnke, R., Luscinskas, F.W. and Kansas, G.S. 1998. A novel P-selectin glycoprotein ligand-1 monoclonal antibody recognizes an epitope within the tyrosine sulfate motif of human PSGL-1 and blocks recognition of both P-and L-selectin. Blood. 91(1):154-164.

Stapleton, P.P., Fujita, J., Murphy, E.M., Naama, H.A. and Daly, J.M. 2001. The influence of restricted calorie intake on peritoneal macrophage function. Nutrition 17:41–45.

Sugarman, B. 1983. Zinc and infection. Rev. Infect. Dis. 5:137–147.

Tedder, T.F., Steeber, D.A., Chen. A. and Engel, P. 1995. The selectins: vascular adhesion molecules. FASEB J. 9:866-873.

Walcheck, B., Moore, K.L., Mc Ever R.P. and Kishimoto, T.K. 1996. Neutrophil-neutrophil interactions under hydrodynamic shear stress involve L-selectin and PSGL-1. A mechanism that amplifies initial leukocyte accumulation of P-selectin *in vitro*. J. Clin. Invest. 98:1081-1087.

Zebeli, Q., Metzler-Zebeli, B.U. and Ametaj, B.N. 2012. Meta-analysis reveals threshold level of rapidly fermentable dietary concentrate that triggers systemic inflammation in cattle. J. Dairy. Sci. 95: 2662–2672.

Zebeli, Q., Dunn., S.M. and Ametaj, B.N. 2010. Strong associations among rumen endotoxin and acute phase proteins with plasma minerals in lactating cows fed graded amounts of concentrate. J. Anim. Sci. 88:1545-1553.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 2(3), 2014
http://ejrr.gau.ac.ir

The effect of high non fibrous carbohydrates diet on inducing inflammation, production performance and molecular changes of native immunity system in Jersey post peak lactating cow

***F. Kafilzadeh[1], G. Taasoli[2], D. Ghadimi[3] and M. Ballou[4]**
[1]Professor and [2]Ph.D. Student, Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran. [3]Assistant Prof., Dept. of Physiology, Max Rubner Institute, Kiel, Germany. [4]Associated Prof., Dept. of Animal and Food Science, Faculty of Agriculture, Texas Tech University, Lubbock, Texas, USA
Received: 10/09/2014; Accepted: 12/17/2014

Abstract

This experiment was conducted to study the effect of diet containing high non fibrous carbohydrates on production performance, neutrophil response and inducing inflammation, in Jersey lactating cows. Seven multiparous (2.5±0.5) cows in 71±3 days in milk and average milk production 28±6.6 kg were used. All cows received the low non fibrous carbohydrates (34.3 percentage of dry matter) diet for 14 days and then were switched to an isonitrogenous / isocaloric high non fibrous carbohydrates (40.7 percentage of dry matter) diet for one week. Dry matter intake and milk production was measured for each animal. Dry matter intake was significantly reduced ($P<0.05$). Milk production was not affected by the diet. Neutrophil performance was determined by measuring three inflammatory markers phagocytosis, oxidative burst and L-selectin protein expression on neutrophils. L-selectin protein expression on neutrophils was significantly increased and phagocytosis was significantly reduced by feeding the high non fibrous carbohydrates diet ($P<0.05$). Oxidative burst was not influenced by the diet. Plasma haptoglobin, zinc and tumor necrosis factor-α as inflammatory markers were measured. High non fibrous carbohydrates diet increased the plasma haptoglobin ($P<0.05$) significantly decreased zinc and tumor necrosis factor-α was not different ($P>0.10$). Taken together, these data indicate that switching from a lower non fibrous carbohydrates diet to an isoenergetic high non fibrous carbohydrates diet caused mild inflammation in lactating Jersey cows which evidenced by the decreasing dry matter intake, zinc, phagocytosis and the greater plasma concentrations of the acute phase protein, haptoglobin and L-selectin protein expression on neutrophils.

*Corresponding author; kafilzadeh@razi.ac.ir