Archive of SID

نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۵ شماره ۱/ سال۱۳۹۴

بررسی برخی ازعلل متابولیکی وپاتوفیزیولوژیکی سقط جنین ومرده‌زایی دریکی از گاوداری‌های شیری اصفهان

محسن رحیمی اندانی[۱]، سیدامیرحسین مهدوی*[۲]، حمیدرضا رحمانی[۲] و بهاره دولتخواه[۱]

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/٦/٤

[۱] به ترتیب فارغ التحصیل کارشناسی ارشد و دانشجوی دکترای گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

[۲] به ترتیب استادیار و استاد گروه علوم دامی دانشگاه صنعتی اصفهان

*مسئول مکاتبه: Email: mahdavi@cc.iut.ac.ir

چکیده

زمینه‌مطالعاتی: سقط جنین و مرده‌زایی از فراسنجه‌های تولیدمثلی تاثیرگذار بر سود دهی گله‌های شیری می‌باشند. **هدف**: مطالعه حاضر به‌منظور بررسی برخی عوامل متابولیکی و پاتوفیزیولوژیکی موثربر سقط‌جنین و مرده‌زایی در گاوهای شیری، طراحی و اجرا گردید. **روش‌کار**: نمونه‌ها از ٤۳ گاو شیری هلشتاین جمع‌آوری شد و پنج راس گاو تازه‌زا به‌عنوان شاهد مرده‌زایی و پنج راس گاو آبستن ٥ تا۷ ماهه و بدون سابقه سقط، جهت نمونه شاهد سقط جنین انتخاب شدند. شمارش تفکیکی سلول‌های خونی، بررسی غلظت هورمون‌های تیروئیدی و فعالیت آنزیم‌های کبدی SGOT وSGPT در خون مادر و نیز کشت میکروبی محتویات شیردان، تست الیزای بافت مغز و مایع بطنی، بررسی غلظت گلیکوژن کبدی و تغییرات بافتی کبد برروی گوساله‌های تلف شده صورت پذیرفت. **نتایج**: یافته‌ها نشان‌دهنده کاهش نسبت هورمون‌های تیروئیدی T۳به T٤ در هر دوگروه مورد آزمون نسبت به گروه‌های شاهدشان بود (P<۰/۰۱). همچنین فعالیت پلاسمایی آنزیم‌های SGOT وSGPT در هر دو گروه سقط و مرده‌زایی نسبت به گروه‌های شاهدشان در مقادیر پایین‌تری قرارداشت (P<۰/۰۱). بیشترین نسبت نوتروفیل به لنفوسیت در گاوهایی مشاهده گردید که گوساله خود را مرده به‌دنیا آورده بودند (P<۰/۰۰۱). همچنین درصد هماتوکریت، تعدادگلبول‌های قرمز وغلظت هموگلوبین در گاوهای مرده‌زا نسبت به گروه شاهد به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). شاخص انسجام بافت‌کبدی اگرچه در گوساله‌های سقط شده بهتراز گوساله‌های مرده به‌دنیا آمده بود اما غلظت گلیکوژن کبدی در گوساله‌های مرده به دنیا آمده به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (P<۰/۰٥). هرچند ۲۰/۱۲ درصد گوساله‌های سقط‌شده و یا مرده به دنیا آمده دارای ویروس اسهال گاوی در بافت مغز خود بودند اما عیارآنتی‌بادی برای *نئوسپورا* درهیچ‌یک از گوساله‌ها مثبت نبود. **نتیجه‌گیری نهایی**: نتایج آزمایش حاضر بیان‌گر آن است که کاهش نسبت هورمون‌های تیروئیدی T۳به T٤ و نیز فعالیت پلاسمایی آنزیم‌های SGOT وSGPT در گاوهای آبستن می‌توانند شاخص‌های مناسبی جهت بررسی امکان وقوع سقط یا مرده‌زایی باشند. همچنین به نظر می‌رسد که حضور عوامل عفونی هنوز نیز نقش اصلی را در بروز سقط و مرده‌زایی ایفا نموده لذا کنترل بیماری‌ها ازطریق افزایش سطح بهداشت و واکسیناسیون پیوسته، بیش از پیش ضروری است.

واژگان کلیدی: سقط جنین، مرده‌زایی، گلیکوژن کبد، گاوشیری هلشتاین

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

باروری، جزیی از عملکرد تولیدمثلی حیوان ماده را تعریف کرده و نشان‌دهنده توان تولیدمثلی جانور برای تولید فرزند در یک محدوده زمانی متعارف می‌باشد (ضمیری ۱۳۸۸). کاهش باروری در گله‌های پرتولید در درجه اول منجر به کاهش تعداد گوساله متولد شده در سال و در نهایت کاهش تولید شیر مورد انتظار می شود. عوامل بسیاری درکاهش تعداد گوساله متولد شده در سال نقش دارند که ازآن جمله می‌توان به سقط جنین و مرده‌زایی اشاره کرد (برگلوند و همکاران ۲۰۰۳). بارزترین زیان‌های اقتصادی ناشی از سقط و مرده‌زایی عبارتند از تلف شدن گوساله، تغذیه اضافی، خسارت اسپرم، هزینه‌های دامپزشکی و آزمایشگاهی، جفت-ماندگی، عفونت‌های رحمی، باروری کمتر، سقط مکرر در آبستنی‌های بعدی، افزایش روزهای باز، افزایش فاصله گوساله‌زایی و کاهش تولید شیر (چاسان و همکاران ۱۹۹۹ و بیکالهو و همکاران ۲۰۰۸).

اصطلاح مرده‌زایی به معنی تولد گوساله مرده بعد از۲۶۰ روز آبستنی یا مرگ نوزاد کمی قبل از تولد، در حین آن و یا اندکی پس از تولد می‌باشد (بیکالهو و همکاران ۲۰۰۸). سقط جنین نیز به خروج جنین مرده و یا جنین زنده به صورت نارس، در حد فاصل روزهای ۱۰۰ تا ۲۶۰ آبستنی اطلاق می‌شود (برگلوند و همکاران ۲۰۰۳). جهت مدیریت بهتر منابع و زمان، می‌توان عوامل موثر بر مرده‌زایی و سقط جنین را به دو گروه عفونی و غیرعفونی تقسیم نمود (برگلوند و همکاران ۲۰۰۳، جانکر ۲۰۰۴، اندرسون ۲۰۰۷ و رفعتی و همکاران ۲۰۱۰). در بین عوامل عفونی سقط جنین می-توان به عفونت‌های باکتریایی، ویروسی، قارچی و پروتوزوایی درگیرکننده بافت تناسلی و یا دیگر بافت‌ها، از جمله *بروسلاآبورتوس*، *لپتوسپیرا اینتروگانس*، *ویروس اسهال عفونیگاوی*، ویروس عفونت نای گاو، *اشرشیاکلای اینترپاتوژن* و *سالمونلا* اشاره نمود (جانکر ۲۰۰۴ و والش و همکاران ۲۰۱۱). هرچند، به نظر می‌رسد امروزه پس از کاربرد وسیع تلقیح مصنوعی و ریشه‌کنی بروسلوز، اکثر عوامل عفونی موثر در سقط و مرده‌زایی به حاشیه رانده شدهو تنها مواردی همچون *ویروس اسهال عفونی گاو*، *لپتوسپیرا* و *نئوسپورا* حائز اهمیت باشند (رفعتی و همکاران ۲۰۱۰). از سوی دیگر، عوامل غیرعفونی موثر بر سقط و مرده‌زایی را می‌توان به دو دسته ژنتیکی و غیرژنتیکی (هورمونی، متابولیک و تکاملی) تقسیم‌بندی نمود (اندرسون ۲۰۰۷). در این میان ذخیره گلیکوژن کبدی جنین و نیز سطح هورمونهای تیروئیدیتری‌یدوتیرونین (T3) و تیروکسین (T4) بر بروز این خطرات بسیار تاثیرگذارند (دانیجلا و همکاران ۲۰۱۱).

آنزیم‌های کبدی جنین با تاثیر بر لاکتات، پروپیونات، گلیسرول و آمینواسیدها، به‌ویژه آلانین، موجب تولید گلوکز، افزایش وزن کبد و ذخیره گلیکوژن می‌شوند (هامون و همکاران ۲۰۰۳). لذا سطح گلیکوژن کبد درگوساله سالمی که پس از طی زمان کامل بارداری متولد شده، بیشتر از گوساله نارس می باشد. حضور این مقادیر مطلوب گلیکوژن جهت عملکرد بهینه مغز، گلبول های قرمز و کلیه جنین بسیار حائز اهمیت است (اسمچیت و همکاران ۲۰۰۴). هرچند عمده گلوکز مورد استفاده جنین از طریق جفت تامین می گردد، اما امکان ذخیره آن در قالب گلیکوژن کبدی می‌تواند تامین‌کننده گلوگز خون در زمان تولد گوساله باشد. در این میان گلوکوکورتیکوئیدها از مهمترین تظیم کننده‌های آنزیم-های کبدی گوساله بوده و گلوکوکورتیکوئیدهای مادری زنده‌مانی گوساله در بدو تولد را تضمین می نمایند (اسمچیت و همکاران ۲۰۰۴).

کمبود گلوکز به همراه کمبود اکسیژن و نیز غلظت بالای T4 (ناشی از عدم تبدیل به T3 توسط آنزیم دی‌یدیناز) موجب درست عمل نکردن سیستم ترموستات بدن می-شود (هامون و همکاران ۲۰۰۳). غلظت بالای T4 و سطح پایین کورتیزول در گوساله‌هایی که در روز اول تولد مرده‌اند توسط دانیجلا و همکاران ۲۰۱۱ گزارش

www.SID.ir

Archive of SID

گردیده است. به طور کلی درحدود ۸۰ درصد T3 از تبدیل T4 در کبد، کلیه و ماهیچه‌ها به‌وجود می‌آید. در این رابطه گلوکوکورتیکوئیدها نقشی اساسی در تبدیل بهتر T4 به T3 ایفا می‌نمایند. براساس یافته‌های دانیجلا و همکاران (۲۰۱۱)، طی دو ساعت اول پس از تولد، غلظت هورمون T4 افزایش و T3 کاهش می‌یابد. اما بعد از مصرف آغوز سطح هر دوی این هورمون‌ها، بدون آنکه تغییری در نسبت آنها ایجاد گردد، بالا می‌رود.

از دیگر شاخص‌های قابل بررسی در رابطه با سقط و مرده‌زایی، مطالعه اجزای بیوشیمیایی و سلولی خون است که همچون آینه‌ای بسیاری از ناهنجاری‌ها را منعکس می‌نمایند (رضاخانی و همکاران ۱۳۷۰). در این بین اندیس‌های گلبول قرمز همچون MCH (میانگین هموگلوبین گلبول قرمز)، MCV (میانگین حجم گلبول قرمز) و MCHC (میانگین غلظت هموگلوبین درگلبول قرمز)، شمارش تفکیکی گلبول‌های سفید و نیز جمعیت پلاکتی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (رضاخانی و همکاران ۱۳۷۰).در آبستنی معمولی گاوها، شمار گلبول‌های قرمز و هماتوکریت کاهش یافته و عموماً شاخص عددی هماتوکریت سه برابر هموگلوبین است. این کاهش نسبی تعداد گلبول قرمز عموماً به دلیل افزایش حجم پلاسمای خون اتفاق می‌افتد. اما درمقابل، جهت جبران این کاهش،شاخص‌های MCV و MCH افزایش می‌یابند(رضاخانی و همکاران ۱۳۷۰ و عذب و عبدالمکسود ۱۹۹۹). همچنین، تنش مادر در هنگام زایمان موجب افزایش تولید و ترشح کورتیزول شده که این امر خود موجب افزایش نسبت نوتروفیل به لنفوسیت می‌گردد. مطالعه چاسان و همکاران (۱۹۹۹) نشان داد که در بارداری معمولی و قبل از وقوع زایمان، اگر تعداد مونوسیت‌ها بیش از ۳۹۲ عدد و تعداد نوتروفیل‌ها بیش از ۱۹۵۰ عدد در هر میلی‌لیتر خون باشد احتمال وقوع مرده‌زایی به حداقل خود خواهد رسید. تعداد پلاکت کم نیز که نشانه‌ای از حضور عوامل عفونی است، با زایمان زودرس و مرده‌زایی در ارتباط بوده و همبستگی بالایی با افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی و به دنبال آن تحلیل و تخریب سلول‌های کبدی دارد (پرادهان و همکاران ۲۰۱۰).علاوه بر آن، تغییرات هماتولوژیک گوساله نیز با نحوه زایش در ارتباط است. یافته‌های اسمچیت و همکاران (۲۰۰٤) و پروبو و همکاران (۲۰۱۱) مؤید آن است که در سخت‌زایی منجر به سزارین، هماتوکریت، گلبول‌های قرمز و هموگلوبین خون گوساله‌ها افزایش یافته که این تغییرات، احتمال دخالت هورمون‌های مادری در تغییرات سلول‌های خونی گوساله‌ها را تقویت می‌نماید.

لذا با عنایت به بررسی‌های صورت گرفته، مطالعه حاضر با هدف بررسی برخی از تغییرات فیزیولوژیک به وقوع پیوسته در سقط و مرده‌زایی گوساله‌های هلشتاین طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش ها

جمع‌آوری داده‌های مطالعه حاضر، طی ٤ ماه در یکی از گاوداری‌های صنعتی اصفهان انجام پذیرفت. طی این مدت از ٤۳ گاو نمونه‌گیری به عمل آمد. تعداد ٥ گاو تازه‌زا که گوساله زنده و سالم به دنیا آورده بودند به عنوان گروه شاهد برای گروه مرده‌زایی و تعداد ٥ گاو آبستن با سن بارداری حدود ٥ تا ۷ ماه که هیچ سابقه‌ای از سقط در آنها گزارش نشده‌بود، به عنوان گروه شاهد برای گروهسقط جنین انتخاب شدند.

جهت اجرای این آزمایش و با توجه به اهداف از پیش تعیین شده، مجموعه آزمایشات در ٥ زیر شاخه بررسی‌های ظاهری، میکروبیولوژیک (بررسی حضور اسهال ویروسی گاو(BVD)، *نئوسپورا*، *اشرشیاکلی*، *انتروباکتر*، *سالمونلا* و *کلبسیلا*)، سرولوژیک (بررسی غلظت پلاسمایی هورمون های T3 و T4 و فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز(SGOT) و آلانین آمینوترانسفراز (SGPT)، هماتولوژیک (شمارش تفکیکی گلبول‌های سفید، شاخص‌های گلبول قرمز و جمعیت پلاکتی) و هیستولوژیک (کبد) طبقه‌بندی

www.SID.ir

Archive of SID

گردیدند. نمونه‌گیری‌های مربوطه از خون مادر، مایع شیردان جنین، خون محوطه بطنی جنین و نیز کبد و مغز جنین انجام گردید.

بررسی‌های ظاهری

قبل از نمونه‌گیری از گوساله‌های مرده به دنیا آمده یا جنین‌های سقطی، اطلاعات ظاهری آنها شامل جنس، وزن، طول، ارتفاع و عرض سینه، دوقلو یا تک قلو بودن، دهیدراتگی و مومیایی شدن و یا ادم و هیدروپس بافت-های جنینی که نشان دهنده فاصله بین زمان مرگ و سقط است، ثبت شد (برگلوند و همکاران ۲۰۰۳). این داده‌ها در تخصیص درست موارد تلف شده به زیرگروه‌های سقط یا مرده‌زا حائز اهمیت است. چراکه اگر در مرده‌زایی، گوساله وزن کمی داشته باشد (به غیر از دوقلوزایی) مورد نباید مرده‌زایی به حساب آمده و بهتر آن است که جزء موارد سقطی به شمار آید (برگلوند و همکاران ۲۰۰۳). همچنین نمره وضعیت بدنی (BCS) مادر نیز ثبت گردید؛ چرا که هر ۱ درجه BCS کمتر موجب افزایش ۲/٤ درصدی مرگ در اثر سخت-زایی شده (جانکر ۲۰۰٤) و نمره بیش از ٤ نیز خطر مرده‌زایی را افزایش می‌دهد (چاسان و همکاران ۱۹۹۹ و پروبو و همکاران ۲۰۱۱).

بررسی آلودگی‌های میکروبی

در این آزمایش از عوامل میکروبی کاندید سقط و مرده-زایی یک ویروس (BVD)، یک پروتوزوا (*نئوسپورا*) و ٤ باکتری (*اشرشیاکلی*، *انتروباکتر*، *سالمونلا* و *کلبسیلا*) انتخاب و جهت بررسی حضور در موارد سقط و مرده-زایی مورد مطالعه قرارگرفتند. جهت کشت باکتریایی بهترین و قابل اطمینان‌ترین مکان جهت نمونه‌گیری، مایع شیردان بود. زیرا مدت کمی بعد از تولد دستگاه گوارش به طورمعمول ایزوله می‌ماند و حضور میکروب در شیردان نشان‌دهنده منشا داخلی آن است. برای این منظور نمونه‌های مایع شیردان، با دقت جمع‌آوری گردید و درون قوطی‌های استریل موجود، در مجاورت یخ ریخته و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. سپس یک گرم از نمونه به طور متوالی با سرم فیزیولوژی (محلول نمک ۰/۸۵ درصد) تا رقت 10^{-6} رقیق گردید و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت با دو تکرار بر روی محیط‌های کشت NT-آگار وEMB-آگار (Merck,Darmstadt, Germany) کشت گردیدند. این محیط‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد نگهداری شدند و پس از آن، کلنی‌های باکتریایی مورد شمارش واقع گردیدند. برای تایید کلنی‌های شمارش شده، از تست‌های بیوشیمیایی واکنش‌های IMViC (ایندول، متیل رد، وگس پرسکوئر و مصرف سیترات) استفاده گردید. در نهایت تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی (CFU) در هر پلت با استفاده از روش کشت سطحی مورد شمارش قرار گرفت تا تعدادCFU در هر گرم مایع شیردانمحاسبه گردد.

برای بررسی حضور ویروس BVD نیز با ایجاد برش-هایی در جمجمه، از بافت مغز نمونه‌برداری انجام گردید. سپس تا زمان انجام آزمایشات، نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از تکمیل نمونه‌ها بررسی حضور ویروس BVD با بهره‌گیری از روش الیزا انجام گردید و نتایج در سه دامنه منفی، مشکوک و مثبت گزارش شد.

جهت آزمایش حضور عامل پروتوزوآیی *نئوسپورا* نیز نمونه‌های خون به وسیله سرنگ استریل از رگهای قلب جنین جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه تا زمان بررسی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در نهایت حضور عامل *نئوسپورا* با بهره گیری از روش کیرک براید (۱۹۹۲) مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی‌های هماتولوژیک و سرولوژیک

جهت شمارش تفکیکی گلبول های سفید، خون به دست آمده از سیاهرگ دمی گاوها در لوله‌های آزمایش حاوی هپارین ریخته و شمارش کل سلول های خونی توسط دستگاه آنالیزکننده اتوماتیک خونی (SYSMEX, KX21N, Kobe, Japan) انجام گردید. سپس جهت بررسی صحت نتایج به دست آمده، درصد لنفوسیت،

www.SID.ir

Archive of SID

نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل با استفاده از روش رنگ‌آمیزی گیمسا (Gimsa) و تهیه اسلایدهای میکروسکوپی محاسبه گردید.

به منظور جداسازی سرم،نمونه‌های خون به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم‌های حاصله تا آماده شدن کیت‌های الیزا در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. سپس اندازه-گیری غلظت هورمون‌های تیروئیدی T3 و T4 با بهره-گیری از روش الیزا و سنجش فعالیت آنزیم‌های کبدی SGPT و SGOT با استفاده از روش کدورت سنجی (پارس آزمون، ایران) انجام گردید.

جدول۱- دامنه نرمال فیزیولوژیک مؤلفه‌های خونی گاو (لومسدن و همکاران ۱۹۸۰ و دجوکوویک و همکاران ۲۰۰۷)

مولفه	میانگین	انحراف معیار	واحد
گلبول قرمز	۵-۷/۷	۰/۰۹	$\times10^{12}$/l
هموگلوبین	۸/۵-۱۳/۲	۱	mg/dl
هماتوکریت	۲۴-۳۶	۰/۶	%
پلاکت	۲۲۰-۶۴۰		$\times10^{9}$/l
MCH	۱۴/۲-۲۰/۱	۰/۸	Pg
MCV	۳۷/۸-۵۶	۰/۸	Fl
MCHC	۳۱/۷-۴۰/۴	۰/۵	g/dl
گلبول سفید	۳/۸-۱۱	۰/۱۱	$\times10^{9}$/l
لنفوسیت	۲۶-۶۸		%
نوتروفیل	۱۵-۶۱		%
مونوسیت	۰-۱۲		%
ائوزینوفیل	۰-۲۸		%
SGOT	۶۱-۱۶۲		Unit/L
SGPT	۵-۱۸		Unit/L
T4 گاو زایمان کرده	۳۱/۵-۶۰		nmol/ml
T3 گاو زایمان کرده	۱/۴۸-۲/۹۶		nmol/ml
T3/T4 گاو زایمان کرده	۰/۰۴۶-۰/۰۴۹		-
T4 گاو آبستن	۳۷/۲۳-۵۱/۴۸		nmol/ml
T3 گاو آبستن	۱/۶۷-۱/۸۵		nmol/ml
T3/T4گاو آبستن	۰/۰۳۵-۰/۰۴۴		-
گلیکوژن کبد گوساله نارس	۰/۷۸-۱/۱۱		mg/g fresh liver
گلیکوژن کبد گوساله سالم	۲/۳۵-۳/۳۵		mg/g fresh livre

بررسی هیستولوژیک کبد

پس از باز نمودن محوطه بطنی، دو نمونه به وزن ۱۰ گرم و ابعاد ۵ در ۵ سانتی‌متر از کبد تهیه شد. نمونه اول با بهره‌گیری از روش زاهدی اصل و همکاران (۱۳۸۳)، جهت سنجش میزان گلیکوژن کبد در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردید و نمونه دیگر جهت بررسی‌های هیستولوژیک در ظرف حاوی فرمالین ۱۰ درصد که به‌عنوان تثبیت کننده در نظر گرفته شده بود،

www.SID.ir

Archive of SID

قرار داده شد. محلول فرمالین در سه نوبت و به فواصل زمانی ٤٨ ساعت یک‌بار تعویض گردید تا نمونه‌ها کاملاً تثبیت شوند. در پایان، برش‌هایی به ضخامت ٥ میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم از بافت‌ها تهیه و روی لام قرار داده شد. سپس رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین صورت پذیرفت و نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. سلول-های هپاتوسیت چند وجهی، با هسته گرد تیره رنگ به طور شعاعی در اطراف مجاری عروقی قرار داشتند و اطراف سینوس‌های خونی کبد نیز سلولهای اندوتلیال با هسته کشیده دیده می‌شد.

پردازش آماری داده‌ها

پس از جمع‌آوری کلیه اطلاعات، گاوها به چهار گروه اصلی مرده زایی، شاهد مرده زایی، سقط جنین و شاهد سقط جنین تقسیم‌بندی شدند. همچنین جهت بررسی دقیق‌تر، از دامنه‌های نرمال ارائه شده توسط لومسدن و همکاران (۱۹۸۰) و دجوکوویک و همکاران (۲۰۰۷) نیز استفاده گردید (جدول ۱).پس از ثبت و ویرایش داده‌ها، بررسی نرمال بودن یافته‌های آزمایشی با بهره‌گیری از آزمون Shapiro-Wilk صورت پذیرفت و سپس تجزیه و تحلیل نهایی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۱) انجام شد. در نهایت میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل مربعات (LSM) مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

تغییرات غلظت هورمون‌های تیروئیدی

نتایج مربوط به بررسیغلظت هورمون‌های تیروئیدی T3 و T4 و نیز نسبت آنها در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان داد در گاوهایی که دچار سقط جنین گردیدند، غلظت هورمون تیروکسین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. هرچند، میزان هورمون تری-یدوتایرونین تحت تاثیر تیمارهای مورد بررسی قرار-نگرفت اما با این وجود نسبت هورمونهای تیروئیدی در گروه سقط جنین به طور حاشیه‌ای کاهش یافت (P=۰/۰۷).

عموماً در اینگونه مطالعات نه تنها مقایسه و بررسی موارد درگیر با بیماری یا ناهنجاری با گروه شاهد (آن هم در شرایط مشابه) امری ضروری است، بلکه می‌توان جهت مطالعه دقیق‌تر نتایج، از دامنه‌های نرمال تایید شده (جدول ۱) نیز استفاده نمود (دجوکوویک و همکاران ۲۰۰۷). مقایسه غلظت هورمون تیروکسین با داده‌های ارایه شده توسط لومسدن و همکاران (۱۹۸۰) و دجوکوویک و همکاران (۲۰۰۷) به عنوان دامنه‌های نرمال مرجع نشان داد که غلظت هورمون تیروکسین در گروه سقط جنین بالاتر از مقادیر نرمال بود (۵۵/۹۷>۵۱/٤٨-۳۷/۲۳). همچنین سطح تری-یدوتایرونین پلاسمایی نیز در حد پایین دامنه (۱/۸۵-۱/٦۷)قرار داشت. برآیند این تغییرات سبب کاهش منطقی نسبت T3 به T4 در مقایسه با مقدار نرمال گردید(۰/۰۳۲>۰/۰٤٤-۰/۰۳۵). بنابراین با توجه به آنکه هورمون T3 عموماً در بافت‌های محیطی و با واسطه-گری آنزیم دی‌یدیناز، از T4 حاصل می‌گردد (دانیجلا و همکاران ۲۰۱۱) و با عنایت به آنکه غلظت هورمون تیروکسین در گروه سقط جنین بیش از مقدار نرمال بود، به نظر می‌رسد که در این گروه اختلالی در مکانیسم تبدیلی مذکور به وقوع پیوسته است که می‌تواند زمینه‌ساز سقط صورت گرفته، باشد. این یافته-ها با نتایج دانیجلا و همکاران (۲۰۱۱) هماهنگی جالب توجهی داشت.

هرچند در گاوهای دارای عارضه مرده‌زایی، مقدار دو هورمون تیروئیدی T4 و T3 تفاوت معنی‌داری نداشت، اما نسبت بین این دو هورمون در گروه مرده‌زایی به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۰۰۱). مقایسه غلظت هورمون‌های مذکور با دامنه‌های استاندارد ارائه شده توسطدجوکوویک و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که هرچند در گروه مرده‌زا غلظت هورمون‌های T4 و T3 در دامنه نرمال قرار داشت اما

www.SID.ir

Archive of SID

نسبت هورمون T3 به T4 در گروه مرده‌زایی در حاشیه پایینی دامنه طبیعی واقع شده‌بود (۰/۰۴۵<۰/۰۴۹-۰/۰۴۶). درحالی که این نسبت در گروه شاهد در آستانه بالایی مقادیر فیزیولوژیک قرار گرفته بود(۰/۰۵۲). بر اساس یافته‌های هامون و همکاران (۲۰۰۳) نارسایی جفت در پیشبرد واکنش‌های تبدیلی T4 به T3 می‌تواند یکی از عوامل مهم بروز سقط یا مرده‌زایی باشد. لذا با توجه به وقوع نسبت‌های پایین‌تر از حد نرمال برای T3 به T4 در گروه‌های سقط جنین و مرده‌زا و با عنایت به تاثیر هورمون تری-یدوتایرونین به عنوان فرم فعال هورمون‌های تیروئیدی در بلوغ اندام‌ها، ذخیره گلیکوژن کبدی و عملکرد ترموستات بدن نوزاد خصوصاً در اواخر آبستنی (هامون و همکاران ۲۰۰۳)، به نظر می‌رسد که می‌توان از این نسبت به عنوان یک شاخص ارزشمند در پیش-بینی بروز سقط یا مرده‌زایی در گاوهای شیری هلشتاین بهره برد.

جدول ۲- تغییرات غلظت هورمون‌های تیروئیدی و فعالیت آنزیم‌های SGOT و SGPT درسقط جنین و مرده‌زایی(خطای معیار±میانگین)

تیمار	تعداد	تیروکسین (nmol/dl)	تریدو-تیرونین (nmol/dl)	نسبت تری یدوتیرونین به تیروکسین (nmol/dl)	SGOT (U/lit)	SGPT (U/lit)
سقط جنین	۱۶	۵۵/۹±۲/۷۸^{a}	۱/۶۸±۰/۰۹	۰/۰۳۲±۰/۰۰۱^{b}	۵۵/۸۷±۶/۹^{b}	۱۷±۰/۸۷^{b}
شاهد سقط جنین	۵	۴۴/۳۳±۴/۹۸^{b}	۱/۹۸±۰/۱۷	۰/۰۴۴±۰/۰۰۳^{ab}	۸۶/۸±۱۲/۸^{a}	۲۱/۲±۱/۵۱^{a}
مرده زایی	۱۷	۳۲/۳۵±۲/۷^{b}	۱/۵۶±۰/۰۹	۰/۰۴۵±۰/۰۰۱^{ab}	۵۸/۴۷±۶/۶۹^{b}	۱۳/۹۴±۰/۸۲^{b}
شاهد مرده زایی	۵	۳۳±۴/۹۸^{b}	۱/۷۳±۰/۱۷	۰/۰۵۲±۰/۰۰۳^{a}	۹۸±۱۲/۸^{a}	۱۶/۸۶±۱/۳۴^{b}
اثر تیمارها (P-value)		۰/۰۰۰۱	۰/۲۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱
مقایسات مستقل (P-value)						
سقط‌جنین درمقایسه با شاهد سقط جنین		۰/۰۰۰۱	۰/۳۲	۰/۰۷	۰/۰۴۳	۰/۰۰۶
مرده‌زایی در مقایسه باشاهد مرده‌زایی		۰/۱۱	۰/۳۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۴	۰/۰۱۱

ab حرف غیرمشابه در هر ستون برای میانگین‌ها، نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

فعالیت پلاسمایی آنزیم‌های SGOT و SGPT

یافته‌های حاصل از بررسی فعالیت آنزیم‌های کبدی (SGOT و SGPT) در جدول ۲ ارائه گردیده است. نتایج آزمایش حاضر بیانگر آن است که فعالیت آنزیم-های کبدی در گاوهایی که دچار سقط یا مرده‌زایی شده بودند نسبت به گروه‌های شاهد به طور معنی‌داری پایین‌تر بود. همچنین بررسی مقایسات متعامد صورت گرفته نیز مؤید آن است که در گروه‌های درگیر، فعالیت این آنزیم‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای پایین‌تر از گروه‌های شاهدشان بود. هرچند در بسیاری از شرایط افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی را نشانه‌ای از بروز آسیب‌های کبدی همچون کبدچرب (سوینک و همکاران ۲۰۰۱) یا مسمومیت‌های قارچی یا دارویی می‌دانند (فینک-گرملز ۲۰۰۸) اما با توجه به آنکه در هیچ یک از گروه‌های آزمایشی فعالیت این آنزیم‌ها از مقادیر نرمال تجاوز ننموده بود تنها این احتمال تقویت می‌گردد که بالاتر بودن فعالیت این آنزیم‌های پلاسمایی در گروه‌های شاهد و یا کاهش آن در گروه‌های سقط یا مرده‌زا نشانه‌ای از سطح فعالیت‌های متابولیک کبدی بوده و لذا بروز مقادیر پایین فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند نشانه‌ای

www.SID.ir

Archive of SID

از متابولیسم پایین‌تر کبدی و افزایش احتمال بروز ناهنجاری‌های تولیدمثلی مذکور باشد.

شمارش تفکیکی لوکوسیت‌های خونی

نتایج حاصل از تعداد کل و شمارش تفکیکی گلبول‌های سفید خونی در جدول ۳ نشان داده شده است. از آنجایی که همواره افزایش نسبت یک دسته از گلبول‌های سفید به معنی کم شدن دسته‌های دیگر لکوسیت‌ها نیست، تعیین میزان نسبی[۱] لکوسیت‌ها به صورت درصد ممکن است گمراه کننده باشد؛ لذا بهترین برآورد می‌تواند تعداد مطلق[۲] هر دسته لکوسیتی باشد (عامری مهابادی ۱۳۷۸). یافته‌های آزمایش حاضر بیان‌گر آن است که هرچند تعداد کل گلبول‌های سفید تحت تاثیر گروه‌های آزمایشی نبود اما تعداد ائوزینوفیل‌ها در گروه‌های سقط و مرده‌زا نسبت به گروه‌های شاهد به طور معنی‌داری پایین‌تر بود (۳۸±۱۴۳ در برابر ۶۹±۳۳۸ برای گروه سقط جنین و ۳±۶۵ در برابر ۶۸±۹۶۹ برای گروه مرده‌زا). مقایسات متعامد نیز در رابطه با صفت مذکور نتایج مشابهی را در رابطه با سقط و یا مرده‌زایی ($P<0/0001$) نشان داد. همچنین در مطالعه حاضر پایین‌ترین جمعیت مونوسیتی متعلق به گاوهایی بود که دچار مرده‌زایی شده بودند (۵۴±۲۱۱). اگرچه نسبت مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها در خون گاوها اندک است، اما همین مقدار کم نیز دارای اثرات قابل ملاحظه‌ای در بروز پاسخ‌های ایمونولوژیک می‌باشد (استینز و همکارن ۱۹۹۳). مونوسیت‌ها از سلول‌های بنیادی مغز استخوان و تحت تاثیر فاکتورهای محرک رشد کلنی که میلوپوئز را تحریک می کنند تقسیم شده و پس از ورود به خون تحت تاثیر فاکتورهای کموتاکتیک همچون اجزاء سیستم کمپلمان به بافتها وارد شده و با تبدیل شدن به ماکروفاژهای محیطی فعالیت‌های فاگوسیتوزی را رهبری می‌نمایند. ائوزینوفیل‌ها نیز لوکوسیت‌های حاوی گرانول‌های پروتئینی کاتیونی هستند که نه تنها در مهار عفونت‌های انگلی نقش مستقیمی دارند بلکه در واکنش‌های آلرژیک آتوپیک نیز اثرات کنترلی قابل ملاحظه‌ای ایفا می‌نمایند (گایتون و هال ۲۰۰۶). هرچند برخی مطالعات کاهش جمعیت ائوزینوفیلی یا مونوسیتی را به دلیل تفاوت شرایط محیطی، همچون دمای هوا و یا فصل، دانسته‌اند (رضاخانی و همکاران ۱۳۷۰ و عذب و عبدالمکسود ۱۹۹۹) اما در بسیاری از بررسی‌ها کاهش زیرجمعیت-های لوکوسیتی به عنوان نقصی در بروز پاسخ‌های به هنگام ایمونولوژیک در نظر گرفته شده (عذب و عبدالمکسود ۱۹۹۹) و لذا با عنایت به یافته‌های حاضر، این کاهش جمعیت‌ها می‌تواند عاملی جهت افزایش احتمال بروز سقط یا مرده‌زایی باشد. چرا که بر اساس یافته‌های حاضر، نه تنها در گاوهای مرده‌زا بلکه در موارد سقط جنین نیز شمار مونوسیت‌ها ($P<0/05$) و ائوزینوفیل‌ها ($P<0/001$) به شکل معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. در میان گروه‌های آزمایشی، بالاترین شمار نوتروفیلی و به دنبال آن بالاترین نسبت نوتروفیل به لنفوسیت، متعلق به گاوهایی بود که تجربه مرده‌زایی را پشت سر گذاشته بودند. مقایسات متعامد صفات مذکور در گاوهای مرده‌زا با شاهد این گروه نیز، تفاوت‌های معنی‌داری را نشان داد (به ترتیب برای تعداد نوتروفیل و نسبت نوتروفیل به لنفوسیت). نسبت نوتروفیل به لنفوسیت معیار مطلوبی جهت برآورد وضعیت عملکرد ایمنی سلولی در زمان بروز بسیاری از تنش‌های محیطی و یا آلودگی‌های میکروبی با حضور اندوتوکسین‌های باکتریایی (مانند لیپوپلی ساکاریدها) می‌باشد (عذب و عبدالمکسود ۱۹۹۹ و شاینی و همکاران ۲۰۰۸).

مرده‌زایی در گاوهای شیری را عموماً به دو دسته مرده‌زایی همراه با سخت‌زایی و مرده‌زایی همراه با عفونت در نوزاد تقسیم‌بندی می‌نمایند (برگلوند و همکاران ۲۰۰۳). در تطابق با نتایج حاضر، یافته‌های عذب و عبدالمکسود (۱۹۹۹) و پروبو و همکاران (۲۰۱۱)

۱- Relative Value

۲- Absolute Value

www.SID.ir

Archive of SID

مؤید آن است که بروز سخت‌زایی تحت تاثیر هرکدام از عوامل مذکور که باشد در نهایت می‌تواند منجر به افزایش نسبت نوتروفیل به لنفوسیت به عنوان شاخص تنش گردد.

شاخص های گلبول قرمز و پلاکت خونی

هرچند در آزمایش حاضر، شاخص‌های گلبول قرمز در گاوهایی که گوساله خود را سقط کرده بودند دچار تغییر قابل ملاحظه‌ای نگردید (جدول ٤) اما درصد هماتوکریت، تعداد گلبول‌هایقرمز و غلظت هموگلوبین در گاوهای مرده‌زا نسبت به گروه شاهد این گروه

جدول ۳- شمارش تفکیکی گلبولهای سفید در گروه‌های سقط و مرده‌زایی (خطای معیار±میانگین)

تیمار	تعداد	گلبول سفید $\times 10^9$/lit	لنفوسیت (n/mm^3)	مونوسیت (n/mm^3)	ائوزینوفیل (n/mm^3)	نوتروفیل (n/mm^3)	نوتروفیل / لنفوسیت
سقط جنین	١٦	١٣/٣٩±٢	١٠٩١٥±١٨٥٣	٣٤١±٥٥^b	١٤٣±٣٨^c	١٩٩٦±٨٣٥^b	٠/١٨±٠/٠١٣^b
شاهد سقط جنین	٥	١٣/٥٨±٣/٥٨	١٠٢٧٦±٣٣١٥	٣٩٨±١٠٠^b	٣٣٨±٦٩^b	٢٦٩١±١٤٩٤^b	٠/٢٦±٠/٠٠٨^b
مرده زایی	١٧	١٥/٧٧±١/٩	٨٢٢١±١٧٩٨	٢١١±٥٤^C	٦٥±٣^c	٧٠٨٧±٨١٠^a	٠/٨٦±٠/٠٤٢^a
شاهد مرده زایی	٥	١٧/٤٧±٣/٥٨	١٢٥٣٢±٣٣١٥	٦٨٩±١٠٠^a	٦٨٩±٦٩^a	٣٥٥٤±١٤٩٤^b	٠/٢٨±٠/٠٢١^b
اثر تیمار ها (P-value)		٠/٧	٠/٦١	٠/٠٢	٠/٠٠٠١	٠/٠٠٠٧	٠/٠٠٠١
مقایسات مستقل (P-value)							
سقط جنین در مقایسه با شاهد سقط جنین		٠/٤٤	٠/٦٣	٠/٠٤٢	٠/٠٠١	٠/٦٨	٠/٢٣
مرده‌زایی در مقایسه با شاهد مرده-زایی		٠/٣٩	٠/٣٠	٠/٠٠١	٠/٠٠١	٠/٠٠١	٠/٠٠٠١

ab حرف غیرمشابه در هر ستون برای میانگین‌ها، نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح (P<٠/٠٥) می‌باشد.

به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت (P<٠/٠٠١). این امر بیانگر آن است که گاوها در گروه مرده‌زا با یک کمبود اکسیژن مزمن روبرو بوده‌اند. پروبو و همکاران (٢٠١١) در مطالعه خود پیشنهاد نمودند که افزایش شاخص‌های گلبول قرمز در گاوهای مرده‌زا عموماً به دلیل کاهش مزمن اکسیژن بوده که این کمبود نه تنها بر اندام‌های دخیل در متابولیسم گلبول‌های قرمز همچون طحال اثرگذار است بلکه به جنین نیز سرایت کرده و موجب افزایش فشار مغزی جنین و اختلال در کار آن و در نهایت کاهش احتمال زنده‌مانی گوساله می‌شود.

همان‌گونه که از یافته‌های ارائه شده در جدول ٥ بر می-آید، در گروه‌های سقط جنین و مرده‌زایی تعداد پلاکت نسبت به گروه‌های شاهد به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. نکته بسیارجالب توجه آن بود که در گروه‌های درگیر، به دنبال کاهش تعداد پلاکت‌های خونی، میانگین حجم پلاکتی افزایش یافت (١٠/٤±٠/٤٣ در برابر٥/٤٥±٠/٧٧ برای گروه سقط جنین و شاهدش و ١١/٦±٠/٤٢ در برابر ٨/٧±٠/٧٧ برای گروه مرده‌زایی و شاهدش)؛ به طوری که در نهایت تفاوت معنی‌داری در حجم کل پلاکت خونی بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نگردید. مقایسات متعامد صورت گرفته بین گروه‌های سقط جنین و مرده‌زا با گروه‌های شاهدشان در رابطه با صفات فوق نیز نتایج مشابهی را نشان داد. هرچند بر اساس مطالعات صورت گرفته به دنبال کاهش تعداد پلاکت خونی (به عنوان مثال بر اثر مصرف سموم کشاورزی) احتمال بروز سقط جنین افزایش می‌یابد (مدرسی و سیف ١٣٩٠) اما به نظر می‌رسد که گروه-های درگیر در آزمایش حاضر، با افزایش میانگین حجم

www.SID.ir

Archive of SID

پلاکتی سعی در جبران این نقیصه و حفظ هومئوستاز داشته‌اند.

غلظت گلیکوژن و تغییرات هیستولوژیک کبد گوساله‌ها در سقط جنین و مرده‌زایی

یکی از مهمترین وظایف کبد به عنوان حیاتی‌ترین ارگان درگیر در واکنش های متابولیک بدن، تأمین گلوکز خون است. لذا بررسی کبد از جنبه‌های بافت‌شناسی و ذخیره گلیکوژن می‌تواند شاخص خوبی جهت سنجش سلامت دام باشد. در بررسیهیستولوژیک صورت گرفته در آزمایش حاضر، بافت کبد به لحاظ سازماندهیسلولی و انسجام بافتی به ۳ رده تقسیم گردید و با بهره‌گیری از روشامتیازدهی (scoring) توصیه شده توسط عسکری حصنی و همکاران (۱۳۸۸) مورد بررسی قرار گرفت. در این روش، امتیاز ۱ نشان دهنده بافتی سالم با انسجام خوب، امتیاز ۲ بافتی با انسجام متوسط و امتیاز ۳ بافتی کاملاً اتولیز و دژنره شده بود که در آن سینوزوئیدها، که محل حضور خون هستند، به علت آسیب شدید به هپاتوسیت‌ها در کبد محو شده و انسجام بافتی به حداقل رسیده بود. شکل ۱ نمونه‌هایی از رده‌های ۱ تا ۳ را نشان می‌دهد.

جدول ۴- تغییرات شاخص های گلبول‌های قرمز در سقط جنین و مرده‌زایی (خطای معیار±میانگین)

تیمار	تعداد	هماتوکریت (٪)	گلبول قرمز 1012/lit×	هموگلوبین g/lit	میانگین حجم گلبول قرمز fl	MCH pg	MCHC g/dl
سقط جنین	۱۶	۳۰/۱۸±۰/۷۴ b	۵/۹۷±۰/۱۲ b	۱۱/۴۷±۰/۲۷ ab	۵۰/۵۳±۰/۹۱ a	۱۹/۱۹±۰/۳۹ ab	۳۸/۰۴±۰/۸۳
شاهد سقط جنین	۵	۳۰±۱/۲۲ b	۵/۹۷±۰/۲۲ b	۱۱/۷±۰/۴۸ ab	۵۰/۳±۱/۶۳ a	۱۹/۶۶±۰/۶۹ a	۳۹/۰۴±۱/۴۹
مرده‌زایی	۱۷	۳۴/۹۱±۰/۱۷ a	۶/۶۳±۰/۱۲ a	۱۲/۶۴±۰/۲۶ a	۵۲/۶۷±۰/۸۸ a	۱۹/۰۶±۰/۳۷ ab	۳۶/۲۴±۰/۸۱
شاهد مرده‌زایی	۵	۳۱/۲۶±۱/۲۲ b	۶/۰۳±۰/۲۲ ab	۱۱/۳۴±۰/۴۸ b	۴۶/۴±۱/۶۳ b	۱۷/۸۹±۰/۶۹ b	۳۹/۸۵±۱/۴۹
اثر تیمارها (P-value)		۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۳۳	۰/۰۱۵	۰/۰۱۴	۰/۳۱	۰/۱۱
مقایسات مستقل (P-value)							
سقط جنین در مقایسه با شاهد سقط جنین		۰/۵	۰/۱۶	۰/۶۱	۰/۱	۰/۵۶	۰/۷۰
مرده زایی در مقایسه با شاهد مرده زایی		۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۳	۰/۱	۰/۱۴	۰/۱۳

ab حرف غیرمشابه در هر ستون برای میانگین‌ها، نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

نتایج بررسی غلظت گلیکوژن کبدی و نیز امتیاز بافت کبد در گوساله‌های سقط شده و یا مرده به دنیا آمده در جدول ٦ آمده است. یافته‌ها بیانگر آن است که انسجام بافت کبدی در گوساله‌هایی که به واسطه مرده‌زایی از میان رفته بودند بسیار کمتر (P=۰/۰۷)از آنهایی بود که سقط شده بودند (۱/۸۲±۰/۱۹ در برابر ۲/۳۸±۰/۲۱). علاوه بر آن سطح گلیکوژن کبدی گوساله‌های سقط شده به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) پایین‌تر از گوساله‌های مرده به دنیا آمده بود (۰/۹٤±۰/۱۹ در مقابل ۱/٤۹±۰/۱۷ میلی‌گرم گلیکوژن در گرم بافت کبد).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- تغییرات فراسنجه‌های پلاکتی در سقط جنین و مرده‌زایی (خطای معیار±میانگین)

تیمار	تعداد	پلاکت $10^{9/lit}\times$	میانگین حجم پلاکت fl	حجم کل پلاکت خون
سقط جنین	۱۶	۲۹۲±۲۲ ^{bc}	۱۰/٤±۰/٤۳^{ab}	۳۰٦۱±۲۳٤
شاهد سقط جنین	۵	۳٦٦±٤۰ ^{b}	۷/٤۵±۰/۷۷^{b}	۲۷٤۵±٤۱۹
مرده‌زایی	۱۷	۲٦۲±۲۱ ^{c}	۱۱/٦±۰/٤۲^{a}	۳۰۳٦±۲۲۷
شاهد مرده‌زایی	۵	٤٦۳±٤۰ ^{a}	٦/۵۹±۰/۷۷^{b}	۳۰۵۲±٤۱۹
اثر تیمار ها (P-value)		۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۱٤۵
مقایسات مستقل (P-value)				
سقط جنین در مقایسه با شاهد سقط جنین		۰/۰۰۱	۰/۰۰۵	۰/۰۹
مرده‌زایی در مقایسه با شاهد مرده‌زایی		۰/۰۰۱	۰/۰٤۲	۰/۹٤

^{ab} حرف غیرمشابه در هر ستون برای میانگین‌ها، نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

آسیب شدید کبدی در گروه سقط جنین می‌تواند به دلیل حضور برخی عوامل میکروبی نکروزدهنده کبد همچون *نئوسپورا*، *بروسلا*، *سالمونلا*، *لپتوسپیرا* و نیز *ویروس عفونت نای* (IBR) در کبد جنین باشد (کیرک براید ۱۹۹۲ و اندرسون ۲۰۰۷) هرچند تاثیر کمبود منابع انرژتیک کبدی همچون گلیکوژن نیز دور از انتظار نیست. در گروه مرده‌زا نیز بافت کبد دچار آسیب‌های متوسطی شده بود که در اینجا نیز احتمال تاثیر عوامل عفونی وجود دارد (کیرک براید ۱۹۹۲). اما باید دانست که تخلیه و مصرف گلیکوژن کبد، که در شرایط سخت-زایی مزمن و تأخیر تولد ایجاد می‌شود، نیز موجب تخریب بافت کبد می‌گردد (کیرک براید ۱۹۹۲ و اندرسون ۲۰۰۷).

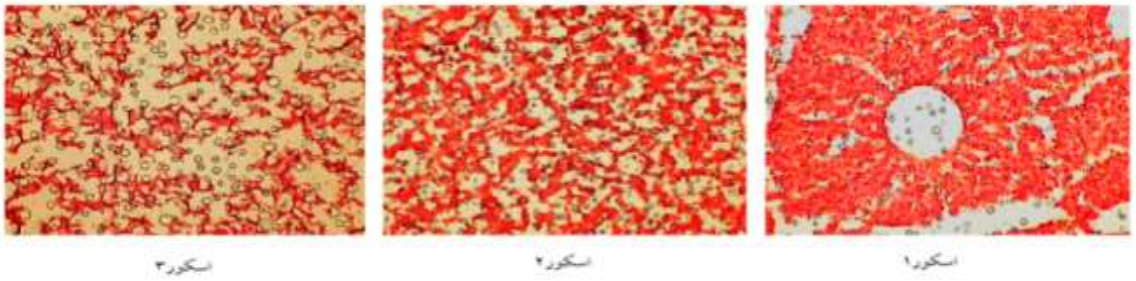
مقادیر بالاتر گلیکوژن کبدی در گوساله‌های مرده‌زا می‌تواند به دلیل اثرات هورمونی بر این منابع ذخیره‌ای در پیش از زایش باشد؛ چراکه ذخیره گلیکوژن کبدی نوزاد کمی قبل از تولد در اثر حضور عوامل اندوکرین گلوکوکورتیکوئیدی و نیز هورمون تری‌یدوتایرونین حدود ۳ برابر افزایش می‌یابد (هامونا و همکاران ۲۰۱۲). با توجه به آنکه مقدار نرمال گلیکوژن کبدی در گوساله-های سالم حدود ۲۰۰ نانومول بر گرم DNA بافت کبدی و در گوساله‌های نارس ٦۰ نانومول بر گرم DNA است (اسچمیت و همکاران ۲۰۰٤ و هامونا و همکاران ۲۰۱۲)، لذا می‌توان انتظار داشت که مقدار گلیکوژن کبد گوساله‌ها در ماه‌های ۵ تا ۷ آبستنی (که در آزمایش حاضر به عنوان دوره نمونه‌گیری سقط در نظر گرفته شد) در مقادیری پایین‌تر از گلیکوژن گوساله‌ها در بدو تولد باشد. یافته‌های هامونا و همکاران (۲۰۱۲) بیانگر دامنه نرمال گلیکوژن کبدی در گوساله‌های تازه متولد شده در محدوده ۲/۳۵ تا ۳/۳۵ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه کبدی است. لذا به نظر می‌رسد که در گروه مرده‌زایی میزان گلیکوژن کبدی در سطوح بسیار پایینی قرار داشته است که بر اساس یافته‌های برگلوند و همکاران (۲۰۰۳) ناهماهنگی در تولید و یا عملکرد هورمون‌هایمتابولیک همچون انسولین، تری‌یدوتایرونین و فاکتور رشد شبه انسولینی و نیز مصرف ذخایر کربوهیدراتی در زایمان‌های سخت از مهمترین دلایل کاهش گلیکوژن کبدی در گوساله های نارس یا مرده‌زا می‌باشد.

جدول ۶- شاخص انسجام بافتی کبد و تغییرات غلظت گلیکوژن کبد گوساله ها در سقط جنین و مرده‌زایی (خطای معیار±میانگین)

تیمار	تعداد	شاخص انسجام کبد (نمره)	گلیکوژن کبد (mg/gr)
سقط جنین	۱۳	۲/۳۸±۰/۲۱	۰/۹٤±۰/۱۹ ^{b}
مرده زایی	۱۷	۱/۸۲±۰/۱۹	۱/۵۷±۰/۱۲ ^{a}
P value		۰/۰۷	۰/۰۲

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- سه نمونه بافت کبد با سه اسکور متفاوت؛ از راست به چپ اسکور ۱ و ۲ و ۳

بررسی‌های تکمیلی

بررسی صفات جنس، وزن و عرض سینه گوساله‌ها و نیز سن، شکم زایش، نمره وضعیت بدنی (BCS)، طول دوره آبستنی و وقوع سخت‌زایی یا دوقلوزایی در هنگام تولد برای مادر و همچنین بروز مواردی مانند خروج جنین همراه جفت، شکستگی دنده، خونریزی داخلی، مومیایی شدن و ناهنجاری‌های تکاملی نتایج جالب توجهی را به همراه داشت.

همان‌گونه که در جدول ۷ ارائه گردیده است، بین گروه مرده‌زایی و شاهد مربوط به آن از نظر تعداد زایش، سن مادر، نمره وضعیت بدنی مادر، جنس، وزن و عرض سینه گوساله، تفاوت معنی‌داری دیده نشد که این یافته‌ها با نتایج گاندلک و همکاران (۲۰۰۹) در مطابقت کامل بود. بررسی طول دوره آبستنی نشان داد که در گاوهای مرده‌زا طول این دوره به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد مربوطه بود. لذا این احتمال وجود دارد که به دنبال افزایش طول این دوره و رشد بیشتر جنین، سخت‌زایی بروز نموده و متعاقب آن منجر به مرده‌زایی شده است. بین گروه سقط جنین و شاهد مربوط به آن تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد زایش و سن مادر وجود نداشت اما در مواردی که مادران گوساله‌های خود را سقط نموده بودند، نمره وضعیت بدنی به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد بود.

بررسی‌های میکروبی مطالعه حاضر نیز نشان داد که ۲۰/۱۲ درصد گوساله‌های سقط شده و یا مرده به دنیا آمده دارای ویروس اسهال گاوی (BVD) در بافت مغز خود بوده و ۱۰/۴۳ درصد نیز مشکوک به حضور این عامل بودند. عیار آنتی‌بادی برای *نئوسپورا* در هیچ یک از گوساله‌ها مثبت نبود. بررسی میکروبیولوژیک محتویات شیردان نیز نشان داد که به ترتیب ۴۵، ۳۶ و ۳۳ درصد گوساله‌ها دارای آلودگی‌های *اشرشیاکلی*، *انتروباکتر* و *کلبسیلا* بودند. هرچند حضور عوامل عفونی در بدن جنین سقطی و یا مرده الزاماً بیانگر علت بروز عارضه نمی‌باشد، اما بدون شک اجرای اقدامات بهداشتی بیشتر و واکسیناسیون دائمی علیه عوامل دخیل می‌تواند موجب کاهش بروز این عوارض گردند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۷- بررسی مؤلفه های کیفی موثر بر سقط جنین و مرده‌زایی (میانگین±انحراف معیار)

تیمار	تعداد زایش (شکم)	سن مادر (سال)	شاخص بدن (نمره)	طول آبستنی (روز)	جنس (نر=۱، ماده=۲)	وزن تولد گوساله (کیلوگرم)	عرض سینه (سانتی متر)
مرده زایی	۲/۱۷±۰/۴۳	۳/۴۷±۰/۴۶	۳/۴±۰/۰۹[a]	۲۷۷±۹/۵ [a]	۱/۶±۰/۲۲	۴۲/۱۷±۲/۰۹	۷۷/۰۵±۱/۴۷
شاهد مرده‌زایی	۱/۸±۰/۷۹	۲/۸±۰/۸۵	۳/۱۷±۰/۰۵[b]	۲۷۴±۱۷/۶ [b]	۱/۴±۰/۱۲	۳۹/۸±۳/۸۵	۷۵/۲±۲/۷
سقط جنین	۲/۷±۰/۴۹	۴/۲±۰/۵۲	۳/۰۳±۰/۰۵[bc]	–			
شاهد سقط جنین	۲/۴±۰/۷۹	۲/۴±۰/۸۵	۳/۱±۰/۰۹[b]	–			
اثر تیمار ها (P-value)	۰/۷۷	۰/۲۵	۰/۰۸۲	۰/۰۰۰۱	۰/۵۸	۰/۲۵	۰/۱۶
مقایسات مستقل(P-value)							
سقط جنین درمقایسه با شاهد سقط	۰/۵۹	۰/۷۴	۰/۰۲	–	–	–	–
مرده‌زایی درمقایسه با شاهد مرده‌زایی	۰/۴۳	۰/۲۸	۰/۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۴۷	۰/۵۹	۰/۵۵

[ab] حرف غیرمشابه در هر ستون برای میانگین‌ها، نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

نتیجه گیری کلی

بررسی شمارش تفکیکی گلبول‌های سفید و نیز مطالعات میکروبی نشان داد که هنوز هم عوامل عفونی نقش اصلی را در بروز سقط و مرده‌زایی ایفا نموده و لذا کنترل بیماری‌ها از طریق افزایش سطح بهداشت و واکسیناسیون پیوسته، بیش از پیش ضروری به نظر می‌رسد. همچنین بررسی عوامل اصلی کاهش ذخیره گلیکوژن کبدی جنین‌ها و نیز بررسی فاکتورهایی همچون کم خونی فقر آهن و پلاکت می‌تواند در تعیین علت و جلوگیری از سقط جنین و مرده‌زایی راهگشا باشد. با توجه به بروز سخت‌زایی‌های متعدد در موارد مرده‌زایی و با عنایت به آنکه طول دوره آبستنی در گروه مرده‌زا به طور معنی‌داری بیش از گروه شاهد بود، لذا توجه ویژه به پروتکل‌های کنترل آبستنی بسیار حیاتی می‌باشد.

منابع مورد استفاده

رضاخانی ع، شجاعی ن و نظیفی حبیب آبادی س، ۱۳۷۰. بررسی پارامترهای خونی گاو گلپایگانی، مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، جلد چهل و ششم، شماره اول، صفحه‌های ۴۱-۲۲.

زاهدی اصل ص، مراحل ح و زارع ب، ۱۳۸۳. اثر عصاره کلروفرمی گندی تلخه (*Securigera Securidaca*) روی قند خون سرم و گلیکوژن کبدی موش سوری، مجله علوم پزشکی کرمان، جلد دوازدهم، شماره اول، صفحه های ۳۸-۳۲.

ضمیری م ج، ۱۳۸۸. فیزیولوژی تولیدمثل، انتشارات حق شناس.

عامری مهابادی م، ۱۳۷۸. روشهای آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی، انتشارات دانشگاه تهران.

عسکری حصنی م،گلچین‌راد ع، عتباتی آ و عباسی م، ۱۳۸۸. تأثیر ماده شوینده بر گلوکز خون گلیکوژن و ساختار کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، دوازدهمین همایش بهداشت محیط ایران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده بهداشت، صفحه های ۴۹۵-۴۸۵.

نیاورانی ا ر و رخشان م، ۱۳۸۵. فیزیولوژی پزشکی گایتون، ویرایش یازدهم، انتشارات سماط.

مدرسی م و سیف م ر، ۱۳۹۰. بررسی تاثیر سم ارگانوکلره آندوسولفان بر پارامترهای خونی در موش صحرایی، مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دوره سیزدهم، شماره دوم، صفحه های ۳۱-۲۶.

www.SID.ir

Archive of SID

Anderson ML, 2007. Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. Theriogenology 68: 474–486.

Azab ME and Abdel-Maksoud HA, 1999. Changes in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. Small Ruminant Res 34: 77-85.

Berglund B, Steinbock L and Elvander M, 2003. Causes of stillbirth and time of death in Swedish Holstein calves examined post mortem. Acta Vet Scand 44: 111-120.

Bicalho RC, Galvao KN, Warnick LD and Guard CL, 2008. Stillbirth parturition reduces milk production in Holstein cows. Prevent Vet Med 84: 112–120.

Bluel U, 2011. Risk factors and rates of perinatal and postnatal mortality in cattlein Switzerland. Livest Sci 135: 257–264.

Chassagne M, Barnouin J and Chacornac JP, 1999. Risk factor stillbirth in Holestien heifer under field condition infrance: a perspective survey. Thriogenology 56: 1477-1488.

Danijela K, Lazarevi M, Stoji V, Amanc H, Vujanac I, Nedi O and Masnikosa R, 2011. Hormonal statues and regulation of glycemia in neonatal calves during the first hours of postnatal life. Acta Vet-Beograd 61: 349-361.

Djokovic R, Samanc H, Jovanovic M and Nikolic Z, 2007. Blood concentrations of thyroid hormones and lipids and content of lipids in the liver in dairy cows in transitional period. Acta Vet BRNO 76: 525-532.

Fink-Gremmels J, 2008. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk. Food Addit Contam 25: 172-180.

Gundelach Y, Essmeyer K, Teltscher MK and Hoedemaker M, 2009. Risk factors for perinatal mortality in dairy cattle: Cow and foetal factors, calving process. Theriogenology 71: 901–909.

Hammon HM, Sauter SN, Reist M, Zbinden Y, Philipona C, Morel C and Blum JW, 2003. Dexamethasone and colostrum feeding affect hepatic gluconeogenic enzymes differently in neonatal calves. J Anim Sci 81:3095-3106.

Hammona HM, Steinhoff-Wagner J, Schonhusen U, Metges CC and Blumb JW, 2012. Energy metabolism in the newborn farm animal with emphasis on the calf: endocrine changes and responses to milk-born and systemic hormones. Domest Anim Endocrinol 43(2):171-185.

Jonker FH, 2004. Fetal death: comparative aspects in large domestic animals. Anim Reprod Sci 82: 415–430.

Kirkbride Clyde A, 1992. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. J Vet Diagn Invest 4: 175-180.

Lumsden JH, Mullen K and Rowe R, 1980. Hematology and biochemistry reference values for female Holstein cattle. Can J Comparat Med 44: 24-31.

Pradhan P, Poudel S and Maharjan A, 2010. Still-birth – a tragic journey: a critical analysis. Nepal Med College J12**:** 239-243.

Probo M, Giordano A, Moretti P, Opsomer G, Fiems LO and Veronesi MC, 2011. Mode of delivery is associated with different hematological profiles in the newborn calf. Theriogenology 77: 865-872.

Rafati N, Mehrabani-Yeganeh H and Timothy H, 2010. Risk factors for abortion in dairy cows from commercial Holstein dairy herds in the Tehran region. Prevent Vet Med 96: 170–178.

SAS Institute. 2001. SAS User's Guide. Version 8.02 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Schmidt M, Sangild PT, Blum W, Andersen JB and Greve T, 2004. Combined ACTH and glucocorticoid treatment improves survival and organ maturation in premature newborn calves. Theriogenology 61: 1729–1744.

Sevinc M, Basoglu A, Birdane FM and Boydak M, 2001. Liver function in dairy cows with fatty liver. Revue de Med Vet 152: 297-300.

Shini S, Kaiser P, Shini A and Bryden WL, 2008. Differential alterations in ultrastructural morphology of chicken heterophils and lymphocytes induced by corticosterone and lipopolysaccharide. Vet Immunol Immunopathol 122: 83-93.

Walsh SW, Williams EJ and Evans ACO, 2011. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. Anim Reprod Sci 123: 127–138.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of some metabolic and pathophysiologic causes of abortion and stillbirth in an Isfahan dairy farm

M Rahimi-Andani[1], AH Mahdavi[*2], HR Rahmani[1] and B Dolatkhah[2]

Received: December 29, 2013 Accepted: August 26, 2014

[1]MSc Graduated and PhD Student, respectively, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
[2]Assistant Professor and Professor, respectively, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
[*]Corresponding author: E-mail: mahdavi@cc.iut.ac.ir

Abstract

BACKGROUND: Abortion and stillbirth are the effective reproductive factors that affect dairy farm profitability. **OBJECTIVES:** The present study was designed to investigate some metabolic and pathophysiologic factors affecting abortion and stillbirth in Holstein dairy cows. **METHODS:** Samples were collected from 43 Holstein dairy cows. Five early postpartum cows were used as stillbirth control group and five of 5 to 7-month-pregnant cows with no history of abortion were enrolled as abortion control group. Then differential blood cell counting, measurement of thyroid hormones concentrations and activities of hepatic enzymes including SGOT and SGPT were assayed on cows blood samples. In addition, microbial culturing of abomasum contents, ELISA test on brain tissue and ventricular fluid, measurement of liver glycogen concentration and histological evaluation of liver were performed on the dead calves. **RESULTS:** The results showed that the T3 to T4 ratio decreased in each group in comparison with their own controls ($P<0.01$). Furthermore, SGOT and SGPT activities in the plasma of both abortion and stillbirth groups were lower than their respective control groups ($P<0.01$). The highest neutrophils to lymphocytes ratio were observed in cows with dead born calves ($P<0.001$). Also, the hematocrit percent, RBC count and hemoglobin concentration increased in stillbirth cows compared with their control group ($P<0.001$). Liver consistency was better in aborted calves than stillborn ones, but liver glycogen concentration in dead born calves was higher ($P<0.05$). Microbial analysis showed that the 20.12% of aborted or dead born calves had bovine virus diarrhea in their brain tissue, but antibody titration of *Neospora* was not positive in any calves. **CONCLUSIONS:** The present results indicated that decreases in T3 to T4 ratio and SGOT and SGPT activities in the plasma of pregnant cows may be appropriate to evaluate the possibility of abortion or stillbirth. It seems that the presence of infectious agents has still a main role in the incidence of abortion and stillbirth, so diseases control by increasing the hygiene level and continues vaccination is so necessary.

Keywords: Abortion, Stillbirth, Liver glycogen, Holstein dairy cows

www.SID.ir