

تأثیر تغذیه پیوگلیتازون بر تخمک‌ریزی و برخی بیماری‌های پس از زایش در گاوهای هولستن

علیرضا یوسفی^۱، حمید کهرام^{۲*}، احمد زارع شحنه^۳، محمدجواد ضمیری^۴، فاطمه غازیانی^۵
و علی رضایی رودباری^۶

۱، ۲، ۳، ۵ و ۶. دانشجوی دکتری، استادیار، استاد و دانشجویان دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۴. استاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز و قطب علمی بررسی مشکلات تولیدمثلی گاوهای شیری پر تولید، دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۹ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۴/۳)

چکیده

هدف این پژوهش بررسی اثر پیوگلیتازون بر کنش تخمدان و کاهش برخی بیماری‌های پس از زایش در گاوهای هولستن بود. تعداد هشتاد گاو شیری هولستن به صورت تصادفی در چهار گروه تیماری ($n=20$) با آرایش فاکتوریل 2×2 قرار گرفتند. تغذیه پیوگلیتازون از ۱۴ روز مانده به زمان مورد انتظار زایش تا ۲۱ روز پس از زایش انجام شد. تغذیه پیوگلیتازون پیش و پس از زایش، عامل اصلی در نظر گرفته شد؛ گاوها در هر دوره با یکی از دو سطح صفر یا ۶ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پیوگلیتازون تغذیه شدند. فراسنجه‌های وابسته به سلامت گاو و روز تخمک‌ریزی رکوردبرداری و داده‌ها با نرم‌افزار SAS و رویه‌های GENMOD یا GLM واکاوی شدند. تغذیه پیوگلیتازون در دوره پس از زایش، میانگین فاصله زایش تا نخستین تخمک‌ریزی را کاهش داد ($P < 0.02$). افزون بر این، شمار گاوهایی که در ۱۴ روز نخست پس از زایش تخمک‌ریزی کردند نیز با تغذیه پیوگلیتازون در دوره پس از زایش افزایش یافت ($P < 0.03$). تغذیه پیوگلیتازون در دوره‌های پیش از زایش ($P < 0.01$) و پس از زایش ($P < 0.10$) بسامد بروز لنگش را کاهش داد. پیوگلیتازون اثر معناداری بر بسامد ورم پستان نداشت. تغذیه پیوگلیتازون در دوره‌های پیش از زایش ($P < 0.03$) و پس از زایش ($P < 0.08$) درصد گاوهای دچار عفونت‌های رحم را کاهش داد. تغذیه پیوگلیتازون پس از زایش، کیست‌های تخمدانی را کاهش داد ($P < 0.04$). درصد گاوهایی که تخمدان نافع‌ال داشتند تحت تأثیر پیوگلیتازون قرار نگرفت. یافته‌ها نشان دادند که تغذیه پیوگلیتازون به گاوهای شیری در دوره انتقال می‌تواند سبب بهبود کنش‌های تخمدان شود و در عین حال برخی بیماری‌های پس از زایش را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: بیماری‌های پس از زایش، پیوگلیتازون، دوره انتقال، کنش تخمدان، گاو شیری.

مقدمه

علت اصلی ایجاد توازن منفی انرژی، افزایش نیاز به انرژی برای تولید شیر است. از حدود دو هفته پیش از زایش، به دلیل کاهش مصرف خوراک، افزایش نیازهای جنین، آغاز شیرسازی و کاهش مصرف ماده خشک، شاخص‌های توازن منفی انرژی، مانند غلظت اسیدهای چرب استری نشده (NEFA) و بتا هیدروکسی بوتیرات

انتخاب ژنتیکی گاوهای شیری سبب شده که تولید شیر با روندی شتابنده افزایش یابد، در حالی که نرخ آبستنی گاوهای پرتولید روند کاهشی داشته است. علت‌های زیادی مانند توازن منفی انرژی برای کاهش نرخ تولید مثل گاوهای شیری بیان شده است (Butler, 1998).

(*al.*, 2001; Schillo, 1992; Schoenberg *et al.*, 2011) افزون بر این، انسولین نقش بسزایی در کنش سلول‌های ایمنی از جمله نوترفیل‌ها و فاگوسایت‌ها (Revelo & Waldron, 2010) و همچنین رشد و نمو فولیکول‌ها دارد (Komar *et al.*, 2001). بنابراین، بروز مقاومت به انسولین در سطح سلول‌ها می‌تواند یکی از علت‌های کاهش فعالیت دفاعی این سلول‌ها و تأخیر در ازسرگیری چرخه‌های تخمدانی باشد.

پیوگلیتازون، دارویی خوراکی است که در انسان برای درمان دیابت نوع ۲ و زنان دارای نشانگان تخمدان‌های چندکیستی (Polycystic ovary syndrome) به کار می‌رود. این دارو از دسته تیازولیدین‌دایون‌ها (Thiazolidinediones) است و به‌عنوان لیگاند اگزوزنوس گیرنده‌های تکثیرکننده و فعال و تکثیرکننده پروکسی‌زوم‌ها (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors) شناخته می‌شود. PPARها از گروه گیرنده هسته‌ای هستند که با تغییر بیان ژن‌های هدف اثر می‌گذارند (Brettenthaler *et al.*, 2004; Tang *et al.*, 2008). نوع گامای این گیرنده‌ها در بافت چربی و بافت‌های تولیدمثلی گاو و گوسفند از جمله فولیکول‌ها، تخمدان، رحم و جفت فراوان دیده شده است و هنگام رشد و تخمک‌ریزی فولیکول‌های تخمدانی، بیان آن دچار تغییر می‌شود (Pascal. Froment *et al.*, 2003; Komar *et al.*, 2001). از این رو، گمان می‌رود به‌کارگیری پیوگلیتازون به عنوان لیگاند اگزوزنوس گیرنده‌های نوع گامای PPARها به دلیل اثر مناسبی که بر سوخت‌وساز، بهبود کنش ایمنی و تحریک تخمک‌ریزی دارد، بتواند بر بیماری‌های تولیدی و تولید مثلی تأثیر شایان توجهی داشته باشد. در پژوهش‌های اندکی که تاکنون با گاوهای شیری انجام شده‌اند، تیازولیدین‌دایون‌ها به شیوه تزریق درون‌رگی به کار برده شده است (Kushibiki *et al.*, 2001; Schoenberg *et al.*, 2011; Smith *et al.*, 2009; Smith *et al.*, 2007). کاربرد شدن چنین ترکیباتی در صنعت گاو شیری زمانی امکان‌پذیر خواهد بود که بتوان آن‌ها را به جیره افزود؛ بنابراین، هدف این پژوهش بررسی تأثیر افزودن پیوگلیتازون به عنوان یک تیازولیدین‌دایون و لیگاند اگزوزنوس PPAR γ به جیره گاوهای شیری، بر

(BHBA) در خون افزایش می‌یابد (Bell, 1995). مقاومت به انسولین فرایندی طبیعی در پستانداران در دوره نزدیک به زایش است که سبب سوق‌دادن ذخایر بدن به سمت تأمین نیازهای شیردهی و جنین در گامه‌های پایانی آبستنی می‌شود (Lucy, 2004)، اما شدت گزینش ژنتیکی برای افزایش تولید شیر سبب تشدید مقاومت به انسولین و در پی آن افزایش بیش از حد NEFA و BHBA و افزایش شدت توازن منفی انرژی می‌شود.

سازوکار ایجاد مقاومت به انسولین در گاوهای شیری چندان روشن نیست؛ اما از آنجا که در گاوهای نزدیک به زایش با وجود بالابودن غلظت هورمون رشد، ساخت کبدی IGF-1 پایین است، گمان می‌رود که مقاومت به انسولین با افزایش هورمون رشد ارتباط نزدیکی داشته باشد (Lucy, 2004). نشان داده شده که ارتباط محور GH-IGF-1 در گامه‌های پایانی آبستنی و آغازین زایش گسسته می‌شود و در این وضعیت، اثر هورمون رشد بر بافت چربی برای بسیج چربی‌های ذخیره‌ای، تشدید می‌شود. کاهش تراوش انسولین و اثرگذاری آن در این دوره سبب کاهش بیان گیرنده‌های نوع A هورمون رشد در کبد نیز می‌شود (Radcliff *et al.*, 2003)، اما غلظت زیاد هورمون رشد و کم‌بودن غلظت انسولین، بیان گیرنده‌های نوع B هورمون رشد را در بافت چربی تحریک می‌کند (Bonczek *et al.*, 1988). بدین ترتیب، هورمون رشد آزادسازی چربی‌ها را از بافت‌های چربی تحریک می‌کند (Lucy, 2004)، و به دلیل اینکه غلظت انسولین (هورمون مهارکننده آزادسازی چربی‌ها) کم است، پی‌درپی NEFA و BHBA افزایش می‌یابند.

رابطه افزایش شاخص‌های توازن منفی انرژی (NEFA و BHBA) و بروز بیماری‌های پس از زایش به اثبات رسیده است (Schillo, 1992). شاید ضعف سیستم ایمنی گاو در دوره انتقال مهم‌ترین علت افزایش بیماری‌هایی مانند ورم پستان، عفونت‌های رحم و لنگش پس از زایش باشد (Schillo, 1992). افزایش التهاب‌های نزدیک به زایش که افزایش سایتوکین‌هایی همچون TNF- α و اینترکوکین-۶ را به همراه دارد، نه تنها بر عملکرد سلول‌های ایمنی تأثیر منفی دارد بلکه سبب تشدید مقاومت به انسولین نیز می‌شود (Kushibiki *et al.*

تخمک‌ریزی و کاهش احتمالی برخی بیماری‌های پس از زایش بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات و تیمارهای آزمایشی

این آزمایش با به‌کارگیری ۸۰ گاو شیری هولشتن دو تا چهار شکم زایش کرده و با میانگین تولید روزانه ۳۳ کیلوگرم شیر در دوره شیردهی پیشین انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به‌صورت فاکتوریل ۲×۲ انجام شد که در آن، گاوها از ۱۴ روز پیش از زایش در دو گروه ۴۰ راسی دسته‌بندی شدند. بر پایه وزن زنده، به گروه نخست روزانه ۶ میلی‌گرم پیوگلیتازون در جیره تغذیه شد و جیره گروه دوم، بدون پیوگلیتازون بود. هر یک از گروه‌های ۴۰ راسی پس از زایش به دو گروه ۲۰ راسی تقسیم شدند و به گروه نخست، تا روز ۲۱ پس از زایش روزانه ۶ میلی‌گرم پیوگلیتازون خورانده شد و جیره گروه دوم بدون پیوگلیتازون بود. با توجه به اینکه پژوهش‌های پیشین (Kushibiki *et al.*, 2001; Schoenberg *et al.*, 2011;) (Smith *et al.*, 2009; Smith *et al.*, 2007) تزریق روزانه ۲ تا ۴ میلی‌گرم از تیاژولیدن‌دایون‌ها را برای بهبود سوخت‌وساز گاوهای دوره انتقال مؤثر دانسته بودند، دُر استفاده‌شده در این آزمایش بر اساس یک آزمایش فارماکوکنتیک (نتایج منتشر نشده است) و تعیین فراهمی‌زیستی پیوگلیتازون تعیین شد. در این آزمایش مشخص شد که تغذیه ۶ میلی‌گرم پیوگلیتازون، دوز پیشنهادشده را در خون تأمین می‌کند. برای تصحیح مقدار پیوگلیتازون نسبت به تغییرات وزن بدن، گاوها هر هفته وزن شدند.

جیره‌های آزمایشی

جیره‌های دوره پیش از زایش (روز ۱۴- تا زایش) و پس از زایش (زایش تا روز ۲۱ شیردهی) بر پایه جدول‌های نیازهای غذایی NRC (2001) تنظیم شدند. انرژی خالص شیردهی برای گاوهای نزدیک به زایش و گاوهای تازه‌زا به ترتیب، ۱/۵۱ و ۱/۶۱ مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک، و پروتئین خام به ترتیب، ۱۲/۹ و ۱۶/۴ درصد ماده خشک بود. جیره‌ها در دو نوبت صبح و عصر و به شیوه کاملاً مخلوط در اختیار گاوها قرار گرفت.

فراسنجه‌های بررسی‌شده

تخمک‌ریزی و درصد کیست‌های تخمدانی

برای تعیین اثر تیمارهای آزمایشی بر تخمک‌ریزی و درصد کیست‌های تخمدانی، از روز ۷ تا روز ۲۸ پس از زایش (روز انجام آزمون پاکتی) تخمدان‌های راست و چپ به‌صورت هفتگی با دستگاه سونوگراف (8-MHz) (Mandeville, LA, USA transducer; Piemedical, ارزیابی شدند. سه ساعت پس از تغذیه جیره صبحگاهی، گاوها در راهروهای مخصوص قرار داده شدند و پس از خالی‌کردن راست‌روده، پروب روی تخمدان گذاشته و عکس‌برداری شد. نخستین روز مشاهده جسم زرد به‌عنوان روز تخمک‌ریزی ثبت شد. گاوهایی که دارای نشانه‌های فحلی نبودند و ساختارهای تخمدانی مرتبط به چرخه فحلی در تخمدان نداشتند، در دسته گاوهای دارای تخمدان نافع‌ال در نظر گرفته شدند (Sheldon *et al.*, 2006). گاوهای دارای ساختارهای تخمدانی بزرگ‌تر از ۲۰ میلی‌متر که بیش از ۱۰ روز متوالی در تخمدان حضور داشتند، دارای کیست تخمدانی در نظر گرفته شدند (Sheldon *et al.*, 2006).

بیماری‌ها

برای ارزیابی وضعیت سلامت، از یک روز پس از زایش تا ۱۴ روز پس از آن، دمای بدن اندازه‌گیری شد. عفونت‌های رحمی، ورم پستان، لنگش و تشخیص سایر بیماری‌ها توسط تیم دامپزشکی گله و بر اساس روش (Sheldon *et al.*, 2006) انجام گرفت. گاوهایی که در ۱۴ روز نخست پس از زایش ترشحات رحمی آبکی، لیزابۀ متعفن و دمای بیشتر از ۳۹/۵ درجه سانتی‌گراد داشتند، پس از تأیید دامپزشک گله، دام‌های دارای متریت در نظر گرفته شدند. برای تشخیص اندومتریت بالینی، در روز ۲۸ پس از زایش، مایع مخاطی ارزیابی شد. گاوهایی که چرک یا مایع مخاطی چرکی داشتند، در دسته گاوهای دارای اندومتریت بالینی قرار گرفتند (Sheldon *et al.*, 2006). مجموع گاوهایی که به دلیل متریت و اندومتریت تحت درمان قرار گرفتند، دام‌های دارای عفونت رحمی در نظر گرفته شدند. لنگش، با روش نمره‌دهی چشمی از ۱ تا ۵ درجه‌بندی شد و شمارگاوهایی که به دلیل لنگش درمان شدند، ثبت شد (Archer *et al.*, 2010).

آنالیز آماری

پیوگلیتازون پس از زایش، $Pak_{(k=2,3 \text{ and } 4)}$: اثر ثابت k آمین شکم زایش، $b(m_{ijk} - \bar{m})$: اثر عامل همبسته تولید شیر و e_{ijkl} : اثر عوامل باقیمانده است.

داده‌های مربوط به تخمک‌ریزی در هفته‌های مختلف و بیماری‌های پس از زایش با نرم‌افزار SAS و رویه GENMOD و به‌صورت رگرسیون لجستیک واکاوی شدند. افزون بر اثر اصلی، شکم زایش به‌عنوان عامل قابل دسته‌بندی و میانگین تولید شیر در مدت آزمایش به‌عنوان عامل همبسته در مدل گنجانده شد. برای مقایسه متوسط روز تخمک‌ریزی بین تیمارها، رویه GLM به کار برده شد. مدل آماری چنین بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + (A \times B)_{ij} + PA_k + b(m_{ijk} - \bar{m}) + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} : مقدار هر مشاهده، μ : اثر میانگین، A_i ($i=1 \text{ and } 2$):

اثر ثابت i آمین سطح مصرف پیوگلیتازون پیش از زایش، B_j ($j=1 \text{ and } 2$): اثر ثابت j آمین سطح مصرف پیوگلیتازون پس از زایش، $(A \times B)_{ij}$: برهم‌کنش i آمین سطح پیوگلیتازون پیش از زایش در j آمین سطح از

نتایج

تخمک‌ریزی پس از زایش

پیوگلیتازون در دوره پس از زایش به‌صورت معناداری سبب بهبود کنش‌های تخمدان و تخمک‌ریزی شد (جدول ۱). تغذیه پیوگلیتازون پس از زایش میانگین روز نخستین تخمک‌ریزی (مشاهده جسم زرد) را کاهش داد ($P < 0.02$). افزون بر این، درصد گاوهایی که در ۱۴ روز نخست پس از زایش تخمک‌ریزی کردند، تحت تأثیر تغذیه پیوگلیتازون در دوره پس از زایش بود ($P < 0.03$). تغذیه پیوگلیتازون بر نرخ تخمک‌ریزی تا روزهای ۲۱ و ۲۸ پس از زایش تأثیر نداشت ($P > 0.05$) (جدول ۲).

جدول ۱. تأثیر مصرف پیوگلیتازون (PGT) پیش از زایش و پس از زایش بر روز نخستین تخمک‌ریزی و شمار و درصد گاوهای

تخمک‌ریزی کرده

میانگین روز تخمک‌ریزی	تخمک‌ریزی ≥ 28 روز	تخمک‌ریزی ≥ 21 روز	تخمک‌ریزی ≥ 14 روز	
۱۸/۲۷	۸۰٪ (۱۶/۲۰)	۶۵٪ (۱۳/۲۰)	۴۰٪ (۸/۲۰)	PGT(+/+)
۲۱/۰۰	۷۵٪ (۱۵/۲۰)	۶۰٪ (۱۲/۲۰)	۱۵٪ (۳/۲۰)	PGT(+/-)
۱۹/۶۸	۸۰٪ (۱۶/۲۰)	۷۰٪ (۱۴/۲۰)	۳۰٪ (۶/۲۰)	تیمارها PGT (-/+)
۲۳/۰۵	۸۵٪ (۱۷/۲۰)	۴۵٪ (۹/۲۰)	۱۵٪ (۳/۲۰)	PGT (-/-)
۱/۲۹	۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۱۱	خطای استاندارد
۰/۱۹	۰/۵۷	۰/۶۴	۰/۶۰	اثر PGT پیش از زایش
۰/۰۲	۰/۹۵	۰/۱۷	۰/۰۳	اثر PGT پس از زایش
۰/۷۷	۰/۵۷	۰/۳۶	۰/۶۹	برهم‌کنش PGT پیش و پس از زایش

PGT(+/-) = تغذیه پیوگلیتازون پیش و پس از زایش؛ PGT(+/-) = تغذیه پیوگلیتازون تنها پیش از زایش؛ PGT(-/+)= تغذیه پیوگلیتازون تنها پس از زایش؛

PGT(-/-) = تغذیه بدون پیوگلیتازون پیش و پس از زایش.

جدول ۲. تأثیر مصرف پیوگلیتازون (PGT) پیش از زایش و پس از زایش بر بروز بیماری‌ها در دوره پس از زایش در گاوهای هولشتن

تخمدان‌های غیرفعال	تخمدان‌های کیستی	عفونت رحمی	ورم پستان	لنگش	صفات
۵٪ (۱/۲۰)	۵٪ (۱/۲۰)	۵٪ (۱/۲۰)	۱۰٪ (۲/۲۰)	۰٪ (۰/۲۰)	PGT(+/+)
۱۰٪ (۲/۲۰)	۲۰٪ (۴/۲۰)	۱۵٪ (۳/۲۰)	۱۵٪ (۳/۲۰)	۱۰٪ (۲/۲۰)	PGT(+/-)
۱۰٪ (۲/۲۰)	۲۰٪ (۴/۲۰)	۲۰٪ (۴/۲۰)	۲۰٪ (۴/۲۰)	۲۰٪ (۴/۲۰)	تیمارها PGT (-/+)
۵٪ (۱/۲۰)	۲۵٪ (۵/۲۰)	۳۵٪ (۷/۲۰)	۳۰٪ (۶/۲۰)	۲۰٪ (۴/۲۰)	PGT (-/-)
۰/۰۸	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۱	۰/۰۹	خطای استاندارد
۰/۹۹	۰/۴۸	۰/۰۳	۰/۱۵	۰/۰۱	اثر PGT پیش از زایش
۰/۹۵	۰/۰۴۱	۰/۰۸	۰/۳۵	۰/۱۰	اثر PGT پس از زایش
۰/۳۵	۰/۶۹	۰/۸۰	۰/۹۷	۰/۱۰	برهم‌کنش PGT پیش و پس از زایش

PGT(+/-) = تغذیه پیوگلیتازون پیش و پس از زایش؛ PGT(+/-) = تغذیه پیوگلیتازون تنها پیش از زایش؛ PGT(-/+)= تغذیه پیوگلیتازون تنها پس از زایش؛

PGT(-/-) = تغذیه بدون پیوگلیتازون پیش و پس از زایش.

آزادسازی TNF α و افزایش بتااکسیداسیون NEFA می‌شود. از این راه مقاومت به انسولین کاهش می‌یابد (Forman *et al.*, 1995; Kushibiki *et al.*, 2001; Mary & Ram, 2009). افزایش حساسیت به انسولین که با افزایش اثربخشی هورمون رشد بر کبد همراه است (Lucy, 2004)، سبب افزایش تولید IGF-1 می‌شود که کمبود آن تأخیر در تخم‌ریزی را در پی دارد (Esposito *et al.*, 2013)؛ بنابراین، این احتمال وجود دارد که ترکیبات حساس‌کننده بافت‌ها به انسولین با اثر مثبتی که بر سوخت‌وساز گاوهای تازه‌زا می‌گذارند، می‌توانند موجب بهبود فرایندهای رشد و نمو فولیکول و تخم‌ریزی شوند.

از آنجا که بیان گیرنده‌های گامای PPARها در فولیکول‌های رو به رشد روندی افزایشی دارد و تا تشکیل فولیکول چیره ادامه می‌یابد (Froment *et al.*, 2003; Froment *et al.*, 2006)، بخشی از اثر مثبت پیوگلیتازون بر تخم‌ریزی سریع‌تر در را می‌توان به اثر تحریک‌کنندگی پیوگلیتازون بر رشد فولیکول‌های پس از زایش نسبت داد؛ هرچند ممکن است اثر همزمان آن بر بهبود فرایندهای سوخت‌وساز و رشد فولیکول‌ها نیز، شرایط مناسب‌تری را برای تخم‌ریزی فراهم کرده باشد.

فزون بر اثرهای گفته‌شده، افزایش غلظت پلاسمایی FSH بین روزهای سوم تا پنجم پس از زایش سبب آغاز یک موج فولیکولی می‌شود که بین روزهای ۷ تا ۱۰ پس از زایش به تشکیل فولیکولی بزرگ می‌انجامد که می‌تواند شرایط تخم‌ریزی را داشته باشد (Beam & Butler, 1992; Lucy *et al.*, 1999). برقراری دوباره چرخه‌های تخمدانی این اهمیت را دارد که در پی رشد فولیکول‌ها و تولید استرادیول، عفونت‌های رحمی زودتر برطرف می‌شوند، برگشت رحم به حالت طبیعی زودتر رخ می‌دهد و گاو در زمان کوتاه‌تری آماده‌آبستنی پی‌آیند خواهد شد. پژوهش‌های فراوانی نشان دادند گاوهایی که نخستین تخم‌ریزی پس از زایش در آن‌ها زودتر رخ داد، درصد گیرایی و باروری بیشتری در تلقیح‌های پی‌آیند داشتند (Butler *et al.*, 1990; Darwash *et al.*, 1997; Staples *et al.*, 2003). گزارش کردند که تزریق روزانه انسولین، موجب آغاز زودتر چرخه‌های تخمدانی پس از زایش شد؛ بنابراین گفته می‌شود که احتمالاً مهم‌ترین سنجه محدودکننده رشد فولیکول‌ها در نخستین موج فولیکولی، کمبود انسولین

فراسنجه‌های تخمدانی و سلامت دام‌ها

استفاده از پیوگلیتازون در دوره پیش از زایش به‌طور معناداری سبب کاهش لنگش شد ($P < 0.01$). تغذیه پیوگلیتازون در دوره پیش از زایش ($P > 0.15$) و پس از زایش ($P > 0.35$) بر بروز ورم پستان تأثیری نداشت. تغذیه پیوگلیتازون در دوره پیش از زایش ($P < 0.02$) و پس از زایش ($P < 0.08$) درصد گاوهای دچار عفونت‌های رحمی را کاهش داد. تغذیه پیوگلیتازون تا روز ۲۱ پس از زایش درصد گاوهای دارای کیست تخمدانی را کاهش داد ($P < 0.04$)، اما درصد گاوهایی که تخمدان نافع‌ال داشتند، تحت تأثیر پیوگلیتازون قرار نگرفت ($P > 0.05$).

بحث

تخم‌ریزی پس از زایش

در این پژوهش اثر پیوگلیتازون، دارویی ضد دیابت و مؤثر بر سیستم ایمنی، بر تخم‌ریزی و فراسنجه‌های تندرستی گاوهای هولشتن پس از زایش بررسی شد. استفاده از پیوگلیتازون در دوره پس از زایش سبب کاهش میانگین روز تخم‌ریزی و افزایش درصد گاوهایی شد که در دو هفته نخست پس از زایش تخم‌ریزی داشتند. پژوهش‌های پیشین نیز نشان دادند که تزریق انسولین، تغذیه جیره‌های محرک انسولین یا استفاده از ترکیباتی که سبب کاهش مقاومت به انسولین می‌شوند، بهبود تخم‌ریزی و بازدهی تولیدمثل گاوهای شیری را در پی دارد (Butler *et al.*, 2003; Gong *et al.*, 2002; Miyoshi *et al.*, 2001). برخلاف پژوهش کنونی، Smith *et al.* (2009) نشان دادند که تزریق درون‌رگی تیزولیدین‌دایون‌ها برای ۲۵ روز پیش از زایش می‌تواند سبب تحریک تخم‌ریزی پس از زایش شود. در پژوهش کنونی، پیوگلیتازون از ۱۴ روز مانده به زایش به شیوه خوراکی و دوره کوتاه‌تری استفاده شد که می‌تواند از علت‌های ناهم‌خوانی این یافته‌ها باشد.

یافته‌های پژوهش کنونی با یافته‌های Komar *et al.* (2001) که تغذیه تیزولیدین‌دایون‌ها و بایگونوئیدها در موش صحرائی و در پی آن افزایش حساسیت به انسولین، سبب بهبود شرایط تخم‌ریزی شد، هم‌خوانی داشت. سازوکار تیزولیدین‌دایون‌ها از راه اثر بر PPAR- γ است. فعال‌شدن این گیرنده‌ها سبب کاهش تجزیه چربی، کاهش

گاوها پس از زایش کاهش می‌یابد (Zerbe *et al.*, 2000). از این رو، احتمال می‌رود که پیوگلیتازون تأثیر مثبتی بر سیستم ایمنی و سلول‌های ایمنی به‌ویژه نوتروفیل‌ها گذاشته و از این راه کاهش عفونت‌های رحمی و حتی کاهش عفونت‌های مرتبط با ورم پستان را سبب شده باشد. اثر ضد التهابی تیاژولیدین‌دایون‌ها و اثر آن بر بهبود کنش نوتروفیل‌های گاو (Revelo & Waldron, 2010)، و بر کاهش TNF- α در گاوهای شیری تازه‌زا (Schoenberg *et al.*, 2011)، و گاو گوشتی (Kushibiki *et al.*, 2001) نیز گزارش شده است. TNF- α یک سایتوکین التهابی است که می‌تواند مقاومت به انسولین را تشدید کند، مصرف خوراک را کاهش دهد و توازن منفی انرژی را تشدید کند. در پژوهش کنونی، تغذیه پیوگلیتازون پیش از زایش، درصد گاوهای دچار لنگش را کاهش داد. بروز التهاب تأثیر شایانی بر لنگش در گاوهای تازه‌زا دارد (Mulligan & Doherty, 2008)، از این رو احتمالاً اثر ضد التهابی پیوگلیتازون، در کاهش بروز لنگش نیز اثر داشته است.

تغذیه پیوگلیتازون در دوره پس از زایش درصد گاوهای دچار کیست‌های تخمدانی را کاهش داد. در این راستا، بسیاری از بررسی‌های انسانی نیز نشان دادند که مصرف پیوگلیتازون برای درمان دیابت، موجب بهبود نشانگان تخمدان‌های چند کیستی نیز شد (Brettenthaler *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2004). در گاوهای شیری، سطح پایین انسولین پلاسمای خون با ناهنجاری‌هایی مانند بیماری کیست تخمدانی همراه است (Vanholder *et al.*, 2005)، زیرا انسولین و IGF-1 از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های تکثیر سلول‌های گرانولوزا و تولید استروژن هستند (Gutierrez *et al.*, 1997; Spicer & Echtenkamp, 1995). افزون بر این، سطح پایین انسولین سبب افزایش لیپولیز و افزایش سطح پلاسمایی NEFA می‌شود که اثرهای مضر بر کنش سلول‌های گرانولوزا، تولید هورمون‌های جنسی مؤثر بر سرژ LH و تخمک‌ریزی دارند (Vanholder *et al.*, 2005). بنابراین، انسولین و ترکیبات افزایش‌دهنده حساسیت بافت‌ها به آن می‌تواند در کاهش کیست‌های تخمدانی تأثیرگذار باشند.

گفته شده است که عفونت‌های باکتریایی رحمی بر رشد فولیکول‌های پس از زایش و به‌ویژه فولیکول چیره اثر منفی دارند و این اثر از راه کاهش تراوش LH یا اثر

و IGF-1 برای تخمک‌ریزی کمبود LH است (Lucy *et al.*, 1992; Spicer & Echtenkamp, 1995). انسولین حساسیت سلول‌های گرانولوزا را برای تولید استرادیول افزایش می‌دهد (Morimoto *et al.*, 2001)، بنابراین، برهم‌کنش این هورمون‌ها سبب می‌شود گاوهایی که در روزهای آغازین زایش وضعیت متابولیک بهتری داشته باشند، زودتر نیز تخمک‌ریزی کنند (Gong *et al.*, 2002). با توجه به مطالب بیان‌شده و قابلیت پیوگلیتازون در افزایش حساسیت به انسولین، به نظر می‌رسد تخمک‌ریزی سریع‌تر در گاوهایی که پس از زایش با این دارو تیمار شدند، به سبب اثربخشی بیشتر انسولین یا بهبود وضعیت سوخت‌وساز چربی‌های بدن، کاهش آزادسازی چربی‌ها و افزایش مصرف خوراک باشد.

فراسنجه‌های تندرستی

درصد گاوهای تازه‌زایی که دچار عفونت‌های رحمی شده بودند بین ۵ تا ۳۵ درصد بود که در دامنه یافته‌های انتشاریافته است. اگرچه در دو هفته آغازین پس از زایش آلودگی‌های باکتریایی زیاد است (حتی تا ۱۰۰ درصد)، اما پس از آن کاهش می‌یابد. مقدار کاهش آلودگی‌ها که ارتباط نزدیکی با بروز عفونت‌های پس از زایش دارد به توازن بین سطح آلودگی و قدرت دفاعی سیستم ایمنی بستگی دارد (Sheldon & Dobson, 2004). در پژوهش کنونی، تغذیه پیوگلیتازون در دوره پیش و پس از زایش سبب کاهش عفونت‌های رحمی شد. هرچند پژوهشی درباره تأثیر تیاژولیدین‌دایون‌ها بر سیستم ایمنی گاوهای تازه‌زا گزارش نشده است، Revelo & Waldron (2010) نشان دادند که در شرایط برون‌تنی، افزودن تیاژولیدین‌دایون‌ها به محیط کشت نوتروفیل‌های گاوهای شیری پس از زایش سبب کاهش التهاب، کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژنی آسیب‌زننده به بافت‌ها و افزایش ۴۳ درصدی سوپراکسیدهای بین سلولی تولیدشده از نوتروفیل‌ها شد؛ بدون اینکه اثر مضر بر فعالیت میکروبی‌کشی نوتروفیل‌ها داشته باشد. نوتروفیل‌ها نخستین و مهم‌ترین فاگوسایت‌هایی هستند که وارد حفره رحم می‌شوند و باکتری‌ها را از بین می‌برند و در تشکیل چرک نقش دارند (Sheldon & Dobson, 2004). با وجود این، کنش و ظرفیت میکروبی‌کشی نوتروفیل‌ها در بسیاری از

شاخص‌های مرتبط با آن (NEFA و BHBA)، نه تنها می‌تواند پاسخ‌های ایمنی را به شدت کاهش و پاسخ‌های التهابی را افزایش دهد، بلکه بروز بیماری‌های متابولیکی و عفونت‌های رحمی را تشدید می‌کند و تخمک‌ریزی را به تأخیر می‌اندازد. با توجه به نقش اولیه تیازولیدین‌دایون‌ها در کنترل توازن منفی انرژی و بهبود مصرف خوراک، شاید مهم‌ترین دلیل بهبودهای مشاهده‌شده در روند تخمک‌ریزی و کاهش برخی از بیماری‌های پس از زایش مرتبط با همین موضوع باشد؛ هر چند فرایندهای فیزیولوژیک پیچیدگی‌های شایانی دارند و نمی‌توان نتایج را با قطعیت به یک سازه نسبت داد. از این رو، شناخت بهتر اثر تیازولیدین‌دایون‌ها بر ایمنی و سوخت‌وساز گاوهای تازه‌زا، نیازمند بررسی‌های بیشتری است.

نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های این پژوهش نشان دادند که استفاده از پیوگلیتازون به‌عنوان نوعی داروی ضد دیابت می‌تواند سبب تسریع تخمک‌ریزی پس از زایش و کاهش برخی بیماری‌های پس از زایش شود. با وجود این، نمی‌توان به‌طور دقیق بیان کرد که این نتایج در پی اثر مستقیم پیوگلیتازون بر گیرنده‌های آن در سلول‌های ایمنی و فولیکول‌های رو به رشد است یا از اثر مثبت آن بر مصرف خوراک و کاهش شاخص‌های توازن منفی انرژی ناشی می‌شود.

سپاسگزاری

از مدیریت و پرسنل محترم شرکت سرمایه‌گذاری دام‌پروری شیر و گوشت پارس و واحد شیر و گوشت مهدشت برای فراهم‌آوری شرایط اجرا و همچنین از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (شماره طرح ۹۱۰۰۴۲۴۶) و قطب علمی بررسی مشکلات تولیدمثلی گاوهای شیری- دانشگاه شیراز (MJZ) برای حمایت و تأمین هزینه این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

مستقیم بر تخمدان بروز می‌کند. کاهش LH پلاسمایی، با کاهش استرادیول تراوش‌شده از فولیکول‌های رو به رشد همراه است و می‌تواند بروز کسیت‌های تخمدانی را افزایش دهد (Sheldon *et al.*, 2006). با توجه به اینکه عفونت‌های رحمی و همچنین بروز کسیت‌های تخمدانی در اثر تغذیه پیوگلیتازون کاهش یافتند، احتمالاً یکی از دلایل کاهش درصد گاوهای دچار کسیت‌های تخمدانی، بهبود وضعیت سلامت رحم بوده است.

در گوسفند و گاو، گیرنده‌های اختصاصی پیوگلیتازون (PPAR γ) در خلال گامه‌های رشد فولیکول تا تشکیل فولیکول چیره روندی افزایشی دارد (Froment *et al.*, 2006; Froment *et al.*, 2003). از سویی، بیان‌نشدن این گیرنده‌ها در تخمدان موش سبب کاهش نرخ تخمک‌ریزی و باروری می‌شود (Cui *et al.*, 2002). با توجه به اینکه تغذیه پیوگلیتازون در دوره پس از زایش (اثر کوتاه‌مدت) توانست درصد گاوهایی را که زودتر تخمک‌ریزی داشتند، افزایش و درصد گاوهای دچار کسیت تخمدانی را کاهش دهد، به نظر می‌رسد دست‌کم بخشی از این اثرها ناشی از تأثیر مستقیم این دارو بر گیرنده‌های آن در تخمدان و فولیکول‌های رو به رشد باشد.

جدا از همه مسیرهایی که برای توجیه اثر پیوگلیتازون در بهبود تخمک‌ریزی و برخی فراسنجه‌های مرتبط با سلامت بیان شد، باید به این نکته مهم نیز اشاره کرد که هدف اولیه از به‌کارگیری تیازولیدین‌دایون‌ها در گاوهای دوره انتقال، بهبود مقاومت به انسولین بوده است. پژوهش‌های پیشین نشان دادند که تیازولیدین‌دایون‌ها از راه کاهش مقاومت به انسولین، سبب کاهش آزادسازی منابع چربی ذخیره‌ای، بهبود مصرف خوراک و کاهش توازن منفی انرژی می‌شوند (Schoenberg *et al.*, 2011; Smith *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2009). Esposito *et al.* (2013) در پی مرور گزارش‌های انتشاریافته به بررسی رابطه بین توازن منفی انرژی، بیماری‌های متابولیکی، سلامت رحم و پاسخ‌های ایمنی در گاوهای دوره انتقال پرداختند و نتیجه‌گیری کردند که توازن منفی انرژی و افزایش

REFERENCES

1. Archer, S. C., Green, M. & Huxley, J. (2010). Association between milk yield and serial locomotion score assessments in UK dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(9), 4045-4053.
2. Beam, S. & Butler, W. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 54, 411-424.
3. Bell, A.W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, 73(9), 2804-2819.

4. Bonczek, R., Young, C., Wheaton, J. & Miller, K. (1988). Responses of somatotropin, insulin, prolactin, and thyroxine to selection for milk yield in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 71(9), 2470-2479.
5. Brettenthaler, N., De Geyter, C., Huber, P. R. & Keller, U. (2004). Effect of the insulin sensitizer pioglitazone on insulin resistance, hyperandrogenism, and ovulatory dysfunction in women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(8), 3835-3840.
6. Butler, S. T., Marr, A., Pelton, S., Radcliff, R., Lucy, M. C. & Butler, W. (2003). Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *Journal of Endocrinology*, 176(2), 205-217.
7. Butler, W. (1998). Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 81(9), 2533-2539.
8. Cui, Y., Miyoshi, K., Claudio, E., Siebenlist, U. K., Gonzalez, F. J., Flaws, J., Wagner, K. U. & Hennighausen, L. (2002). Loss of the peroxisome proliferation-activated receptor gamma (PPARgamma) does not affect mammary development and propensity for tumor formation but leads to reduced fertility. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(20), 17830-17835.
9. Darwash, A., Lamming, G. & Wooliams, J. (1997). The phenotypic association between the interval to post-partum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. *Animal Science*, 65(01), 9-16.
10. Esposito, G., Irons, P. C., Webb, E. C. & Chapwanya, A. (2013). Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 144(3-4), 60-71.
11. Forman, B. M., Tontonoz, P., Chen, J., Brun, R. P., Spiegelman, B. M. & Evans, R. M. (1995). 15-Deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. *Cell*, 83(5), 803-812.
12. Froment, P., Fabre, S., Dupont, J., Pisselet, C., Chesneau, D., Staels, B. & Monget, P. (2003). Expression and functional role of peroxisome proliferator-activated receptor- γ in ovarian folliculogenesis in the sheep. *Biology of Reproduction*, 69(5), 1665-1674.
13. Froment, P., Gizard, F., Defever, D., Staels, B., Dupont, J. & Monget, P. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptors in reproductive tissues: from gametogenesis to parturition. *Journal of Endocrinology*, 189(2), 199-209.
14. Gong, J., Lee, W., Garnsworthy, P. & Webb, R. (2002). Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction*, 123(3), 419-427.
15. Gutierrez, C. G., Campbell, B. K. & Webb, R. (1997). Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: induction and maintenance of estradiol production, response to follicle-stimulating hormone, and morphological characteristics. *Biology of Reproduction*, 56(3), 608-616.
16. Kelton, D. F., Lissemore, K. D. & Martin, R. E. (1998). Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 81(9), 2502-2509.
17. Komar, C. M., Braissant, O., Wahli, W. & Curry Jr, T. E. (2001). Expression and localization of PPARs in the rat ovary during follicular development and the periovulatory period. *Endocrinology*, 142(11), 4831-4838.
18. Kushibiki, S., Hodate, K., Shingu, H., Ueda, Y., Shinoda, M., Mori, Y., Itoh, T. & Yokomizo, Y. (2001). Insulin resistance induced in dairy steers by tumor necrosis factor alpha is partially reversed by 2, 4-thiazolidinedione. *Domestic Animal Endocrinology*, 21(1), 25-37.
19. Lucy, M. (2004). Mechanisms linking the somatotrophic axis with insulin: Lesson from the postpartum dairy cow. *Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production*, 64, 19-23.
20. Lucy, M., Staples, C., Thatcher, W., Erickson, P., Cleale, R., Firkins, J., Clark, J., Murphy, M. & Brodie, B. (1992). Influence of diet composition, dry-matter intake, milk production and energy balance on time of post-partum ovulation and fertility in dairy cows. *Animal Production*, 54(03), 323-331.
21. Mary, L. & Ram, S.M. (2009). Initiation of the expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) in the rat ovary and the role of FSH. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 7(145)1-8.
22. Miyoshi, S., Pate, J. & Palmquist, D. (2001). Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 68(1-2), 29-43.
23. Morimoto, S., Cerbon, M. A., Alvarez-Alvarez, A., Romero-Navarro, G. & Díaz-Sánchez, V. (2001). Insulin gene expression pattern in rat pancreas during the estrous cycle. *Life Sciences*, 68(26), 2979-2985.
24. Mulligan, F. & Doherty, M. (2008). Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*, 176(1), 3-9.
25. NRC-National Research Council, Nutrient requirements of dairy cattle, seventh revised ed. (2001). *National Academic Press, Washington, DC, USA*.

26. Radcliff, R., McCormack, B., Crooker, B. & Lucy, M. (2003). Plasma hormones and expression of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86(12), 3920-3926.
27. Revelo, X. & Waldron, M. (2010). Effects of in vitro insulin and 2, 4-thiazolidinedione on the function of neutrophils harvested from blood of cows in different physiological states. *Journal of Dairy Science*, 93(9), 3990-4005.
28. Schillo, K. K. (1992). Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, 70(4), 1271-1282.
29. Schoenberg, K., Perfield, K., Farney, J., Bradford, B., Boisclair, Y. & Overton, T. (2011). Effects of prepartum 2, 4-thiazolidinedione on insulin sensitivity, plasma concentrations of tumor necrosis factor- α and leptin, and adipose tissue gene expression. *Journal of Dairy Science*, 94(11), 5523-5532.
30. Sheldon, I. & Dobson, H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science*, 82, 295-306.
31. Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S. & Gilbert, R. O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516-1530.
32. Smith, K., Butler, W. & Overton, T. (2009). Effects of prepartum 2, 4-thiazolidinedione on metabolism and performance in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92(8), 3623-3633.
33. Smith, K., Stebulis, S., Waldron, M. & Overton, T. (2007). Prepartum 2, 4-thiazolidinedione alters metabolic dynamics and dry matter intake of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(8), 3660-3670.
34. Spicer, L. & Echternkamp, S. (1995). The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology*, 12(3), 223-245.
35. Staples, C., Thatcher, W. & Clark, J. (1990). Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 73(4), 938-947.
36. Tang, T., Norman, R. J., Balen, A. H. & Lord, J. M. (2008). Insulin-sensitising drugs (metformin, troglitazone, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 36(5), 2015-2026 .
37. Vanholder, T., Leroy, J., Dewulf, J., Duchateau, L., Coryn, M., Kruif, A. & Opsomer, G. (2005). Hormonal and metabolic profiles of high-yielding dairy cows prior to ovarian cyst formation or first ovulation post partum. *Reproduction in Domestic Animals*, 40(5), 460-467.
38. Zerbe, H., Schneider, N., Leibold, W., Wensing, T., Kruip, T. & Schuberth, H. (2000). Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. *Theriogenology*, 54(5), 771-786.