

ارتباط بین برخی از فاکتورهای خونی، غلظت فاکتور نکروز کننده تومور آلفا و ناهنجاری‌های متابولیکی طی دوره انتقال در گاوهای هلشتاین

• فیروزه محسنی

گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

• بهرام شهره (نویسنده مسئول)

گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

• عیسی دیرنده

گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

• زریخت انصاری پیرسرایی

گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵-۰۸-۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۸-۱۱

Email: Dirandeh@gmail.com



چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی ارتباط بین برخی از فاکتورهای خونی، فاکتور نکروز کننده تومور آلفا (TNF- α) و ناهنجاری‌های متابولیکی طی دوره انتقال در گاوهای هلشتاین بود. بدین منظور ۵۰ رأس گاو هلشتاین آبستن با نمره وضعیت بدنی $3/5 \pm 0/75$ و نوبت زایش سوم انتخاب شدند. خون‌گیری از دو هفته قبل از زایش تا دو هفته پس از زایش به صورت هفتگی انجام شد و غلظت پلاسمایی اسیدهای چرب غیراستریفه (NEFA)، بتا هیدروکسی بوتیرات (BHBA) و مقدار فعالیت آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در نمونه‌ها اندازه‌گیری و دام‌ها بر مبنای نتایج حاصل به دو گروه سالم و دارای ناهنجاری متابولیک تقسیم شدند. نتایج نشان داد غلظت پلاسمایی TNF- α در گاوهای دارای ناهنجاری متابولیک بیشتر از گاوهای سالم بود ولی بالعکس غلظت پلاسمایی انسولین و گلوکز در گاوهای دارای ناهنجاری متابولیک کمتر از گاوهای سالم بود. تاثیر زمان بر غلظت پلاسمایی گلوکز معنی‌دار بود به طوری که غلظت آن در هر دو گروه تا زمان زایش افزایش و سپس تا روز ۱۴+ کاهش یافت. غلظت پلاسمایی گلوکز در روز ۷+ و ۱۴+ در گاوهای سالم بیشتر از گاوهای دارای ناهنجاری متابولیک بود. غلظت پلاسمایی فاکتور نکروز کننده تومور آلفا در کل دوره پژوهش در گاوهای بیمار بیشتر از گاوهای سالم بود. به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد با توجه به غلظت بیشتر فاکتور نکروز کننده تومور آلفا قبل از زایش در گاوهای مستعد به ناهنجاری‌های متابولیک، اندازه‌گیری غلظت فاکتور نکروز کننده تومور آلفا قبل از زایش می‌تواند در شناخت گاوهای مستعد ابتلا به ناهنجاری‌های متابولیک و استفاده از راهکارهای مناسب برای کاهش شدت وقوع آن کمک کند.

کلمات کلیدی: فاکتور نکروز کننده تومور آلفا، کبد چرب، کتون، گلوکز، گاو هلشتاین

- Veterinary Researches & Biological Products No 116 pp: 147-153

Association between blood metabolites, tumor necrosis factor alpha concentrations and metabolic disorders in Holstein cows during transition period

By: Mohseni, F., Department of Animal Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Shohreh, B. (Corresponding Author), Department of Animal Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Dirandeh, E., Department of Animal Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. and Ansari Pirsaraei, Z., Department of Animal Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

Email: Dirandeh@gmail.com

Received: 2016-10-22 Accepted: 2016-11-01

The objectives of present study was to evaluate the association among blood metabolites, tumor necrosis factor (TNF)-alpha and metabolic diseases in Holstein cows during transition period. Pregnant multiparous Holstein cows (N = 50), with body condition scores (BCS) 3.5 ± 0.75 and third parity were selected. Blood samples were collected weekly from 2 week prior to calving to 2 weeks after calving to determine plasma concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA), beta-Hydroxyl butyrate acid (BHBA) and activity of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) enzymes. According to above parameters cows divided into healthy (N = 10) and diseases cow (n= 10) and plasma concentrations of glucose, insulin and TNF- α compared weekly from 2 week prior to calving to 2 weeks after calving. Results showed cows with metabolic disorders had higher plasma concentrations of NEFA, BHBA, AST and TNF-alpha compared to healthy cows ($P < 0.05$) but conversely plasma concentrations of glucose and insulin were lower in cows with metabolic disorders compared to healthy cows ($P < 0.05$). Plasma glucose concentration affected by time and increased from -14 to calving in both treatments and after that decreased until d +14. Glucose concentrations at d +7 and +14 were greater in healthy cows compared to cows with metabolic disorders. Plasma TNF- α concentration were greater in cows with metabolic disorders compared to healthy cows during whole experiment. In conclusion due to greater TNF- α concentration in cows with metabolic disorders before calving, using this item could be useful to predict cows suspicious to metabolic disorders after calving therefore we can use suitable strategies to prevent or decreased incidence of metabolic disorders.

Key words: Fatty liver, Glucose, Holstein cow, Ketosis, Tumor necrosis factor alpha

مقدمه

در بسیاری از گاو‌داری‌های شیری صنعتی، عواملی که باعث افزایش حذف و کاهش راندمان گله می‌شود ممکن است در کنترل مدیریت آن واحدها نباشند. کنترل و ممانعت از ابتلای گاوهای شیری به برخی از ناهنجاری‌های متابولیکی و عفونی همچون کبد چرب، کتوز، لنگش، ورم پستان و اندومتريت تاثیرات بسزایی در افزایش راندمان تولید شیر، سلامت عمومی و در نهایت راندمان تولیدمثلی گله دارد (۱۳). دوره انتقال در گاو شیری (سه هفته پیش تا سه هفته پس از زایش) با تغییر قابل توجه در وضعیت هورمونی حیوان از جمله افزایش غلظت کورتیزول، استروژن، اسیدهای چرب غیراستریفه (NEFA)، بتاهیدروکسی بوتیرات (BHBA)، کاهش گلوکز، انسولین، پروژسترون و کاهش سطح ایمنی

همراه بوده (۱۱، ۱۳، ۵) و دوره‌ای چالش‌زا برای گاو شیری محسوب می‌شود. در دوران پس از زایش و اوایل شیردهی میزان جابه جایی و انتقال چربی‌ها و چگونگی استفاده از آن به عنوان سوخت متابولیکی یک فاکتور کلیدی برای ابتلا به ناهنجاری‌های متابولیکی یا بیماری‌های عفونی می‌باشد. آزاد شدن اسیدهای چرب استریفه نشده از کبد و عملکرد دستگاه ایمنی و همچنین تولید محصولات پیش التهابی همچون سایتوکین‌ها (فاکتور نکروزه کننده تومور آلفا (TNF- α) و اینترلوکین ۱ و ۶) باعث ایجاد التهابات سیستمیک و گسترده و ضعف سیستم ایمنی گاوها در دوران پس از زایش می‌شوند. بسیج شدید ذخایر چربی موجب تجمع تری‌گلسیرید در کبد می‌شود که گلوکونئوز را در گاو کاهش می‌دهد و حیوان را مستعد ابتلا به سایر اختلالات متابولیکی می‌نماید (۶).

خونی، فاکتور نکروز کننده تومور آلفا و وقوع ناهنجاری‌های متابولیکی طی دوره انتقال در گاوهای شیری بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در شرکت شیر و گوشت مهدشت ساری انجام شد. بدین منظور ۵۰ رأس گاو هلشتاین پرتولید آبستن با نوبت زایش سوم بر اساس تاریخ احتمالی زایش، سوابق تولیدمثلی، رکورد پیشین و نمره و وضعیت بدنی (BCS) انتخاب شدند. گاوها با یک جیره کاملا مخلوط (TMR Mixed Ration) فرموله شده مطابق توصیه NRC تغذیه شدند. گاوها پس از زایش سه نوبت در روز (۷ صبح، ۳ بعدازظهر و ۱۱ شب) دوشیده شدند. مجموع شیر سه نوبت به عنوان تولید روزانه در نظر گرفته شد.

در روزهای -۱۴، -۷، ۰، (روز زایش)، +۷ و +۱۴ ساعت ۹ صبح (سه ساعت پس از خوراک صبحگاهی) از سیاهرگ دمی خونگیری شد (نمونه‌های خون بلافاصله برای ۱۵ دقیقه و با ۳۰۰۰ دور (g1۰۰۰) در دقیقه سانتریفیوژ شدند) و پلاسما حاصل در دمای -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (RA ۱۰۰۰، شرکت تکنیکون، آمریکا) آنالیز شدند. غلظت NEFA با کیت (Randox Laboratories، انگلستان)، BHBA با کیت (Abbott Diabetes Care، انگلستان)، گلوکز با کیت (پارس آزمون، ایران)، SGOT با کیت (پارس آزمون، ایران)، SGPT با کیت (پارس آزمون، ایران)، انسولین اندازه‌گیری شد.

ناهنجاری‌های متابولیکی شامل تب شیر، هیپوکلسیمی، جابه جایی شیردان، کتوز و کبد چرب به دقت در طول دوره آزمایش ثبت خواهند شدند. گاوهایی که در ۷۲ ساعت پس از زایش علائمی از جمله بی‌حالی، تلوئلو خوردن، علائم عصبی، درجانی از گیجی با گوش‌های سرد را نشان می‌دهند به عنوان گاوهای مبتلا به تب شیر شناخته خواهند شد. جفت مانده به گاوهایی اطلاق می‌شود که در ۱۲ ساعت اول پس از زایش

(۱۳). علاوه بر این به واسطه تجمع بیش از حد تری‌گلیسرید در سلول‌های کبدی، کنش طبیعی این سلول‌ها مختل می‌شود. افزایش بیش از حد حجم سلول‌های کبدی در پی ذخیره‌ی بیش از اندازه چربی نیز می‌تواند موجب آسیب دیدن غشای سلول و پارگی آن و در نتیجه افزایش غلظت آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در خون شود (۱۸).

التهاب حلقه‌ای گمشده در آسیب شناسی ناهنجاری‌های متابولیک در گاو شیری است (۵، ۷). آثار متابولیک التهاب سیستمی حاد شامل بسیج بافت چربی، تجزیه گلیکوژن کبد و تجمع چربی در کبد همگی در دوره انتقال رخ می‌دهد. به طور اختصاصی، سیتوکین‌ها تجزیه ذخایر چربی را از طریق کاهش مصرف خوراک، تشدید مقاومت به انسولین و تحریک مستقیم تجزیه چربی (۱۴، ۱۵) افزایش می‌دهد. همه این شرایط با وقوع کتوز و کبد چرب همراه است (۱۱). همچنین شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد فاکتور نکروز کننده تومور آلفا تولید گلوکز در کبد را کاهش می‌دهد و سبب افزایش تجمع چربی در کبد می‌شود (۵، ۹، ۱۴). آثار مستقیم سیتوکین‌ها بر سوخت و ساز کبد ممکن است نقشی کلیدی در افزایش وقوع ناهنجاری‌های متابولیک در دوره انتقال داشته باشد به‌ویژه سیتوکین‌های که با ناهنجاری‌های عفونی یا افزایش نمره وضعیت بدنی در ارتباط است.

به دلیل اهمیت این ناهنجاری‌های متابولیکی و درگیر شدن پستان و البته دستگاه تولیدمثلی گاوها، به نظر می‌رسد که یافتن متغیرهایی قبل از زایش و بررسی آن‌ها و اندازه‌گیری این متغیرها پس از زایش و فهم تغییرات برخی از فاکتورهای خونی در سیستم ایمنی گاوهای شیری و یافتن الگویی مناسب جهت پیش‌بینی ابتلای گاوها به این ناهنجاری‌های متابولیکی می‌تواند بسیار مفید و البته کاربردی در سطح دامداری‌های صنعتی کشور باشد و در نهایت سبب کاهش بروز ناهنجاری‌های متابولیکی شود. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی ارتباط بین برخی از فاکتورهای

جدول ۱- غلظت NEFA، BHBA، AST، ALT، TNF- α ، گلوکز و انسولین (\pm خطای استاندارد) در گاوهای سالم و گاوهای بیمار (دارای ناهنجاری متابولیک)

انسولین (نانوگرم در میلی لیتر)	گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	TNF- α (نانوگرم در میلی لیتر)	ALT (واحد در لیتر)	AST (واحد در لیتر)	BHBA (میلی مول در لیتر)	NEFA (میلی مول در لیتر)	
۰/۲۰ \pm ۰/۰۶	۶۳/۶۵ \pm ۱/۱۹	۱/۴۰ \pm ۰/۰۳	۱۷/۶۸ \pm ۰/۸۳	۱۰۶/۶۳ \pm ۵/۷۹	۱/۶۲ \pm ۰/۲۴	۰/۷۳ \pm ۰/۰۲	دام‌های بیمار
۰/۴۱ \pm ۰/۰۳	۷۱/۱۲ \pm ۲/۰۱	۱/۰۲ \pm ۰/۰۳	۱۸/۵۸ \pm ۰/۶۳	۷۵/۵۶ \pm ۵/۷۹	۰/۵۴ \pm ۰/۱۴	۰/۲۷ \pm ۰/۰۱	دام‌های سالم
۰/۰۱	۰/۰۰۵	۰/۰۱	۰/۶۵	۰/۰۶	۰/۰۱	۰/۰۱	P value

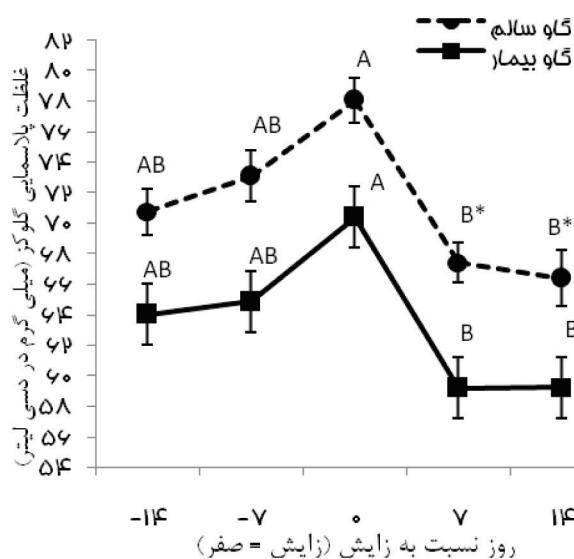
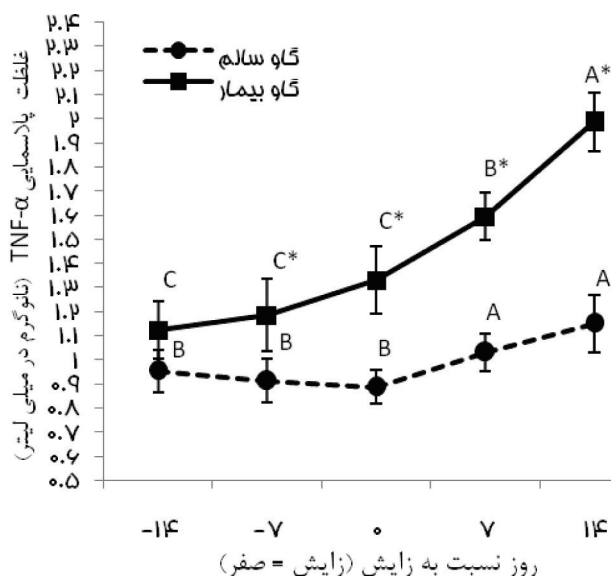
NEFA= اسیدهای چرب غیراستریفه، BHBA= بتا‌هیدروکسی بوتیرات، AST= آسپاراتات آمینوترانسفراز، ALT= آلانین آمینوترانسفراز، TNF- α = فاکتور نکروز کننده تومور آلفا.

نتایج

غلظت پلاسمایی NEFA (میلی مول در لیتر)، BHBA (میلی مول در لیتر)، AST (واحد در لیتر)، ALT (واحد در لیتر)، TNF- α (نانوگرم در میلی لیتر)، گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) و انسولین (نانوگرم در میلی لیتر) در جدول ۱ گزارش شده است. نتایج نشان داد غلظت پلاسمایی BHBA، NEFA و مقدار فعالیت آنزیم AST، به عنوان شاخص‌هایی از وضعیت سوخت‌وساز کبدی در گاوهای دارای ناهنجاری متابولیک بیشتر از گاوهای سالم بود ولی مقدار فعالیت آنزیم ALT تفاوتی بین گاوهای سالم و بیمار نداشت. غلظت پلاسمایی انسولین و گلوکز در گاوهای سالم بیشتر از گاوهای بیمار بود (جدول ۱) ولی غلظت پلاسمایی TNF- α در گاوهای بیمار بیشتر از گاوهای سالم بود.

نتایج نشان داد تاثیر زمان بر غلظت پلاسمایی گلوکز معنی‌دار بود به طوری که غلظت آن در هر دو گروه تا زمان زایش افزایش و سپس از روز زایش تا روز ۱۴+ کاهش یافت ($P < 0.05$). غلظت گلوکز در روزهای +۷ و +۱۴ در گاوهای سالم بیشتر از گاوهای بیمار بود ($P < 0.05$). غلظت پلاسمایی TNF- α نیز تحت تاثیر زمان قرار گرفت ($P = 0.03$) و در گاوهای بیمار روندی افزایشی داشت. غلظت پلاسمایی TNF- α در روزهای -۱۴، -۷، ۰، +۷ و +۱۴ در گاوهای بیمار بیشتر از گاوهای سالم بود ($P < 0.05$ ، شکل ۱).

لایه‌های جنینی در فرج، مهبل و رحم در بررسی‌های مهبل قابل مشاهده باشد و در ۱۲ ساعت پس از زایش جفتشان خارج نشود. گاوهای با غلظت کلسیم کمتر از ۸ میلی‌گرم در دسی لیتر سرم در روز ۱، ۷ و ۱۴ پس از زایش به عنوان گاوهای دارای هیپوکالسمی مشخص شدند. جابه‌جایی شیردان به صورت کاهش در تولید شیر و اشتها و شنیدن یک صدای زنگی در زمان ضربه زدن بین دنده‌های ۹ و ۱۲ در سمت راست یا چپ حفره شکمی تعریف می‌شوند (۱۷). در دوره پس از زایش دام‌هایی در گروه کتوز تحت بالینی قرار گرفتند که همزمان غلظت NEFA در خون بیشتر از ۰/۷ میلی‌مول در لیتر و غلظت BHBA بیشتر از ۱/۲ میلی‌مول در لیتر داشتند، همچنین گاوهای که در هفته اول پس از زایش غلظت NEFA خون آن‌ها بیشتر از ۰/۷ میلی‌مول در لیتر بود و همچنین مقدار فعالیت آنزیم AST در آن‌ها بیشتر از ۱۰۰ واحد در لیتر بود به عنوان گاوهای دارای کبد چرب در نظر گرفته شدند. سپس بر مبنای شاخص‌های سلامت پس از زایش دام‌ها به دو گروه هشت راسی سالم و بیمار تقسیم شدند و غلظت گلوکز و فاکتور نکروزکننده تومور آلفا به عنوان شاخصی از سیستم ایمنی در فاصله سه هفته قبل از زایش تا دو هفته پس از زایش به صورت هفتگی در این دام‌ها مقایسه شد. داده‌های حاصل با استفاده از آزمون t آنالیز شدند. آنالیز زمان نیز با رویه MIXED نرم‌افزار SAS ورژن ۹/۲ انجام شد.



شکل ۱- غلظت پلاسمایی گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) و فاکتور نکروزکننده تومور آلفا (نانوگرم در میلی لیتر) از دو هفته قبل از زایش تا دو هفته پس از زایش در گاوهای سالم و بیمار (دارای ناهنجاری متابولیک). abc نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) بین زمان‌های مختلف بود و * نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین گاوهای سالم و بیمار در آن روز خاص بود.

بحث

اینترفرون-آلفا (نوعی سیتوکین) به صورت روزانه و طی دو هفته انتهایی آبستنی برای تحریک التهاب رحمی و آزادسازی پروتئین‌های فاز حاد در مقایسه با گروه کنترل سبب افزایش غلظت کتون پلازما طی دو هفته اول پس از زایش شد (۲۲) همچنین تزریق زیرپوستی فاکتور نکروز کننده تومور آلفا به مدت هفت روز مقدار تری گلیسرید جگر را در اواخر شیردهی دوبرابر کرد (۵). این شواهد همگی اثبات می‌کند که التهاب سوخت و ساز طبیعی بدن را مختل می‌کند، زیرا هر دو تیمار بالا با این وجود که در دوز کم و کوتاه مدت استفاده شدند به ترتیب سبب افزایش کتوز و کبدچرب شد. بر پایه تغییرات متابولیکی که طی التهاب حاد اتفاق می‌افتد، سیتوکین‌های موجود در پلازما می‌توانند سبب تحریک کاهش وزن شوند. شرایطی مانند التهاب، عفونت و سرطان که به طور معمول با افزایش تولید سیتوکین‌ها در ارتباط است با بی‌اشتهایی و کاهش وزن در ارتباط است. تجزیه پروتئین‌های ماهیچه و لیپولیز به‌وسیله سیتوکین‌های پیش التهابی میانجی‌گری می‌شود. این سیتوکین‌ها بخشی از شبکه‌ای هستند که تجزیه پروتئین‌های ماهیچه و لیپولیز را با ساخت پروتئین‌های فاز حاد در کبد مرتبط می‌کند (۳،۴،۶). شواهد جدید نشان می‌دهد کنش ایمنی با مفره وضعیت بدنی در ارتباط است و گاوهای چاق در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به التهاب، عفونت و ناهنجاری‌های متابولیک هستند. این دام‌ها در زمان ورود به دوره توازن منفی انرژی ذخیره چربی بیشتری داشته در نتیجه غلظت‌های بیشتری از NEFA و اجسام کتونی در خون داشته همچنین تجمع تری گلیسرید در کبد این گاوها بیشتر بود. (۱۰). فزون بر متغیرهای مرتبط با انرژی گاوهای چاق به احتمال سطوح بالاتری از تنش اکسیداتیو را تجربه می‌کنند در نتیجه در معرض التهاب بیشتری بوده و کنش ایمنی در آنها ناقص است (۱۶). یکی از سازگاری‌ها در مقابل افزایش ورود NEFA به جگر در اوایل دوره شیردهی افزایش ظرفیت اکسیداسیون پراکسیزومی است مسیری جایگزین برای اکسیداسیون اسیدهای چرب. افزایش اکسیداسیون پراکسیزومی، ظرفیت اکسیداسیون کلی سلول را افزایش داده ولی اولین گامه در این مسیر تولید پراکسید هیدروژن به‌جای NADH است (۷) در نتیجه در مقایسه با اکسیداسیون میتوکندریایی ROS بیشتری تولید می‌کند. افزایش تولید ROS همراه با افزایش غلظت NEFA، تشکیل پراکسیدهای لیپیدی را افزایش می‌دهد. انتقال از گامه آبستنی به شیردهی و مفره وضعیت بدنی زیاد با افزایش شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی در پلازما در ارتباط هستند (۳). پراکسیدهای لیپیدی آبخار التهابی را فعال کرده که به نوبه خود سوخت و ساز مواد مغذی را تغییر می‌دهد. فزون بر این، ROS برای سلول‌های ایمنی مضر بوده و می‌توانند توانایی سلول‌های ایمنی در پاسخ به عفونت را کاهش دهند (۲۰). ROS می‌توانند با شروع پراکسیداسیون لیپیدی سبب آسیب سلولی به بافت شوند. سلول‌های ایمنی به این دلیل وجود غلظت زیاد اسیدهای چرب غیراشباع در غشای خود به تنش‌های اکسیداتیو حساس هستند و زمانی که تحریک می‌شوند مقادیر زیادی ROS تولید می‌کنند (۲۰). ترکیباتی که بتوانند غلظت لیپید در کبد را کاهش دهند ممکن است با کاهش مقدار اسیدهای چرب در دسترس برای پراکسیداسیون تنش اکسیداتیو را مهار کنند. تنش اکسیداتیو بیشتر می‌تواند کنش گلبول‌های سفید را مختل کرده و همچنین آسیب‌های التهابی به بافت‌های تولیدی

در پژوهش حاضر غلظت پلاسمایی NEFA و BHBA در گاوهای بیمار بیشتر از گاوهای مریض بود که با پژوهش‌های پیشین (۳،۲، ۱۰، ۱۵، ۱۹) مطابقت داشت. NEFA و BHBA محصولات کاتابولیسم چربی بوده که می‌توانند انرژی را برای بدن تامین کنند. افزایش این دو ترکیب در بدن شاخصی از توازن منفی انرژی بوده و نشان دهنده بسیج مقدار زیادی چربی می‌باشد (۲). بتا اکسیداسیون NEFA به‌طور عمده در جگر رخ داده و افزایش قابل توجه آن سبب تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و توسعه تنش اکسیداتیو می‌شود (۱۹) در نتیجه در سوخت و ساز گلوکز در جگر دخالت کرده و سبب تجمع چربی و ایجاد ناهنجاری‌های متابولیک می‌شود.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد مقدار فعالیت آنزیم AST در گاوهای بیمار بیشتر از گاوهای مریض بود ولی مقدار فعالیت آنزیم ALT تفاوتی بین گاوهای سالم و بیمار نداشت. افزایش بیش از حد حجم سلول‌های کبدی در پی ذخیره بیش از اندازه چربی می‌تواند موجب آسیب دیدن غشای سلول و پارگی آن و در نتیجه افزایش غلظت AST و GGT در خون شود. این دو آنزیم، آنزیم‌های درون سلولی موجود در کبد، ماهیچه، و سلول‌های با فعالیت متابولیکی شدید هستند که در پی جراحت یا مرگ سلولی در جریان خون آزاد می‌شوند. حداکثر فعالیت آنزیم AST در هفته اول پس از زایش بوده و با افزایش روزهای شیردهی کاهش می‌یابد (۲۱). گزارش شده است بر خلاف AST، مقدار فعالیت ALT در سلول‌های جگر نشخوارکنندگان، اسب و خوک معنی‌دار نیست و حتی در حالت آسیب بافتی یا نکروز مقدار فعالیت آن معنی‌دار نیست در نتیجه استفاده از این شاخص برای تشخیص کبدچرب و کتوز خیلی مفید به نظر نمی‌رسد (۱۸).

در پژوهش حاضر غلظت پلاسمایی فاکتور نکروزکننده تومور آلفا در گاوهای دارای کبد چرب و کتوز بیشتر از گاوهای سالم بود همچنین با انجام زایش در گاوهایی که مستعد ناهنجاری متابولیک روندی افزایشی نشان داد. در تایید نتایج پژوهش حاضر گالواوو و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند بیان ژن فاکتور نکروزکننده تومور آلفا در هفته اول پس از زایش در گاوهای دارای عفونت نسبت به گاوهای سالم بیشتر بود و طی سه هفته اول پس از زایش افزایش یافت. پژوهش انجام شده طی سال‌های اخیر وجود ارتباط بین میانجی‌گرهای التهابی و ناهنجاری‌های متابولیک را به اثبات رسانده است. غلظت پلاسمایی تعدادی از شاخص‌های التهابی مانند فاکتور نکروزکننده تومور آلفا (۱۳)، هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A در گاوهای دارای کبد چرب افزایش داشت (۱). پژوهش انجام شده در سه گله گاو شیری در ایتالیا نشان داد التهاب کبدی با مشکل در انتقال از آبستنی به شیردهی در ارتباط بود (۴). تقسیم بندی وضعیت التهاب کبدی گاوها بر اساس غلظت پروتئین‌های فاز حاد نشان داد گاوهایی که سطح التهابی در آنها بیشتر بود نسبت به گاوهایی که سطح التهابی در آنها پایین بود هشت برابر بیشتر در معرض خطر ابتلا به یک یا چند ناهنجاری متابولیک بوده، فاصله زایش تا تلقیح طولانی‌تری داشته و در نهایت طی ماه اول شیردهی تولید شیر کمتری داشتند (۴). پژوهش بعدی این شواهد را بیشتر کرد و نشان داد میانجی‌گرهای التهابی به‌طور مستقیم مشکلات متابولیکی را تحریک می‌کنند. تزریق خوراکی

3. Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N and Nardone A (2005) Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 88: 2017-2026.
4. Bertoni G, Trevisi E, Han X and Bionaz M (2008) Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91: 3300-3310.
5. Bradford BJ, Mamedova LK, Minton JE, Drouillard JS and Johnson BJ (2009) Daily injection of tumor necrosis factor- α increases hepatic triglycerides and alters transcript abundance of metabolic genes in lactating dairy cattle. *Journal of Nutrition* 139: 1451-1456.
6. Brickner AE, Pires JA, Gressley TF and Grummer RR (2009) Effects of abomasal lipid infusion on liver triglyceride accumulation and adipose lipolysis during fatty liver induction in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92: 4954-4961.
7. Drackley JK (1999) Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science* 82: 2259-2273.
8. Galvão KN, Santos NR, Galvão JS and Gilbert RO (2011) Association between endometritis and endometrial cytokine expression in postpartum Holstein cows. *Theriogenology* 76: 290-299.
9. García-Ruiz I, Rodríguez-Juan C, Díaz-Sanjuan T, del Hoyo P, Colina F, Muñoz-Yagüe T and Solís-Herruzo JA (2006) Uric acid and anti-TNF antibody improve mitochondrial dysfunction in ob/ob mice. *Hepatology* 44: 581-591.
10. Hammon DS, Evjen IM, Dhiman TR, Goff JP and Walters JL (2006) Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology Immunopathology* 113: 21-29.
11. Ingvarsten KL (2006). Feeding-and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Animal Feed Science and Technology* 126: 175-213.
12. Jiang L, Sorensen P, Rontved C, Vels L and Ingvarsten K (2008) Gene expression profiling of liver from dairy cows treated intra-mammary with lipopolysaccharide. *BMC Genomics* 9: 443.
13. Joksimovic Todorovic M and Davidovic V (2013) Immunosuppression postpartum diseases of dairy cow. *Biotechnology Animal Husbandry* 29: 211-222.
14. Kasimanickam RK, Kasimanickam VR, Olsen JR, Jeffress EJ, Moore DA and Kastelic JP (2013) Associations among serum pro- and anti-inflammatory cytokines, metabolic mediators, body condition, and uterine disease in postpartum dairy cows. *Reproductive Biology and Endocrinology* 11: 103-107.

طی پاسخ ایمنی را افزایش می‌دهد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد غلظت گلوکز و انسولین پلاسما در گاوهای دارای کبد چرب و کتوز کمتر از گاوهای سالم بود که با پژوهش‌های پیشین (۵، ۱۳) تطابق داشت. التهاب کبدی بیشتر از تاثیر بر افزایش وقوع کبد چرب و کتوز ممکن است به صورت مستقیم تولید گلوکز را مختل کند. تزریق زیرپوستی فاکتور نکروز کننده تومور آلفا به مدت هفت روز بیان چندین ژن سازنده گلوکز را کاهش داد (۵). همچنین ورم پستان ناشی از اندوتوکسین‌ها بیان ژن‌های موثر در تولید گلوکز در کبد را کاهش داد (۱۲). در اوایل شیردهی اختلال در تولید گلوکز منجر به تجزیه بافت چربی، افزایش سطح NEFA خون و افزایش تولید اجسام کتون در کبد می‌شود (۱۳). پس از زایش، آغاز تولید شیر و همچنین افزایش سریع در تولید شیر منجر به افزایش زیادی در نیاز به گلوکز (جهت سنتز لاکتوز شیر) می‌شود و از قضا در همین زمان نیز هنوز مصرف ماده خشک به بیشترین مقدار خودش نرسیده است. به دلیل اینکه اغلب کربوهیدرات‌های جیره غذایی توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه تخمیر می‌شوند در نتیجه مقدار اندکی گلوکز مستقیماً از دستگاه گوارش گاو جذب می‌شود. بنابراین نشخوارکنندگان بسیار وابسته به عمل گلوکونئوزنزیس کبدی (سنتز گلوکز) از پروبیوتان هستند. محدود شدن مصرف خوراک در اوایل دوره زایش بدین معنا است که تامین پروبیوتان برای سنتز گلوکز نیز محدود شده است (۲۳، ۱۱). کاهش مصرف خوراک در اوایل دوره پس از زایش و توازن منفی انرژی همراه با افزایش فاکتور نکروز کننده تومور آلفا با برهم زدن تعادل بین سیستم اکسیدانی و سیستم آنتی اکسیدانی سبب ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود (۳، ۱۹) و ممکن است با اختلال در کنش ناقلین گلوکز و دخالت در مسیر انتقال فرسته انسولین در جگر و بافت‌های احشایی مصرف گلوکز را مهار کند و سبب آسیب به سلول‌های کبدی شود (۲۳).

به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد با توجه به غلظت بیشتر فاکتور نکروز کننده تومور آلفا قبل از زایش در گاوهای مستعد به ناهنجاری‌های متابولیک، اندازه‌گیری غلظت فاکتور نکروز کننده تومور آلفا قبل از زایش می‌تواند در شناخت گاوهای مستعد ابتلا به ناهنجاری‌های متابولیک و استفاده از راهکارهای مناسب برای کاهش شدت وقوع آن کمک کند. هرچند نیاز به انجام پژوهشی در مقیاس وسیع‌تر برای ارزیابی دوباره این شاخص می‌باشد.

منابع مورد استفاده

1. Ametaj BN, Bradford BJ, Bobe G, Nafikov RA, Lu Y, Young JW and Beitz DC (2005) Strong relationships between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 85: 165-175.
2. As AN, Nazifi S, Ghasrodashti AR and Olyaei A (2011) Prevalence of subclinical ketosis in dairy cattle in the Southwestern Iran and detection of cutoff point for NEFA and glucose concentrations for diagnosis of subclinical ketosis. *Preventive Veterinary Medicine* 100: 38-43.

15. Kushibiki S, Hodate K, Shingu H, Obara Y, Touno E, Shinoda M and Yokomizo Y (2003) Metabolic and lactational responses during recombinant bovine tumor necrosis factor- α treatment in lactating cows. *Journal of Dairy Science* 86: 819-827.
16. Lacetera N, Scalia D, Bernabucci U, Ronchi B, Pirazzi D and Nardone A (2005) Lymphocyte functions in over conditioned cows around parturition. *Journal of Dairy Science* 88: 2010-2016.
17. Melendez P, Donovan GA, Risco CA and Goff JP (2004) Plasma mineral and energy metabolite concentrations in dairy cows fed an anionic prepartum diet that did or did not have retained fetal membranes after parturition. *American Journal of Veterinary Research* 65: 1071-1076
18. Rajala-Schultz PJ, Grohn YT and McCulloch CE (1999) Effects of milk fever, ketosis and lameness on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82: 288-294.
19. Sharma N, Singh NK, Singh OP, Pandey V and Verma PK (2011) Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows. *Journal of Animal Science* 24: 479-484.
20. Spears JW and Weiss WP (2008) Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal* 176: 70-76.
21. Stojević Z, Piršljin J, Milinković-Tur S, Zdelar-Tuk M and Ljubić BB (2005) Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. *Veterinarski Archive* 75: 67-73.
22. Trevisi E, Amadori M, Bakudila AM and Bertoni G (2009) Metabolic changes in dairy cows induced by oral, low-dose interferon-alpha treatment. *Journal of Animal Science* 87: 3020-3029.
23. Turk R, Juretic D, Geres D, Svetina A, Turk N, et al. (2008) Influence of oxidative stress and metabolic adaptation on PON1 activity and MDA level in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science* 108: 98-106.

