



تولیدات دامی

دوره ۲۲ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۹

صفحه‌های ۵۲۹-۵۳۶

DOI: 10.22059/jap.2020.303992.623536

مقاله پژوهشی

اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر بیان برخی از ژن‌های مرتبط با التهاب در گاوهای

شیرده جرسی

گلناز تاسلی^{۱*}، فرخ کفیل زاده^۲، داراب قدیمی^۳، وان لور^۴، مایکل بالو^۵

۱. استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران.

۲. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

۳. استادیار، گروه میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، مؤسسه تحقیقاتی مکس رابنر، کیل، آلمان.

۴. استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه ایلینوی، ایلینوی، آمریکا.

۵. دانشیار، گروه علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه تگزاس- تک، تگزاس، آمریکا.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۳/۱۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۶/۱۶

چکیده

هدف از این پژوهش، مطالعه اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد (۴۰/۷ درصد) بر بیان برخی از ژن‌های مرتبط با التهاب و سیستم ایمنی ذاتی در گاوهای شیرده جرسی بود. برای انجام آزمایش از هفت رأس گاو چند شکم‌زا (۲/۵±۰/۵) جرسی با میانگین روزهای شیردهی ۷۱±۳ و میانگین تولید شیر ۲۸±۶/۶ کیلوگرم استفاده شد. گاوها در دو هفته اول آزمایش جیره شاهد (حاوی ۳۴ درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی) و در هفته سوم، جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد (۴۰/۷ درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی) دریافت کردند. نمونه‌های خون در روز صفر (انتهای روز ۱۴، که گاوها جیره شاهد دریافت کرده بودند) و روزهای چهارم و هفتم (پس از تغییر جیره) تهیه شد. بیان نسبی هفت ژن مرتبط با سیستم ایمنی شامل ژن‌های $TNF-\alpha$ ، $IL1\beta$ ، $TLR2$ ، دریافت کرده بودند) و روزهای چهارم و هفتم (پس از تغییر جیره) تهیه شد. بیان نسبی هفت ژن مرتبط با سیستم ایمنی شامل ژن‌های $TNF-\alpha$ ، $IL1\beta$ ، $TLR2$ ، $SELL$ ، $CD74$ و $MNDA$ اندازه‌گیری شد. براساس نتایج حاصل، مصرف جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد موجب القای التهاب و تأثیر بر سیستم ایمنی ذاتی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: التهاب، تغذیه، ژن، سایتوکاین، کربوهیدرات، گاو شیری.

The effect of high non fibrous carbohydrates diet on some inflammation related genes expression in lactating Jersey cows

Golnaz Taasoli^{1*}, Farokh Kafilzadeh², Darab Ghadimi³, Juan Loo⁴, Michael Ballou⁵

1. Assistant Professor, Department of Animal Science, Chaharmahal- Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran.

2. Professor, Department of Animal Science, Collage of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran.

3. Assistant Professor, Department of Microbiology and Biotechnology, Max Rubner Institute, Keil, Germany.

4. Professor, Department of Animal Science, University of Illinois, Illinois, USA.

5. Associate Professor, Department of Animal and Food Science, Collage of Agriculture, Texas Tech University, Texas, USA.

Received: June 6, 2020

Accepted: September 6, 2020

Abstract

The objective of this experiment was to study the effect of diet containing high (40.7 %) non fibrous carbohydrates on some inflammatory and native immunity related genes expression in lactating Jersey cows. Seven lactating multiparous (2.5 ± 0.5) Jersey cows with 71 ± 3 days in milk and 28 ± 6.6 kg of average milk production were used. All cows received a control diet containing low (34.3 percentage of dry matter) non fibrous carbohydrates content for the first 14 days and then were switched to a diet containing high (40.7 percentage of dry matter) non fibrous carbohydrates content for one week. Blood samples were collected on day 0 (After 14 days of feeding control diet) and days 4 and 7 after feeding high NFC diet. Relative gene expression of seven genes ($IL1-\beta$, $TNF-\alpha$, $MNDA$, $CD74$, $TLR2$, $SELECTIN$, $TGF1-\beta$) were measured. The results showed that gene expression of the pro-inflammatory cytokines ($IL1-\beta$ and $TNF-\alpha$) and anti-inflammatory proteins ($MNDA$, $D74$, $TLR2$, $SELECTIN$, $TGF1-\beta$) was down regulated during feeding of high NFC diet ($P < 0.05$). These data indicated that feeding a high non-fibrous carbohydrates diet caused inflammation and affected immunity system in lactating Jersey cows.

Keywords: Carbohydrates, Cytokine, Dairy cow, Gene, Nutrition, Inflammation.

مقدمه

پستانداران قادر هستند که به تغییر میزان مواد مغذی پاسخ دهند. این پاسخ از طریق سازوکار بیان ژن (از سطح رونویسی تا ترجمه) صورت می‌گیرد [۲۱]. مطالعه اثر مواد مغذی بر بیان ژن به درک بیش‌تر علت بیماری‌های متابولیکی کمک می‌کند. پژوهش‌های بسیاری در جوندگان و انسان نشان داده‌اند که چاقی ناشی از پرخوری با التهاب مزمن ارتباط دارد. این نوع چاقی باعث بروز ناهنجاری‌های متابولیکی مانند کبد چرب و دیابت نوع دو می‌شود [۲۲]. مصرف کربوهیدرات‌هایی که به سرعت هضم می‌شوند، در انسان باعث تعدیل بیان ژن بافت چربی زیرپوستی [۱۴] می‌شود و در اسب [۴] و موش [۱۶] به ترتیب سبب تورم سم و تورم مفاصل می‌شود. در انسان، غذاهایی که پس از مصرف، منجر به افزایش سریع انسولین خون می‌شوند، بیان ژن‌های مرتبط با استرس و ایمنی را با استفاده از سایتوکاین‌ها (Cytokine-mediated immunity) و مسیرهای وابسته به اینترلوکین (Interleukin pathway) افزایش می‌دهند [۱۳]. مصرف رژیم غذایی پرکربوهیدرات باعث کاهش گونه‌های فعال اکسیژن میتوکندریایی [۸] و افزایش غلظت سایتوکاین‌های پیش‌التهابی (Pro-inflammatory cytokines) مانند تومور نکروسیس فاکتور آلفا (Tumor necrosis factor- alpha, TNF- α) می‌شود [۹].

استفاده از جیره‌های حاوی میزان زیاد کربوهیدرات‌های غیرالیافی در تغذیه گاوهای شیری پرتولید امری رایج است تا نیاز شیردهی آن‌ها تأمین شود. کربوهیدرات‌های غیرالیافی شامل نشاسته، پکتین و قندهای محلول می‌باشد و مقدار آن در جیره‌هایی با نسبت علوفه به کنسانتره ۴۰ به ۶۰ درصد می‌تواند تا ۴۰ درصد هم افزایش یابد [۱۰]. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد سیستم ایمنی گاوهای شیرده می‌تواند با مصرف جیره‌های حاوی

کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد، تحریک شود [۱]. این نوع جیره‌ها باعث آزاد شدن ترکیبات سمی باکتریایی در دستگاه گوارش به‌ویژه شکمبه حیوان می‌شود [۱]. از جمله این ترکیبات سمی، لیپوپلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی هستند که عمده‌ترین سموم داخلی آزاد شده محسوب می‌شوند. این سموم وارد سیستم گردش خون شده و می‌توانند باعث القای التهاب شوند. در هنگام التهاب سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند TNF- α از ماکروفاژها ترشح و منجر به تولید پروتئین‌های فاز حاد در کبد می‌شود [۱].

در این آزمایش، بیان نسبی ژن‌های TNF- α ، اینترلوکین یک بتا (IL1 β)، تول لایک رسپتور دو (TLR2)، ال-سلکتین (SELL یا CD62L)، سی دی ۷۴ (CD74)، میلوئید نوکلئار دیفرنشیشن آنتی‌ژن (MND) و ترنسفورمینگ فاکتور بتا یک (TGF β 1) از ژن‌های مرتبط با سیستم ایمنی مطالعه شد (اسم کامل ژن‌ها در جدول (۲) ارائه شده است). سایتوکاین‌های TNF- α و IL1 β از خانواده سایتوکاین‌های پیش‌التهابی هستند. TNF- α مواد محلول با ساختار پروتئینی است که از سلول‌های متفاوت و به‌طور عمده از ماکروفاژها ترشح و منجر به تولید پروتئین‌های فاز حاد در کبد می‌شود [۱]. IL1 β نیز نقشی مشابه TNF- α دارد. سایر ژن‌های مورد مطالعه در این آزمایش نقش ضدالتهابی دارند و پس از وقوع التهاب واکنش نشان می‌دهند. TGF β 1 با کاهش فعالیت برخی از سلول‌های ایمنی مانند سلول‌های کشنده طبیعی (Natural killer cells) و ماکروفاژها، باعث کاهش التهاب می‌شود [۱۵]. ژن MND در هسته سلول‌های گرانولوسایت و مونوسایت‌های خون وجود دارد و با پروتئین‌های اینترفرون ارتباط داشته و در مرگ سلولی و التهاب نیز نقش دارد [۱۲]. ژن CD74 که میزان بیان آن هنگام وقوع بیماری‌های التهابی و سرطان افزایش می‌یابد، تولید

تولیدات دامی

اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر بیان برخی از ژن‌های مرتبط با التهاب در گاوهای شیرده جرسی

شیری نژاد جرسی با میانگین وزن $407 \pm (17/9)$ کیلوگرم و میانگین تولید شیر $28 \pm (6/6)$ کیلوگرم استفاده شد که در روز ۷۱ ($3 \pm$) پس از زایش بودند. این گاوها در دوره دوم یا سوم شیردهی بودند ($2/0 \pm 5/0$). هنگام اجرای آزمایش یک رأس از گاوها به دلیل بیماری حذف گردید و آزمایش با هفت رأس گاو ادامه یافت. در طول دوره آزمایش دام‌ها در جایگاه‌های انفرادی با ابعاد 10×4 متر نگهداری شدند و به آب تمیز و خوراک دسترسی داشتند و دو بار در روز (شش صبح و شش عصر) شیردوشی می‌شدند. جیره دام‌ها براساس جدول پژوهش‌های ملی کشور آمریکا [۱۷] متوازن گردید. دو نوع جیره با میزان انرژی یکسان ولی با میزان کربوهیدرات‌های غیرالیافی متفاوت در آزمایش استفاده شد.

ترکیب مواد تشکیل‌دهنده و مواد مغذی جیره‌ها در جدول (۱) نشان داده شده است. نسبت علوفه به کنسانتره در هر دو جیره ثابت و برابر 40 به 60 بود. تمامی گاوها در دو هفته اول آزمایش جیره شاهد (حاوی 34 درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی) و در هفته سوم، جیره با میزان کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد (حاوی 40 درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی) را دریافت کردند. خوراک مصرفی به صورت کاملاً مخلوط داده شد. طی دوره آزمایش نمونه‌های خوراک در هفته دوم مصرف جیره شاهد و هفته مصرف جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد به صورت یک روز در میان جمع‌آوری و به آزمایشگاه مواد خوراکی برای تجزیه مواد مغذی ارسال گردید. برای اندازه‌گیری بیان ژن، نمونه‌های خون در روز صفر (انتهای روز ۱۴، که گاوها جیره شاهد دریافت کرده بودند) و روزهای چهارم و هفتم (پس از تغییر جیره) از سیاه‌رگ و داج هر گاو گرفته شد. پس از خون‌گیری بلافاصله معرف تریزول به نمونه‌ها اضافه شد و تا زمان انجام آزمایش بیان ژن در دمای -80 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

پروتئینی با همین نام را برعهده دارد که نقش مهمی هم در سیستم ایمنی ذاتی و هم در سیستم ایمنی اکتسابی دارد. این پروتئین نقش خود را از طریق فاکتوری به نام (Macrophage migration inhibitory factor) انجام می‌دهد و به واسطه این فاکتور ترشح سایتوکاین‌هایی که باعث کاهش التهاب می‌شوند، افزایش می‌یابد [۲].

سلول‌های لوکوسایت‌های چند هسته‌ای تولید مولکولی به نام سلکتین را برعهده دارند. ال- سلکتین (L-Selectin) یکی از اعضای خانواده سلکتین‌ها می‌باشد که به صورت مولکول چسبان سلولی بر سطح لنفوسیت‌های محیطی، مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها بارز می‌شود [۲۲]. این مولکول نقش کلیدی در شروع مهاجرت گلبول‌های سفید از عروق به داخل بافت‌های لنفاوی یا نواحی مختلف التهاب موضعی دارد [۲۱]. TLR2 در مونوسایت‌ها، ماکروفاژها و لوکوسایت‌های چند هسته‌ای خون وجود دارد که در اتصال باکتری‌های گرم مثبت و ویروس‌ها و یا محصولات آن‌ها به گیرنده نقش دارند و منجر به سلسله وقایعی می‌شود که در نهایت باعث التهاب می‌شود [۱۵]. اطلاعات محدودی در مورد اثر جیره‌های حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر سیستم ایمنی در نشخوارکنندگان و به خصوص گاوهای شیرده وجود دارد. هدف از انجام این پژوهش مطالعه اثر جیره حاوی سطح زیاد کربوهیدرات‌های غیرالیافی بر سازوکار مولکولی سیستم ایمنی ذاتی در گاوهای شیرده بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گاوداری تک‌زیکو جرسی (Texico jersey farm) واقع در ایالت نیومکزیکو کشور آمریکا و بخش آزمایشگاهی بیان ژن در آزمایشگاه نوتریوفیزیولوژیومیک گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلینوی آمریکا انجام شد. برای انجام آزمایش از هشت رأس گاو

تولیدات دامی

دوره ۲۲ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۹

گلناز تأسلی، فرخ کفیل زاده، داراب قدیمی، وان لور، مایکل بالو

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌ها (درصد در ماده خشک)

جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد	جیره شاهد	مواد خوراکی (درصد)
۱۱	۸/۲	علف چاودار
۲۲/۴	۲۲/۹	علف یونجه
---	۴/۱	علف سورگوم
۵/۲	۴/۳	ساقه ذرت
---	۱۲/۲	خوراک گلوتن ذرت
۳	۱۲/۱	بقایای ذرت پس از تولید اتانول
---	۵/۲	تخم پنبه
۲۷/۶	۲۶/۵	ذرت ورقه شده
۱۳/۸	---	جو ورقه شده با بخار
۱۳	---	کنجاله کانولا
---	۰/۴	مکمل چربی
۴/۱	۴/۱	مکمل مواد معدنی
ترکیبات شیمیایی محاسبه شده (درصد در ماده خشک)		
۱۶/۷	۱۶/۷	پروتئین خام
۳۰/۲	۳۳/۸	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
۱۵/۵	۱۶/۴	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی
۴۰/۷	۳۴/۳	کربوهیدرات‌های غیرالیافی ^۱
۲۸	۲۳/۶	نشاسته
۳/۹	۶/۱	چربی خام
۱/۵۴	۱/۵۷	انرژی خالص شیردهی (مگا کالری بر کیلوگرم)

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

طراحی شد (جدول ۲). جهت افزایش دقت و به حداقل رساندن آلودگی DNA یکی از آغازگرهای پیش‌رو و پیرو در نواحی مرز آگزون- آگزون قرار گرفتند. ژن‌های GAPDH، RPS9 و UTX ژن‌های کنترل این آزمایش بودند (جدول ۲).

برای انجام واکنش‌های Real Time PCR از دستگاه (ABI Prism 7900 HT SDS instrument Applied Biosystems, CA, USA) استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز پیشرفته با سه تکرار آزمایشی انجام شد.

برای اندازه‌گیری بیان نسبی ژن، استخراج RNA با استفاده از کیت شرکت (Ambion, Inc, Austin, TX, USA) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. کیفیت RNA استخراج‌شده با استفاده از نانودراپ (NanoDrop ND-1000, NanoDrop Technologies, Rockland, DE) تأیید شد. برای طراحی آغازگرهای اختصاصی ژن‌های مورد مطالعه، ابتدا توالی کامل DNA مربوطه از پایگاه اطلاعات بیولوژیکی NCBI گرفته شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار Primer Express نسخه دوم آغازگرهای اختصاصی

تولیدات دامی

دوره ۲۲ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۹

اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر بیان برخی از ژن‌های مرتبط با التهاب در گاوهای شیرده جرسی

جدول ۲. فهرست پرایمرهای استفاده شده برای quantitative real-time PCR

ژن	نام کامل ژن	شماره ثبت در بانک ژن	جفت باز	آغازگر معکوس	آغازگر پیش‌رونده
TNF α	Tumor necrosis factor α	NM_173966.3	۱۱۴	TCGGCTACAACGTGGGCTAC	CCAGAGGGAAGAGCAGTCCC
IL1 β	Interleukin 1 β	NM_174093.1	۱۰۰	TTCTCGTCACTGTAGTAAGCCATCA	ATTCTCTCCAGCCAACCTTCATT
TLR2	Toll like receptor 2	NM_174197.2	۱۰۳	TACTTGACCACTCGCTCTTCA	CTGGCAAGTGGATTATCGACAA
L-SELL	L selectin	NM_174182.1	۱۰۴	CCGTAGTACCCCAATCACAGTT	CTCTGTACACAGCTTCTTGATAAAC
CD74	Cluster of Differentiation 74	NM_001034735.1	۱۰۰	GGACCCTCAAAGGGCTTCTC	TGGATGGCTTGGACTGGAA
MNDA	Myeloid nuclear differentiation antigen	XM_863928.2	۱۰۰	TTGCTTGACCTTGGTGACCTT	CAGACTTACACTCGTGTGCTTTGA
TGF β 1	Transforming growth factor beta 1	NM_001166068.1	۱۰۰	AGCTCGGACGTGTGAAGAAC	AGGTACCCCGCTGCTAA
GAPDH	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	NM_001034034.2	۵۳	CCCCTTGATGTTGGCAG	TGAAAGGCCATCACCATCT
RPS9	Ribosomal protein S9	NM_001101152.2	۶۴	CCTCCAGACCTCACGTTGTTC	CCTGCACCAAGAGCTGAAG
UXT	Ubiquitously expressed transcript	NM_001037471.2	۱۰۱	TGTGGCCCTGGATATGGTT	GGTGTGCTGAGCTCTGTG

و همگنی واریانس برای باقی‌مانده‌ها با رویه همبسته (PROC CORR) مورد آزمون قرار گرفت. اثرات معنی‌داری در سطح احتمال کم‌تر یا مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شدند و تمایل به معنی‌داری در سطح احتمال ۵ تا ۱۰ درصد بحث شد.

$$Y_{ij} = \mu + D_i + T_j + (D_i \times T_j) + R_k + e_{ijk} \quad (1)$$

که در این رابطه Y_{ij} ؛ متغیر وابسته، μ ؛ میانگین جامعه، D_i ؛ اثر جیره، T_j ؛ اثر زمان، $D_i \times T_j$ ؛ اثر زمان در جیره، R_k ؛ اثر تصادفی گاو و e_{ijk} ؛ اثر خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

اثر زمان اثر بر میزان بیان همه ژن‌های مورد مطالعه معنی‌دار بود (جدول ۴). به طوری که با پیشرفت زمان، مصرف جیره دارای سطح بالای کربوهیدرات‌های غیرالیافی باعث کاهش بیان ژن‌ها شد ($P < 0.05$). ناهم‌سو با نتایج پژوهش حاضر، مصرف جیره دارای ۴۰ درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی باعث افزایش بیان ژن‌های TNF- α و IL1 β در خون و بافت رحم گاوهای شیری شد [۳]. هم‌چنین، بیان ژن‌های TNF- α و IL1 β در کبد گاوهای

مواد مورد نیاز برای واکنش‌های زنجیره‌ای شامل چهار میکرولیتر cDNA، پنج میکرولیتر SYBER GREEN، ۰/۴ میکرولیتر آغازگر رفت، ۰/۴ میکرولیتر آغازگر برگشت و ۰/۲ میکرولیتر آب فاقد DNase/RNase بود. برنامه زمانی و دمای مورد استفاده برای انجام واکنش در جدول (۳) نشان داده شده است.

جدول ۳. برنامه زمانی و دمای مورد استفاده در واکنش Real Time PCR

واکنش	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)	مرحله
واکشی	۹۵	۱۵	۴۰ سیکل
اتصال	۶۰	۴۰	۴۵ سیکل
گسترش	۶۰	۴۰	

داده‌های حاصل از این پژوهش با نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) و با استفاده از رویه مدل مختلط و به صورت داده‌های تکرار شده در زمان برای مدل (۱) تجزیه و میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار مقایسه شدند. برای تخمین میانگین حداقل مربعات از روش حداکثر درست‌نمایی محدود شده استفاده شد. توزیع نرمال داده‌ها

کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد دارد. این روند کاهش بیان ژن ال-سلکتین در آزمایش حاضر در سطح پروتئین هم مشاهده شد و از روز دوم پس از تغییر جیره میزان پروتئین ال-سلکتین کاهش یافت. هم‌چنین گزارش شده است که در گاو در روزهای نزدیک به زایش [۱۹] و روزهای اول پس از زایش [۱۴] بیان ژن ال-سلکتین کم شد، که دلیل آن وقوع التهاب و افزایش کورتیزول خون بود [۵]، چرا که افزایش سطح گلوکوکورتیکوئیدها در هنگام التهاب باعث کاهش بیان ژن ال-سلکتین می‌شود [۵ و ۲۳].

مشابه با آزمایش حاضر، در گاوهای هلشتاین مبتلا به ورم پستان نیز، بیان ژن $TGF\beta$ کم شد [۱۱]. کاهش بیان این ژن و ژن $MNDA$ باعث القای پاسخ در انواعی از سلول‌های ایمنی می‌شود که واکنش شدیدتر و سریع‌تری در برابر عفونت دارند [۱۵ و ۲۰]. هم‌چنین، کاهش بیان ژن $MNDA$ منجر به فعال‌شدن ماکروفاژها و القای حالت پیش‌التهابی می‌شود [۱۸]. ناهم‌سو با پژوهش حاضر در گاوهایی که با جیره حاوی ۵۰ درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی، اسیدوز تحت حاد در آن‌ها القا شده بود، بیان ژن $TLR4$ در مقایسه با گروه شاهد تغییری نداشت [۱۸]، که این ناهم‌سویی می‌تواند به دلیل تفاوت نژاد و مرحله فیزیولوژیکی گاوهای دو آزمایش باشد. در آزمایش حاضر از گاو جرسی شیرده استفاده شد و در آزمایش [۱۸] از گاو هلشتاین خشک استفاد شد.

نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از جیره حاوی سطح بالای کربوهیدرات‌های غیرالیافی در گاوهای شیرده سیستم ایمنی ذاتی را تحریک می‌کند و باعث بروز پاسخ‌های التهابی شبیه گونه‌های جوندگان و انسان می‌شود. پژوهش‌های پیش‌تر در آینده می‌تواند اطلاع دقیق‌تری از اثر مواد مغذی بر سیستم ایمنی نشخوارکنندگان در دسترس قرار دهد.

شیری تغذیه‌شده با جیره دارای ۳۷ درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی افزایش یافت [۶]. این افزایش به دلیل ورود لیپوپلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی به خون و افزایش پاسخ‌های التهابی سایتوکاین‌ها می‌باشد. اما هم‌سو با این نتایج، مصرف جیره حاوی ۴۴ درصد کربوهیدرات‌های غیرالیافی در گاوهای شیرده باعث کاهش بیان ژن‌های $IL1\beta$ و $TNF-\alpha$ بافت اپیتلیوم شکمبه شد [۷]. کاهش تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی $TNF-\alpha$ و $IL1\beta$ مدت و شدت پاسخ‌های ایمنی را کم می‌کند. این کاهش مدت و طول پاسخ‌های ایمنی اثر مثبتی بر تفکیک مواد مغذی دارد، به نحوی که مواد مغذی کم‌تری برای سیستم ایمنی موردنیاز است و به تبع مواد مغذی بیش‌تری برای رشد و تولید حیوان فراهم می‌گردد [۷].

جدول ۴. بیان نسبی ژن‌های موردآزمایش پس از تغییر جیره

ژن	روز صفر	روز چهارم	روز هفتم	میانگین خطای معیار	معنی داری سطح
$TNF\alpha$	۱/۱۷ ^a	۱/۰۳ ^{ab}	۰/۷۶ ^b	۰/۱۳۴	۰/۰۴
$IL1\beta$	۱/۲۱ ^a	۰/۹۷ ^b	۰/۸۹ ^b	۰/۰۵۸	۰/۰۴
$TLR2$	۱/۳۰ ^a	۱/۱۳ ^a	۰/۷۷ ^b	۰/۰۹۱	<۰/۰۱
$SELL$	۱/۳۵ ^a	۱ ^b	۱/۰۱ ^b	۰/۰۸۱	۰/۰۴
$CD74$	۱/۲۰ ^a	۰/۹۲ ^b	۰/۸۴ ^b	۰/۰۵۸	<۰/۰۱
$MNDA$	۱/۲۶ ^a	۱ ^b	۰/۸۹ ^b	۰/۰۵۶	۰/۰۰۵
$TGF\beta1$	۱/۱۶ ^a	۱/۰۲ ^{ab}	۰/۸۷ ^b	۰/۰۶۱	۰/۰۱

a-b: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0/05$).

میزان بیان ژن‌های $TLR2$ ، $SELL$ ، $CD74$ ، $MNDA$ و $TGF\beta$ که بیش‌تر نقش ضدالتهابی دارند، کاهش یافت ($P < 0/05$). کاهش بیان ژن ال-سلکتین در آزمایش حاضر، حکایت از کاهش توانایی این مولکول‌چسبان سلولی به سطح نوتروفیل‌ها به دنبال مصرف جیره حاوی

اثر جیره حاوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی زیاد بر بیان برخی از ژن‌های مرتبط با التهاب در گاوهای شیرده جرسی

- Rey B, Leverve X and Favier R (2005) Fat intake reverses the beneficial effects of low caloric intake on skeletal muscle mitochondrial H₂O₂ production. *Free Radical Biology Medicine*, 39: 1249-61.
10. Grant R, and Kononoff PJ (2007) *Feeding to maximize milk protein and fat yields*. Neb Guide. University of Nebraska, Lincoln. USA.
 11. Jensen K, Günther J, Talbot R, Petzl W, Zerbe H, Schuberth HJ, Seyfert HM and Glass EJ (2013) Escherichia coli- and Staphylococcus aureus induced mastitis differentially modulate transcriptional responses in neighbouring uninfected bovine mammary gland quarters. *BMC Genomics*, 14(36): 2-19.
 12. Johnstone RW and JA Trapani (1999) Transcription and growth regulatory functions of the HIN-200 family of proteins. *Molecular and Cellular Biology*, 19: 5833-5838.
 13. Kallio P, Kolehmainen M, Laaksonen DE, Keka`la`inen J, Salopuro T, Sivenius K, Pulkkinen L, Mykka`nen HM, Niskanen L, Uusitupa M and Poutanen K (2007) Dietary carbohydrate modification induces alterations in gene expression in abdominal subcutaneous adipose tissue in persons with the metabolic syndrome: the FUNGENUT Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 85: 1417-27.
 14. Lee EK and Kehrl JME (1998) Expression of adhesion molecules on neutrophils of periparturient cows and neonatal calves. *American Journal of Veterinary Research*, 59: 37-43.
 15. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AKL and Flavell RV (2006) Transforming growth factor- β regulation of immune responses. *Annual Review of Immunology*, 24: 99-146.
 16. Mielants H and Veys EM (1990) The gut in the spondyloarthropathies. *Journal of Rheumatology*, 17: 7-10.
 17. NRC (2001) *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th revise edition. National Academic Science. Washington, DC. USA.
 18. Rodríguez-Lecompte JC, Kroeker AD, Ceballos-Márquez A, Li S, Plaizier JC and Gomez DE (2014) Evaluation of the systemic innate immune response and metabolic alterations of nonlactating cows with diet-induced subacute ruminal acidosis. *Journal of Dairy Science*, 97: 1-11.
 19. Seo J, Osorio S and Looor JJ (2013) Purinergic signaling gene network expression in bovine polymorphonuclear neutrophils during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 96: 7675-7683.

تشکر و قدردانی

از همکاری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تگزاس- تک به دلیل فراهم نمودن امکانات و تجهیزات موردنیاز در اجرای این آزمایش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع مورد استفاده

1. Ametaj BN, Zebeli Q, and Iqbal S (2010) Nutrition, microbiota, and endotoxin-related diseases in dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39: 433-444.
2. Beswick EJ and Reyes VE (2009) CD74 in antigen presentation, inflammation, and cancers of the gastrointestinal tract. *World Journal of Gastroenterology*, 15: 2855-2861.
3. Bilal MS, Abaker JA, Aabdin Z, Xu T, Dai H, Zhang K, Liu X, and Shen X (2016) Lipopolysaccharide derived from the digestive tract triggers an inflammatory response in the uterus of mid-lactating dairy cows during SARA. *BMC Veterinary Research*, 12: 284- 291.
4. Bissell AH (2002) *Post-ruminal starch infusion in dairy cattle: implications for inflammatory response and animal health*. M.Sc. thesis. University of Florida. USA.
5. Burton JL, ME Kehrl Jr, Kapil S and Horst RL (1995) Regulation of L-selectin and CD18 on bovine neutrophils by glucocorticoids: Effects of cortisol and dexamethasone. *Leukocyte Biology*, 57: 317-325.
6. Chang G, Zhang K, Xu T, Jin D, Guo J, Zhuang S, Shen X (2015) Epigenetic mechanisms contribute to the expression of immune related genes in the livers of dairy cows fed a high concentrate diet. *Plos One*, 10(4): e0123942.
7. Dionissopoulos L (2013) *Understanding the molecular mechanisms involved in subacute ruminal acidosis and rumenitis*. Ph.D. dissertation. University of Guelph, Guelph, Canada.
8. Ferreira AV, Mario EG, Porto LC, Andrade SP and Botion LM (2011) High-carbohydrate diet selectively induces tumor necrosis factor- α production in mice liver. *Inflammation*, 34: 139-45.
9. Garait B, Couturier K, Servais S, Letexier D, Perrin D, Batandier C, Rouanet JL, Sibille B,

20. Stehlik C, Fiorentino L, Dorfleutner A, Bruey JM, Ariza EM, Sagara J and Reed JC (2002) The PAAD/PYRIN-family protein ASC is a dual regulator of a conserved step in nuclear factor κ B activation pathways. *The Journal of Experimental Medicine*, 196: 1605-1615.
21. Tedder TF, Steeber DA, Chen A and Engel P (1995) The selectins: vascular adhesion molecules. *FASEB J*. 9:866-873.
22. Tilg H and Moschen AR (2008) Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 19: 371-379.
23. Weber PS, Madsen SA, Smith GW, Ireland JJ, and Burton JL (2001) Pre-translational regulation of neutrophil L-selectin in glucocorticoid-challenged cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 83: 213-240.