"مقاله پژوهشی"

بررسی وضعیت اکسیداتیو در گاوهای شیری مبتلا به کتوز تحت‌بالینی و آندومتریت بالینی

فرهاد بلاری مهیاری[۱]، مریم کریمی دهکردی[۲*]، محمدرضا ناظم[۲]

۱- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۲- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: ma_karimivet58@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۸/۲/۱٤ پذیرش نهایی: ۹۸/۱۰/۱۷)

چکیده

امروزه، مهم‌ترین عامل بروز بیماری‌های متابولیکی و تولیدمثلی در گاوهای شیری را اختلال در روند طبیعی وقایع سلولی- مولکولی بدن که به‌دنبال افزایش بیش از حد اکسیدان‌ها و شکل‌گیری استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد، می‌دانند. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی احتمال وجود ارتباط آماری معنی‌دار بین سطوح سرمی مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde; MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (total antioxidant capacity; TAC)، به عنوان شاخص‌های استرس اکسیداتیو، با میزان ابتلا به کتوز تحت‌بالینی و آندومتریت بالینی در گاوهای شیری بود. بدین منظور، تعداد ۱۰۱ رأس گاو شیری هلشتاین در ٤ گروه سالم، مبتلا به کتوز تحت‌بالینی، مبتلا به آندومتریت بالینی و مبتلا به هر دو بیماری کتوز تحت‌بالینی و آندومتریت بالینی توزیع شدند. مقادیر سرمی MDA و TAC در گاوهای هرچهار گروه در یک بازه زمانی یک ماهه پس از زایمان اندازه‌گیری شدند. کمترین غلظت سرمی TAC و بیشترین سطح سرمی MDA در گاوهای گروه مبتلا به هر دو بیماری مشاهده شد، این در حالی بود که گروه کنترل (گاوهای سالم) دارای بیشترین مقادیر سرمی TAC و کمترین سطح سرمی MDA بودند ($p\leq$۰/۰۵). همچنین تفاوت آماری معنی‌داری در مقادیر سرمی TAC و MDA بین گروه‌های مبتلا به آندومتریت بالینی و کتوز تحت‌بالینی مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵). نتایج مطالعه حاضر وجود یک ارتباط آماری معنی‌دار بین غلظت‌های سرمی MDA و TAC با میزان بروز آندومتریت بالینی و شیوع همزمان کتوز و آندومتریت را در گاوهای شیری نشان داد ($p\leq$۰/۰۵).

کلیدواژه‌ها: وضعیت اکسیداتیو، گاو شیری، آندومتریت بالینی، کتوز تحت‌بالینی.

مقدمه

بروز ناهنجاری‌های متابولیکی و بیماری‌های عفونی در دوره پس از زایش یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در سیستم پرورش گاوهای شیری پرتولید است. امروزه علی‌رغم بهبود رژیم‌های تغذیه‌ای و برنامه‌های مدیریتی گله، همچنان نرخ بالینی شیوع بسیاری از بیماری‌های متابولیکی و عفونی در گاوهای شیری بالا می باشد (Walsh *et al*., 2007). بسیاری از محققین، اختلال در روند طبیعی وقایع سلولی- مولکولی بدن که به‌دنبال افزایش بیش از حد رادیکال‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (reactive oxygen species; ROS) و شکل‌گیری استرس اکسیداتیو رخ می‌دهند را مهم‌ترین عامل بروز و پیشرفت این بیماری‌ها می‌دانند (Celi, 2010). در چند دهه اخیر، تحقیقات زیادی به‌منظور افزایش انرژی جیره‌های دوره خشکی، کاهش تحرک چربی‌ها در بدن، حفظ غلظت کلسیم خون، افزایش سازگاری جمعیت میکروبی شکمبه، تقویت سیستم ایمنی رحم و غیره انجام شده‌است. اگرچه این راهکارها از نظر علمی منطقی به‌نظر می‌رسند، اما در کاهش میزان بروز بیماری‌های حول و حوش زمان زایمان کارایی لازم را ندارند (Walsh *et al*., 2007; Celi and Gabai, 2015). امروزه استراتژی‌های درمانی معطوف به شناسایی دقیق مکانیسم‌های ژنتیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ایجادکننده بیماری‌های متابولیکی و عفونی شده‌است و ارتباط مثبت و معنی‌داری بین میزان بروز بیماری‌های متابولیکی-تولیدمثلی با میزان تولید ROS و شکل‌گیری استرس اکسیداتیو در گاوهای شیری نشان داده شده است (Di Trana *et al*., 2006; Birben *et al*., 2012; Celi and Gabai, 2015; Bernabucci *et al*., 2017).

بنابراین، تحقیقات وسیعی به‌منظور شناسایی دقیق علل ایجادکننده بالانس منفی انرژی، تشخیص منابع داخلی و خارجی ROS در بدن، تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن، تعدیل تاثیرات منفی استرس اکسیداتیو بر مسیرهای پیام‌رسان سلولی و ماکرومولکول‌های مهم بدن صورت گرفته‌است (Herdt , 2000; Di Trana *et al*., 2006; Lykkesfeldt and Svendsen, 2007). بررسی‌ها نشان داده‌است که رادیکال‌های واکنش‌پذیر اکسیژن با ایجاد تاثیرات مخرب بر روی ماکرومولکول‌های بدن به‌ویژه DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها باعث بروز آسیب‌های غیرقابل بازگشت سلولی و تخریب بافت‌ها می‌گردند. این رادیکال‌ها می‌توانند از طریق وارد نمودن آسیب به بازهای آلی DNA، گسستگی در یک یا هر دو رشته DNA و یا تغییر در پورین و پیریمیدین، باعث بروز تغییرات ساختاری و عملکردی در مولکول DNA شده و با ایجاد جابجایی‌ها، جهش و حذف‌های ژنی و یا شکل‌دهی واکنش‌های متقابل با پروتئین‌ها، باعث آپوپتوز سلول‌ها گردند (Marietta *et al*., 2002; Caldecott, 2003). از طرف دیگر، ROSها می‌توانند با اکسیداسیون پروتئین‌ها باعث تکه‌تکه شدن زنجیره‌های پپتیدی، تغییر شارژ الکتریکی پروتئین‌ها، کسیداسیون اسیدهای آمینه خاص و افزایش حساسیت به پروتئولیز در اثر تخریب پروتئازهای خاص شوند. اکسیداسیون گروه‌های سولفیدریل و وجود سیستئین و متیونین در پروتئین‌ها موجب بروز تغییرات سازماندهی شده در پروتئین‌ها، باز شدن زنجیره‌های پروتئینی و تخریب آن‌ها می‌شود (Keck, 1996; Kelly and Mudway, 2003). علاوه‌براین، ROSها می‌توانند به لیپیدها که یکی از مهم‌ترین اجزای ساختاری در غشای سلول

هستند نیز آسیب برسانند. اسیدهای چرب غیراستریفیه در اثر اکسیدان‌ها به راحتی اکسیده شده و منجر به شکل‌گیری واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون (پراکسیداسیون لیپیدی) و از بین رفتن یکپارچگی سلول می‌گردند (Poulsen, 2005). مکانیسم‌های دفاعی متعددی برای خنثی سازی رادیکال‌های آزاد تولید شده و جلوگیری از بروز آسیب‌های اکسیداتیو در بدن وجود دارد که شامل سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، Cu-Zn-SOD، Mn-SOD و غیره) و سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی (گلوتاتیون، بیلی‌روبین، کاروتنوئید، اسید اوریک و ویتامین‌های E و C و غیره) می‌باشند (Herdt, 2000; Lykkesfeldt and Svendsen, 2007). علی‌رغم وجود این سیستم‌های دفاعی در بدن و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد تولیدشده، در برخی موارد تعادل بین میزان تولید رادیکال‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن به‌هم خورده و بالانس منفی انرژی ایجاد می‌شود. به‌دنبال بهم خوردن این تعادل مهم و سازنده، صدمات زیادی ناشی از آسیب‌های اکسیداتیو در سلول‌ها (آپوپتوز یا نکروز سلولی) و بافت‌های بدن (آسیب ساختاری بافت) ایجاد می‌شود (Herdt, 2000; Birben *et al*., 2012; Celi and Gabai, 2015).

مشخص شده که استرس اکسیداتیو در شروع یا پیشرفت بیماری‌های متعددی از جمله پنومونی، انواع سرطان‌ها، سپتی‌سمی، انسداد مجاری تنفسی، اختلالات متابولیکی و بیماری‌های خودایمن در دام‌ها نقش مهمی را ایفا می‌کند (Amira, 2010). تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که شکل‌گیری استرس اکسیداتیو موجب بروز متریت، ورم‌پستان، پنومونی، انتریت، آندومتریت و سپتی‌سمی در خوک و گاو می‌شود (Celi, 2010; Baithalu *et al*., 2017).

افزایش میزان ROS در اسب به‌ویژه در اسب‌های مسابقه نیز موجب بروز بسیاری از بیماری‌های سیستمیک از جمله انسداد برگشت‌پذیر مجاری تنفسی، خونریزی تنفسی ایجاد شده به‌واسطه تمرینات ورزشی شدید، لنگش و انسداد روده می‌گردد (Yaralioglu-Gurgoze, 2005). استرس اکسیداتیو در انسان هم موجب بروز بیماری‌های متعددی از جمله آرترواسکلروز، واکنش‌های التهابی، بسیاری از سرطان‌ها و تسریع روند پیری می‌شود. همچنین به‌نظر می‌رسد که ارتباط معنی‌دار و مثبتی بین افزایش استرس اکسیداتیو با تمامی بیماری‌های التهابی (آرتریت، واسکولیت، گلومرولونفریت، لوپوس اریتماتوز، سندرم بیماری‌های تنفسی بالغین)، بیماری‌های خونی (بیماری‌های قلبی، سکته مغزی، خونریزی‌های روده‌ای)، اختلالات عصبی (بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون، دیستروفی عضلانی)، هموکروماتوز، سندرم کمبود ایمنی، آمفیزم، زخم معده، فشار خون بالا و پره‌اکلامپسی وجود دارد (Lykkesfeldt and Svendsen, 2007).

با توجه به مطالب ذکر شده به‌نظر می‌رسد که با شناسایی دقیق تاثیرات رادیکال‌های واکنش‌پذیر اکسیژن بر روی ماکرومولکول‌های بدن، بررسی مکانیسم‌های ایجادکننده استرس اکسیداتیو و تلاش در جهت متعادل نگه‌داشتن بالانس انرژی به‌ویژه در دوره خشکی و دوره ابتدایی پس از زایمان، بتوان شیوع بیماری‌های متابولیکی و عفونی را در گاوهای شیری کاهش داد. لذا هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی غلظت

مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde; MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (total antioxidant capacity; TAC) در سرم گاوهای شیری مبتلا به کتوز تحت‌بالینی و آندومتریت بالینی بود. همچنین در این مطالعه، احتمال وجود ارتباط آماری معنی‌دار بین سطوح سرمی این متابولیت‌ها با میزان بروز بیماری‌های مذکور در گاوهای شیری هلشتاین بررسی شد چرا که در صورت وجود این ارتباط، احتمالاً با تغییر غلظت این متابولیت‌ها و کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از آن‌ها، بتوان شیوع و صدمات پاتولوژیکی ناشی از کتوز تحت‌بالینی و آندومتریت بالینی را در گاوهای شیری کاهش داد.

مواد و روش‌ها

- **جمعیت مورد مطالعه و توزیع گروه‌ها**: این مطالعه در یک بازه زمانی ٦ ماهه، از بهار تا پاییز ۹۷ روی ۱۰۱ راس گاو شیری نژاد هلشتاین در یک گاوداری صنعتی استان اصفهان انجام شد. گاوهای شیری مورد مطالعه در ٤ گروه شامل گاوهای سالم، مبتلا به آندومتریت بالینی، مبتلا به کتوز تحت‌بالینی و مبتلا به هر دو بیماری کتوز تحت‌بالینی و آندومتریت بالینی قرار گرفتند.

بیماری آندومتریت بالینی توسط دستگاه سونوگرافی B-mode (Mini-scan، BCF technology، بریتانیا) بر اساس وجود یا عدم وجود مایعات اکوژنیک یا هایپواکوژنیک و افزایش قطر اندومتریوم رحم تشخیص داده‌شد. بیماری کتوز تحت‌بالینی نیز با اندازه‌گیری سطح بتاهیدروکسی‌بوتیرات در سرم شناسایی و تایید شد. غلظت ترکیب مذکور با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر BT-3000 (Biotechnica، Biotecnica Instruments، Italy) و به کمک کیت‌های Randox (Randox، Randox Laboratories Ltd، United Kingdom) اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که گاوهایی که غلظت بتاهیدروکسی‌بوتیرات در آن‌ها بیش از ۱۲۰۰ میکرومول‌برلیتر بود، به‌عنوان گاوهای مبتلا به کتوز تحت‌بالینی در نظر گرفته‌شدند (Andersson, 1988).

- **نمونه‌گیری**: خون‌گیری از تمامی گاوهای شیری هر ٤ گروه مورد مطالعه، در بازه زمانی یک ماه پس از زایمان انجام شد. برای این منظور، از هر گاو میزان ۱۰ میلی‌لیتر خون از سیاهرگ وداجی اخذ گردید. نمونه‌های خون بلافاصله با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده (اروم تجهیز، اروم تجهیز گستر، ایران) و سرم آن‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه دامپزشکی رویان‌پژوه شهرکرد ارسال گردید. سرم‌های دریافت‌شده تا زمان انجام آزمایشات مربوطه در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. در صورت همولیز شدن نمونه‌های سرم، نمونه‌گیری از سیاهرگ وداجی مجدداً تکرار می‌گردید.

- **اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم (TAC)**: غلظت سرمی MDA با استفاده از روش میهارا و یوشیما اندازه‌گیری شد (Mihara and Uchiyma, 1978). همچنین، سطح سرمی TAC نیز به کمک روش بنزی و همکاران اندازه‌گیری شد (Benzie *et al*., 1996).

در این مطالعه از روش TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) یا ترکیبات واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک اسید برای اندازه‌گیری غلظت سرمی MDA استفاده شد. اساس واکنش اتصال یک مولکول مالون‌دی‌الدئید با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید و

تشکیل کمپلکس مالون‌دی‌الدئید-تیوباربیتوریک اسید قرمز رنگ می‌باشد. جذب نوری کمپلکس تشکیل‌شده در طول موج ۵۳۲ اندازه‌گیری شد. سپس غلظت تیوباربیتوریک اسید در مقایسه با منحنی استاندارد مالون‌دی‌الدئید محاسبه شد.

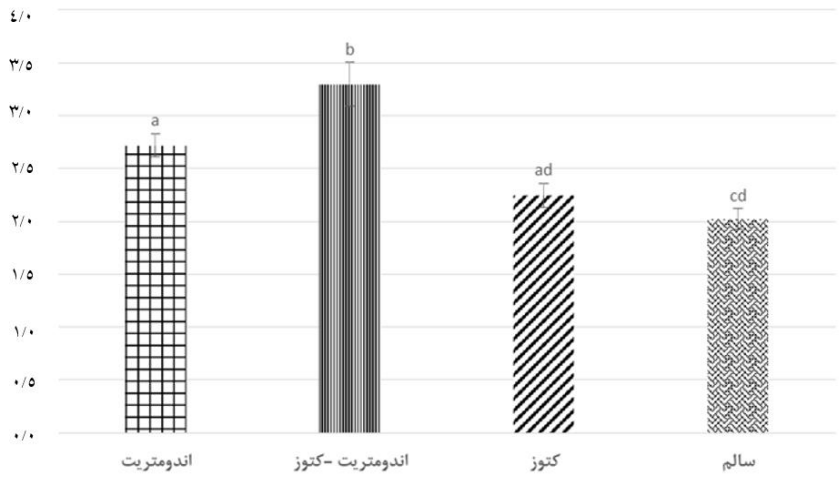
ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سرم نیز با استفاده از روش FRAP (ferric reducing-antioxidant power) اندازه‌گیری شد. در این روش توانایی سرم در احیای یون‌های فریک (Fe^{3+}) در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها اندازه‌گیری می‌شود. با احیای یون‌های فریک (Fe^{3+}) و تبدیل آن به یون‌های فرو (Fe^{2+}) در pH اسیدی و در حضور تری پریدیل اس تریازین (TPTZ)، کمپلکس Fe-TPTZتشکیل می‌شود که رنگ آن آبی است. سپس حداکثر جذب نوری کمپلکس Fe^{+2}+TPTZ در طول موج ۵۹۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۱۹ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. به‌منظور مقایسه میانگین پارامترهای مورد مطالعه در گاوهای مورد آزمایش در هر گروه با گاوهای سالم، از روش آماری t-test استفاده گردید. همچنین سطح اطمینان ۹۵ درصد از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد ($p\leq$۰/۰۵).

یافته‌ها

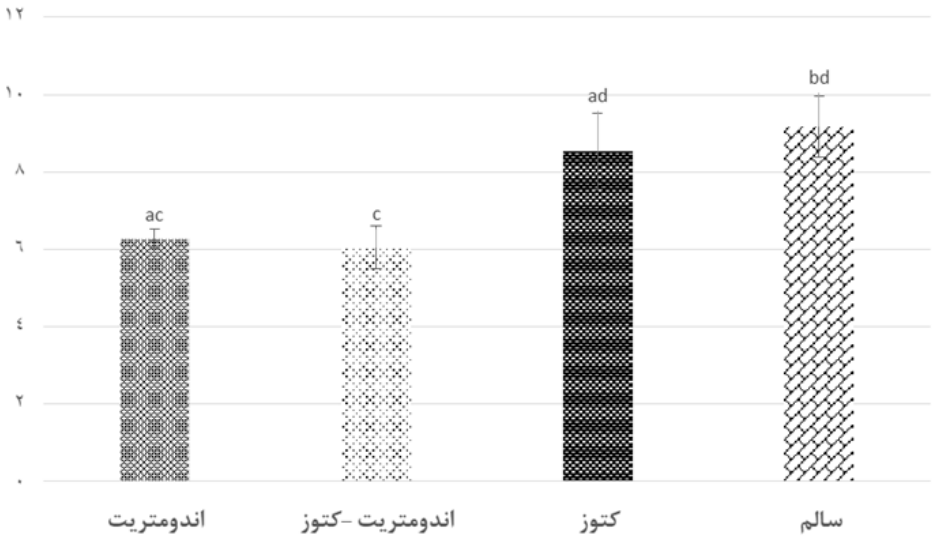
- **فراوانی شیوع آندومتریت بالینی و کتوز تحت‌بالینی در جمعیت مورد مطالعه:** میزان ابتلا به آندومتریت بالینی و کتوز تحت‌بالینی در جمعیت گاوهای شیری مورد بررسی به ترتیب ۹/۹ و ۲۷/۷۲ درصد بود. همچنین از تعداد کلی ۱۰۱ رأس گاو شیری مورد مطالعه، ۳٤ رأس گاو (۳۳/٦٦ درصد) به‌صورت همزمان دارای بیماری‌های آندومتریت بالینی و کتوز تحت‌بالینی بودند.

- **سطح سرمی مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در گاوهای شیری:** مقادیر سرمی MDA در گاوهای شیری مورد مطالعه در نمودار ۱ نشان‌داده شده‌است. مطابق نتایج به‌دست آمده، کمترین میزان MDA در گاوهای سالم (۲/۰۲±۰/۱ میکرومول بر لیتر) و بیشترین میزان آن مربوط به گاوهای مبتلا به کتوز تحت‌بالینی- آندومتریت بالینی (۳/۲۱±۳/۰ میکرومول بر لیتر) بود. همچنین مشخص گردید که ابتلای گاوهای شیری به آندومتریت بالینی باعث افزایش معنی‌دار سطح سرمی MDA نسبت به میزان آن در گاوهای گروه سالم شد ($p\leq$۰/۰۵). در گاوهای مبتلا به کتوز تحت‌بالینی نیز مقدار سرمی MDA تا حدودی افزایش یافته و به ۲/۲۵ میکرومول بر لیتر رسید، هرچند این تفاوت از نظر آماری با گروه سالم معنی‌دار نبود ($p>$۰/۰۵). از طرف دیگر تفاوت آماری معنی‌داری در سطح سرمی MDA بین گاوهای مبتلا به کتوز تحت‌بالینی و دام‌های مبتلا به آندومتریت بالینی مشاهده نشد (به‌ترتیب ۲/۲۵±۰/۱۱ میکرومول بر لیتر در مقابل ۲/۷۲±۰/۱۱ میکرومول بر لیتر).



نمودار ۱- غلظت سرمی مالون‌دی‌آلدئید در سرم گاوهای شیری مورد مطالعه (میکرومول بر لیتر).
abcd: در گروه‌هایی که دارای حروف مشابه نیستند، اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ($p\leq$۰/۰۵).

- مقادیر سرمی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام(TAC) در گاوهای شیری مورد مطالعه: مقادیر سرمی TAC در گاوهای سالم، مبتلا به آندومتریت بالینی و کتوز تحت‌بالینی در نمودار ۲ نشان‌داده شده‌است. مطابق نتایج به‌دست آمده، کمترین سطح سرمی TAC در گاوهای شیری مبتلا به کتوز تحت‌بالینی- آندومتریت بالینی (۰±۰٦/٦/٥٥ میکرومول بر لیتر) و بیشترین میزان آن در گاوهای سالم (۰±۱۸/۹/۷۹ میکرومول بر لیتر) مشاهده‌شد. همچنین مشخص گردید که مقادیر سرمی TAC در گاوهای مبتلا به آندومتریت بالینی و نیز گاوهایی که همزمان مبتلا به کتوز تحت‌بالینی و آندومتریت بالینی بودند، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (به‌ترتیب ۰±۲۷/٦/۲٥ میکرومول بر لیتر و ۰±۰٦/٦/٥٥ میکرومول بر لیتر، $p>$۰/۰۵). اما تفاوت آماری معنی‌داری در سطح سرمی TAC در گاوهای مبتلا به کتوز تحت‌بالینی و گاوهای مبتلا به آندومتریت بالینی مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵). از طرف دیگر سطح سرمی TAC در گاوهایی که همزمان مبتلا به کتوز تحت‌بالینی و آندومتریت بالینی بودند، به‌طور معنی‌داری کمتر از سطح آن در سرم گاوهای مبتلا به کتوز تحت‌بالینی بود (۰±۰٦/٦/٥٥ در مقابل ۰±٥٤/۸/۹۹ میکرومول بر لیتر، $p\leq$۰/۰۵).



نمودار ۲- غلظت‌های ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در سرم گاوهای شیری مورد مطالعه (میکرومول بر لیتر).
abcd: در گروه‌هایی که دارای حروف مشابه نیستند، اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ($p\leq$۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، ارتباط معنی‌داری بین میزان شیوع آندومتریت بالینی درگاوهای شیری و مقادیر سرمی MDA نشان داده‌شد (p=۰/۰٤)، به‌طوری‌که غلظت آن در گاوهای شیری مبتلا به آندومتریت بالینی کاهش یافت (نمودار ۱). بیشترین سطح سرمی MDA هم در گاوهای مبتلا به کتوز تحت‌بالینی-آندومتریت بالینی مشاهده شد (p=۰/۰۲). همچنین، تفاوت آماری معنی‌داری در غلظت سرمی MDA در گاوهای مبتلا به کتوز تحت‌بالینی و دام‌های مبتلا به آندومتریت بالینی مشاهده نشد. در تأیید نتایج مطالعه حاضر، کریمی و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که افزایش سطح MDA در گاوهای شیری مبتلا به آندومتریت بالینی بیانگر سطح بالای تولید اکسیدان‌ها در لکوسیت‌ها در طی روند التهاب می‌باشد. اکسیدان‌ها منجر به افزایش سطح MDA در سرم شده و پاسخ سیستم ایمنی بدن را با وارد کردن آسیب به سلول‌های ایمنی محدود می‌کنند (Karimi *et al.*, 2015). علاوه بر این، حیدرپور و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ گزارش نمودند که سطح سرمی MDA در گاوهای شیری مبتلا به آندومتریت بالینی و تحت‌بالینی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. در این مطالعه، غلظت MDA در سرم گاوهای مبتلا به آندومتریت بالینی (۱۲/٤٤±۳٦/٤٥ میکرومول بر لیتر) و تحت‌بالینی (۱۲/۳٦±۲۹/۷٦ میکرومول بر لیتر) به‌طور معنی‌دار بیشتر از سطح سرمی آن در گاوهای سالم (٤/۸۳±۱۷/۰۳ میکرومول بر لیتر) گزارش شده‌است. این محققین نشان دادند که درمان موفق گاوهای شیری مبتلا به آندومتریت به مدت ۷ روز می‌تواند غلظت سرمی MDA را به‌طور معنی‌دار کاهش داده و به محدوده نرمال خود نزدیک کند، این در حالی بود که عدم پاسخ گاوهای مبتلا به پروسه درمان آندومتریت تغییر آماری معنی‌داری را در سطح سرمی MDA ایجاد نکرد (Heidarpour *et al.*, 2012). در مطالعه مشابه صورت‌گرفته توسط محمد در سال ۲۰۰۸ نیز سطح بالای میزان MDA در سرم شترهای مبتلا به آندومتریت بالینی نسبت به شترهای سالم نشان داده‌شده‌است. این

محقق با بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو و میزان آنتی‌اکسیدان‌ها در شترهای دوکوهانه مبتلا به آندومتریت بالینی گزارش نمود که افزایش غلظت رادیکال‌های آزاد اکسیژن، شکل‌گیری استرس اکسیداتیو و افزایش میزان MDA و سایر متابولیت‌های حاصله از پرکسیداسیون لیپیدی موجب مستعد شدن دام به بیماری‌های تولیدمثلی نظیر آندومتریت می‌شود. در این بررسی، غلظت MDA در سرم شترهای دوکوهانه سالم و مبتلا به آندومتریت بالینی به ترتیب ۲/۸۹±۳۰/٤٤ میکرومول برلیتر و ۲/٤٤±۳٦/۲٤ میکرومول برلیتر گزارش شد (Mohamed, 2008). حنفی و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸ نتایج مطالعه حاضر مبنی بر افزایش معنی‌دار سطح سرمی MDA در گاوهای شیری مبتلا به آندومتریت بالینی (نمودار ۱) را تایید نمودند. این محققین با بررسی تاثیر آندومتریت بالینی بر روی فعالیت‌های تخمدانی و استرس اکسیداتیو در بوفالوهای مصری نشان دادند که غلظت MDA در سرم بوفالوهای مبتلا به آندومتریت بالینی به‌طور معنی‌دار بیشتر از غلظت آن در بوفالوهای سالم است (Hanafi *et al.*, 2008). علاوه بر این، بایتالو و همکاران نیز در سال ۲۰۱٦ وجود ارتباط معنی‌دار بین سطح سرمی MDA و بروز عفونت‌های رحمی در گاوهای نژاد زبو را تایید نمودند. این محققین به بررسی فراوانی رونوشت برداری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اندومتریوم و میزان آنزیم‌های موجود در خون در گاوهای مبتلا به عفونت رحمی پرداختند و غلظت MDA را در خون محیطی گاوهای سالم و مبتلا به متریت و اندمتریت بالینی در روزهای ۷ و ۲۱ روز قبل از زایمان، در زمان زایمان و نیز ۷، ۲۱ و ۳۵ روز پس از زایمان اندازه‌گیری نمودند. در گاوهای مبتلا به متریت، میزان MDA در روزهای ۷ و ۲۱ قبل از زایمان و نیز در زمان زایمان بطور معنی‌دار بیشتر از گاوهای سالم گزارش شده‌است. در گاوهای مبتلا به آندومتریت بالینی نیز غلظت سرمی MDA در روزهای ۷ و ۲۱ قبل از زایمان و نیز روزهای ۷ و ۳۵ پس از زایمان به‌طور معنی‌دار بیشتر از گاوهای سالم بود. در این مطالعه، ارتباط معنی‌داری بین سطوح سرمی MDA و اکسید نیتریک با میزان بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت آندومتر مشاهده شد. همچنین این محققین نشان دادند که غلظت سرمی پایین TAC، سطح بالای MDA و اکسید نیتریک در دوره قبل از زایمان می‌توانند میزان بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی رحم را تحت تاثیر قرار داده و ملاک‌های ارزشمندی برای تشخیص احتمال ابتلای دام به عفونت‌های رحمی‌باشند (Baithalu *et al.*, 2016). از طرف دیگر، بررسی‌ها نشان داده‌است که غلظت سرمی MDA با افزایش شدت و وخامت آندومتریت افزایش می‌یابد. این افزایش احتمالاً به‌علت تولید بیش از حد رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) است که موجب آسیب مولکول‌های DNA و غشای سیتوپلاسمی سلول در طی روند شکل گیری عفونت می‌شود (Yaralioglu-Gurgoze *et al.*, 2005). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که غلظت MDA در گاوهای شیری مبتلا به کتوز بالینی نیز تا حدودی افزایش یافته و به ۲/۲۵ میکرومول بر لیتر می‌رسد، هرچند این تغییر از نظر آماری با مقدار این ترکیب در گاوهای گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. در تایید نتایج مطالعه حاضر، افزایش غلظت سرمی MDA در بیماری هیپرکتونمی در انسان (Jain *et al.*, 2006; Shen *et al.*, 2009)، گاو (Sahoo *et al.*,

2009)، بوفالو (Youssef *et al.*, 2010) و میش (Al-Qudah, 2011) نشان داده شده‌است. کریمی و همکاران در سال ۲۰۱۵ با بررسی عناصر کمیاب، میزان استرس اکسیداتیو و شیوع کتوز در دوره انتقالی گاوهای شیری نشان دادند که بالاترین غلظت سرمی MDA و بتاهیدروکسی‌بوتیرات در هفته اول پس از زایمان مشاهده می‌شود. این محققین بیان نمودند که ارتباط معکوس و معنی‌داری بین غلظت سرمی روی پس از زایمان با سطح سرمی MDA وجود دارد. همچنین، غلظت سرمی MDA پس از زایمان نیز ارتباط مثبت و معنی‌داری با میزان بتاهیدروکسی‌بوتیرات داشت. این محققین بیان نمودند که افزایش غلظت MDA در یک هفته پس از زایمان می‌تواند خطر ابتلا به کتوز تحت‌بالینی را افزایش دهد (Karimi *et al.*, 2015). در مطالعه دیگر، لی و همکاران در سال ۲۰۱۵ تایید نمودند که ارتباط معنی‌دار و مستقیمی بین سطوح استرس اکسیداتیو با غلظت اسیدهای چرب غیراستریفه، MDA و میزان بتاهیدروکسی‌بوتیرات در گاوهای شیری مبتلا به کتوز وجود دارد. نتایج این مطالعه نشان داد که گاوهای مبتلا به کتوز دچار کاهش معنی‌دار آسپارتات آمینوترانسفراز، کاتالاز، ظرفیت رادیکال هیدروکسیل و ویتامین‌های C و E می‌باشند و غلظت‌های سرمی پراکسید هیدروژن و MDA نیز در آن‌ها بیشتر از گاوهای سالم است. این محققین، ارتباط معنی‌دار و مستقیمی را بین میزان اسیدهای چرب غیرضروری پلاسما و آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، LDH و MDA گزارش نمودند (Li *et al.*, 2015). الباهر و الدیب نیز در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که سطح آسپارتات آمینوترانسفراز، گاما گلوتامیل ترانسفراز، اسیدهای چرب آزاد غیراستریفیه و MDA در گاوهای شیری مبتلا به کتوز نسبت به گاوهای سالم بیشتر است. این محققین تایید نمودند که بیومارکرهای استرس اکسیداتیو و به‌ویژه میزان MDA می‌توانند به‌عنوان بیومارکرهای امیدوارکننده برای پیشگویی کتوز در گاوهای شیری در دوره پس از زایمان باشند. همچنین در این مطالعه، درمان کتوز با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها توانست غلظت متابولیت‌های اکسیداتیو را در سرم تعدیل کند (EL-Bahr and EL-Deeb, 2017).

از طرف دیگر در مطالعه حاضر، مقدار سرمی TAC در گاوهای مبتلا به آندومتریت بالینی و نیز گاوهای مبتلا به کتوز تحت‌بالینی-آندومتریت بالینی به‌طور معنی‌داری نسبت به مقدار آن در سرم گاوهای گروه کنترل (سالم) کاهش یافت (p=۰/۰۰۱). کمترین سطح سرمی TAC در گروه مبتلا به کتوز تحت‌بالینی آندومتریت بالینی و بیشترین میزان آن هم مربوط به گاوهای سالم بود. تفاوت آماری معنی‌داری نیز در میزان TAC بین گاوهای مبتلا به کتوز تحت‌بالینی و گروه مبتلا به آندومتریت بالینی مشاهده نشد. در تایید نتایج مطالعه حاضر، محمد در سال ۲۰۰۸ نشان داد که غلظت سرمی TAC در سرم شترهای دوکوهانه مبتلا به آندومتریت بالینی به طور معنی‌دار کمتر از شترهای سالم است. در این تحقیق، غلظت TAC در سرم شترهای مبتلا به آندومتریت بالینی و سالم به ترتیب ۰/۱۵٦±۰/۰۰٤ میلی‌مول در لیتر و ۰/۲۰۱±۰/۰۰٦ میلی‌مول در لیتر گزارش شده‌است (Mohamed, 2008). در تحقیقی مشابه، حنفی و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸ گزارش نمودند که غلظت TAC در سرم

بوفالوهای مصری مبتلا به آندومتریت بالینی (۰/۰۵±۰/۴۵ میلی‌مول در لیتر) به‌طور معنی‌دار کمتر از غلظت آن در سرم بوفالوهای سالم (۰/۰۸±۱/۴۳ میلی‌مول در لیتر) بود. همچنین در این مطالعه، شیوع اندومتریت بالینی در بوفالوهای مورد مطالعه ۱۶/۷۳ درصد و در دام‌های مبتلا به نارسایی تخمدان ۷۰/۵۹ درصد گزارش شده‌است. اندازه‌گیری مارکرهای اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی موجود در خون بوفالوهای مبتلا به عفونت‌های رحمی هم نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار میزان MDA، کاهش غلظت آنزیم کاتالاز و اسید آسکوربیک، کاهش گلوتاتیون و نیز کاهش TAC بود. این محققین تایید نمودند که با افزایش شدت و وخامت آندومتریت، سطح سرمی TAC در دام های مبتلا کاهش می‌یابد (Hanafi *et al*., 2008). علاوه بر این، نتایج مطالعه حاضر مبنی بر کاهش معنی‌دار سطح TAC (نمودار ۲) توسط حیدرپور و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ تأیید شده‌است. این محققین نشان دادند که سطح سرمی TAC در گاوهای مبتلا به آندومتریت بالینی و تحت‌بالینی به‌طور معنی‌دار کاهش می‌یابد. در این مطالعه، غلظت سرمی TAC در گاوهای مبتلا به آندومتریت بالینی و تحت‌بالینی به ترتیب ۱/۱۴±۳/۵۵ میلی‌مول بر لیتر و ۱/۲۲±۳/۶۷ میلی‌مول بر لیتر گزارش شده‌است که از نظر آماری کمتر از غلظت آن در سرم گاوهای گروه کنترل (۰/۹۷±۴/۶۵ میلی‌مول بر لیتر) بود. همچنین درمان دام‌های مبتلا به آندومتریت به مدت ۷ روز توانست مقادیر سرمی TAC را افزایش داده و به ۴/۶۴ میلی‌مول بر لیتر برساند. این محققین نشان دادند که کاهش سطح سرمی TAC و عناصر کمیاب (مس و روی) می‌تواند حساسیت دام به بیماری‌های تولیدمثلی نظیر اندومتریوز را افزایش دهد (Heidarpour *et al*., 2012). ازطرف دیگر در مطالعه حاضر سطح TAC در سرم گاوهای شیری مبتلا به کتوز نیز تا حدودی کمتر از میزان آن در سرم گاوهای گروه کنترل (سالم) بود (نمودار ۲)، هرچند این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. در تایید این یافته، امیدی و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که افزایش غلظت سرمی MDA در حول و حوش زمان زایمان همزمان و به موازات کاهش سطح سرمی TAC پیش خواهد رفت. به‌عبارت دیگر، افزایش فرایندهای متابولیسمی و سرعت تولید اکسیدان‌ها در حول و حوش زمان زایمان در گاوها بسیار سریع‌تر از ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن می‌باشد. همچنین این محققین گزارش نمودند که افزایش تولید شیر در دوره ابتدایی پس از زایمان باعث افزایش شدت و وخامت کتوز، تشدید بالانس منفی انرژی و شکل‌گیری سایر بیماری‌های متابولیک می‌گردد. در این مطالعه، کمترین غلظت سرمی TAC در دوره ابتدایی پس از زایمان و به‌ویژه در گاوهای پرتولید گزارش شده‌است. این در حالی بود که بیشترین غلظت سرمی TAC مربوط به گاوها در دوران خشکی بود (Omidi *et al*., 2017). در سایر مطالعات نیز اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی خون به‌ویژه سطح سرمی TAC به‌عنوان نشانگر دقیق و ارزشمندی برای تعیین میزان احتمال بروز بیماری‌های متابولیکی به‌ویژه کتوز در دام‌ها تعیین شده‌است (Mandebvu *et al*., 2003; Zdunczyk *et al*., 2006; Macrae *et al*., 2006; Castillo *et al*., 2006; Albera and Kankofer, 2010; Celi, 2010; Bernabucci *et al*., 2017).

یافته‌های مطالعه حاضر تغییرات وضعیت اکسیداتیو گاوهای شیری پس از زایمان را در ارتباط با بیماری

کتوز و آندومتریت نشان داد و مشخص گردید که مقادیر سرمی پائین TAC و مقادیر بالای MDA می‌تواند سبب افزایش ابتلا به عفونت‌های رحمی و کتوز پس از زایمان در گاوهای شیری گردد. باتوجه به‌این که همکاری بین آنتی‌اکسیدان‌ها سبب محافظت بدن در مقابل حملات رادیکال‌های فعال اکسیژن تولیدی در روند التهاب ناشی از آندومتریت و بیماری‌های متابولیکی می‌گردد، لذا به نظر می‌رسد که با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گاوها در دوره خشکی و پس از زایمان، می‌توان از استرس اکسیداتیو و متعاقب آن از بروز بسیاری از بیماری‌های متابولیکی و تولید مثلی در گاوهای شیری پیشگیری نمود. همچنین درمان با آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند در درمان این بیماری‌ها در گاو در دوره پس از زایمان مفید باشد. البته در این رابطه مطالعات بیشتری لازم است تا اثر آنتی‌اکسیدان‌های مختلف به‌عنوان درمان کمکی برای تسکین استرس اکسیداتیو ناشی از این بیماری‌ها ارزیابی گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان از آقای دکتر محمد قاسمی مدیر محترم آزمایشگاه رویان پژوه شهرکرد، به جهت همکاری در انجام آزمایشات تحقیق حاضر، تقدیر و تشکر می‌نمایند. مقاله مربوط به نتایج پایان‌نامه آقای فرهاد بلاری دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی می‌باشد (کد پایان‌نامه: ۱۳۳۱۰۵۰۱۹۷۱۰۱۱).

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Adly, A.A. (2010). Oxidative stress and disease: An updated review. Research Journal of Immunology, 3(2): 129-145.
- Albera, E. and Kankofer, M. (2010). The comparison of antioxidative/oxidative profile in colostrum, milk and blood of early post-partum cows during their first and second lactation. Reproduction in Domestic Animals, 45(6): 417-25.
- Al-Qudah, K. (2011). Oxidant and antioxidant profile of hyperketonemic ewes affected by pregnancy toxemia. Veterinary Clinical Pathology, 40(l): 60-65.
- Andersson, L. (1988). Subclinical ketosis in dairy cows. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 4(2): 233-251.
- Baithalu, R.K., Singh, S.K., Kumaresan, A., Mohanty, A.K., Mohanty, T.K., Kumar, S., *et al*. (2017). Transcriptional abundance of antioxidant enzymes in endometrium and their circulating levels in Zebu cows with and without uterine infection. Animal Reproduction Science, 177: 79-87.
- Benzie, I.F. and Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239(1): 70-76.

- Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N. and Nardone, A. (2017). Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. Journal of Dairy Science, 88(6): 2017-2026.
- Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S. and Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. World Allergy Organization Journal, 5(1): 9-19.
- Caldecott, K.W. (2003). Protein-protein interactions during mammalian DNA single-strand break repair. Biochemical Society Transactions, 31(1): 247-251.
- Castillo, C., Hernandez, J., Valverde, I., Pereira, V., Sotillo, J., Alonso, M.L., *et al*. (2006). Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. Research in Veterinary Science, 80(2): 133-139.
- Celi, P. (2010). The role of oxidative stress in small ruminant health and production. Revista Brasileira de Zootecnia, 39: 348-363.
- Celi, P. and Gabai, G. (2015). Oxidant/antioxidant balance in animal nutrition and health: the role of protein oxidation. Frontiers in Veterinary Science, 2(48): 1-13.
- Di Trana, A., Celi, P., Claps, S., Fedele, V. and Rubino, R. (2006). The effect of hot season and nutrition on the oxidative status and metabolic profile in dairy goats during mid-lactation. Animal Science, 82(5): 717-722.
- EL-Bahr, S.M. and EL-Deeb, W.M. (2017). Oxidative stress and cardiac biomarkers in lambs affected with enzootic ataxia: the diagnostic and prognostic significance. Veterinarski Arhiv, 87(3): 259-271.
- Hanafi, E.M., Ahmed, W.M., Abd El Moez, S.I., El Khadrawy, H.H. and Abd El Hameed, A.R. (2008). Effect of clinical endometritis on ovarian activity and oxidative stress status in Egyptian buffalo-cows. Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences, 4(5): 530-536.
- Heidarpour, M., Mohrı, M., Fallah-Rad, A.H., Shahreza, F.D. and Mohammadi, M. (2012). Oxidative stress and trace elements before and after treatment in dairy cows with clinical and subclinical endometritis. Revue de Médecine Vétérinaire, 163(12): 628-633.
- Herdt, T.H. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 16(2): 215-230.
- Jain, S.K., McVie, R. and Bocchini, J.A. (2006). Hyperketonemia (ketosis), oxidative stress and type 1 diabetes. Pathophysiology, 13(3): 163-70.
- Karimi, N., Mohri, M., Seifi, H.A., Azizzadeh, M. and Heidarpour, M. (2015). Relationships between trace elements, oxidative stress and subclinical ketosis during transition period in dairy cows. International Journal of Veterinary Science and Technology, 7(2): 46-56.
- Keck, R.G. (1996). The use of t-butyl hydroperoxide as a probe for methionine oxidation in proteins. Analytical Biochemistry, 236(1): 56-62.
- Kelly, F.J. and Mudway, I.S. (2003). Protein oxidation at the air-lung interface. Amino Acids, 25(3-4): 375-96.
- Li, Y., Ding H.Y., Wang, X.C., Feng, X.B., Li, X.B., Wang, Z., *et al*. (2016). An association between the level of oxidative stress and the concentrations of NEFA and BHBA in the plasma of ketotic dairy cows. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 100(5): 844-851.
- Lykkesfeldt, J. and Svendsen, O. (2007). Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. The Veterinary Journal, 173(3): 502-511.
- Macrae, A.I., Whitaker, D.A., Burrough, E., Dowell, A. and Kelly, J.M. (2006). Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds. Veteran Records, 159(20): 655-661.
- Mandebvu, P., Castillo, J. B., Steckley, D.J. and Evans, E. (2003). Total antioxidant capacity: a tool for evaluating the nutritional status of dairy heifers and cows. Canadian Journal of Animal Science, 83(3): 605-608.

- Marietta, C., Gulam, H. and Brooks, P.J. (2002). A single 8, 50-cyclo-20-deoxyadenosine lesion in a TATA box prevents binding of the TATA binding protein and strongly reduces transcription in vivo. DNA Repair (Amst), 1(11): 967-975.
- Mihara, M. and Uchiyama, M. (1978): Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Analytical Biochemistry 86(1): 271-278.
- Mohamed, H.E. (2008). Antioxidant status and the degree of oxidative stress in demedary (Camelus dromedaries) with or without endometritis. Veterinary Research, 2(1): 1-2.
- Niehaus Jr, W.G. and Samuelsson, B. (1968). Formation of malonaldehyde from phospholipid arachidonate during microsomal lipid peroxidation. European Journal of Biochemistry, 6(1): 126-30.
- Omidi, A., Fathi, M.H. and Parker, M.O. (2017). Alterations of antioxidant status markers in dairy cows during lactation and in the dry period. Journal of Dairy Research, 84(1): 49-53.
- Poulsen, H.E. (2005). Oxidative DNA modifications. Experimental and Toxicologic Pathology, 57(1): 161-169.
- Sahoo, S.S., Parta, R.C., Behera, P.C. and Swarup, D. (2009). Oxidative stress indices in the erythrocytes from lactating cows after treatment for subclinical ketosis with antioxidant incorporated in the therapeutic regime. Veterinary Research Communications, 33(3): 281-290.
- Shen, X.P., Zou, S.B., Wu, H.J. and Zhang, Y. (2009). The relationship between serum level of leptin and oxidative stress in patients with hyperglycemia crisis. Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue, 21(6): 353-356.
- Walsh, R.B., Walton J.S., Kelton D.F., LeBlanc S.J., Leslie K.E., *et al*. (2007). The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. Journal of Dairy Science, 90(6): 2788-2796.
- Yaralioglu-Gurgoze, S., Cetin, H., Cen, O., Yilmaz, S. and Atli, M.O. (2005). Changes in malondialdehyde concentrations and glutathione peroxidase activity in purebred Arabian mares with endometritis. Veterinary Journal, 170(1): 135-137.
- Youssef, M.A., El-Khodery, S.A., El-deeb, W.M. Abou and El-Amaiem, W.E.A. (2010). Ketosis in buffalo (Bubalus bubalis): clinical findings and the associated oxidative stress level. Tropical Animal Health and Production, 42(8): 1771-1777.
- Zdunczyk, Z., Flis, M., Zielinski, H., Wróblewska, M., Antoszkiewicz, Z. and Juskiewicz, J. (2006). In vitro antioxidant activities of barley, husked oat, naked oat, triticale, and buckwheat wastes and their influence on the growth and biomarkers of antioxidant status in rats. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(12): 4168-4175.