تاثیر ترانس ۱۰- سیس ۱۲ اسید لینولئیک مزدوج محافظت شده در شکمبه یا یک جیره کاهنده چربی روی متابولیسم انرژی، التهاب و تنش اکسیداتیو گاوهای شیری در ابتدای شیردهی

چکیده

هدف از این مطالعه تعیین اثرات افت چربی شیر القا شده توسط مکمل کردن اسید لینولئیک مزدوج (CLA؛ ترانس ۱۰، سیس ۱۲ و سیس ۹، ترانس ۱۱ CLA) یا تغذیه جیره با نشاسته بالاتر و دارای روغن (HSO) روی تغییرات متابولیکی در گاوهای شیری بعد از زایش بود. فرضیه اصلی این بود که ۲ راهکار برای کاهش تولید چربی شیر، می تواند اثرات مختلفی روی عملکرد، توازن انرژی و وضعیت التهابی در ابتدای شیردهی داشته باشد. سی و سه گاو شیری قرمز شمالی در یک طرح بلوک تصادفی از روز اول تا ۱۲۲ شیردهی مورد استفاده قرار گرفتند و با یکی از تیمارهای زیر تغذیه گردیدند: شاهد، جیره مکمل شده با CLA یا جیره HSO. مصرف ماده خشک و تولید شیر روزانه اندازه گیری شد در حالی که ترکیب شیر هفتگی در سرتاسر مطالعه اندازه گیری گردید. قابلیت هضم مواد مغذی، توازن انرژی و هورمون های پلاسما و متابولیت ها در هفته های ۳، ۷، ۱۱ و ۱۵ شیردهی در اتاق های تنفسی اندازه گیری شد. جیره HSO منجر به مصرف ماده خشک، دیواره سلولی و انرژی خام کمتر در مقایسه با گروه شاهد و CLA گردید. جیره CLA و به ویژه جیره HSO، منجر به تولید شیر تصحیح شده برای انرژی پایین تر طی ۷ روز اول شیردهی نسبت به گاوهای تغذیه شده با گروه شاهد شد. توازن انرژی به طور عددی برای جیره های HSO و CLA در مقایسه با شاهد در هفته سوم و هفتم بالاتر بود. مقدار گلوکز پلاسما در تیمار CLA در هفته سوم بالاتر بود و در تیمار HSO از هفته سوم تا پانزدهم در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود. اسیدهای چرب غیر استریفه پلاسما در هفته سوم در گروه شاهد بالاتر بود (نشان دهنده فراخوانی بیشتر چربی) ولی بعد از آن، کاهش یافت و مشابه با سطح سایر گروه ها گردید. گاوهای تغذیه شده با جیره HSO، سرولوپلاسمین، پاراُکسوناز و مقدار کل بیلی روبین بالاتری در کل دوره مطالعه داشتند و بالاترین سطح متابولیت های اکسیژن واکنش پذیر را نشان دادند. این نتایج ، بیان کننده افزایش وضعیت تنش اکسیداتیو و التهابی در گاوهای HSO و احتمالا تنظیم متفاوت سیستم ایمنی ذاتی است. این مطالعه، شواهدی ارائه می دهد که افت چربی شیر القا شده توسط تغذیه تیمارهای HSO (و نیز CLA)، ترشح چربی شیر را کاهش داد و توازن انرژی را در مقایسه با گروه شاهد در ابتدای شیردهی بهبود داد. افزایش در گلوکز پلاسما و سطح پاراُکسوناز با جیره HSO می تواند نشان دهنده توانایی بهتر کبد برای تامین تقاضای متابولیکی بعد از زایش باشد. با این حال، تاثیر منفی HSO روی مصرف خوراک و بروز افزایش التهاب و تنش اکسیداتیو، قبل از اینکه راهکار تغذیه HSO بتواند به عنوان جایگزینی برای بهبود توازن انرژی در ابتدای شیردهی تایید شود، نیاز به مطالعات بیشتری دارد. کلمات کلیدی: لینولئیک اسید مزدوج، متابولیسم انرژی، افت چربی شیر، بعد از زایش

مقدمه

مصرف خوراک غالبا طی ابتدا تا اواسط شیردهی کافی نیست تا بتواند افزایش سریع در نیاز به انرژی برای تولید شیر را تامین کند و منجر به توازن منفی انرژی می شود که روی سلامتی، تولید و عملکرد تولیدمثلی تاثیر می گذارد. افزایش مصرف انرژی با تغذیه مواد مغذی لیپوژنیک (مانند اسید پالمتیک یا اولئیک اسید) تولید چربی شیر را افزایش می دهد که ممکن است همیشه سودمند نباشد چراکه منجر به افزایش توازن منفی انرژی و افت وزن بیشتر در ابتدای دوره شیردهی می شود. از طرف دیگر، جیره های هم انرژی با نسبت بالاتر مواد مغذی گلوکوژنیک به لیپوژنیک، درصد و تولید چربی شیر را کاهش داد و تقسیم بندی انرژی به طرف افزایش وزن بدن را افزایش داد که مرتبط با بهبود توازن انرژی گاوهای شیرده در ابتدای شیردهی و بعد از اوج تولید شیر است. افت چربی شیر (MFD) می تواند توازن منفی انرژی طی دوره انتقال را با تقسیم بندی انتقال انرژی از ساخت چربی شیر به طرف ذخایر بدن، به ویژه اگر مصرف خوراک، وضعیت سلامتی و ایمنی یا شرایط اکسیداتیو مختل نشده باشد، بهبود دهد. حداکثر ۵۰ درصد کاهش در ساخت چربی شیر طی مصرف جیره های القا کننده افت چربی شیر (یعنی جیره های با مقدار بالای کنسانتره یا اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه) و در مطالعات واکنش به دُز با تزریق شیردانی ایزومر ترانس۱۰ - سیس ۱۲ CLA مشاهده شده است. CLA ترانس ۱۰ -سیس ۱۲، یک واسطه بیوهیدروژناسیون است که مشخص شده ساخت چربی شیر را مهار می کند ولی افت چربی شیر القا شده توسط جیره می تواند توسط تولید واسطه های بیوهیدروژناسیون ترانس خاصی، انجام شود. ارتباط بین افت چربی شیر و تقسیم بندی مجدد انرژی القا شده توسط تزریق شیردانی CLA ترانس ۱۰-سیس ۱۲ در مطالعات اخیر، پررنگ شده است. با این حال، اثرات مکمل CLA جیره روی توازن انرژی و مصرف خوراک طی ابتدای شیردهی، یکسان نبوده است.

تقریبا همه گاوهای شیری قبل از زایش، درجاتی از فعال شدن ایمنی و واکنش التهابی را تجربه می کنند که بر پیشرفت بسیاری از مسیرهای متابولیکی تاثیر می گذارد یا آن را مختل می کند. بنابراین، بروز بیماری های متابولیکی و عفونی در دوره بعد از زایش را افزایش می دهد. چندین پروتئین فاز حاد (APP) از سلول های کبد به عنوان بخشی از واکنش التهابی غیر اختصاصی آزاد می شوند. بنابراین، این وضعیت می تواند روی عملکرد کبد تاثیر بگذارد و منجر به اثرات منفی روی ساخت آلبومین، آپولیپوپروتئین ها، کریرهای هورمون و آنزیم های مسیرهای متابولیکی مختلفی شود. اثرات CLA محافظت شده در شکمبه روی وضعیت التهابی عمومی، نتایج ثابتی به همراه نداشته است. یک ارتباط معکوس بین وضعیت التهابی طی ماه اول شیردهی و عملکرد کبد، گزارش شده است. سیتوکین های پیش التهابی در گردش می تواند یک مکانیسم مشترکی را نشان داد که بیماری را به اختلال در عملکرد کبد به ویژه در ارتباط با توازن منفی انرژی، مرتبط می سازد. نشان داده شده است که افزایش در تنش اکسیداتیو و التهاب طی اوایل شیردهی که توسط متابولیت های اکسیژن واکنش پذیر (ROM) و پروتئین های فاز حاد ارزیابی شده است، به ترتیب مرتبط با تقاضای بیشتر برای گلوکز و کاهش عملکرد کبد است. مطالعه حاضر برای درک بهتر اثرات افت چربی شیر القا شده توسط جیره (تولید دامنه وسیعی از متابولیت های بیوهیدروژناسیون به جای تنها ترانس ۱۰-سیس ۱۲ CLA) در ابتدای شیردهی روی متابولیسم انرژی و واکنش های التهابی در مقایسه با افت چربی شیر القا شده توسط CLA، طراحی شد. ما جیره ای دارای روغن آزاد غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع چندگانه (PUFA) تنظیم کردیم که واسطه های بیوهیدروژناسیون و ایزومرهای مختلف CLA را فراهم می کرد که می تواند به عنوان واسطه سیستم ایمنی عمل کند و روی واکنش های التهابی به طور متفاوتی از CLA ترانس

۱۰-سیس ۱۲، همان طور که توسط مینوتی (۲۰۱۵) شرح داده شده است، تاثیر بگذارد. در مقاله قبلی ما روی این آزمایش، بیان ژن بافت چربی مورد ارزیابی قرار گرفت و توانستیم مکانیسم های مختلف برای تنظیم متابولیسم چربی در بافت چربی را با توجه به مسیرهای پیام رسان انسولین، نشان دهیم. هدف اصلی از مطالعه حاضر، تعیین این بود که چگونه دو روش مختلف القا کننده افت چربی شیر، از نظر توازن انرژی و شرایط التهابی-متابولیکی با تاکید بر واکنش های تولیدی، قابلیت هضم مواد مغذی و متابولیسم انرژی در ابتدای دوره شیردهی، متفاوت خواهند بود. به علاوه، متابولیت های خون و هورمون های درگیر در متابولیسم انرژی و چربی، اندازه گیری شد تا به ما امکان شناسایی بهتر نحوه عملکرد احتمالی تیمارها را بدهد. ما فرض کردیم که جیره با نشاسته بالاتر دارای PUFA که افت چربی شیر را القا می کند، توازن انرژی گاوهای شیری طی ابتدای شیردهی را بهبود خواهد داد، اثرات مثبتی روی سلامتی و وضعیت التهابی-متابولیکی داشته و بنابراین جایگزین مناسبی برای مکمل CLA محافظت شده در شکمبه (ترانس ۱۰-سیس ۱۲ CLA) جهت بهبود وضعیت انرژی گاوهای شیری در ابتدای شیردهی خواهد بود.

مواد و روش ها

گاوها، طراحی آزمایش و تیمارها

مراقبت از دام و همه روندهای آزمایش مورد استفاده در این مطالعه، مورد تایید کمیته ملی اخلاق و مطابق دستورالعمل تهیه شده توسط انجمن اروپایی ۸۶/۶۰۹/EEC بود. مطالعه به شکل طرح بلوک تصادفی با استفاده از ۳۳ راس گاو شیری قرمز شمالی چند شکم انجام شد. همه گاوها در شروع آزمایش در وضعیت سلامتی خوبی بودند و دستورالعمل های سلامتی طی مطالعه اجرا می شد. گاوها با میانگین وزن بدن ۷۲± ۷۹۲ طی ۱۴ روز قبل از زایش و میانگین شکم زایش ۱,۱ ±۳ از ۲۸ روز قبل از تاریخ مورد انتظار زایش تا ۱۱۲ روز بعد از آن مورد مطالعه قرار گرفتند. حیوانات جیره های آزمایشی را بلافاصله بعد از زایش دریافت کردند و بر اساس تاریخ زایش احتمالی، وزن بدن، شکم زایش و شایستگی های نژادی، بلوک بندی شدند (https://www.nordicebv.info/ntm-nordic -total-merit). بلوک ها به طور پیوسته طی سال های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۳ کامل شد و هر بلوک از ۶ راس گاو که ترجیحا با هم زایش می کردند، تشکیل می شد (۲ گاو در هر تیمار). درون هر بلوک، گاوها به طور تصادفی به ۳ تیمار آزمایشی اختصاص پیدا کردند. در مقاله قبلی ما، داده ها از ۳۰ گاو از همان مطالعه را (وزن بدن ۷۲± ۷۹۲ و شکم زایش ۱± ۲,۹)، روی بیان ژن درگیر در متابولیسم چربی در بافت چربی و برخی متابولیت های خون در هفته سوم و ۱۵ شیردهی، ارائه کردیم. به علاوه، برخی از متغیرهای تولید و توازن انرژی که به شکل کسر کردن نیاز برآوردی به انرژی قابل متابولیسم ($BW^{0.75}$×0.515+5.15× ECM) از انرژی قابل متابولیسم دریافتی محاسبه شد، گزارش گردید. گاوها در بهاربند فری استال نگه داری شدند و دسترسی آزاد به آب و بلوک نمک داشتند و دو بار روزانه در ساعت ۷ صبح و ۱۶:۴۵ دقیقه در سالن شیردوشی یا در شرایط آزمایشی (هنگام اندازه گیری توازن انرژی) دوشیده می شدند.

طی دوره قبل از زایش، ۲۱ روز قبل از تاریخ مورد انتظار زایش، گاوها با کنسانتره استاندارد مخصص قبل از زایش تغذیه شدند. گاوها دسترسی آزاد به سیلاژ گراس داشتند و ۱ تا ۴ کیلوگرم در روز کنسانتره دریافت می کردند (بر اساس درصد:

٪۴۴,۴ جو غلتک زده، ٪۲۶,۷ کنجاله منداب استخراج شده با حلال، ٪۱۱,۱ تفاله چغندر دارای ملاس، ٪۱۱,۱ دانه جو و ٪۶,۷ پیش مخلوط ویتامینه و معدنی). تخصیص کنسانتره، ۱ کیلوگرم در روز از ۲۸ روز قبل از تاریخ مورد انتظار زایش بود و به تدریج به ۴ کیلوگرم در روز در روز ۷ قبل از زایش افزایش یافت و تا هنگام زایش، ثابت باقی ماند. ترکیب شیمیایی کنسانتره قبل از زایش، ۱۸,۸ درصد پروتئین خام، ۲۵,۱ درصد NDF و ۳۲,۷ درصد نشاسته بود. تیمارها از (۱) یک جیره پایه بر اساس سیلاژ گراس (شاهد، ۱۳ راس)، (۲) جیره پایه یکسان مکمل شده با CLA (جیره CLA، ۹ راس) که ۱۰ تا ۱۵ گرم در روز ترانس ۱۰-سیس ۱۲ و مقدار معادل سیس۹-ترانس ۱۱ CLA تامین می کرد و (۳) جیره بر پایه سیلاژ گراس با مقدار نشاسته بالاتر (۲۰,۲ درصد ماده خشک)، دارای ۳۳,۳ درصد NDF بر اساس ماده خشک و مکمل شده با ۴ درصد ماده خشک مخلوطی از اسیدچرب غیر اشباع (HSO، ۱۱ راس) برای القای ۱۵ درصد افت تولید چربی شیر بر اساس مطالعات قبلی، تشکیل می شد. در مطالعه قبلی ما (Darabighane, et al. 2021)، جیره با نشاسته بالا مکمل شده با ۳ درصد روغن آفتابگردان و روغن ماهی (نسبت ۲ به ۱)، باعث ۱۲ درصد افت چربی شیر شد و برای اطمینان از افت چربی شیر بیشتر (حداقل ۱۵ درصد)، میزان روغن به ۴ درصد ماده خشک جیره در مطالعه حاضر، افزایش یافت. جیره های CLA و HSO برای القای کاهش تولید چربی شیر طی ۱۱۲ روز اول شیردهی تنظیم شد. جیره HSO القا کننده افت چربی شیر، با کم کردن NDF غیر علوفه ای، افزایش غلظت نشاسته از ۱۶,۴ به ۲۰,۲ درصد ماده خشک جیره با جایگزین کردن دانه جو غلتک زده، تفاله چغندر و دانه جو با دانه گندم و مخلوطی از اسیدچرب غیراشباع در مقایسه با گروه های شاهد و CLA به دست آمد. مخلوط اسیدچرب غیر اشباع محافظت شده در شکمبه از روغن آفتابگردان (۶۱,۲ گرم لینولئیک اسید/ ۱۰۰ گرم اسید چرب؛ از شرکت EBM Grupp AS) و روغن ماهی (۲۷ گرم اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه با زنجیره طویل/ ۱۰۰ گرم اسیدچرب از شرکت BASF) به نسبت ۲ به ۱ تشکیل می شد که جایگزین اقلام کنسانتره به شرح فوق شد (جدول ۱).

مکمل CLA محافظت شده در شکمبه و انکپسوله شده با لیپید، هم از ایزومرهای سیس۹-ترانس ۱۱ و هم ترانس ۱۰-سیس ۱۲ CLA با مقدار مساوی ۲±۱۰ درصد تشکیل می شد. برای رسیدن به سطح خاصی از محافظت در شکمبه، شکل لیپید CLA، لوتالین، با چربی داغ با نقطه ذوب بالا (روغن سویای هیدروژنه شده) قبل از اسپری درایینگ، مخلوط شد. مکمل CLA از ۱۲,۲ درصد پالمیتیک اسید، ۵۲,۲ درصد استئاریک اسید، ۹ درصد اولئیک اسید و ۰,۸ درصد لینولئیک اسید تشکیل می شد. مکمل CLA، به شکل گرانوله، در دو قسمت مساوی روزانه در ساعت ۶:۳۰ و ۱۸:۳۰، به مقدار ۱۵۰، ۱۲۵ و ۱۰۰ گرم در روز طی روزهای اول تا ۱۴، ۱۵ تا ۲۱ و ۲۲ تا انتهای مطالعه، تاپ درس (پاشش روی سطح خوراک) می شد که منجر به تامین به طور متوسط ۱۵، ۱۲,۵ و ۱۰ گرم از هر کدام از ایزومرها در روز به ترتیب شد. تصحیح مقدار مکمل CLA طی زمان انجام می شد تا حساسیت پایین تر غده پستانی به اثرات مهارکنندگی ترانس ۱۰- سیس ۱۲ CLA در شروع شیردهی را جبران کند. ما انتظار داشتیم که حداکثر کاهش در تولید چربی شیر، در دُز ۱۰ گرم در روز ترانس ۱۰- سیس ۱۲ CLA، همان طور که توسط وث و همکاران (۲۰۰۴) شرح داده شد، روی دهد. همه گاوها، ۶۰۰ گرم کنسانتره گروه شاهد را در روز وقتی به سالن شیردوشی می رفتند، دریافت می کردند (غیر از زمان اندازه گیری توازن انرژی). علوفه، سیلاژ گراس تخمیر شده به صورت محدود، تهیه شده از چین اول مرغزار دارای مخلوط تیموتی و علف

فسکیو و فرآوری شده با افزودنی سیلاژ مبتنی بر اسید فرمیک (۵ لیتر در تن) بود. جیره ها به صورت TMR داده می شد تا از انتخاب اجزای جیره اجتناب شود و در ۴ وعده در ساعات ۶، ۱۳، ۱۶ و ۱۸:۳۰ ارائه می شد. نسبت علوفه به کنسانتره ۵۵ به ۴۵ بر اساس ماده خشک بود و تا حد امکان، برای اینکه ایزو پروتئین باشد (سطح پروتئین ها یکسان باشد)، تنظیم گردید. نسبت سیلاژ گراس برای همه جیره های آزمایشی مشابه بود، در حالی که مقدار سایر اقلام میان جیره های گروه شاهد یا CLA و جیره HSO متفاوت بود. جیره های آزمایشی به صورت تغذیه آزاد، در حدی که ۵ تا ۱۰ درصد باقی مانده داشته باشد، داده می شد و برای تامین احتیاجات انرژی قابل متابولیسم و پروتئین گاوهای شیری با تولید ۴۰ کیلوگرم در روز شیر، تنظیم گردید. اقلام جیره و ترکیب شیمیایی جیره های بعد از زایش، در جدول (۱) ارائه شده است.