DOI: 10.22092/vj.2019.127936.1633
شماره ۱۳۰ بهار ۱۴۰۰
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

تاثیر اسید اسکوربیک و سالیسیلات بر تولید و ترکیب شیر، فراسنجه‌های خونی و پاسخ‌های التهابی متعاقب واکسیناسیون با واکسن تب برفکی در گاوهای شیری

• **مهدی دهقانی سانیج**
گروه علوم دام وطیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، ایران
• **محمدعلی نوروزیان(نویسنده مسئول)**
گروه علوم دام وطیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، ایران
• **احمد افضل زاده**
گروه علوم دام وطیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، ایران
• **علی اسدی الموتی**
گروه علوم دام وطیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸-۰۷-۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸-۱۰-۰۷
Email: : manorouzian@ut.ac.ir

چکیده

گاوهای شیری طی دوره‌ی انتقال به‌طور معمول تحت تنش‌های مختلف مربوط به زایمان، شیردهی و تنش‌های اکسیداتیو قرار می‌گیرند. کنترل تنش‌های مختلف طی این دوره و همچنین تنش‌های مرتبط با درمان و واکسیناسیون می‌تواند کمک شایانی به بهبود سلامت و تداوم شیردهی نماید. هدف این پژوهش، مطالعه‌ی اثر تغذیه اسکوربیک اسید و سالیسیلات طی دوره‌ی انتقال بر سلامت و تولید حیوان و همچنین تخفیف پاسخ‌های التهابی ناشی از واکسیناسیون تب برفکی به عنوان یک عامل تنش‌زا بود. تعداد ۴۴ راس گاو شیری تازه‌زا به‌طورتصادفی به چهار گروه (n=۱۱) آزمایشی تقسیم و با جیره‌ی پایه (شاهد)، و یا جیره‌های مکمل‌سازی شده با اسکوربیک اسید (۳۰ گرم در روز)، سالیسیلیک اسید (۱۰ گرم در روز) و اسکوربیک اسید + سالیسیلات (به ترتیب ۳۰ و ۱۰ گرم در روز) به ازای هر راس دام به مدت۳۰ روز تغذیه شدند. نتایج نشان داد تغذیه سالیسیلات موجب افزایش تولید شیر شد (P<۰/۰۵). مکمل‌سازی اسکوربیک اسید باعث افزایش درصد چربی شیر شد (P<۰/۰۵)، اما بر تولید شیر اثر نداشت. بیشترین غلظت گلوکز در سرم گاوهای تغذیه شده با آسکوربیک اسید و کمترین مقدار نیتروژن اوره‌ای سرم در گاوهای تغذیه شده با آسکوربیک اسید + سالیسیلات مشاهده شد (P<۰/۰۵). تغذیه‌ی سالیسیلات، آسکوربات و یا ترکیب سالیسیلات و آسکوربات موجب کاهش غلظت هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A در گاوهای واکسینه شده علیه تب برفکی شد، در حالی که TNFα تنها در گاوهای گروه سالیسیلات و سالیسلات + آسکوربات نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مکمل‌سازی جیره با آسکوربیک اسید و سالیسیلات موجب بهبود سلامت، تولید و کاهش واکنش‌های التهابی ناشی از واکسیناسیون در گاوهای تازه‌زا می‌شود.

کلمات کلیدی: آسکوربیک اسید، پروتئین‌های فاز حاد، سالیسیلات، گاو شیری، واکسیناسیون

Veterinary Researches & Biological Products No 130 pp: 102-110

The Effects of Ascorbic Acid and Salicylate on Milk Composition and Production, Blood Parameters and Inflammatory Responses Following Foot and Mouth Diseases Vaccination in Dairy Cows

By: Dehghani Sanij, M., Department of Animal and Poultry Science, College of Abouraihan, University of Tehran, Iran. Norouzian, M.A., (Corresponding Author) Department of Animal and Poultry Science, College of Abouraihan, University of Tehran, Iran. Afzalzadeh, A., Department of Animal and Poultry Science, College of Abouraihan, University of Tehran, Iran. and Alamouti, A. A., Department of Animal and Poultry Science, College of Abouraihan, University of Tehran, Iran.

Received: 2019-10-15 **Accepted: 2019-12-28**

Email: : manorouzian@ut.ac.ir

Dairy cows are exposed to various stresses such as parturition, lactation and oxidative stress during the transition period. Controlling these stresses and other stresses such as treatment and vaccination could help to improve the health and persistency of milk production. The aim of this study was to investigate the effects of ascorbic acid and salicylate on animal health and milk production in transition period as well as alleviating inflammatory responses induced by postpartum vaccinations. Forty-four Holsteins fresh cows were randomly assigned to 4 experimental groups (n = 11) in a randomized complete design and experiment continued for 30 days. Treatments groups were as follows: 1) control (with basal diet) 2) basal diet + 30 g/day ascorbic acid, 3) basal diet + 10 g/day salicylic acid and 4) basal diet + 30 g/day ascorbic acid + 10 g/day salicylate. Results showed that feeding of salicylate increased milk production ($P<0.05$). Dietary supplementation of ascorbic acid increased milk fat percentage ($P<0.05$) but had no effect on milk production. The highest concentration of glucose was noted in cows fed by ascorbic acid, and the lowest concentration of blood urea nitrogen was observed in cows fed by ascorbic acid + salicylate ($P <0.05$). Dietary inclusion of salicylate, ascorbate or the combination of salicylate and ascorbate decreased concentrations of haptoglobin and serum amyloid-A in cows vaccinated against FMD, whereas TNFα was decreased just in cows fed by salicylate and salicylate + ascorbate as compared to the control group ($P <0.05$). Generally, it could be concluded that supplementation of ascorbic acid and salicylate in early lactating cows could improve production and health status and reduce inflammatory responses of postpartum vaccinations.

Key words: Ascorbic Acid, Acute Phase Protein, Salicylate, Dairy Cow, Vaccination

مقدمه

گاوهای شیری طی دوره انتقال، تغییرات فیزیولوژیک مختلفی را تجربه می‌کنند. به طور معمول، طی دوره‌ی انتقال که از سه هفته پیش تا سه هفته پس از زایش را در بر می‌گیرد، حیوان به‌شدت تحت تنش‌های مختلف بوده و مستعد ابتلا به بیماری‌های عفونی و متابولیک است (۱۷). دلایل اصلی افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های عفونی و متابولیک، مربوط به گوساله‌زایی، کاهش مصرف خوراک همزمان با افزایش نیاز به مواد مغذی، تغییر در جیره خوراکی و احتمال آلودگی در غدد پستانی و رحم می‌باشد. تشدید تنش‌های مختلف طی این دوره که با تضعیف سیستم ایمنی نیز همراه است، تولید و سلامت دام را به شدت دچار مخاطره می‌کند (۱۷).

تا کنون راهکارهای مختلفی برای تخفیف تنش‌های پیرامون زایش در گاوهای شیری مورد آزمون قرار گرفته‌اند. از جمله راهبردهایی که می‌توان برای کنترل تنش‌های مختلف اتخاذ نمود، تغییرات جیره‌ای مانند استفاده از ویتامین‌های کاهنده‌ی تنش، تغذیه‌ی اسیدهای چرب غیر اشباع بلندزنجیر و یا استفاده از مکمل‌های دارویی مختلفی است که هر یک تا حدودی به بهبود سلامت حیوان کمک می‌نماید. افزون بر تنش‌های فیزیولوژیک که پاسخ‌های اکسیداتیو و التهابی را در بدن دام‌ها ایجاد می‌کند، واکسیناسیون نیز به خودی خود و بسته به نوع واکسن، پاسخ‌های التهابی را در پی خواهد داشت. واکنش‌های التهابی متعاقب واکسیناسیون می‌تواند اثرات تشدید کننده بر تنش‌های دام در دوره‌ی پس از زایش داشته باشد (۴). در این راستا، یکی از واکسن هایی که به طور طبیعی واکنش‌های التهابی را در پی دارد، واکسن تب برفکی (FMD) می‌باشد. گزارش‌های مختلفی در خصوص وجود واکنش‌های پس از واکسیناسیون

تب برفکی طی چند سال اخیر وجود دارد که بسته به نوع واکسن، شدت عوارض واکسیناسیون در گله‌های مختلف، متفاوت بوده است (۴, ۸). بیماری تب برفکی یک بیماری ویروسی بسیار مسری است که در گاوها، گوسفندان و خوک‌ها شیوع دارد. تب برفکی می‌تواند خسارت اقتصادی قابل ملاحظه‌ای به واحدهای دامداری وارد کند و تولید را به شدت دچار مخاطره نماید. ویروس تب برفکی (FMDV) یک ویروس RNA مثبت است. غالب تکثیر اولیه FMDV در حیوانات آلوده، در اپیتلیوم مخاط حلق صورت گرفته و ویروس از این قسمت به واسطه‌ی غدد لنفاوی

جدول ۱- ترکیب و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی.

ترکیب جیره۱	مقدار (درصد)
سیلوی ذرت	۲۳/۴۴
یونجه	۱۵/۳۱
کاه گندم	۰/۸۲
دانه ذرت	۱۶/۸۳
دانه جو	۸/۹۴
کنجاله سویا	۷/۴۵
تفاله چغندر قند	۶/۶۹
سویا تف داده شده	۴/۹۰
کنجاله کلزا	۳/۶۷
سویا اکسترود شده	۳/۱۵
تخم کتان	۲/۶۶
پودر چربی	۰/۵۹
پیش مخلوط۲	۵/۵۴
ترکیب شیمیایی	**مقدار**
انرژی (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۱/۶۵
پروتئین (درصد)	۱۸/۴۵
NDF (درصد)	۲۸/۸۱
ADF (درصد)	۱۶/۵۷
DM (درصد)	۴۰/۳۶
RDP (درصد)	۶۴/۴۰
RUP (درصد)	۳۵/۶۰

۱ ترکیب خوراک بر اساس ماده خشک گزارش شده است.

۲پیش مخلوط شامل بی‌کربنات سدیم (۲۱/۲۹٪)، پودر صدف (۱۵/۹۲٪)، مکمل ویتامینی (۱۰/۶۴٪)، مکمل معدنی (۲۱/۲۹٪)، دی کلسیم فسفات (۱۰/۶۴٪)، نمک (۶/۳۹٪)، اکسید منیزیوم (۳/۱۹٪)، بنتونیت (۱۰/۶۴٪).

و سیستم خونی به قسمت‌های محیطی انتقال می‌یابد (۲۵). اگر چه واکسیناسیون مهم‌ترین راه پیشگیری از گسترش این بیماری است، با این حال، گزارش‌های مختلفی در خصوص وجود واکنش‌های التهابی پس از واکسیناسیون علیه تب برفکی وجود دارد. برای نمونه، گزارش شده است که استفاده مکرر از واکسن زنده FMD حاصل از کشت بر روی سلول کلیه همستر (BHK)، ممکن است باعث بروز اگزما، ضایعات پوستی همراه با زخم بر روی پستان و احتمال سقط جنین در حیوانات آبستن شود (۲۵). این واکنش‌ها، اغلب مرتبط با آنتی‌بادی‌های تولید شده علیه سلول‌های BHK است (۲۵). حیوانات واکسینه شده، عوارض جانبی را پس از چند دقیقه یا گاهی با تاخیر چند ساعته بعد از واکسیناسیون نشان می‌دهند. در واکنش‌های حاد، حیوانات دچار تنگی نفس، تعریق، عدم هماهنگی، بی‌حالی، علائم شدید نفخ، ترشحات خونی دهان و بینی و گاهی ترشحات خونی از مقعد و مرگ می‌شوند (۸).

زمانی‌که بدن در معرض یک آنتی‌ژن قرار می‌گیرد، میانجی‌های ضدالتهابی تولید شده باعث ایجاد تغییر در سوخت‌وساز کبد شده و در پی آن پروتئین‌های مختلف فاز حاد (APP) در گردش خون افزایش می‌یابند (۲). برای نمونه، نشان داده شده است که غلظت سرمی هاپتوگلوبین در گاوهایی که با اسپری ویروس تب برفکی، آلوده شده‌اند، افزایش می‌یابد (۱۴). بنابراین، اگر چه هدف از واکسیناسیون مؤثر، تولید سلول‌های خاطره‌ای، یعنی سلول‌های حافظه‌ای B و T می‌باشد که وظیفه تأمین ایمنی سریع و کارآمد در تماس دوم با آنتی‌ژن‌های خاص را دارند (۳)، اما ایمن‌سازی می‌تواند عوارض جانبی ایجاد کند. عوارض جانبی و واکنش‌های التهابی می‌تواند ناشی از خصوصیات ذاتی واکسن باشد یا ناشی از برخی خطاهایی که در فرآیند ایمن‌سازی رخ می‌دهد (۸).

ویتامین C به عنوان کوفاکتور اکسیژنازها در سنتز کولاژن، کتکولامین‌ها و کارنیتین و در سوخت‌وساز زنوبیوتیک، کلسترول و تایروزین نقش دارد. ویتامین C همچنین یک آنتی اکسیدان محلول در آب است که در زدودن رادیکال‌های آزاد و تبدیل آلفا-توکوفروکسیل به آلفا توکوفرول نقش دارد (۱۹). اهمیت اسید آسکوربیک در حفظ سلامتی و کاهش تنش‌های اکسیداتیو و التهاب‌های مختلف به خوبی ثابت شده است (۲۲). سالیسیلات یا سالیسیلیک اسید پیش‌ساز موادی در بدن است که اثرات ضد تب، ضد التهاب و ضد درد دارد. سالیسیلات در درمان بیماری‌هایی مانند ورم پستان و به طور عمومی برای کاهش دمای بدن مؤثر است و می‌تواند به کاهش التهاب و بهبود تولید شیر در گاوهای تازه‌زا کمک شایانی نماید (۴).

تب برفکی یک بیماری ویروسی واگیردار است که بر روی گونه‌های دامی از جمله گاوها تأثیر می‌گذارد (۱۱). واکسیناسیون علیه ویروس FMD با موفقیت باعث کاهش ناهنجاری‌های ناشی از FMD در بسیاری از نقاط جهان شده است (۱۶). بنابراین، واکسیناسیون یک راهبرد معمول و اغلب اجباری برای کاهش FMD در مناطقی است که این بیماری آندمیک می‌باشد.

با توجه به وجود تنش‌های مختلف در پیرامون زایش، هدف این مطالعه بررسی اثر تغذیه آسکوربیک اسید و سالیسیلات بر بهبود سلامت، تولید و ترکیب شیر و همچنین کاهش پاسخ‌های التهابی طی دوره‌ی انتقال و پس از واکسیناسیون علیه تب برفکی به عنوان یک عامل بالقوه‌ی التهاب‌زا بود.

جدول ۲- میانگین تولید و درصد ترکیبات شیر گاوهای تغذیه شده با اسکوربیک اسید و سالیسیلیک اسید (n=۱۱ گاو در هر گروه).

تولید و ترکیب شیر	تیمارهای آزمایشی۱				SEM	P Value		
	شاهد	آسکوربیک اسید	سالیسیلات	سالیسیلات+ آسکوربیک اسید		تیمار	زمان	تیمار × زمان
مصرف خوراک (کیلوگرم)	۲۲/۵۴	۲۳/۰۹	۲۴/۰۳	۲۳/۳۶	-	-	-	-
تولید شیر (کیلوگرم)	۴۷/۹۸b	۵۰/۸۰ab	۵۲/۳۰a	۴۸/۷۳b	۱/۲۰	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۸
چربی شیر(٪)	۳/۰۸b	۳/۵۵a	۳/۰۹b	۳/۰۷b	۰/۱۱	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۳۴
پروتئین شیر(٪)	۲/۹۸	۲/۹۹	۲/۹۸	۲/۹۹	۰/۰۳	۰/۶۷	۰/۶۰	۰/۳۷
لاکتوز شیر(٪)	۴/۴۶	۴/۴۱	۴/۴۴	۴/۴۷	۰/۰۵	۰/۹۰	۰/۱۴	۰/۵۶

۱) گاوهای تازه‌زا به مدت ۳۰ روز با یک جیره‌ی پایه (گروه شاهد) و یا جیره‌ی مکمل‌سازی شده با آسکوربیک اسید (روزانه ۳۰ گرم)، سالیسیلات (روزانه ۱۰ گرم) و یا ترکیب آسکوربیک اسید و سالیسیلات (روزانه۴۰ گرم) تغذیه شدند

a، b) میانگین‌های با بندواژه‌های لاتین متفاوت با هم اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

مواد و روش‌ها

حیوانات و تیمارهای آزمایشی

تعداد ۴۴ راس گاو شیری تازه‌زا (میانگین وزن بدن ۷۳ ± ۶۲۶ کیلوگرم و میانگین شکم ۰/۷۸ ± ۳/۶۶) به طور تصادفی به چهار گروه آزمایشی (۱۱ گاو در هر گروه) تقسیم و در قالب طرح کاملاً تصادفی با جیره‌های مختلف آزمایشی به مدت ۳۰ روز تغذیه شدند. گاوها بلافاصله پس از زایش تحت پایش قرار گرفته و پس از تائید سلامتی به بهاربندهای محل انجام آزمایش منتقل شدند. تیمارهای آزمایشی شامل تغذیه‌ی جیره‌ی پایه (شاهد؛ جدول ۱)، یا تغذیه‌ی جیره‌ی پایه‌ی مکمل‌سازی شده با آسکوربیک اسید (روزانه ۳۰ گرم به ازای هر راس)، سالیسیلیک اسید (روزانه ۱۰ گرم سالیسیلیک اسید پوشش‌دار به ازای هر راس) و یا تغذیه‌ی همزمان آسکوربیک اسید و سالیسیلیک اسید (روزانه ۳۰ گرم اسکوربیک اسید همراه با ۱۰ گرم سالیسیلیک اسید) بود. ترکیبات تیماری به صورت مخلوط در جیره به گروه‌های مختلف تغذیه شدند. طی مدت آزمایش دسترسی حیوانات به آب به صورت آزاد بود و خوراک‌دهی روزانه دو نوبت (ساعت‌های ۰۷:۰۰ و ۱۹:۰۰) انجام شد.

اندازه‌گیری تولید و ترکیب شیر

تولید شیر و ترکیبات آن پس از واکسیناسیون گزارش شده است. تولید شیر به‌صورت روزانه و در مجموع سه وعده دوشش با دستگاه تمام اتوماتیک (وستفالیا، استرالیا) ثبت شد. در طول آزمایش، هر هفته، ترکیبات شیر شامل چربی خام، پروتئین خام و لاکتوز مربوط همه‌ی گاوهای آزمایشی با دستگاه اکومیلک (کومبی فوس، آلمان) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های بیوشیمایی خون

به منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های بیوشیمایی خون مانند گلوکز، اوره خون، کلسترول، پروتئین تام، آلبومین، آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، در روز ۳۰ آزمایش با استفاده از لوله‌های خلاءدار حاوی ماده‌ی ضد انعقاد، نمونه خون از سیاهرگ دم همه‌ی گاوهای تحت آزمایش گرفته شد. گلوکز، اوره خون، کلسترول، پروتئین تام، آلبومین، آنزیم های کبدی با روش رنگ‌سنجی و کیت های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه الایزا (هیتاچی، ژاپن) اندازه گیری شد.

اندازه‌گیری پاسخ‌های التهابی

به منظور اندازه‌گیری پاسخ‌های التهابی T در روز ۱۶ آزمایش واکسیناسیون علیه تب برفکی در گله انجام گرفت. بیست و چهار ساعت پس از واکسیناسیون، برای اندازه‌گیری فاکتورهای التهابی، نمونه‌گیری خون از سیاهرگ دم انجام شد. پس از خون‌گیری، پلاسمای نمونه‌ها با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه جدا

جدول ۳- تاثیر مکمل‌سازی جیره‌ای اسکوربیک اسید و سالیسیلیک اسید بر غلظت متابولیت‌های خون گاوهای شیری تازه‌زا (n=۱۱ گاو در هر گروه).

متابولیت های خونی	تیمار۱				SEM	P Value
	شاهد	آسکوربیک اسید	سالیسیلات	سالیسیلات+آسکوربیک اسید		
گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۶۴/۴b	۷۲/۶۶a	۶۱/۸۰b	۷۰/۵۷a	۱/۷۵	۰/۰۰۱
اوره خون (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۳۳/۸a	۲۵/۸۳ab	۳۰/۲۰ab	۲۴/۸۶b	۲/۵	۰/۰۳
کلسترول(میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۱۵۶/۶	۱۵۵/۳۳	۱۰۵/۰۰	۱۳۴/۳۳	۲۰/۳۰	۰/۳۳
پروتئین تام(گرم/دسی‌لیتر)	۶/۰۸	۶/۴۵	۵/۸۶	۶/۱۸	۰/۲۱	۰/۲۷
آلبومین(گرم/دسی‌لیتر)	۴/۴۰	۴/۴۳	۴/۳۴	۴/۴۰	۰/۱۳	۰/۹۶
آسپارتات آمینو ترانسفراز(واحد/-لیتر)	۹۰/۴۰	۷۵/۲۰	۶۳/۱۶	۹۸/۰۰	۱۱/۳۱	۰/۱۰
آلانین آمینو ترانسفراز(واحد/لیتر)	۲۲/۲۰	۱۶/۶۶	۱۷/۲۰	۲۱/۴۲	۲/۱۹	۰/۲۸
آلکالین فسفاتاز(واحد/لیتر)	۸۷/۸	۸۵/۰	۹۵/۶۰	۹۵/۲۹	۱۳/۹۶	۰/۹۱

۱) گاوهای تازه‌زا به مدت ۳۰ روز با یک جیره‌ی پایه (گروه شاهد) و یا جیره‌ی مکمل‌سازی شده با آسکوربیک اسید (روزانه ۳۰ گرم)، سالیسیلات (روزانه ۱۰ گرم) و یا ترکیب آسکوربیک اسید و سالیسیلات (روزانه۴۰ گرم) تغذیه شدند.

a، b) میانگین‌های با بندواژه‌های لاتین متفاوت با هم اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

و سپس در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت اندازه‌گیری هاپتوگلوبین از کیت الیزا (Tridelta Irland) استفاده شد. غلظت سرم آمیلوئید A با کیت تجاری الایزا (BT, China) و فاکتور نکروز کننده تومور-آلفا (TNFα) نیز با استفاده از کیت تجاری (Tridelta, Ireland) سنجش شد. غلظت پروتئین سرم نیز با دستگاه اتوآنالایزر (بیوتکنیکا، ایتالیا) اندازه گیری شد.

آنالیز آماری

داده‌های آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی و با نرم‌افزار SAS (نسخه ۹,۱) آنالیز شدند. داده‌هایی مانند تولید و ترکیب شیر که طی زمان اندازه‌گیری شده بود با روش اندازه‌گیری‌های تکرار شده در زمان (رابطه ۱) و رویه‌ی MIXED و داده‌هایی مانند فراسنجه‌های خونی که یک نوبت اندازه‌گیری شده بود با روش GLM (رابطه ۲) آنالیز شدند.

رابطه ۱)

$$Yijklm=\mu + ti + Tj + (t*T)ij + \alpha MPkl + \beta Pkl + eijklm$$

رابطه ۲)

$$Yijk= \mu + ti + \alpha MPjk + \beta Pjk + eijk$$

که در آن ti اثر جیره، Tj عامل زمان و αMPkl تولید شیر دوره قبل (عامل کواریت)، βPkl شکم زایش و eijklm اثر خطای آزمایشی بود.

نتایج و بحث

تولید و ترکیب شیر

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میانگین مصرف خوراک، تولید شیر و ترکیبات آن در جدول ۲ نشان داده شده است. تغذیه‌ی سالیسیلات پوشش‌دار موجب افزایش تولید شیر نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). همچنین، درصد چربی شیر تیمار اسید آسکوربیک پوشش‌دار نسبت به دیگر تیمارها بیشتر بود (P<۰/۰۵)، اما مقادیر پروتئین و لاکتوز شیر تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

گاوها در دوران انتقال میزان بالایی از التهاب دارند که باعث کاهش تولید و شیوع بیماری‌ها می‌شود. یافته‌های این پژوهش نشان داد که سالیسیلات موجب افزایش تولید شیر می‌شود. این نتایج با مشاهدات پیشین مبنی بر اینکه استفاده از سدیم سالیسیلات در تغذیه گاوهای شیری در دوره انتقال به مدت هفت روز موجب بهبود استفاده از انرژی و افزایش تولید شیر گاوهای شیری می‌شود، همخوانی داشت (۹). در این راستا، نشان داده شده است که تزریق لایزین استیل سالیسیلات موجب افزایش تولید شیر می‌شود (۹). با این حال، موافق با یافته‌های این پژوهش، استفاده از اسکوربیک اسید در جیره، بر تولید شیر روزانه اثری نداشته است (۲۴). مطالعات بسیار محدودی در خصوص استفاده از اسکوربیک اسید در جیره گاوهای شیری وجود دارد (۲۴). نیاز به گلوکز در گاوهای شیری به‌دلیل تولید بالای لاکتوز در غدد پستانی زیاد است. گلوکز پیش‌ساز اسید اسکوربیک در بدن حیوان است و در گاوهایی با تولید بالا به دلیل تقاضای فراوان برای گلوکز به خصوص در اوایل شیردهی، سنتز اسیداسکوربیک کاهش می‌یابد (۱۸). احتمالا افزایش فراهمی گلوکز و بهبود در سنتز درون تنی چربی‌ها موجب افزایش چربی شیر در تیمار آسکوربات شده است.

متابولیت‌های بیوشیمیایی خون

میانگین غلظت متابولیت‌های پلاسما گاوهای شیری تازه‌زا در جدول ۳ گزارش شده است. غلظت گلوکز خون در گاوهای تغذیه شده با آسکوربیک اسید نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود (P<۰/۰۵). تغذیه

جدول ۴- تاثیر مکمل‌سازی جیره‌ای آسکوربیک اسید و سالیسیلات بر غلظت پروتئین‌های پلاسمایی گاوهای شیری بعد از واکسیناسیون تب برفکی.

فراسنجه‌ی التهابی	شاهد	آسکوربات	سالیسیلات	سالیسیلات+آسکوربات	SEM	P Value
هاپتوگلوبین (میلی‌گرم/لیتر)	۱۱۶۴^{a}	۵۴۰^{bc}	۳۹۲^{c}	۶۲۶^{b}	۱۰/۳	۰/۰۰۱
سرم آمیلوئید A(میکروگرم/لیتر)	۸۷/۷۹^{a}	۶۶/۱۹^{b}	۵۲/۸۱^{b}	۵۶/۷۹^{b}	۴/۴۰	۰/۰۰۱
فاکتور نکروز دهنده تومور-آلفا (نانوگرم/میلی‌لیتر)	۹/۳۳^{a}	۸/۳۲^{a}	۵/۶۴^{b}	۴/۹۰^{b}	۰/۷۳	۰/۰۰۵
پروتئین تام (گرم/لیتر)	۵/۷۴^{b}	۵/۷۹^{ab}	۵/۶۰^{b}	۶/۱۹^{a}	۰/۱۲	۰/۰۳

۱) گاوهای تازه‌زا به مدت ۳۰ روز با یک جیره‌ی پایه (گروه شاهد) و یا جیره‌ی مکمل‌سازی شده با آسکوربیک اسید (روزانه ۳۰ گرم)، سالیسیلات (روزانه ۱۰ گرم) و یا ترکیب آسکوربیک اسید و سالیسیلات (روزانه۴۰ گرم) تغذیه شدند.

a، b) میانگین‌های با بندواژه‌های لاتین متفاوت با هم اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

همزمان سالیسیلات و آسکوربیک اسید موجب کاهش غلظت اوره خون نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). با این حال، غلظت کلسترول، پروتئین تام، آلبومین و آنزیم‌های کبدی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت؛ اما تغذیه‌ی همزمان سالیسلات و آسکوربیک اسید تمایل به افزایش آسپارتات ترانسفراز داشت. گزارش شده است که استفاده از آسکوربیک اسید موجب کاهش آنزیم های کبدی و بهبود فعالیت کبد می‌شود (۲۰). این اثر احتمالاً مرتبط با نقش ویتامین C و سالیسیلات بر سلامت و عملکرد بهتر هپاتوسیت‌های کبدی باشد. در مطالعه حاضر استفاده از اسیدآسکوربیک بر فاکتورهای کبدی اثری نداشت که با نتایج این مطالعات همخوانی ندارد. غلظت پلاسمایی ویتامین C در گاوهای شیری با آسیب کبدی کاهش یافت و رابطه منفی بین غلظت ویتامین C و مارکرهای بیوشیمیایی کبد چرب و سطوح بالای الکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینوترانسفراز (مارکرهای آسیب کبدی) وجود دارد (۲۱).

پروتئین‌های التهابی پس از واکسیناسیون تب برفکی

تاثیر تیمارهای مختلف آزمایشی بر غلظت هاپتوگلوبین، سرم آمیلوئید-A، TNF-α و پروتئین تام سرم در جدول ۴ گزارش شده است. به‌طور کلی، تغذیه‌ی آسکوربات و سالیسیلات و سالیسیلات+آسکوربات غلظت هاپتوگلوبین سرمی را نسبت به گروه شاهد کاهش داد، اما بیشترین کاهش مربوط به گروه تغذیه شده با سالیسیلات بود (P<۰/۰۵). همچنین، غلظت سرمی آمیلوئید A در گاوهای تغذیه شده با سالیسیلات و ترکیب سالیسیلات و آسکوربیک اسید نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). هر چند بیشترین کاهش در این فراسنجه‌ی التهابی در گاوهای تغذیه شده با سالیسیلات مشاهده شد. غلظت سرمی TNF-α در گاوهای تغذیه شده با سالیسیلات و ترکیب سالیسیلات و آسکوربیک اسید به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). تغذیه‌ی آسکوربیک اسید بر غلظت سرمی TNF-α تاثیر معنی‌داری نداشت، اما تغذیه همزمان آن با سالیسیلات بیشترین کاهش در این فراسنجه را به دنبال داشت. تغذیه‌ی همزمان سالیسیلات و آسکوربیک اسید موجب افزایش پروتئین تام سرم نسبت به گروه شاهد و سالیسیلات شد (P<۰/۰۵).

در این مطالعه از واکسیناسیون علیه تب برفکی به عنوان یک عامل استرس و التهاب زا در گاوهای تازه‌زا استفاده شد. نشان داده شده است که واکنش‌های پس از واکسیناسیون علیه تب برفکی موجب تغییر در مقادیر پروتئین‌های التهابی خون می‌شود (۱۰). اکثر واکسن‌های FMD استفاده شده در سرتاسر جهان حاوی سروتیپ های غیرفعال ویروس FMD و یک ماده کمکی مبتنی بر روغن هستند. این ماده کمکی پاسخ‌های ایمنی ذاتی مرتبط با ارائه آنتی‌ژن را تحریک می‌کند، همچنین می‌تواند واکنش‌های التهابی و فاز حاد یا به طور خاص سنتز ترکیبات سیتوکین‌های پیش التهابی را تحریک کند که به نوبه خود دو پاسخ فاز حاد عمده را در بر می گیرد که شامل: ۱) سنتز پروستاگلاندین ها که منجر به تب و افزایش دمای بدن می‌شود و ۲) تغییر متابولیسم کبد و تنظیم ژن که موجب سنتز پروتئین‌های فاز حاد کبدی مانند هاپتوگلوبین ها می‌شود، را در پی خواهند داشت (۶). هاپتوگلوبین از سیتوکین‌های پیش التهابی شناخته شده است که اثرات مستقیمی بر تولید پروستاگلاندین F۲ دارد. این متابولیت التهابی آثار سوء چندانی بر عملکرد تولیدی و تولید مثلی گاو ندارد، اگرچه این پروتئین فاز حاد به‌طور گسترده‌ای برای نظارت بر پاسخ‌های التهابی و فاز حاد در گاوها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۲). یافته‌های این پژوهش نشان داد که استفاده از سالیسیلات و آسکوربات می‌تواند سطح هاپتوگلوبین را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. سالیسیلات باعث کاهش حساسیت نسبت به آنزیم سیکلواکسی‌ژناز-۱ (COX-۱) شده و به طور خاص بازدارنده COX-۲ است. سالیسیلات در سلول‌های سالم با جلوگیری از فعالیت COX، از سنتز پروستاگلاندین جلوگیری می‌کند (۱۲). نشان داده شده است که فعالیت هاپتوگلوبین در مقابل فعالیت سالیسیلات است و سالیسیلات می‌تواند موجب کاهش غلظت هاپتوگلوبین شود. موافق با یافته‌های این پژوهش، نشان داده شده است که سالیسیلات موجب کاهش میزان هاپتوگلوبین پلاسما می‌شود (۴)، که نشان از اثرات ضدالتهابی سالیسیلات می‌باشد.

پاسخ‌های فاز حاد در حیوانات در چالش‌های خارجی و داخلی مانند عفونت، التهاب زخم یا استرس و واکسیناسیون به وجود می‌آید. اولین اتفاق در پاسخ فاز حاد افزایش پروتئین‌های التهابی است. پروتئین‌های فاز حاد مانند هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A به‌طور غیراختصاصی به عنوان اجزای سیستم ایمنی در بازسازی همئوستاز و محدود کردن رشد میکروبی قبل از اینکه ایمنی حیوان تحت چالش قرار گیرد، فعالیت می‌کنند (۱۶). پروتئین‌های فاز حاد توسط هپاتوسیت‌ها و در نتیجه فعالیت رسپتورهای سایتوکین مانند اینترلوکین-۶ و TNF-α که به طور خاص از ماکروفاژها و مونو سایت‌ها منشاء می‌گیرند، تولید می‌شوند (۱۶). در گاو، سرم آمیلوئید و هاپتوگلوبین پروتئین‌های فاز حاد هستند که به سرعت غلظت آنها در پاسخ به چالش‌های مختلف افزایش می‌یابد. هاپتوگلوبین یکی از پروتئین‌های فاز حاد است که در کبد سنتز می‌شود و در بیماری‌های التهابی حاد افزایش می‌یابد. غلظت هاپتوگلوبین خون یکی از شاخص‌های ارزیابی التهابات تحت بالینی حیوانات به ظاهر سالم نیز محسوب می‌شود؛ و میزان آن در صورتی که بیشتر از ۳۵ گرم بر لیتر باشد، می‌تواند نشانه وجود بیماری یا یک التهاب باشد (۱۳). در گزارشی نشان دادند که غلظت سرمی هاپتوگلوبین در گاوهای شیری در زمان التهاب افزایش می‌یابد، این امر نشان می‌دهد که هاپتوگلوبین می‌تواند به عنوان شاخص التهاب در گاوهای شیری مورد استفاده قرار گیرد (۱۳). معمولاً چندین پروتئین فاز حاد برای تشخیص سطح التهاب در انسان و حیوانات از جمله فیبرینوژن، هاپتوگلوبین، سرم آمیلوئید-A سرولوپلاسمین، آلفا- ۲-ماکروگلوبین و پروتئین‌های واکنشی C اندازه‌گیری می‌شود (۲۳). سیتوکین‌های خاصی (IL-۱، IL۶ و TNF-α) که عملکرد سیستم ایمنی را تعدیل می‌کنند و می‌توانند پاسخ فاز حاد را تحریک کنند، اغلب خود را به عنوان محرک‌های پروتئین‌های فاز حاد در نظر می‌گیرند (۱۳). غلظت سرمی پروتئین‌های فاز حاد به طور واضح در پاسخ به عفونت بالینی یا استرس در گاوها افزایش می‌یابد (۱). در مطالعات دیگر بیان شده که اندازه‌گیری غلظت هاپتوگلوبین می‌تواند یک ابزار پیش آگاهی بسیار مؤثر برای نظارت بر اثربخشی داروهای ضد میکروبی باشد (۱۳)؛ اما در مطالعه حاضر بیشترین توجه به کاهش استرس‌های پس از واکسیناسیون معطوف شد.

نشان داده شده است که متابولیسم هموگلوبین و آسکوربیک اسید

با یکدیگر در ارتباط هستند و همبستگی بین غلظت هاپتوگلوبین و آسکوربیک اسید منفی است (۵). هنگامی که عملکرد آنتی اکسیدانی هاپتوگلوبین کافی نیست، ویتامین C عملکرد آنتی اکسیدانی خود را جایگزین هاپتوگلوبین می‌کند. اسید اسکوربیک یک احیاگر قوی می‌باشد که آسیب اکسیداتیو را مهار می‌کند (۷)، اثرات ضد التهابی این ترکیب با کاهش میزان TNF-α و سرم آمیلوئید A نیز به تایید رسیده است. نشان داده شده است که سرم آمیلوئید-A و TNF-α با افزودن اسکوربیک اسید خوراکی به طور چشمگیری کاهش می‌یابد (۱۵). همچنین در یک مطالعه دیگر، تغذیه اسکوربیک اسید موجب کاهش TNF-α القا شده توسط لیپوپلی‌ساکاریدها شد (۷). اگر چه در مطالعه حاضر تغذیه آسکوربیک اسید بر TNF-α تأثیری نداشت، اما توانست سرم آمیلوئید را کاهش دهد. گزارش شده است که استفاده از ترکیبات ضد التهاب مانند سالیسیلات سدیم موجب کاهش TNF-α و دیگر سایتوکین‌های التهابی می‌شود (۹). در مجموع، یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تغذیه سالیسیلات و اسکوربیک اسید می‌تواند تاثیر مثبتی بر مهار پاسخ‌های التهابی حاصل از تنش‌های مختلف از جمله واکنش‌های مرتبط با واکسیناسیون علیه تب برفکی در گاوهای شیری داشته باشد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه به بررسی اثر استفاده از تغذیه اسکوربیک اسید و سالیسیلات در دوره انتقال، بر کنترل تنش‌های مختلف ایجاد شده در این دوره و پاسخ‌های التهابی ناشی از واکسیناسیون علیه تب برفکی پرداخت. یافته‌های این پژوهش نشان داد استفاده از سالیسیلات موجب افزایش تولید شیر در دوره انتقال و استفاده از آسکوربیک اسید موجب افزایش چربی شیر شد. استفاده از سالیسیلات، آسکوربات و یا ترکیب سالیسیلات و آسکوربات موجب کاهش فاکتورهای التهابی در گاوهای واکسینه شده علیه بیماری تب برفکی شد. این موضوع نشان می‌دهد که تغذیه‌ی بلندمدت گاوهای شیری با ترکیبات ضد التهاب می‌تواند واکنش‌های آلرژیک و التهابی را کاهش دهد. به نظر می‌رسد استفاده از آسکوربیک اسید و سالیسیلات در گاوهای شیری تازه‌زا و گاوهایی که علیه تب برفکی واکسیناسینه می‌شوند، بتواند به بهبود وضعیت سلامت و کاهش پاسخ‌های التهابی کمک نماید.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران، گروه تولیدی- بازرگانی گلبار، دامداری کرمان ابردژ، شرکت نیکان دام آروین و میهن دانه البرز به خاطر حمایت از انجام این طرح، تشکر و قدردانی می گردد.

منابع مورد استفاده

1- Alsemgeest, S., I. Lambooy, H. Wierenga, S. Dieleman, B. Meerkerk, A. Van Ederen and T. A. Niewold. 1995. Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid□a (SAA) and haptoglobin (HP) in calves. *Veterinary Quarterly* 17: 9-12.

2- Baumann, H. and J. Gauldie. 1994. The acute phase response. *Immunology Today* 15: 74-80.

3- Berek, C. and M. Ziegner. 1993. The maturation of the immune response. *Immunology Today* 14: 400-404.

4- Bertoni, G., E. Trevisi and F. Piccioli-Cappelli. 2004. Effects of acetyl-salicylate used in post-calving of dairy cows. Veterinary Research Communications 28: 217-219.

5- Cahill, L. E. and A. El-Sohemy. 2010. Haptoglobin genotype modifies the association between dietary vitamin C and serum ascorbic acid deficiency. *The American Journal of Clinical Nutrition* 92: 1494-1500.

6- Carroll, J. A. and N. E. Forsberg. 2007. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. Veterinary Clinics of North America: *Food Animal Practice* 23: 105-149.

7- Chen, Y., G. Luo, J. Yuan, Y. Wang, X. Yang, X. Wang, G. Li, Z. Liu and N. Zhong. 2014. Vitamin C mitigates oxidative stress and tumor necrosis factor-alpha in severe community-acquired pneumonia and LPS-induced macrophages. *Mediators of Inflammation* 2014: 426740.

8- De Alwis, M. C. 1999. Haemorrhagic Septicaemia 435:2016-33706.

9- Farney, J., L. Mamedova, J. Coetzee, J. Minton, L. Hollis and B. Bradford. 2013. Sodium salicylate treatment in early lactation increases whole-lactation milk and milk fat yield in mature dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96: 7709-7718.

10- Ferreira, L., R. Cooke, R. Marques, H. Fernandes, C. Fernandes, R. Stelato, G. Franco and R. Lemos. 2016. Effects of vaccination against foot-and-mouth disease virus on reproductive performance of Bos indicus beef cows. *Journal of Animal Science* 94: 401-405.

11- Grubman, M. J. and B. Baxt. 2004. Foot-and-mouth disease. *Clinical Microbiology Reviews* 17: 465-493.

12- Hinz, B., V. Kraus, A. Pahl and K. Brune. 2000. Salicylate metabolites inhibit cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin E2 synthesis in murine macrophages. *Biochemical and Biophysical Research communications* 274: 197-202.

13- Hochepied, T., W. Van Molle, F. G. Berger, H. Baumann and C. Libert. 2000. Involvement of the acute phase protein α1-acid glycoprotein in nonspecific resistance to a lethal gram-negative infection. *Journal of Biological Chemistry* 275: 14903-14909.

14- Höfner, M., M. Fosbery, P. Eckersall and A. Donaldson. 1994. Haptoglobin response of cattle infected with foot-and-mouth disease virus. *Research in Veterinary Science* 57: 125-128.

15- Jamalan, M., M. Rezazadeh, M. Zeinali and M. A. Ghaffari. 2015. Effect of ascorbic acid and alpha-tocopherol supplementations on serum leptin, tumor necrosis factor alpha, and serum amyloid A levels in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 5: 531.

16- Kahn, S., D. W. Geale, P. R. Kitching, A. Bouffard, D. G. Al-

lard and J. R. Duncan. 2002. Vaccination against foot-and-mouth disease: the implications for Canada. *The Canadian Veterinary Journal* 43: 349.

17- LeBlanc, S. 2010. Health in the transition period and reproductive performance. Advances in dairy technology: proceedings of the Western Canadian Dairy Seminar 22: 97-110.

18- MacLeod, D. 1999. Ascorbyl-3-polyphosphate as a source of ascorbic acid for dairy cattle. *Milchwissenschaft* 54: 123-129.

19- May, J. M., Z.-c. Qu and S. Mendiratta. 1998. Protection and recycling of α-tocopherol in human erythrocytes by intracellular ascorbic acid. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 349: 281-289.

20- Okolonkwo, B. N. and E. O. Nwachuku. 2013. The antioxidant effects of vitamin C on liver enzymes: aspartate aminotransferase, alanine aminotranferease, alkaline phosphatase and gamma-glutamyltransferase activities in rats under Paraquat insult. *Journal of Xenobiotics* 3: e5-e5.

21- Padilla, L., T. Matsui, S. Ikeda, M. Kitagawa and H. Yano. 2007. The effect of vitamin C supplementation on plasma concentration and urinary excretion of vitamin C in cattle. *Journal of Animal Science* 85: 3367-3370.

22- Pardue, S. and J. Thaxton. 1984. Evidence for amelioration of steroid-mediated immunosuppression by ascorbic acid. *Poultry Science* 63: 1262-1268.

23- Pizzini, C., M. Mussap, M. Plebani and V. Fanos. 2000. C-reactive protein and serum amyloid A protein in neonatal infections. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 32: 229-235.

24- Weiss, W. and J. Hogan. 2007. Effects of dietary vitamin C on neutrophil function and responses to intramammary infusion of lipopolysaccharide in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90: 731-739.

25- Yeruham, I., H. Yadin, M. Haymovich and S. Perl. 2001. Adverse reactions to FMD vaccine. *Veterinary Dermatology* 12: 197-201.