نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۱۱، تابستان ۱۳۹۵
ص‌ص: ۱۹۱~۲۱۰

اثر تغذیه روغن سویای اکسید شده و هسته انار بر ظرفیت آنتی اکسیدانی، فعالیت آنزیمی و فاکتورهای التهابی خون بزهای سانن در پیرامون زایش

- **سید احسان غیاثی** (نویسنده مسئول)

عضو هیئت علمی دانشگاه بیرجند

- **رضا ولی زاده**

عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

- **عباسعلی ناصریان**

عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت : خرداد ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش : مهر ۱۳۹۴

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۵۳۲۲۸۸۹

Email: s.e.ghiasi@birjand.ac.ir

چکیده

تأثیر روغن اکسید شده سویا و هسته انار بر وضعیت آنتی اکسیدانی و عوارض ناشی از استرس اکسیداتیو پیرامون زایش در بزهای سانن، ۳ هفته قبل و بعد از زایش مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها شامل ۱) جیره پایه به همراه ٤ درصد روغن سویا، ۲) ٤ در صد روغن اکسید شده سویا، ۳) ٤ در صد روغن اکسید شده سویا و ۸ درصد هسته انار آسیاب شده بودند. سه روز پس از زایش، جیره‌های آزمایشی با یک جیره یکسان جایگزین شدند. غلظت فاکتور روماتوئید(RF)، پروتئین التهابی حاد(CRP)، مالون دی آلدهید(MDA)، ظرفیت آنتی اکسیدانی خون(TAC)، فعالیت آلکالین فسفاتاز(ALP)، کراتین کیناز(CK)، آلانین آمینو ترانسفراز(ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز(AST) و لاکتات دهیدروژناز(LDH) دو هفته پس از اعمال تیمار، در اثر تیمار ۲ نسبت به تیمار ۱ دارای الگوی افزایشی و در اثر تیمار ۳ نسبت به تیمار ۲، دارای روند کاهشی بودند. الگوی افزایشی در فراسنجه‌های CRP، ALT، MDA و ALP و روند کاهشی مذکور برای فراسنجه‌های RF، TAS، CRP و ALP معنی‌دار بود. الگوی اثر تیمارها دو هفته پس از اعمال جیره یکسان، در کلیه فراسنجه‌های مذکور به جز کراتین کیناز، فاکتور روماتوئید، مالون دی آلدهید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل خون، به طور مشابهی با سایر زمان‌ها تکرار شد. به طور کلی روغن تیمار۲ در مقایسه با تیمار۱، به دلیل تغییر در ترکیب اسیدهای چرب و وجود مشتقات پراکسیداسیون، باعث افزایش عوارض استرس اکسیداتیو و کاهش ظرفیت آنتی-اکسیدانی پلاسما گردید، در حالی که هسته انار فراسنجه‌های مذکور را بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: هسته انار، روغن سویای اکسید شده، استرس اکسیداتیو، وضعیت آنتی اکسیدانی، بز سانن

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 111 pp: 191-210

Effect of Feeding Oxidized Soybean Oil with Pomegranate Seed on the Blood Antioxidant Capacity, Enzyme Activity and Inflammatory Factors of Periparturient Saanen Goats

Seyyed Ehsan Ghiasi *[1], Reza Valizadeh [2], Abbasali Naserian [2]
1- Science Department, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.
2- Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
Received: May 2015 **Accepted: September 2015**

This experiment was carried out to study the effect of oxidized soybean oil (OSO) against antioxidative ability of Pomegranate seeds (PS) on body antioxidant status and oxidative stress complications in periparturient Saanen goats. Blood total antioxidant capacity (TAC), Malondialdehyde (MDA) concentration, C-reactive protein (CRP), rheumatoid factor (RF) & enzyme activities were investigated three weeks pre and post-partum, through a completely randomized design with repeated measurements. Dietary treatments (T) included base diet and 4% fresh soybean oil (FSO) (T1), 4% OSO (T2), 4% OSO and 8% milled PS (T3)(DM basis). Three days after parturition similar diet was fed to all groups, to evaluation of durability of treatment effect. The blood enzyme activities of alkaline phosphatase (ALP), creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) & lactate dehydrogenase (LDH), CRP, RF, MDA and TAC had ascending pattern in T2 vs. T1 and descending trend in T3 vs. T2. The ascending pattern in CRP, ALT, MDA and ALP and the descending trend in RF, TAS, CRP and ALP were significant statistically. Also two weeks after feeding similar diet, all parameters except CK, RF, TAC & MDA changed likewise previous pattern. Generally, the possible roles of lipid peroxidation derivatives of OSO led to progressive oxidative stress complications and reduced Blood TAC vs. FSO. Nevertheless, PS antioxidative components had beneficial effects on blood TAC and lowering role on oxidative stress signs.

Key words: Pomegranate seed, Peroxidized soybean oil, Oxidative stress, Antioxidant status, Saanen goats

مقدمه

هنگامی که نرخ تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از متابولیسم سلولی، از ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن تجاوز نماید، استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد (Castillo و همکاران، ۲۰۰۵). در هنگام افزایش نرخ متابولیسم هوازی به دلیل ورود حیوان به گامه‌هایی نظیر تکامل بافتی قبل از زایمان و تولید شیر، نیاز به اکسیژن مولکولی و تولید رادیکال های آزاد ناشی از زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی افزایش می یابد (Valko و همکاران، ۲۰۰۷). اکسیژن فعال اضافی موجود در خون محیطی می‌تواند با افزایش شدت استرس اکسیداتیو، دفاع آنتی اکسیدانی را در هم بشکند (Castillo و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین تولید رادیکال های آزاد ناشی از پراکسیداسیون اسیدهای چرب ضروری در چربی‌های غشایی، می‌تواند منجر به تخریب سلول و اختلال در تولید و سلامت حیوان شود (Miller & Brezeinska-Slebodizinska, 1993).

از آن‌جا که دام های شیری در دوره پیرامون زایش وضعیت متفاوتی از سطوح آنتی‌اکسیدان ها و فاکتورهای پیش التهابی را به دلیل تغییرات فیزیولوژیکی تجربه می‌کنند، احتمالاً استرس اکسیداتیو یکی از مهمترین عوامل حساسیت به بیماری‌ها و مشکلات سیستم ایمنی در این دوره می باشد (Sordillo & Aitken, 2009) که می‌تواند تحت شرایط مختلف تغذیه‌ای، محیطی، فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی تشدید گردد (Castillo و همکاران، ۲۰۰۵؛ Lohrkeو همکاران، ۲۰۰۵).

از طرفی دام‌های شیری در دوره انتقال، متحمل تغییرات قابل توجهی در متابولیسم گلوکز، اسیدهای چرب و مواد معدنی می-شوند. برای تأمین نیاز متابولیکی در این دوره، استراتژی‌های تغذیه‌ای متفاوتی به کار گرفته شده است. از جمله می توان به تغذیه حداقلی ریز مغذی‌ها در اوایل دوره خشکی و افزایش آن در

انتهای این دوره اشاره کرد (Overton & Waldron، ۲۰۰۴). از این رو، تغذیه کربوهیدرات‌های غیرفیبری و چربی‌ها در جیره و یا کاهش درصد چربی شیر در ابتدای شیردهی از طریق برخی اسیدهای چرب خاص (Bauman & Griinari، ۲۰۰۳) به منظور کاهش تقاضای انرژی در اوایل شیردهی مورد استفاده قرار گرفته است. بر این اساس، استفاده از چربی در جیره به ابزاری مدیریتی در کنترل وقایع متابولیکی پیرامون زایش تبدیل شده است (Doepel و همکاران، ۲۰۰۲). چربی در جیره دام های شیری، معمولا از دانه‌های روغنی تأمین می‌شود که طی فرآوری و تحت تأثیر حرارت، رادیکال‌های آزاد آن افزایش می یابد (Gonthier و همکاران، ۲۰۰۵). مطالعات نشان می دهندکه تغذیه چربی‌های اکسید شده نه تنها تخمیر شکمبه را از طریق کاهش تولید پروتئین میکروبی و بازدهی هضم مواد مغذی تحت تأثیر منفی خود قرار می‌دهد، بلکه میزان ترکیبات پر اکسید در بدن حیوان را نیز افزایش می‌دهد (Va´zquez-An˜o´n & Jenkins، ۲۰۰۷). کاهش عملکرد، افزایش نرخ بازسازی دستگاه گوارش و پاسخ های ایمنی تقلیل یافته از عوارض تغذیه روغن‌های اکسید شده است (Dibner و همکاران، ۱۹۹۶). بر این اساس چربی‌های جیره از قبیل مکمل‌های چربی و دانه‌های روغنی در صورتی که بدون نگهدارنده به مصرف برسند می‌توانند یک عامل معنی‌دار در افزایش رادیکال-های آزاد در بدن حیوان و تشدید استرس اکسیداتیو باشند (Andrews و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین توجه به همزمانی نقش آنتی اکسیدان‌ها در تغذیه چربی‌ها در بازه پیرامون زایش ضروری به نظر می رسد (Frankel، ۲۰۰۵).

آنتی اکسیدان‌های سنتتیک عمدتاً شامل ترکیبات فنولی نظیر بوتیلات هیدروکسی تولوئن و آنتی اکسیدان‌های پلی‌مری مانند یونوکس ۱۰۰ هستند که به دلیل سرطان زا بودن استفاده از آن‌ها محدود شده و گرایش به استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی و گیاهی در مواد خوراکی افزایش یافته است (Pratt & Hudso، ۱۹۹۹). هسته انار غنی از پلی فنول‌هایی نظیر پانیکالاژین و الاژیتانین بوده که پتانسیل آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن-ها (Heber و همکاران، ۲۰۰۷)، با بوتیلات هیدروکسی تولوئن تجاری برابری می کند (Schubert و همکاران، ۱۹۹۹). مطالعات اخیر نشان می دهند که اثرات آنتی اکسیدان‌ها در تقابل با عوامل ایجاد کننده استرس اکسیداتیو توسط نشانگرهای زیستی نظیر کل ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما، فعالیت‌های آنزیمی (Jansen & Ruskovska، ۲۰۱۳)، پروتئین التهابی فاز حاد (Smedman و همکاران، ۲۰۰۵؛ Pepys & Hirschfield، ۲۰۰۳)، فاکتور روماتوئید (Van Vugt و همکاران، ۲۰۰۸) و غلظت مالون دی آلدهید در خون(Tang و همکاران، ۲۰۱۲) قابل اندازه‌گیری است. از آن‌جا که در منابع موجود اطلاعات کافی در مورد نقش آنتی اکسیدانی هسته انار در مقابل روغن‌های اکسید شده، بر وضعیت تعادل اکسیداتیو بدن دام در دوره پیرامون زایش در دست نیست، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تغذیه‌ای روغن سویای اکسید شده در تقابل با نقش آنتی اکسیدانی هسته انار بر ظرفیت آنتی اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی پلاسما، فعالیت های آنزیمی، فاکتورهای التهابی و همبستگی متابولیت‌های خونی با ظرفیت آنتی اکسیدانی خون بزهای شیری سانن در بازه پیرامون زایش و بررسی ماندگاری اثر تیمارها بر فراسنجه‌های مذکور، پس از قطع تیمارهای آزمایشی در ابتدای گامه شیردهی بود.

مواد و روش‌ها

جیره‌ها و تیمارهای آزمایشی

جیره‌های آزمایشی بر اساس تأمین نیازهای متابولیکی بزهای شیری سانن در دوره خشکی با استفاده از نرم افزار SRNS (۲۰۱۲) نسخه ۱.۹.۴۴۶۸ دانشگاه کرنل بر مبنای ماده خشک حاوی ۵۷ درصد علوفه و ۴۳ درصد کنسانتره، و ۴ درصد روغن سویای خام تازه یا اکسید شده متوازن شد.

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی محاسبه شده جیره‌های آزمایشی (بر اساس درصد ماده خشک)

مورد	تیمار[3]			جیره پس از زایش
	۱	۲	۳	
مواد خوراکی				
یونجه خشک	۹/۸۷	۹/۸۷	۹/۸۷	۱۹/۷۳
سیلوی ذرت	۱۹/۷۴	۱۹/۷۴	۱۹/۷۴	۲۲/۱۲
کاه گندم	۲۷/۶۴	۲۷/۶۴	۲۷/۶۴	–
تفاله چغندر قند	–	–	–	۶/۳
سبوس گندم	۹/۸۷	۹/۸۷	–	۶/۳
هسته انار	–	–	۸	–
دانه جو	۱۴/۸۱	۱۴/۸۱	۱۴/۸۱	۲۵/۲۵
کنجاله سویا	–	–	–	۱۲
کنجاله کانولا	۱۱/۸۵	۱۱/۸۵	۱۳/۷۲	۶/۳
روغن سویا تازه	۴	–	–	–
روغن سویا اکسید شده	–	۴	۴	–
مکمل مواد معدنی [1]	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۹	۱
سنگ آهک	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۵
نمک	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۵
ترکیب شیمیایی محاسبه شده				
انرژی قابل متابولیسم [2]	۲/۳۸	۲/۳۸	۲/۴۰	۲/۲۷
پروتئین خام	۱۳/۲	۱۳/۲	۱۳/۳	۱۵/۵
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی	۳۰/۳۹	۳۰/۳۹	۳۱	۲۱
فیبر نامحلول در شوینده خنثی	۴۸/۷	۴۸/۷	۴۹	۴۴/۸
عصاره اتری	۶/۷	۶/۷	۷	۴/۴
کربوهیدرات غیر فیبری	۲۵/۷	۲۵/۷	۲۵	۳۰/۸
کلسیم	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۰	۰/۷۸
فسفر	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۳۰	۰/۴۶
خاکستر	۸/۱	۸/۱	۷/۹	۶/۴

[1] منیزیوم، آهن، ید، مس، منگنز، سلنیوم، روی، گوگرد، کبالت، کلسیم و فسفر به ترتیب ۲۵۰، ۲۰، ۱/۳، ۵، ۶، ۴، ۴۰، ۹۰، ۰/۶، ۱۵ و ۱۲ میلی گرم در گرم [2] مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک [3] تیمار ۱: روغن تازه (کنترل مجازی)، تیمار ۲: روغن اکسید شده و تیمار ۳: روغن اکسید شده و هسته انار آسیاب شده

همچنین جیره یکسان برای کلیه گروه‌های آزمایشی بر مبنای احتیاجات ابتدای شیردهی و به منظور ارزیابی ماندگاری اثر تیمارهای آزمایشی پس از قطع جیره، از روز سوم پس از زایش به مدت دو هفته اعمال گردید (جداول ۱ و ۲).

روغن سویای خام بر اساس روش AOCS: cd 12-57 (۲۰۱۲)، با عبور حباب‌های هوا از خلال روغن در دمای ۹۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت اکسید شد، به صورتی که ارزش عددی مشتقات پراکسید اسید چرب تولید شده بر اساس روش AOCS: cd 8-53 (۲۰۰۳) از ۰/۰۳۷ ± ۱/۳۷۳ میلی اکی والان گرم در کیلوگرم روغن خام تازه تا حد ۰/۰۴۵ ± ۷/۰۶۶ میلی اکی والان گرم در کیلوگرم روغن خام اکسید شده افزایش یافت.

جدول ۲ - چگالی و ترکیب اندازه گیری شده اسیدهای چرب روغن سویای تازه و اکسید شده(میلی گرم در گرم)

مورد	فرمول مختصر	تازه[۱]	اکسید شده[۱]	معنی داری
اسید دودکانوئیک	C۱۲:۰	۰/۰۷۴±۰/۰۰	۰/۴۵۹±۰/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید تترادکانوئیک	C۱۴:۰	۰/۷۲۷±۰/۰۰	۱/۰۵۵±۰/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-۹-تترادکنوئیک	C۱۴:۱	۱/۱۵۰±۰/۰۱	۴/۰۴۴±۰/۰۵	p<۰/۰۰۱
اسید پنتادکانوئیک	C۱۵:۰	۰/۱۹۷±۰/۰۰	۰/۰۸۸±۰/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید سیس- ۱۰- پنتادکنوئیک	C۱۵:۱	۰/۱۶۳±۰/۰۰	۰/۲۲۹±۰/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید هگزادکانوئیک	C۱۶:۰	۱۰۷/۳۲۸±۰/۰۶	۱۳۶/۵۵۶±۰/۰۵	p<۰/۰۰۱
اسید سیس- ۹- هگزادکنوئیک	C۱۶:۱	۰/۶۹۷±۰/۰۱	۰/۶۷۷±۰/۰۰	p=۰/۰۶
اسید هپتادکانوئیک	C۱۷:۰	۰/۹۴۷±۰/۰۱	۰/۸۳۸±۰/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید سیس- ۱۰ - هپتادکنوئیک	C۱۷:۱	۰/۴۳۴±۰/۰۱	۰/۴۳۹±۰/۰۱	p=۰/۹۶
اسید اکتادکانوئیک	C۱۸:۰	۳۹/۲۳۴±۰/۰۳	۳۳/۸۶۵±۰/۰۳	p<۰/۰۰۱
اسید سیس- اکتادکنوئیک	C۱۸:۱	۲۱۸/۶۶۳±۰/۰۴	۲۰۷/۰۵۵±۰/۰۶	p<۰/۰۰۱
اسید سیس- اکتادکا دی انوئیک**	C۱۸:۲c	۵۲۵/۱۹۱±۰/۰۸	۵۰۹/۲۱۰±۰/۰۹	p<۰/۰۰۱
اسید ترانس- اکتادکا دی انوئیک*	C۱۸:۲t	۵/۸۷۶±۰/۰۲	۰/۱۰۸±۰/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید سیس - ۹، ۱۲، ۱۵ اکتادکا تری انوئیک (آلفا)	C۱۸:۳-n ۳	۷۳/۶۸۳±۰/۰۷	۶۸/۸۴۵±۰/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید سیس - ۶، ۹، ۱۲اکتادکا تری انوئیک (گاما)	C۱۸:۳-n ۶	۱/۰۳۸±۰/۰۱	۰/۰۹۹±۰/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید ایکوزانوئیک	C۲۰:۰	۲/۹۲۹±۰/۰۶	۱/۶۲۱±۰/۰۲	p<۰/۰۰۱
اسید ایکوزنوئیک	C۲۰:۱	۱/۹۸۹±۰/۰۴	۰/۰۷۷±۰/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید ایکوزادی انوئیک	C۲۰:۲	۰/۳۵۵±۰/۰۱	۰/۲۱۸±۰/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید سیس- ۱۱، ۱۴، ۱۷ ایکوزا اسید تری انوئیک	C۲۰:۳	۰/۲۹۵±۰/۰۰	–	p<۰/۰۰۱
اسید سیس- ۵، ۸، ۱۱، ۱۴ ایکوزا تترا انوئیک	C۲۰:۴	۰/۴۹۲±۰/۰۱	۰/۲۲۳±۰/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید هنیکوزانوئیک	C۲۱:۰	۰/۰۷۸±۰/۰۰	–	p<۰/۰۰۱
اسید دوکوزانوئیک	C۲۲:۰	۳/۶۷۸±۰/۰۵	۱/۹۱۷±۰/۰۲	p<۰/۰۰۱
اسید سیس- ۱۳ دوکوزنوئیک	C۲۲:۱	۰/۰۷۲±۰/۰۰	–	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-دوکوزا هگزانوئیک**	C۲۲:۶	۰/۴۸۰±۰/۰۱	۰/۳۲۲±۰/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید تریکوزانوئیک	C۲۳:۰	۰/۲۷۷±۰/۰۲	۰/۲۴۷±۰/۰۱	p=۰/۱
اسید تتراکوزانوئیک	C۲۴:۰	۱/۲۹۹±۰/۰۳	۰/۶۴۲±۰/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید سیس تتراکوزنوئیک	C۲۴:۱	۰/۱۴۷±۰/۰۱	۰/۱۱۷±۰/۰۰	p<۰/۰۵
سایر اسید های چرب	–	۱۲/۱۲۹±۰/۰۷	۳۱/۱۵۴±۰/۰۳	–
اسید های چرب غیر اشباع	–	۸۳۱/۱۰۲±۰/۳۴	۷۹۱/۵۵۷±۰/۲۵	p<۰/۰۰۱
اسید های چرب اشباع	–	۱۵۶/۷۶۸±۰/۲۸	۱۷۷/۲۸۹±۰/۱۷	p<۰/۰۰۱
چگالی روغن (گرم در میلی لیتر)	–	۰/۸۵۹±۰/۰۱	۰/۸۹۷±۰/۰۱	p<۰/۰۵

* ترکیبات مختلف ایزومری‌های ترانس شامل: ترانس/سیس، ترانس و ترانس، سیس/ترانس. ** همه پیوند ها آرایش سیس دارند. [۱] ارزش عددی پراکسید در روغن تازه و اکسید شده به ترتیب ۰/۰۳۷ ± ۱/۳۷۳ و ۰/۰۴۵ ± ۷/۰۶۶ میلی اکی والان گرم در کیلوگرم می باشد. (مجموع غلظت اسیدهای چرب ۱۰۰۰ میلی گرم در گرم می‌باشد.)

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره پایه و ۴ درصد، روغن خام تازه سویا، ۲) جیره پایه و ۴ درصد، روغن خام اکسید شده سویا و ۳)جیره پایه، ۴ درصد روغن خام اکسید شده سویا و ۸ درصد هسته انار آسیاب شده (جایگزین با سبوس گندم) بر مبنای ماده خشک مورد استفاده قرار گرفتند. آنالیز تقریبی اجزاء جیره با استفاده از روش AOAC (۲۰۰۵) انجام شد.

مراحل انجام آزمایشات و جمع آوری داده‌ها

در این آزمایش، تعداد ۱۸ رأس بز شیری سانن ۳ تا ۵ شکم زایش با میانگین وزنی ۹ ± ۴۷ کیلوگرم، پس از هم زمان سازی فحلی با ۲ تزریق عضلانی متوالی پروستاگلاندین ، به فاصله ۱۳ روز و هر بار به میزان ۰/۵ میلی لیتر، به صورت طبیعی تلقیح شدند و آبستنی آن‌ها در پایان ماه اول از طریق سونوگرافی با پروب شکمی مورد تایید قرار گرفت. دام ها پس از اعمال مراقبت‌های بهداشتی و تغذیه‌ای دوره آبستنی (Solaiman و همکاران، ۲۰۱۰)، به مدت ۶ هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی در بازه زمانی سه هفته قبل و بعد از زایش، برای مقایسه اثر تیمارها مورد بررسی قرار گرفتند. دام‌ها در قفس‌های متابولیکی انفرادی با دسترسی آزادانه به آب و خوراک تحت شرایط استاندارد، نگهداری شدند. کلیه مراحل آزمایش در ایستگاه تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

جیره‌های آزمایشی در دو نوبت صبح (۷:۰۰) و بعد از ظهر (۱۹:۰۰) در قالب جیره کاملا مخلوط شده در اختیار دام‌ها قرار گرفت. نمونه برداری خون از سیاهرگ گردنی به صورت تکرار شده در زمان، در مقاطع ابتدای آزمایش(۲۱ روز قبل از زایش پیش بینی شده)، ۲ هفته پس از اعمال تیمارهای آزمایشی (یک هفته قبل از زایش)، سه روز پس از زایش و ۱۷ روز پس از زایش (دو هفته پس از اعمال جیره یکسان) به منظور تعیین سطوح فراسنجه‌های خونی، پس از اعمال ۲۰ ساعت محدودیت غذایی انجام شد. نمونه برداری خون در زمان زایش به دلیل پرهیز از وارد نمودن استرس مضاعف به دام‌های تازه زا بدون در نظر گرفتن محدودیت غذایی صورت پذیرفت. نمونه‌های خون در لوله‌های استاندارد حاوی EDTA، برای تعیین فراسنجه‌های پتانسیل آنتی اکسیدانی و غلظت مالون دی آلدهید پلاسما به ترتیب به عنوان شاخص‌های وضعیت آنتی اکسیدانی بدن و پراکسیداسیون لیپیدی و در لوله‌های آزمایش ۱۰ میلی‌لیتری استریل بدون EDTA، به منظور تعیین فراسنجه‌های سرمی بر اساس روش Castillo و همکاران (۲۰۰۵) جمع آوری و آماده سازی شده و در دمای ۲۰°C- تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌ها نگهداری گردیدند. فراسنجه‌های سرمی گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول کل، کلسترول متصل به لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL)، بیلی روبین مستقیم، آلبومین، اسید اوریک، منیزیوم، پروتئین التهابی فاز حاد (CRP) و فاکتور روماتوئید (RF)، و فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات ترانس آمیناز (AST) ، کراتین کیناز (CK)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلانین ترانس آمیناز (ALT) توسط کیت‌های تشخیصی Biosystem اسپانیا و ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما (FRAP) بر اساس روش Benzie & Strain (۱۹۹۶) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر Biosystem مدل A15 مورد آنالیز قرار گرفتند. غلظت هورمون تیروکسین توسط کیت تشخیصی الایزای شرکت پیشتاز طب و غلظت مالون دی آدهید به عنوان یکی از مشتقات پراکسیداسیون چربی‌ها در پلاسما طبق روش بیوشیمیایی اختصاصی Lapenna وهمکاران (۲۰۰۱) و با استفاده از دستگاه الایزا ریدر STAT FAX 303 Plus تعیین شد. روغن‌های تازه و اکسید شده به منظور تجزیه شیمیایی اسیدهای چرب با روش متیلاسیون توصیه شده توسط Kramer و همکاران (۱۹۹۷) مشتق سازی شد و ترکیب اسیدهای چرب آن‌ها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی Varian مدل ۳۸۰۰ CP مجهز به انجکتور ۱۱۷۷ FID و ستون ۸۸ CP-Sill تعیین شد. در ابتدا دمای ستون به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰°C قرار داشت، سپس با نرخ ۵°C در دقیقه به دمای ۲۶۰°C افزایش یافت و این شرایط به مدت ۳۰ دقیقه ادامه پیدا کرد (Kramer و همکاران، ۲۰۰۱). از هلیوم با نرخ ۱/۲ میلی لیتر در دقیقه تحت فشار ۳۵۵ کیلوپاسکال به عنوان گاز حامل استفاده شد. استاندارد داخلی (C۱۹:۰) و سایر استانداردهای

آزمایشگاهی منطبق با اسیدهای چرب گزارش شده در جدول ۲ از شرکت Sigma - Aldrich و سایر مواد شیمیایی با درجه خلوص آزمایشگاهی از شرکت Merck تهیه گردیدند. تمام آنالیزهای آزمایشگاهی با ۳ تکرار و ۲ اجرا به انجام رسید.

روش‌های آماری

مقایسه میانگین تیمارها بر اساس ارزیابی حداقل مربعات میانگین اندازه‌گیری‌های مکرر در طول زمان پس از حذف اثرات هم عامل‌ها (نمونه برداری اولیه) در قالب طرح کاملاً تصادفی با مدل آماری $y_{ijk} = \mu + \tau_i + t_k + \delta_{ij} + (\tau \times t)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$ و با استفاده از رویه GLM و آماره هتلینگ - لاولی تریس، آزمون نرمال بودن داده‌ها با رویه Univariat وآماره شاپیرو-ویلک و محاسبه همبستگی فراسنجه‌های خونی، با رویه CORR نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۹) انجام شدند.

در مدل فوق y_{ijk} مشاهده ijk ام، μ میانگین و سایر اجزاء مدل به ترتیب شامل اثر تیمار i، اثر زمان k، کوواریانس بین اندازه‌گیری j در تیمار i ، اثرات متقابل زمان k و تیمار i و خطای تصادفی یا واریانس بین اندازه‌گیری‌های j در هر تیمار i در زمان k بود.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول ۳، میانگین کلی تغییرات آنزیم آلکالین فسفاتاز در اثر تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به سایر تیمارها به ترتیب روند افزایشی و کاهشی داشت (p=۰/۳۹). میزان این فراسنجه پس از دو هفته اعمال تیمارهای آزمایشی در قبل از زایش، به ترتیب در اثر تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) افزایش و کاهش نشان داد. این الگوی منطقی در تغییرات غلظت آلکالین فسفاتاز در زمان‌های ۳ روز پس از زایش و نیز دو هفته پس از قطع تیمارها به طور غیر معنی‌داری تکرار شد. فراسنجه مذکور، در زمان زایش به طور معنی-داری (p<۰/۰۵) بالاتر از مقدار اندازه‌گیری شده در ۳ روز پس از زایش بود در حالی که تفاوت معنی‌داری با سایر زمان‌های نمونه-برداری نشان نداد. میانگین کلی فعالیت آنزیم کراتین کیناز در اثر تیمارهای ۲ و ۳ به ترتیب روند افزایشی و کاهشی غیر معنی‌داری نشان داد. فعالیت این آنزیم پس از ۲ هفته اعمال تیمارهای آزمایشی در اثر تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به سایر تیمارها به ترتیب میل به افزایش و کاهش داشت. همین الگوی تغییرات با تفاوتی غیر معنی‌دار در سایر نمونه برداری ها تکرار شد، اما در نمونه برداری مربوط به دو هفته پس از قطع تیمارهای آزمایشی، تغییرات تیمارها از این الگو تبعیت نکرد، که با توجه به افزایش قابل ملاحظه تفاوت‌های فردی در این مرحله نسبت به سایر مراحل نمونه برداری، این عدم تبعیت از الگو به انضمام اثر قطع جیره‌های آزمایشی قابل توجیه است. میانگین کلی فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در اثر تیمار ۲ نسبت به تیمار ۱ به طور غیر معنی‌داری افزایش یافت. همچنین مقدار این فراسنجه در اثر تیمار ۳ نیز نسبت به سایر تیمارها روند افزایشی غیر معنی‌داری (p=۰/۱۵) نشان داد. الگوی مذکور منعکس کننده روند معنی‌دار (p<۰/۰۵) میانگین جزئی اثر تیمارها در زمان زایش بود. مقدار این فراسنجه ۲ هفته پس از اعمال تیمارهای آزمایشی در اثر تیمار ۲ به طور غیر معنی-داری نسبت به تیمارهای ۱ و ۳ افزایش یافت. فعالیت آنزیم مذکور در طول زمان روند افزایشی نشان داد به نحوی که تفاوت این مقدار در زمان قبل از زایش نسبت به سایر زمان‌های نمونه برداری از لحاظ آماری معنی‌دار (p<۰/۰۵) بود. برتری عددی تیمار ۲ نسبت به سایر تیمارها در زمان‌های ۳ روز پس از زایش و دو هفته پس از قطع تیمار نیز بدون معنی‌داری تکرار گردید. با این تفاوت که پس از قطع تیمارهای آزمایشی میزان این فراسنجه در تیمار ۳ نسبت به تیمار ۱ نیز به طور غیر معنی‌داری کاهش یافت.افزایش میانگین کلی فعالیت آنزیم آلانین ترانس آمیناز در اثر تیمار ۲ در مقایسه با سایر تیمارها متمایل به معنی‌داری بود (p=۰/۰۷). فراسنجه مذکور تحت تأثیر زمان نمونه برداری قرار نگرفت. فعالیت این آنزیم پس از ۲ هفته اعمال تیمارهای آزمایشی قبل از زایش در اثر تیمار ۲ افزایش (p<۰/۰۵) یافت در حالی که روند کاهشی در اثر تیمار ۳ معنی دار نبود. الگوی مذکور به طور قابل قبولی (p=۰/۰۷) در ۳ روز پس از زایش و به طور غیر معنی‌داری پس از قطع تیمارهای آزمایشی برای اثر تیمارها تکرار گردید. این در حالی است که فعالیت این آنزیم در زمان زایش روند متفاوتی داشت.

جدول۳- اثر تیمارهای آزمایشی[۶] بر میانگین کلی و مقدار فراسنجه‌های فعالیت آنزیم‌های کبدی و بافتی در سرم خون به تفکیک زمان نمونه برداری[۳]

فراسنجه[۲]	زمان[۳]	تیمار[۴] ۱	۲	۳	خطای استاندارد	اثر تیمار	اثر زمان[۷]	تیمار× زمان
آلکالین فسفاتاز[۱]	میانگین کلی	۱۵۳/۰۸۰	۲۶۱/۸۲۰	۸۱/۶۹۱	۸۹/۹۵	p=۰/۳۹	p<۰/۰۵	p=۰/۶۰
	۱هفته قبل از زایش[ab]	۱۴۰/۴۱۱[a]	۲۸۴/۲۷۱[b]	۹۰/۵۴۰[c]	۲۹/۴۴	p<۰/۰۵	–	–
	زایش[a]	۱۹۶/۸۹۷	۱۷۶/۹۶۸	۱۹۱/۲۰۹	۳۵/۲۳۵	p=۰/۷۹	–	–
	۳ روز پس از زایش[b]	۱۳۷/۹۱۸	۱۴۱/۷۲۱	۱۲۹/۸۳۲	۲۹/۲۵۹	p=۰/۸۵	–	–
	۲هفته پس از قطع تیمار[b]	۱۰۴/۸۲۸	۱۴۱/۶۴۱	۱۰۹/۰۹۷	۲۷/۰۶۳	p=۰/۶۵	–	–
کراتین کیناز[۱]	میانگین کلی	۱۳۲/۸۳۰	۱۶۱/۱۰۰	۱۵۴/۸۶۰	۱۸/۸۵۵	p=۰/۵۵	p=۰/۶۱	p=۰/۹۱
	۱هفته قبل از زایش	۱۴۲/۷۱۷	۱۶۰/۰۰۸	۱۴۰/۰۲۲	۹/۳۶۹	p=۰/۲۹	–	–
	زایش	۱۳۶/۸۳۴	۱۶۶/۱۷۸	۱۶۳/۹۹۲	۱۵/۷۹۶	p=۰/۳۸	–	–
	۳ روز پس از زایش	۱۳۳/۸۳۰	۱۵۱/۹۶۳	۱۵۰/۸۳۰	۱۷/۲۶۰	p=۰/۷۳	–	–
	۲ هفته پس از قطع تیمار	۱۳۸/۲۹۷	۲۰۷/۱۶۳	۲۱۳/۱۴۰	۵۶/۶۹۱	p=۰/۹۲	–	–
لاکتات دهیدروژناز[۱]	میانگین کلی	۴۶۴/۹۰۰	۴۹۷/۳۳۰	۵۲۶/۰۱۰	۲۰/۷۴۴	p=۰/۱۵	p<۰/۰۰۱	p=۰/۴۲
	۱هفته قبل از زایش[a]	۳۸۳/۹۵۰	۳۹۵/۳۵۰	۳۹۳/۸۴۹	۹/۸۴۰	p=۰/۴۵	–	–
	زایش[b]	۴۸۱/۲۲۴[a]	۵۴۲/۱۷۶[a]	۶۵۰/۰۹۳[b]	۲۸/۵۴۳	p<۰/۰۵	–	–
	۳ روز پس از زایش[b]	۵۱۵/۹۲۴	۵۶۱/۷۸۹	۵۴۷/۹۴۲	۳۶/۱۹۶	p=۰/۶۸	–	–
	۲ هفته پس از قطع تیمار[b]	۵۶۸/۴۷۴	۶۳۹/۴۲۳	۵۰۶/۷۷۵	۵۳/۴۹۷	p=۰/۲۷	–	–
آلانین ترانس آمیناز[۱]	میانگین کلی	۱۷/۷۱۲	۲۱/۹۱۲	۱۹/۳۰۵	۱/۱۷۴	p[۵]=۰/۰۷	p=۰/۹۱	p=۰/۷۲
	۱هفته قبل از زایش	۱۸/۲۰۸[a]	۲۰/۵۰۲[b]	۱۹/۷۲۵[ab]	۰/۷۲۰	p<۰/۰۵	–	–
	زایش	۱۷/۴۷۹[a]	۲۰/۲۵۷[ab]	۲۱/۶۱۸[b]	۱/۰۵۲	p<۰/۰۵	–	–
	۳ روز پس از زایش	۱۷/۷۹۰[*]	۲۱/۰۳۰[†]	۱۹/۱۷۰[*†]	۰/۹۸۲	p[۵]=۰/۰۷	–	–
	۲ هفته پس از قطع تیمار	۱۶/۳۵۰	۲۰/۱۳۹	۱۷/۰۰۰	۱/۵۲۹	p=۰/۳۰	–	–
آسپارتات ترانس آمیناز[۱]	میانگین کلی	۸۰/۹۵۰	۸۳/۴۳۱	۹۰/۶۱۸	۴/۳۳۷	p=۰/۲۹	p<۰/۰۰۱	p=۰/۲۶
	۱هفته قبل از زایش[a]	۶۹/۴۸۱	۷۰/۲۳۰	۶۸/۹۴۹	۱/۹۵۱	p=۰/۸۸	–	–
	زایش[b]	۸۰/۰۰۸	۸۵/۳۸۷	۹۱/۷۳۴	۳/۸۰۸	p=۰/۱۵	–	–
	۳ روز پس از زایش[b]	۱۰۳/۸۳۴	۹۶/۴۷۵	۹۸/۸۹۹	۵/۰۶۷	p=۰/۵۸	–	–
	۲ هفته پس از قطع تیمار[b]	۱۰۳/۸۴۵	۹۳/۴۹۳	۸۹/۷۲۵	۱۱/۱۶۶	p=۰/۶۹	–	–
نسبت	میانگین کلی	۰/۲۲۰	۰/۲۵۸	۰/۲۰۸	۰/۰۱۷	p=۰/۱۵	p<۰/۰۰۱	p=۰/۳۱
آلانین ترانس آمیناز به	۱هفته قبل از زایش[a]	۰/۲۶۷	۰/۳۰۷	۰/۲۷۷	۰/۰۱۶	p=۰/۲۵	–	–
آسپارتات ترانس آمیناز	زایش[b]	۰/۲۳۴	۰/۲۵۰	۰/۲۲۰	۰/۰۱۹	p=۰/۵۶	–	–
	۳ روز پس از زایش[bc]	۰/۱۶۵	۰/۲۴۴	۰/۲۰۱	۰/۰۱۷	p<۰/۰۵	–	–
	۲ هفته پس از قطع تیمار[c]	۰/۱۶۳	۰/۲۳۷	۰/۱۸۷	۰/۰۱۸	p<۰/۰۵	–	–

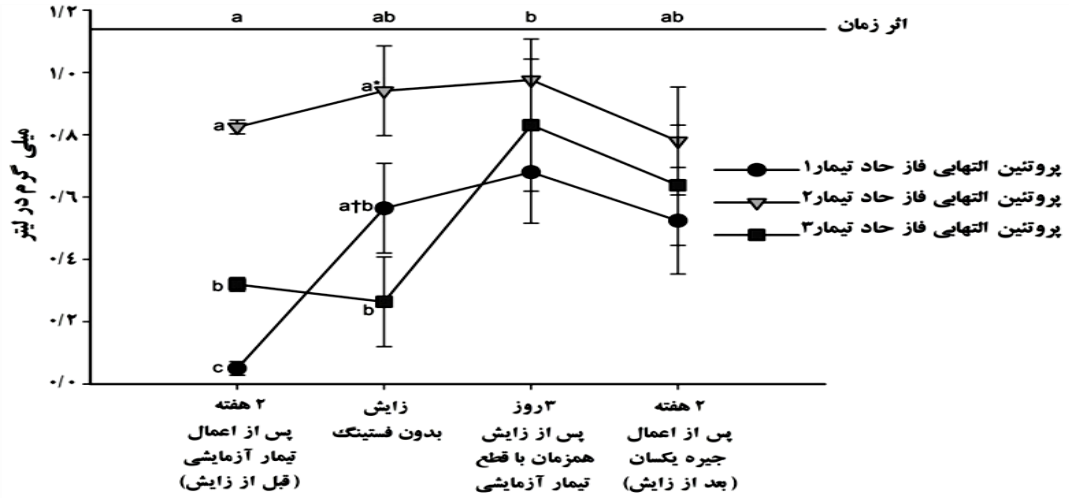
[۱] واحد در لیتر. [۲] میانگین ها با حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می باشند. [۳] اثر معنی دار زمان نمونه برداری با حروف لاتین غیر مشترک برای هر فراسنجه در زمان‌های نمونه‌برداری ۱) دو هفته پس از اعمال تیمار آزمایشی (یک هفته قبل از زایش)، ۲) زایش،۳) سه روز پس از زایش و ۴) دو هفته پس از حذف جیره‌های آزمایشی و اعمال جیره یکسان بعد از زایش برای بررسی پایداری اثر تیمارها در هر گروه آزمایشی مشخص شده است. [۴]. تیمار ۱: روغن تازه سویا (کنترل مجازی)، تیمار ۲: روغن اکسید شده سویا و تیمار ۳: روغن اکسید شده سویا و هسته انار آسیاب شده. [۵] تفاوت دو گروه با دو علامت متفاوت در هر ردیف میل به معنی‌داری دارد ($p\leq۰/۰۹$). [۶] LSMeans. [۷] اثر زمان در میانگین هر فراسنجه در هر تیمار را مشخص می کند که اختلاف معنی‌دار متناظر با آن در ستون زمان با حروف لاتین غیر مشابه مشخص شده است.

میانگین کلی آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز و نیز میانگین این فراسنجه در زمان‌های نمونه برداری مختلف تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما میانگین فعالیت این آنزیم در طول زمان در اثر زایش روند افزایشی ($p<۰/۰۰۱$) نشان داد. نسبت آنزیم‌های آلانین ترانس آمیناز به آسپارتات ترانس آمیناز در زمان زایش به طور معنی‌داری نسبت به یک هفته قبل از زایش کاهش یافت و این روند نزولی در نمونه برداری‌های بعد از زایش نیز مشاهده شد.

به طور کلی، نسبت مذکور در اثر تیمارهای ۲ و ۳ به ترتیب افزایش و کاهش یافت که این اختلاف در زمان‌های سه روز پس از زایش و دو هفته پس از قطع تیمارهای آزمایشی معنی‌دار بود. غلظت پروتئین التهابی فاز حاد (نمودار ۱) پس از ۲ هفته اعمال تیمارهای آزمایشی در اثر تیمارهای ۲ و ۳ به طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها به ترتیب افزایش و کاهش یافت. غلظت پروتئین مذکور در زمان زایش در اثر تیمار ۲ در مقایسه با تیمارهای ۱ ($p=۰/۰۸$) و ۳ ($p<۰/۰۵$) افزایش یافت، درحالی که تیمار ۳ این فراسنجه را به ترتیب نسبت به تیمارهای ۲ و ۱ به طور معنی‌دار و غیر معنی‌داری کاهش داد. همچنین این میزان به ترتیب در اثر تیمارهای ۱، ۳ و ۲ در روز سوم پس از زایش روند افزایشی غیر معنی‌داری نشان داد که این الگو در دو هفته پس از قطع جیره آزمایشی نیز به طور غیر معنی‌داری ادامه یافت. تفاوت زمان نمونه برداری، میان داده‌های مربوط به ۲ هفته بعد از اعمال تیمار (قبل از زایش) و ۳ روز پس از زایش از لحاظ آماری معنی-دار بود ($p<۰/۰۵$). غلظت فاکتور روماتوئید (نمودار ۲)، دو هفته پس از اعمال تیمارهای آزمایشی به ترتیب در اثر تیمارهای ۲ و ۳ به طور معنی‌داری بیشترین و کمترین مقدار را اختیار نمود. میزان این فراسنجه در زمان زایش به طور معنی‌داری در هر سه تیمار افزایش یافت، هرچند تفاوت بین تیمارها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. روند افزایشی مذکور بدون تفاوت معنی‌دار تیمارها در روز سوم پس از زایش نیز ادامه یافت که این افزایش در مقایسه با نمونه برداری قبل از زایش، از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). دو هفته پس از قطع تیمارهای آزمایشی، غلظت فاکتور روماتوئید در تیمارهای ۲ و ۳ به طور معنی‌داری نسبت به تیمار ۱ کاهش یافت، که شدت این کاهش در تیمار ۳ نسبت به تیمار ۲ از لحاظ عددی برتری داشت. غلظت این فراسنجه در این زمان نسبت به مرحله قبل یعنی سه روز پس از زایش به طور معنی-داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$)، که این تفاوت احتمالاً تحت تأثیر زمان و قطع جیره آزمایشی رخ داده است. ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما دو هفته پس از اعمال تیمار، در اثر تیمار ۳ به طور معنی-داری ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با تیمارهای ۱ و ۲ کاهش یافت(نمودار ۳)، در حالی که تیمارهای ۱ و ۲ از این لحاظ مشابه بودند. الگوی ذکر شده در رابطه تیمارها، در اثر زایش روند معکوسی را به نمایش گذاشت. به طور کلی گامه زایش باعث کاهش غیر معنی‌دار قدرت آنتی اکسیدانی پلاسما نسبت به مرحله قبل گردید. پس از گذشت سه روز از زایش از لحاظ عددی مقدار بیشینه و کمینه ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما به ترتیب متعلق به تیمار های ۳ و ۲ بود. دو هفته پس از قطع جیره‌های آزمایشی نیز تفاوت بارزی در میزان این فراسنجه میان تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد و نمودار این فراسنجه علاوه بر شیب کاهشی در طول زمان، به هم‌گرایی رسید. غلظت مالون دی آلدهید در پلاسما (نمودار ۳) به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون چربی ها در بدن، پس از دو هفته اعمال تیمار آزمایشی قبل از زایش به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار ۲ نسبت به تیمار ۱ و به طور غیر معنی‌داری نسبت به تیمار ۳ افزایش یافت. در زمان زایش نیز بالاترین مقدار مالون دی آلدهید متعلق به تیمار ۲ بود، در حالی که تیمار ۳ مقدار این فراسنجه را به طور معنی داری نسبت به تیمار ۲ کاهش داد. غلظت ترکیب مذکور سه روز پس از زایش نیز در اثر تیمار ۲ به طور معنی‌داری نسبت به تیمارهای ۱ و ۳ افزایش نشان داد ($p<۰/۰۵$)، در حالی که تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۱ و ۳ مشاهده نشد. دو هفته پس از قطع جیره-های آزمایشی بعد از زایش تفاوت معنی‌داری در میان تیمار ها مشاهده نشد و نمودار تغییرات هم گرا شد.

ضریب همبستگی فراسنجه‌های خونی با ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما در سطح میانگین کل، برای فراسنجه‌های تری گلیسرید ($p<۰/۰۵$) و آنزیم ALT ($P=۰/۰۹$) مثبت و برای

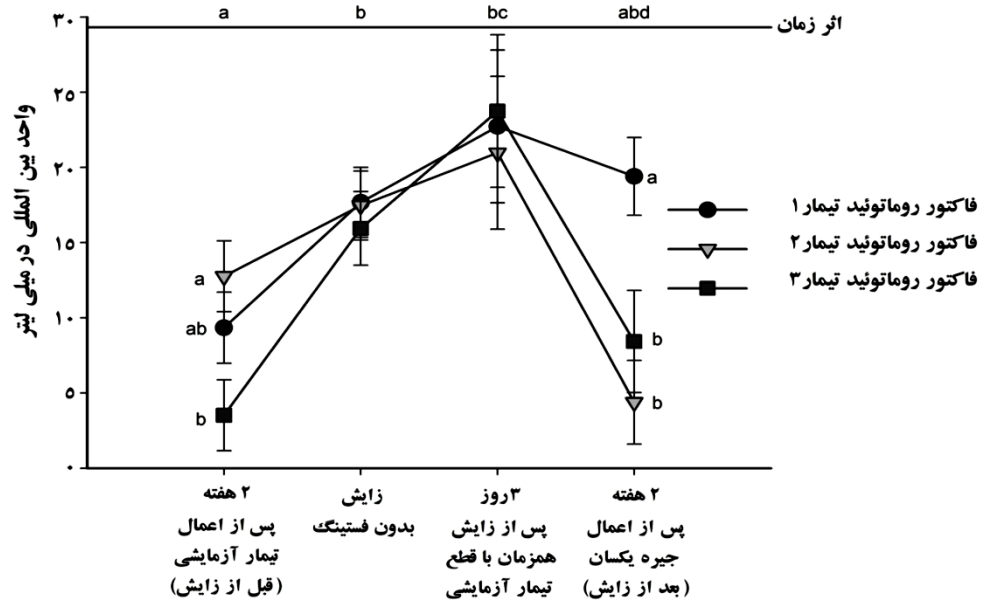
منیزیوم (p<۰/۰۵) و تیروکسین (P=۰/۰۶) مقادیر منفی اختیار نمود (جدول ۴). سایر فراسنجه‌ها نظیر کلسترول کل، HDL کلسترول، اسید اوریک، آلبومین و بیلی روبین مستقیم، رابطه مثبت و غیر معنی‌داری با نوسانات ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما بر قرار نمودند، در حالی که این رابطه برای فراسنجه‌های گلوکز، مالون دی آلدهید و RF به طور غیر معنی‌داری منفی بود. این الگوی همبستگی، با تفاوت‌های جزئی در میانگین تیمارها نیز تکرار شد. بیشترین ضرایب همبستگی مثبت با ظرفیت آنتی اکسیدانی در اثر تیمار ۱ به ترتیب با تری گلیسرید، فعالیت آنزیم ALT و بیلی روبین مستقیم و بیشترین ضرایب همبستگی منفی با آلبومین، MDA و RF مشاهده شد، در حالی که در اثر تیمار ۲ بیشترین همبستگی مثبت با تری گلیسرید، اسید اوریک و فعالیت آنزیم ALT و بیشترین ضرایب همبستگی منفی به ترتیب برای تیروکسین، RF و گلوکز مشاهده گردید. همچنین بالاترین همبستگی مثبت در اثر تیمار ۳ به ترتیب بین ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما و آلبومین، فعالیت آنزیم ALT و اسید اوریک و بیشترین همبستگی منفی به ترتیب برای منیزیوم، MDA و تیروکسین بود.



نمودار ۱ - اثر تیمار های آزمایشی بر غلظت CRP در زمان های مختلف نمونه برداری و تغییرات آن پس از قطع جیره آزمایشی (تفاوت معنی دار فراسنجه بین تیمارهای آزمایشی در هر زمان بر روی نمودار و نیز اثر زمان بر میانگین کلی فراسنجه بر روی محور افقی با حروف لاتین متفاوت مشخص شده است. همچنین ستون‌های بازه‌ای هر فراسنجه نشان دهنده اشتباه معیار می باشد).

افزایش غلظت آلکالین فسفاتاز (ALP) (جدول ۳) در سرم خون نشان دهنده بروز اختلالات کبدی، کلیوی، مسمومیت تغذیه‌ای و بیماری‌هایی نظیر کاهش دانسیته استخوان است (Smith & Sherman، ۲۰۰۹). غلظت این آنزیم در شرایط فیزیولوژیکی مختلف در طیف وسیعی نوسان داشته و دامنه‌های طبیعی مختلفی نظیر ۱۵ ± ۱۵۰ و ۳۰۸ ± ۲۵۷ برای آن در بز سانن ذکر شده است (Jackson & Cockcroft، ۲۰۰۲؛ Pugh & Baird، ۲۰۱۲). اگر چه داده‌های به دست آمده از آزمایش حاضر در دامنه طبیعی قرار دارد، اما تفاوت بین تیمارها میل به معنی‌داری نشان می‌دهد. همچنین، دامنه طبیعی برای فعالیت آنزیم‌های کراتین کیناز (CK)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در سرم خون بزهای سانن در منابع به ترتیب ۲ ± ۴۹، ۱۰۱± ۲۳۹، ۱۲ ± ۵۱ و ۳ ± ۲۰ بیان شده است (Smith & Sherman، ۲۰۰۹؛ Pugh & Baird، ۲۰۱۲). بر این اساس فعالیت آنزیم های یاد شده به جز ALT، به طور واضحی از دامنه طبیعی مقادیر آن برای دام سالم فراتر می باشد. افزایش CK در سرم جزء شواهدی است که اغلب برای بررسی اختصاصی تخریب عضلانی مورد بررسی

قرار می گیرد، چرا که فعالیت آنزیم CK به جز در بافت عضلات اسکلتی و قلب در سایر بافت‌ها بسیار اندک بوده و در اکثر موارد افزایش فعالیت آن در سرم به مفهوم تخریب سلول‌های عضلانی است (Kramer & Carthew، ۱۹۸۵). مطالعات نشان می دهند که تغییرات فعالیت CK در طول زمان معمولا معنی‌دار نمی باشد (El-Metwally & El-Senosi، ۲۰۱۲) که داده-های به دست آمده از این آزمایش نیز از همین الگو تبعیت می-کنند. AST نیز در عضله و کبد یافت می شود و افزایش آن در سرم خون به دو مفهوم دیستروفی عضلانی یا تخریب سلول‌های کبدی است. اما در مقایسه با CK در مورد تخریب عضلات غیر اختصاصی‌تر است. همچنین LDH در بافت‌های زیادی از جمله کبد، عضله و گلبول‌های قرمز خون فعالیت می‌کند. بنابراین، افزایش آن در سرم یک علامت عمومی از تخریب و تجزیه سلولی بافت‌های مذکور به شمار می رود، هرچند در شناسایی تخریب عضلانی، توانایی CK را ندارد. در اثر نکروز سلول‌های کبدی نیز سطح فعالیت AST و LDH در سرم افزایش می-یابد (Pugh & Baird، ۲۰۱۲). مطالعات نشان می‌دهند که فعالیت LDH سرم خون در طی شیردهی نیز نسبت به آبستنی افزایش می‌یابد(El-Metwally & El-Senosi، ۲۰۱۲). این یافته با نتایج آزمایش حاضر هم خوانی دارد. از آن‌جا که LDH سرمی در بز شیری نسبت به گاو و گوسفند بسیار کمتر است (Jackson & Cockcroft، ۲۰۰۲)، مقایسه مقادیر LDH با آزمایشات انجام شده بر روی گاو و گوسفند میسر نیست.



نمودار ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت RF در زمان‌های مختلف نمونه برداری و تغییرات آن پس از قطع جیره آزمایشی (تفاوت معنی‌دار فراسنجه بین تیمارهای آزمایشی در هر زمان بر روی نمودار و نیز اثر زمان بر میانگین کلی فراسنجه بر روی محور افقی با حروف لاتین متفاوت مشخص شده است).

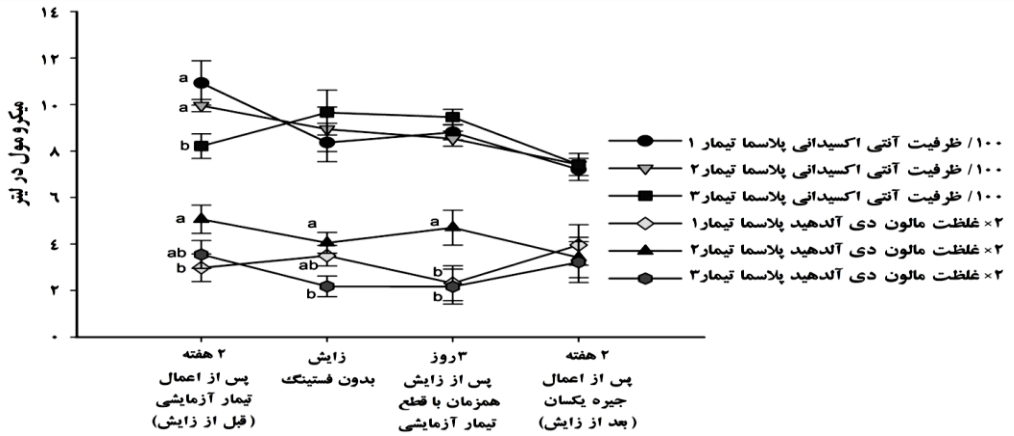
افزایش فعالیت آنزیم ALT در خون نیز شاخصی از بیماری‌های کبدی در سگ و گربه به شمار می رود، اما در نشخوار کنندگان غلظت این آنزیم در کبد پائین‌تر است (Smith & Sherman، ۲۰۰۹). نسبت ALT به AST بزرگ‌تر مساوی ۱ نیز نشان دهنده تخریب بافت کبد است (El-Metwally & El-Senosi، ۲۰۱۲). در مطالعه حاضر این نسبت کمتر از ۱ به دست آمد، اما با توجه به پائین تر بودن سطح ALT در نشخوار کنندگان، به نظر می رسد دامنه طبیعی برای این نسبت در بز بسیار کمتر باشد. شواهد نشان می دهند که در مسمومیت‌های تغذیه‌ای سطح ALT، CK، LDH و AST در سرم خون بالا می رود (Pugh & Baird، ۲۰۱۲). Li و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش کردند که مسمومیت ناشی از آفت کش‌ها منجر به توسعه پراکسیداسیون

لیپیدی و استرس اکسیداتیو در بافت‌های بدن و به تبع آن افزایش فعالیت آنزیم های ALT، AST، LDH و CK می گردد.

بنابراین انتظار می رود افزایش فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در اثر تیمار ۲، تحت تأثیرات فیزیولوژیک این تیمار به دلیل دارا بودن رادیکال‌های آزاد ناشی از پراکسیداسیون اسیدهای چرب نظیر آلکانال‌ها، آلکنال‌ها، دی آلدهیدها و آلکنون‌ها (Spiteller و همکاران، ۲۰۰۱) باشد که باعث بروز علائم تخریب بافتی (Dibner و همکاران، ۱۹۹۶)، مسمومیت ناشی از سطح پراکسید ها (Durand و همکاران، ۲۰۰۵)، کاهش در قابلیت هضم مواد مغذی (Va´zquez-An˜o´n و همکاران، ۲۰۰۸) و تغییرات غیر طبیعی در فراسنجه‌های خونی و به تبع آن افزایش فعالیت آنزیم های کبدی و بافتی در سرم خون (Va´zquez-An˜o´n & Jenkins، ۲۰۰۷) می گردد.

در مقابل، کاهش مشاهده شده در فعالیت‌های آنزیمی در اثر تیمار حاوی هسته انار احتمالاً به دلیل نقش‌های آنتی اکسیدانی و ضد التهابی ترکیبات فعال زیستی موجود در آن نظیر کاروتنوئید، فلاونوئیدها و پلی فنول‌ها (Mori-Okamoto و همکاران، ۲۰۰۴) بوده که باعث خنثی سازی اثرات مضر رادیکال‌های آزاد روغن اکسید شده بر بافت‌های داخلی گردیده است. نوسانات فعالیت‌های آنزیمی در زمان زایش نیز احتمالاً به دلیل تفاوت‌های فردی در فعالیت عضلانی طی فرایند تولد، از نظم خاصی تبعیت نکرده و منجر به افزایش خطای آزمایشی شده است. همچنین دو هفته پس از قطع تیمارهای آزمایشی بعد از زایش تغییر الگوی مشاهده شده در فعالیت آنزیم CK بین تیمارها نشان‌دهنده کاهش اثر تیمارها بر فراسنجه‌های فعالیت آنزیمی و فعال شدن مکانیسم-های جبرانی در مواجهه با شرایط جدید است (Castillo و همکاران، ۲۰۰۵).

مطالعات نشان می دهند، غلظت پروتئین التهابی فاز حاد (CRP) در اثر تغذیه اسید لینولئیک، در پاسخ به سیتوکین‌های التهابی ناشی از آسیب بافتی، افزایش می یابد (Smedman و همکاران، ۲۰۰۵). CRP یکی از ترکیبات التهابی است که توسط کبد و بافت‌های ذخیره چربی، در کنار فاکتور نکروزه کننده تومور (TNFα) و اینترلوکین‌های ۱ و ۶ ساخته شده و باعث اختلالات بافت اندوتلیال رگ‌های خونی، بیماری‌های عروق کرونر، تصلب شرایین و مقاومت انسولینی می‌گردد (Lau و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین مشخص شده که اینترلوکین۱ و TNFα در سلول‌های کبدی و رگ‌ها باعث افزایش بیان ژن CRP می‌شوند، که این مشاهدات نه تنها بر نقش CRP به عنوان یک نشانگر التهابی تاکید دارد، بلکه بر رابطه آن با اختلال عملکرد بافت اندوتلیال رگ‌های خونی نیز صحه می-گذارد (Breviario و همکاران، ۱۹۹۲).



نمودار ۳ - اثر تیمار های آزمایشی بر غلظت مالون دی آلدهید و ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسمای خون در زمان‌های مختلف نمونه برداری و تغییرات آن پس از قطع جیره آزمایشی (تفاوت معنی‌دار فراسنجه بین تیمارهای آزمایشی در هر زمان بر روی نمودار با حروف لاتین متفاوت مشخص شده است). اثر زمان معنی‌دار نشد.

مطالعات نشان می‌دهند که CRP بیان ژن فاکتورهای مولکول پیوست بین سلولی ۱ (ICAM-۱) و مولکول پیوست سلول‌های عروقی ۱ (VCAM-۱) را القا می‌کند (Lau و همکاران، ۲۰۰۵). مطالعات Hodgkinson و همکاران (۲۰۰۷) و Sordillo و همکاران (۲۰۰۸) نشان می‌دهد که بیان ژن‌های ۱- VCAM و ۱-ICAM در شرایط استرس اکسیداتیو پیرامون زایش در گاوهای شیری افزایش می‌یابد. همچنین افزایش بیان ژن این دو فاکتور می‌تواند شرایط پاتولوژیک پیش التهابی را سبب شود (Radi و همکاران، ۲۰۰۱). از این رو، افزایش غلظت CRP تحت القای سیتوکین‌ها اهمیت فزاینده‌ای در وقایع مرتبط با استرس اکسیداتیو پیرامون زایش خواهد داشت (Chan و همکاران، ۲۰۱۰).

مطالعات Risérus و همکاران (۲۰۰۴) نشان می‌دهند، تغذیه ایزومرهای مختلف اسیدلینولئیک کانجوگه باعث بروز استرس اکسیداتیو و التهاب شده که با افزایش سطح CRP در سرم خون در ارتباط است. از این رو، افزایش سطح CRP در اثر تیمار حاوی روغن اکسید شده سویا و کاهش آن در اثر افزودن هسته انار به ترتیب بر نقش‌های اکسیداتیو و آنتی اکسیدانی ترکیبات مذکور صحه می‌گذارد. همچنین، مطالعات نشان می دهند که غلظت CRP در زنان باردار و در زمان زایش، افزایش می یابد (Lau و همکاران، ۲۰۰۵). بنابراین روند افزایشی رخ داده در غلظت این فراسنجه در پیرامون زایش به دلیل افزایش نرخ متابولیسم عضلات در حین انقباضات رحم و نیز شرایط اکسیداتیو این گامه، قابل توجیه است.

فاکتور روماتوئید نیز یک اتوآنتی بادی از جنس ایمونوگلوبولین-های کلاس A و M موجود در سرم و پلاسمای خون افراد مبتلا به بیماری‌های التهابی است، که به نظر می‌رسد علیه ایمونوگلوبولین-های G خود بیمار ساخته می شود (Ahmed و همکاران، ۲۰۰۷). RF باعث ایجاد کمپلکس‌های سیستم ایمنی شده که منجر به پیشرفت التهاب و تخریب بافتی از طریق سنتز آنزیم‌های تجزیه کننده توسط نوتروفیل‌ها می‌شود. برای مثال کمپلکس کوچک IgG-RF بر روی نفرون‌های کلیه تأثیر منفی گذارده و باعث تخریب بافت کلیه می شود (Ahmed و همکاران، ۲۰۰۷). Rostaing و همکاران (۱۹۹۸)، نشان دادند که غلظت RF پلاسما در بیماری‌های مزمن کلیه و کبد افزایش می‌یابد. همچنین Jalali و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که رادیکال‌های آزاد ناشی از تجزیه اکسیداتیو اسیدهای چرب، باعث تحریک ساخت RF در بدن می‌شوند. بنابراین، افزایش مشاهده شده در غلظت RF در اثر تیمار روغن اکسید شده سویا با توجه به نتایج مربوط به فعالیت‌های آنزیمی بر نقش اکسیداتیو رادیکال‌های آزاد ناشی از پراکسیداسیون اسیدهای چرب در تخریب التهابی بافت ارگان‌های داخلی نظیر کلیه و کبد تاکید دارد. همچنین کاهش فاکتور روماتوئید به انضمام کاهش در فعالیت آنزیم‌های بافتی در سرم خون در اثر تیمار ۳ نشان دهنده توانایی آنتی اکسیدان‌های موجود در هسته انار در خنثی سازی اثرات منفی تغذیه روغن اکسید شده است.

افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما از طریق مصرف آنتی اکسیدان‌های خوراکی به اثبات رسیده است (Kay و همکاران، ۲۰۱۰). اما این افزایش پتانسیل در معرض شرایط اکسیداتیو به طور موثرتری سطح آنتی اکسیدان‌های سرمی را افزایش می‌دهد (Ogawa و همکاران، ۲۰۱۱). الگوی نوسانات ظرفیت آنتی اکسیدانی به طور کلی به سمت افزایش در اثر تیمار حاوی هسته انار و کاهش در اثر تیمارهای ۱ و ۲ متمایل است، اما تفاوت معنی‌دار مشاهده شده بین اثر تیمارها در زمان نمونه برداری ۲ هفته پس از اعمال تیمارهای آزمایشی، از این الگو تبعیت نمی کند(نمودار ۳). مطالعات Va´zquez-An˜o´n و همکاران (۲۰۰۸) نشان می دهد که ظرفیت آنتی اکسیدانی سرمی در اثر دو هفته اعمال تیمارهای روغن تازه، روغن اکسید شده و روغن اکسید شده به علاوه آنتی اکسیدان به ترتیب ۴۰± ۱۶۰، ۴۰± ۱۸۰ و ۴۰ ±۱۰۰ میکرو مولار بوده که این میزان پس از گذشت ۶ هفته از اعمال تیمارهای آزمایشی به ۴۰± ۲۱۰، ۴۰± ۷۰ و ۴۰ ±۴۲۰ میکرو مولار تغییر یافته است. این نتایج با الگوی به دست آمده از نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. به نظر می رسد که سیستم آنتی اکسیدانی درون زادی بدن، مکانیسمی دفاعی، متناسب با

خنثی سازی رادیکال‌های آزاد ورودی از طریق جیره را در زمان ۲ هفته پس از زایش به کار گرفته است، به نحوی که در اثر تیمار ۲ که بالاترین سطح رادیکال آزاد را دارا می باشد، بالاترین سطح ظرفیت آنتی اکسیدانی را مهیا نموده و در مقابل تیمار حاوی هسته انار که به دلیل آنتی اکسیدان فراوان، رادیکال آزاد پائین‌تری را بر بدن تحمیل نموده، سطح پائین‌تری از آنتی اکسیدان‌های درون زادی را در نظر گرفته است. احتمالاً این الگو در اثر تداوم اعمال تیمار تحت تأثیر مصرف ذخیره آنتی اکسیدانی بدن و نیز تقویت ظرفیت آنتی اکسیدانی توسط تیمار ۳ روند معکوسی را در زمان زایش و بعد از آن به نمایش گذاشته است. ساز و کار عمل آنتی اکسیدان‌های خوراکی در تقویت ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن مشخص نیست، اما احتمالاً با خنثی نمودن اکسیدان‌ها، حجم پراکسیدها در بدن را کاهش می دهد، و این به عنوان یک منبع کمکی برای دفاع آنتی اکسیدانی بدن به شمار می رود، که با نتایج حاصل از مطالعات Sui-Ying و همکاران (۱۹۹۷) مطابقت دارد. مطالعات نشان می دهند که با حذف رادیکال‌های آزاد و پراکسیدها نیاز بدن به مصرف پتانسیل آنتی اکسیدانی درونی نظیر اکسیداسیون گلوتاتیون احیا کاهش می یابد (Va´zquez-An˜o´n و همکاران، ۲۰۰۸).

بنابراین، آنتی اکسیدان‌ها باعث ذخیره و افزایش پتانسیل آنتی اکسیدانی می شوند که این نوسانات توسط سطح رادیکال‌ها و ظرفیت آنتی اکسیدانی به طور متقابل و خودکار تنظیم می‌گردد. داده‌های به دست آمده برای غلظت مالون دی آلدهید (MDA) در پلاسما به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی نیز با فرضیه مطرح شده برای تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی هم خوانی دارد. به طور کلی، کمترین سطح پراکسیداسیون لیپیدی در اثر تیمار ۳ و بالاترین حد آن در بدن مربوط به تیمار ۲ بوده است (نمودار ۳). MDA محصول عمده پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع چندگانه در بدن بوده و به عنوان یک مولکول سمی و نشانگر استرس اکسیداتیو به شمار می رود. به دلیل اثرات مخربی که این ماده بر DNA و پروتئین می گذارد به عنوان یک ترکیب جهش زا شناخته می‌شود (Del Rio و همکاران، ۲۰۰۵).

مطالعات Valtueña و همکاران (۲۰۰۸) نشان می دهد که افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم خون باعث کاهش التهاب سیستمیک و اختلالات کبدی می گردد که با کاهش سطح فعالیت آنزیم های ALT و ALP در سرم خون و نیز کاهش غلظتCRP و MDA در اثر تغذیه جیره غنی از آنتی اکسیدان همراه است. همچنین Celik و همکارن (۲۰۰۹) بیان نمودند که فعالیت آنزیم های کبدی در سرم خون و غلظت MDA بافتی در اثر اعمال تیمارهای اکسیداتیو افزایش می یابد. آن‌ها نشان دادند که با تزریق داخل صفاقی عصاره پلی فنولی گیاه انار به رت های مبتلا به استرس اکسیداتیو، فراسنجه‌های مذکور به طور معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل نیز کاهش یافت. این یافته‌ها و نتایج به دست آمده از مطالعات Hassan و همکاران (۲۰۱۱) مبنی بر تغییرات فعالیت‌های آنزیمی و ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما در اثر تغذیه چربی‌ها و اعمال تیمارهای آنتی اکسیدانی با نتایج مطالعه حاضر هم راستا می باشد. اما از آن‌جا که اغلب مطالعات صورت گرفته بر روی MDA، دام‌های بیمار با علائم کلینیکی را مورد بررسی قرار داده‌اند و نیز روش اندازه گیری MDA و بافت مورد مطالعه با سایر آزمایشات متفاوت است، غلظت به دست آمده برای این فراسنجه با نتایج حاصل از سایر مطالعات قابل مقایسه نیست. همچنین از لحاظ پایداری اثر جیره‌های آزمایشی، الگوی اثر تیمارها دو هفته پس از اعمال جیره یکسان، برای کلیه فراسنجه-های مورد آزمایش به جز فعالیت کراتین کیناز، غلظت فاکتور روماتوئید، مالون دی آلدهید و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل خون، به طور مشابهی در سایر زمان ها، تکرار می‌گردد. این نتایج نشان می‌دهند که فراسنجه‌های مذکور با سرعت و حساسیت بیشتری تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی و سیستم‌های کنترلی بدن قرار می-گیرند.

جدول٤- همبستگی[1] فراسنجه‌های خونی و ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما (FRAP[2]) بر اساس مجموع کل نتایج و به تفکیک تیمارهای آزمایشی[3]

فراسنجه	کل		تیمار ۱		تیمار ۲		تیمار ۳	
	FRAP	معنی داری[4]	FRAP	معنی داری	FRAP	معنی داری	FRAP	معنی داری
تری گلیسرید	۰/۲۳۰	۰/۰۴*	۰/۴۸۸	۰/۰۴*	۰/۴۱۰	۰/۰۴*	-۰/۰۸۳	۰/۶۹
کلسترول کل	۰/۱۸۸	۰/۱۰	۰/۲۴۱	۰/۲۴	۰/۱۵۸	۰/۴۴	۰/۱۴۷	۰/۴۸
HDL- کلسترول	۰/۱۶۴	۰/۱۵	۰/۱۱۸	۰/۵۷	۰/۰۸۱	۰/۶۹	۰/۲۲۴	۰/۲۸
اسید اوریک	۰/۱۲۵	۰/۲۸	-۰/۱۲۱	۰/۵۶	۰/۲۸۹	۰/۱۶	۰/۳۳۶	۰/۰۹†
گلوکز	-۰/۱۴۲	۰/۲۲	-۰/۱۵۲	۰/۴۶	-۰/۲۷۵	۰/۱۸	-۰/۰۸۶	۰/۶۸
آلبومین	۰/۰۲۰	۰/۸۶	-۰/۳۴۷	۰/۰۸†	۰/۱۳۸	۰/۵	۰/۵۵۹	۰/۰۳*
مالون دی آلدهید	-۰/۱۷۰	۰/۷۰	-۰/۳۳۸	۰/۰۹†	۰/۱۲۹	۰/۵۳	-۰/۳۲۶	۰/۱۱
فاکتور روماتوئید	-۰/۱۷۱	۰/۱۴	-۰/۲۵۶	۰/۲۱	-۰/۲۹۲	۰/۱۵	-۰/۰۳۹	۰/۸۵
آلانین آمینو ترانسفراز	۰/۱۹۵	۰/۰۹†	۰/۳۳۱	۰/۱۰	۰/۱۶۷	۰/۴۲	۰/۴۱۳	۰/۰۴*
بیلی روبین مستقیم	۰/۱۵۳	۰/۱۸	۰/۳۱۹	۰/۱۲	۰/۰۸۷	۰/۶۷	۰/۰۷۶	۰/۷۱
تیروکسین (T_4)	-۰/۲۱۱	۰/۰۶†	-۰/۱۸۸	۰/۳۶	-۰/۳۷۶	۰/۰۶†	-۰/۲۷۱	۰/۱۸
منیزیوم	-۰/۲۴۵	۰/۰۳*	-۰/۱۸۴	۰/۳۷	-۰/۰۸	۰/۷۰	-۰/۳۹۵	۰/۰۵*

[1] ضریب همبستگی پیرسون. [2] Ferric Reducing Ability of Plasma . [3]. تیمار ۱: روغن تازه سویا (کنترل مجازی)، تیمار ۲: روغن اکسید شده سویا و تیمار ۳: روغن اکسید شده سویا و هسته انار آسیاب شده. [4] ضریب همبستگی با سطح معنی داری($p<۰/۰۵$) مخالف صفر می باشد. * از لحاظ آماری معنی‌دار ($p<۰/۰۵$). †متمایل به معنی‌داری ($p\leq۰/۰۹$).

مطالعات نشان می‌دهند که علاوه بر نقش سیستمیک آنزیم‌هایی نظیر گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، هِم اکسیژناز و تیوردوکسین ردوکتاز در دفاع آنتی اکسیدانی، متابولیت‌های خونی نظیر اسید اوریک، بیلی‌روبین و آلبومین و احتمالاً آنزیم های کبدی در ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما موثرند (Castillo و همکاران، ۲۰۰۵؛ Va´zquez-An˜o´n و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین احتمال دارد کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی با افزایش فاکتور های التهابی(Aitken و همکاران، ۲۰۰۹) نظیر RF در ارتباط باشد. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهند (جدول ۴) افزایش غلظت تیروکسین به دلیل افزایش نرخ متابولیسم هوازی و تولید بیشتر رادیکال‌های آزاد ناشی از زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی (Valko و همکاران، ۲۰۰۷)، ارتباطی منفی با ظرفیت آنتی اکسیدانی چه در سطح میانگین کل و چه به تفکیک تیمارهای آزمایشی به نمایش می گذارد.

همچنین غلظت گلوکز نیز به دلیل پتانسیل تولید ترکیبات پیش التهابی(Kawahito و همکاران، ۲۰۰۹)، رابطه‌ای منفی با ظرفیت آنتی اکسیدانی برقرار نموده است. MDA، RF و منیزیوم نیز که در شرایط اکسیداتیو، التهابی، عفونت و مسمومیت در بدن افزایش می یابند با ظرفیت آنتی اکسیدانی همبستگی منفی داشتند (Ahmed و همکاران، ۲۰۰۷؛ Pugh & Baird ، ۲۰۱۲).

از آن‌جا که بیلی روبین احتمالاً در اثر دو فرآیند کاهش HDL و به تبع آن کاهش پیش سازهای نمک‌های صفراوی برای دفع بیلی روبین از طریق صفرا (Drackley، ۲۰۰۰) و نیز افزایش تجزیه هِم تحت القاء افزایش غلظت CRP و به دنبال آن افزایش غلظت هِم اکسیژناز ۱ در سرم خون (Trigona و همکاران، ۲۰۰۶)، در شرایط اکسیداتیو مانند تیمار ۲ افزایش می‌یابد، این فرضیه مطرح می‌گردد که بدن با فرآیند خود تنظیمی فراسنجه‌های دارای نقش آنتی اکسیدانی، به تعدیل عامل اکسیداتیو القاء کننده تولید همان متابولیت‌ها می پردازد. فعالیت آنزیم ALT نیز علاوه بر نقش آنزیمی در سیستم های متابولیک، رابطه مثبتی با توانایی آنتی اکسیدانی پلاسما نشان می‌دهد که احتمالاً بر یک نوع دفاع خودکار بدن در مقابل تخریب اکسیداتیو بافت کبد صحه می-

گذارد. همچنین احتمالاً سطح تری گلیسریدها، کلسترول کل و HDL-کلسترول به این دلیل با ظرفیت آنتی اکسیدانی رابطه مثبت دارد که منجر به القاء تولید فراسنجه‌های ثانویه دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی می‌گردد.

تفاوت مشاهده شده در اولویت نقش فراسنجه‌ها در کاهش یا افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما در اثر تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که این فراسنجه‌ها به غلظت‌های متفاوت ترکیبات اکسیداتیو، نوع شرایط عادی یا التهابی و وضعیت شاخص‌های متابولیکی و تغذیه‌ای که به طور مستقیم یا غیر مستقیم به مرحله زندگی حیوان و جیره غذایی مربوط می‌شود، وابسته است. بر اساس کمیت‌های به دست آمده از مطالعات مختلف، وضعیت تیمار ۳ از تعادل بیشتری برخوردار است و از لحاظ اثر فراسنجه-های خونی بر ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما با نتایج این مطالعات (Aitken و همکاران، ۲۰۰۹؛ Benzei & Strain، ۱۹۹۶)، هم خوانی بیشتری دارد. روابط غیر متعارف منفی برای تری گلیسرید در اثر تیمار ۳، مثبت برای مالون دی آلدهید در اثر تیمار ۲ و منفی برای اسید اوریک در اثر تیمار ۱ با ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما با توجه به عدم معنی داری، احتمالاً در اثر خطای آزمایشی بالا و نوسانات غلظت این فراسنجه‌ها تحت تأثیر تیمارها رخ داده است.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی روغن اکسید شده باعث افزایش شاخص‌های التهابی، سطح پراکسیداسیون لیپیدی و بروز علائم تخریب بافتی نظیر افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های بافتی در خون گردید. این شواهد احتمالاً به دلیل سطح بالاتر مشتقات پراکسیداسیون اسیدهای چرب در روغن اکسید شده بروز نموده است. در مقابل، تیمار ۳ به دلیل ترکیبات دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی در هسته انار باعث تعدیل استرس اکسیداتیو، بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما و کاهش علائم تخریب بافتی در دام‌های مورد آزمایش گردید. بنابراین انتظار می رود در شرایط متابولیکی حاد پیرامون زایش که دام های شیری مستعد بروز عوارض التهابی و عفونی می باشند، تغذیه آنتی اکسیدان‌های طبیعی مانند هسته انار، در رسیدن به شرایط مطلوب نقش مثبتی را ایفا نماید.

پاورقی:

[۱] Small Ruminant Nutrition System(SRNS)

[۱] EstroPLAN® (cloprostenol sodium) Parnell life library

[۱] C-reactive Protein(CRP)

[۱] Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP)

[۱] Intra Cellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1)

[۱] Vascular Cell Adhesion Molecule-1(VCAM-1)

منابع

AOAC, (2005) *Official Methods of Analysis* (18th ed). USA.: Association of Official Analytical Chemists.

AOCS, (2003) *Official Method*: Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils, Cd 8-53 • Peroxide Value.

AOCS, (2007) *Official Method*: Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils, Cd 12-57 • Fat Stability.

Bauman D. E. & Griinari J. M. (2003) Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual. Review of. Nutrition*, 23, 203–227.

Ahmed N., Dawson M., Smith C. & Wood E. (2007) *Biology of disease*. UK.: Taylor & Franics Group. Abingdon.

Aitken S. L., Karcher E. L., Rezamand P., Gandy J. C., VandeHaar M. J., Capuco A. V. & Sordillo L. M. (2009) Evaluation of antioxidant and proinflammatory gene expression in bovine mammary tissue during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 92, 589- 598.

Andrews J., Vazquez-Anon M. & Bowman G. (2006) Fat stability and preservation of fatty acids with AGRADO_ antioxidant in feed ingredients used in ruminant rations. *Journal of Dairy Science*, 89(Suppl. 1), 60.

Benzie I. F. F. & Strain J. J. (1996) The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of ‘‘Antioxidant Power’’: The FRAP Assay. *analytical biochemistry*, 239, 70-76.

Breviario F., d'Aniello E. M., Golay J., Peri G., Bottazzi B., Bairoch A., Saccone S., Marzella R., Predazzi V., Rocchi M., Vallell G. D., DejanaS E., Mantovanil A. & Introns M. (1992) Interleukin-1-inducible genes in endothelial cells. Cloning of a new gene related to CRP and serum amyloid P component. *Journal of Biological chemistry*, 267(31), 22190-22197.

Castillo C., Hernandez J., Bravo A., Lopez-Alonso M., Pereira V. & Benedito J. L. (2005) Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Veterinary Journal*, 169,286-292.

Celik I., Temur A. & Isik I. (2009) Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (*Punica granatum*) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 145–149.

Chan J. P., Chang C., Hsu W., Liu W. & Chen T. (2010) Association of increased serum CRP concentrations with reproductive performance in dairy cows with postpartum metritis. *Veterinary and clinical pathology*, 39(1), 72–78.

Del Rio D., Stewart A. J. & Pellegrini N. (2005) A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316-28.

Dibner J. J., Kitchell M. L., Atwell C. A. & Ivey F. J. (1996) The effect of dietary ingredients and age on the microscopic structure of the gastrointestinal tract in poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 5, 70-77.

Doepel L., Lapierre H. & Kennelly J. J. (2002) Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *Journal of Dairy Science*, 85, 2315–2334.

Drackley J. K. (2000) Lipid metabolism. In: D’Mello, J. P. F. *Farm Animal Metabolism and Nutrition* (pp. 97-119). USA: CAB International.

Durand D., Scislowski V., Chilliard Y., Gruffat D. & Bauchart D. (2005) High fat rations and lipid peroxidation in ruminants; consequences on animal health and quality of products. In Hocquette, J. F. and S. Gigli, *Indicators of Milk and Beef Quality* (pp. 137-150). The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.

El-Metwally T. H. & El-Senosi Y. A. (2010) *Medical Enzymology: A Simplified Approach*. USA.: Nova Science Publishers. NY.

Frankel E. N. (2005) Antioxidants. In: *Lipid Oxidation* (2nd ed) (pp: 209–258). UK.:The Oily Press, B.W.

Gonthier C., Mustafa A. F., Ouellet D. R., Chouinard P. Y., Berthiaume R. & Petit H. V. (2005) Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: Effects on blood parameters and milk fatty acid composition. *Journal of Dairy Science*, 88, 748-756.

Hassan S., Abd El-Twab S., Hetta M. & Mahmoud B. (2011) Improvement of lipid profile and antioxidant of hypercholesterolemic albino rats by polysaccharides extracted from the green alga Ulva lactuca Linnaeus. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(4), 333–340.

Heber D., Seeram N. P., Wyatt H., Henning S. M., Zhang Y., Ogden L. G., Dreher M. & Hill J. O. (2007) Safety and antioxidant activity of a pomegranate ellagitannin-enriched polyphenol dietary supplement in overweight individuals with increased waist size. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10050–10054.

Hodgkinson A. J., Carpenter E. A., Smith C. S., Molan P. C. & Prosser C. G. (2007) Adhesion molecule expression in the bovine mammary gland. *Veterinary, Immunology and Immunopathology*, 115, 205–215.

Jackson P. G. G. & Cockcroft P. D. (2002) *Clinical examination of farm animals*. UK.: Blackwell Science.

Jalali M., Shahram F., Ariaeian N., Zeraati H., Sadeghi M. R., Akhlagy A., Zyaii N., Fatehi F. & Chamary M. (2006). Blood antioxidant enzyme levels in patients with Rheumatoid Arthritis. *Tehran University Medical Journal*, 64(8), 81-89 (In Farsi).

Jansen E. H. J. M. & Ruskovska T. (2013) Comparative Analysis of Serum (Anti)oxidative Status Parameters in Healthy Persons. *International Journal of Molecular Science*, 14, 6106-6115.

Kawahito S., Kitahata H. & Oshita S. (2009) Problems associated with glucose toxicity: Role of hyperglycemia-induced oxidative stress. *World Journal of Gastroenterology*, 15(33), 4137–4142.

Kay C. D., Gebauer S. K., West S. G. & Kris-Etherton P. M. (2010) Pistachios Increase Serum Antioxidants and Lower Serum Oxidized-LDL in Hypercholesterolemic Adults. *Journal of nutrition*, 140(6), 1093-1098.

Kramer J. W. & Carthew G. C. (1985) Serum and tissue enzyme profiles of goats. *New Zeland Veterinary Journal*, 33, 91–93.

Kramer J. K. G., Fellner V., Dugan M. E. R., Sauer F. D., Mossoba M. M. & Yurawecz M. P. (1997) Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. *Lipids*, 32, 1219-1228.

Kramer J. K. G., Cruz-Hernandez C. & Zhou J. (2001) Conjugated linoleic acids and octadecenoic acids: Analysis by GC. *Europian Journal of Lipid Science and Technology*, 103, 594- 632.

Lapenna D., Ciofani G., Pierdomenico S. D., Giamberardino M. A., Cuccurullo F. (2001) Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxidesin human plasma. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(3), 331-335.

Lau D. C., Dhillon B., Yan H., Szmitko P. E., Verma S. (2005) Adipokines: molecular links between obesity and atheroslcerosis. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology*, 288(5),H2031-2041.

Li Z. H., Zlabek V., Velišek J., Grabic R., Machova J., Kolařova J., Li P. & Randak T. (2011) Antioxidant responses and plasma biochemical characteristics in the freshwater rainbow trout, Oncorhynchus mykiss, after acute exposure to the fungicide propiconazole. Czech Journal of Animal Science, 56(2), 61–69.

Lohrke B., Viergutz T., Kanitz W., Losand B., Weiss D. G. & Simko M. (2005). Short communication: Hydroperoxides in circulating lipids from dairy cows: Implications for bioactivity of endogenous- oxidized lipids. *Journal of Dairy Science*, 88, 1708-1710.

Miller J. K. & Brezeinska-Slebodizinska E. (1993). Oxidative stress, antioxidants & animal function. *Journal of Dairy Science*, 76, 2812-2823.

Mori-Okamoto J., Otawara-Hamamoto Y., Yamato H. & Yoshimura H. (2004) Pomegranate extract improves a depressive state and bone properties in menopausal syndrome model ovariectomized mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 92, 93-101.

Ogawa F., Shimizu K., Muroi E., Hara T., Sato S. (2011) Increasing levels of serum antioxidant status, total antioxidant power, in systemic sclerosis. *Clinical Rheumatology*, 30(7), 921-925.

Overton T. R. & Waldron M. R. (2004). Nutritional Management of Transition Dairy Cows: Strategies to Optimize Metabolic Health. *Journal of Dairy Science*, 87(E. Suppl.), E105-E119.

Pepys M. B. & Hirschfield G. M. (2003) C-reactive protein: a critical update. *Journal of. Clinical Investigation*, 111(12), 1805–1812.

Pratt E. & Hudson V. (1999) Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (Punica Granatum L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 567-575.

Pugh D. G. & Baird A. N. (2012) *Sheep and goat medicine* (2nd ed). USA.: Elsevier publication.

Radi Z. A., Kehrlijr M. E. & Ackermann M. R. (2001) Cell adhesion molecules, leukocyte trafficking and strategies to reduce leukocyte infiltration. *Journal of Veterinary and International Medicine*, 15, 516–529.

Risérus U. L. F., Vessby B., Ärnlöv J. & Basu S. (2004) Effects of cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation & proinflammatory markers in obese men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 279-283.

Rostaing L., Modesto A., Cisterne J. M., Izopet J., Oksman F., Duffaut M., Abbal M. & Durand D. (1998) Serological Markers of Autoimmunity in Renal Transplant Patients with Chronic Hepatitis C. American journal of Nephrology, 18, 50–56.

SAS, (2009) SAS User's Guide: Statistics. Ver 9.2. USA.: SAS Institute. Cary. N.C.

Schubert S., Lansky E. & Neeman I. (1999) Antioxidant and eicosanoid enzyme in habitation properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*, 66, 11-17.

Smedman A., Basu S., Jovinge S., Fredrikson G. N.& Vessby B. (2005) Conjugated linoleic acid increased C-reactive protein in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 94(5), 791-795.

Smith M. C. & Sherman D. (2009) *Goat medicine* (2nd ed.) USA.: Wiley-Blackwell publication. Iowa.

Solaiman S. G. (2010) *Goat science and production*. USA.: Blackwell Publication. Iowa.

Sordillo L. M., Streicher K. L., Mullarky I. K., Gandy J. C., Trigona W. & Corl C. M. (2008) Selenium inhibit15-hydroperoxyoctadecadienoic acid-induced intracellular adhesion molecule expression in aortic endothelial cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 44, 34-43.

Sordillo L. M. & Aitken S. (2009) Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128, 104-109.

Spiteller P., Kern W., Reiner J. & Spiteller G. (2001) Aldehydic lipid peroxidation products derived from linoleic acid. *Biochemistry and Biophysics Acta*, 1531, 188-208.

SRNS, 2012. Small Ruminant Nutrition System. Ver 1.9. from: http://nutritionmodels.tamu.edu/srns.html. Reterived: may 2013.

Sui-Ying W., Bottje W., Maynard P., Dibner J. & Shermer W. (1997) Effect of Santoquin and oxidized fat on liver and intestinal glutathione in broilers. *Journal of Poultary Science*, 76, 961-967.

Tang X., Wu Q., Le G. & Shi Y. (2012) Effects of heat treatment on structural modification and in vivo antioxidant capacity of soy protein. *Nutrition*, 28(11), 1180–1185.

Trigona W. L., Mullarky I. K., Cao Y. & Sordillo L. M. (2006) Thioredoxin reductase regulates the induction of haem oxygenase-1 expression in aortic endothelial cells. *Biochemistry journal*, 394, 207-216.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T., Mazur M. & Telser J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 39, 44-84.

Valtueña S., Pellegrini N., Franzini L., Bianchi M. A., Ardigò D., Del Rio D., Piatti P., Scazzina F., Zavaroni I. & Brighenti F. (2008) Food selection based on total antioxidant capacity can modify antioxidant intake, systemic inflammation & liver function without altering

markers of oxidative stress. *American Journal of Clinical Nutrition,* 87(5), 1290-1297.

Van Vugt R. M., Rijken P. J., Rietveld A. G., Van Vugt A. C. & Dijkmans B. A. C. (2008) Antioxidant intervention in rheumatoid arthritis: results of an open pilot study. *Clinical Rheumatology*, 27(6), 771–775.

Va´zquez-An˜o´n M. & Jenkins T. (2007) Effects of feeding oxidized fat with or without dietary antioxidants on nutrient digestibility, microbial nitrogen & fatty acid metabolism. *Journal of Dairy Science*, 90, 4361-4367.

Va´zquez-An˜o´n M., Nocek J., Bowman G., Hampton T., Atwell C., Va´zquez P.& Jenkins T. (2008) Effects of Feeding a Dietary Antioxidant in Diets with Oxidized Fat on Lactation Performance and Antioxidant Status of the Cow. *Journal of Dairy Science*, 91, 3165–3172.