نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۵ شماره ۴/ سال۱۳۹۴

اثرات کاربرد سیستم های خنک کننده بر سیستم ایمنی، پروفایل آنتی اکسیدانی و هماتولوژیکی گاوهای شیری نژاد هلشتاین در شرایط آب و هوایی گرم

سروش صفا[۱]، غلامعلی مقدم[۲*]، عبدالمنصور طهماسبی[۳] و امیر مختارپور[۴]

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۱٤ تاریخ پذیرش: ۹٤/۸/۱٦

[۱] دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشگاه تبریز
[۲] استاد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز
[۳] استاد گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد
[٤] استادیار پژوهشکده دام‌های خاص دانشگاه زابل
[*] مسئول مکاتبه: Email: ghmoghaddam@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: کاربرد سیستم‌های خنک کننده در فصول گرم سال می‌تواند موجب بهبود عملکرد سیستم آنتی-اکسیدانی خون شود. **هدف**: این آزمایش به منظور بررسی مزایای کاربرد سیستم‌های خنک کننده در فصول گرم سال بر روی وضعیت ایمنی و آنتی اکسیدانی و همچنین شمار سلول‌های خونی گاوهای شیری در اوایل شیردهی انجام پذیرفت. **روش کار**: تعداد ٤٦ رأس گاو شیری نژاد هلشتاین با توجه به میزان تولید و شکم زایش پس از زایمان به طور تصادفی در یکی از گروه‌های آزمایشی قرار گرفتند: گروه ۱ شامل گاوهای تحت تنش گرمایی و گروه ۲ گاوهایی بوده که به مدت ۸ ساعت در روز توسط مه پاش و فن خنک می‌شدند. **نتایج**: تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (P<۰/۰۰۱)، مالون‌دی‌آلدهید (P<۰/۰۱) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز (P<۰/۰۰۱)، سوپر اُکسید دیسموتاز (P<۰/۰۱) و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (P<۰/۰۵) در گاوهای گروه ۱ بیشتر از گروه دوم بود. در حالی که مقادیر ایمنوگلوبولین‌های A (P<۰/۰۱) و G (P<۰/۰۰۱)، اینترلوکین-۱ (P<۰/۰۱) و فاکتور نکروز تومور آلفا (P<۰/۰۰۱) در گاوهای گروه ۲ بیشتر از گروه ۱ بود. همچنین فاکتورهای هماتولوژیکی شامل شمار گلبول‌های سفید (P<۰/۰۱)، لنفوسیت‌ها (P<۰/۰۵)، مونوسیت‌ها (P<۰/۰۵)، گلبول‌های قرمز (P<۰/۰۱)، هموگلوبین (P<۰/۰۵) و درصد هماتوکریت خون (P<۰/۰۰۱) در گاوهای گروه دوم بهتر از گروه اول بود. **نتیجه‌گیری نهایی**: استفاده از سیستم‌های خنک کننده منجر به بهبود وضعیت اکسیداتیو، ایمنی و پروفایل هماتولوژیکی در گاوهای شیری تازه‌زای هلشتاین در شرایط آب و هوایی گرم می‌گردد.

واژگان کلیدی: تنش اکسیداتیو، وضعیت ایمنی، پروفایل هماتولوژیکی، تنش گرمایی، گاو هلشتاین

مقدمه

کره زمین طی قرن گذشته، علی‌الخصوص دو دهه اخیر، در معرض افزایش گرمای بی‌سابقه‌ای قرار گرفته است. قرار گرفتن در محیطی با گرمای زیاد، اثرات منفی فراوانی بر خصوصیات تولیدی و رفاه گاوهای شیری داشته و آسیب‌های زیان باری را به صنعت گاو شیری

در کشورهای مختلف وارد ساخته است (آوندانو ریس و همکاران۲۰۱۰). گاوهای شیری از طریق تخمیر شکمبه‌ای و فرآیندهای متابولیکی، تولید گرما کرده و جهت نگهداری دمای بدن در محدوده طبیعی (۳۸/۵ ۰±/۵°C) با محیط اطراف تبادل دمایی دارند. در دمای بیشتر از°C ۲۵ و یا شاخص حرارتی-رطوبتی[1] (THI) بیشتر از ۷۲، گاوها جهت خنک نگهداشتن خود و دفع گرما از طریق پوست و ریه‌ها، مجبور به مصرف انرژی بوده و دچار تنش گرمایی می‌شوند (تومازوفسکی و همکاران ۲۰۰۵).

تنش گرمایی از طریق تاثیر بر عملکرد فیزیولوژیکی دام‌ها، سبب کاهش تولید شیر و تولید مثل، افزایش بیماری‌های متابولیکی و نهایتا مرگ دام می‌گردد (کولیر و همکاران ۲۰۰۶؛ کالاماری و همکاران ۲۰۰۷).

یکی از مهمترین دلایل اتفاقات فوق، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد نشأت گرفته از اکسیژن تحت شرایط تنش گرمایی می‌باشد (تاناکا و همکاران ۲۰۰۸). با این حال نتایج مطالعات بر روی اثرات تنش گرمایی بر نشانگرهای تنش اکسیداتیو موجود در پلاسمای خون متناقض می‌باشند. به عنوان مثال هارمون و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کرده‌اند که تنش گرمایی موجب کاهش آنتی اکسیدان‌های پلاسما می‌شود؛ این درحالی است که بر اساس نتایج کالاماری و همکاران (۱۹۹۹) اثرات منفی تنش گرمایی بر نشانگرهای اکسیداتیو پلاسمای گاوهای شیری ناچیز است. همچنین برنابوچی و همکاران (۲۰۰۲) دریافتند که تنش گرمایی هیچ‌گونه اثری بر نشانگرهای اکسیداتیو پلاسمای خون گاوهای شیری نداشته اما موجب افزایش این نشانگرها (نظیر تیوباربیتوریک اسید، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز) در گلبول‌های قرمز خون شده است.

رادیکال‌های آزاد از طریق جابجایی الکترون‌های مولکول‌های زیستی موجب تغییر در عملکرد سلول‌ها می‌شوند. در نتیجه‌ی این تغییرات تجزیه‌ی پروتئین‌ها، آسیب‌های DNA و پراکسیداسیون لیپیدها رخ داده و متابولیزم و اعمال فیزیولوژیکی سلول دچار اختلال می-گردند (ترویزان و همکاران ۲۰۰۱). هنگامی که تولید رادیکال‌های آزاد بر خنثی سازی آن‌ها پیشی بگیرد، تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد (سورای ۲۰۰۶). تحت شرایط تنش اکسیداتیو سلامت حیوان مستعد پذیرش بیماری-های گوناگون نظیر ورم پستان می‌گردد.

یکی از دلایل وقوع بیماری‌های عفونی نظیر ورم پستان، کاهش سطح ایمنی بدن است (کاریاک و همکاران ۲۰۱۱). توانایی حفظ سطح ایمنی بدن حیوانات در حالت بهینه بر عهده‌ی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-فوق کلیه بوده که در اثر تنش گرمایی و متعاقبا تنش اکسیداتیو این تعادل بر هم می‌خورد (یوشیمی و همکاران ۱۹۹۰). مطالعات بر روی حیوانات مختلف نظیر موش (پیتکین ۱۹۶۵)، طیور (رنیر و همکاران ۱۹۸۱) و گاو (کلی و همکاران ۱۹۸۲) نشان داده اند که گرما نه تنها موجب سرکوب سیستم ایمنی سلولی شده، بلکه تولید ایمنوگلوبولین‌ها و سایتوکین‌ها (ایمنی ذاتی) را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد.

مطالعات متعددی به نقش سیستم‌های خنک کننده بر بهبود عملکرد تولیدی و تولید مثلی گاوهای شیری در شرایط تنش گرمایی پرداخته‌اند (وست ۲۰۰۳، آوندانو ریس و همکاران ۲۰۱۰، صفا و همکاران ۱۳۹۳). با این وجود، مطالعات زیادی در زمینه‌ی تاثیر سیستم‌های خنک کننده بر سطوح ایمنی، پروفایل آنتی‌اکسیدانی و هماتولوژیکی گاوهای شیری وجود ندارد. هدف از این مطالعه، بررسی استفاده از سیستم‌های خنک کننده بر بهبود وضعیت اکسیداتیو، ایمنی سلولی و ذاتی و سیمای خونی گاوهای شیری در شرایط آب و هوایی گرم می‌باشد.

[1]Temperature humidity index

مواد و روش ها

این آزمایش در ناحیه‌ی دشت کَشَف رود در شمال شرقی ایران (۳۵ کیلومتری شهر مشهد، عرض جغرافیایی شمالی ۳٦/۲۰ درجه و طول جغرافیایی شرقی ۵۹/۳۵ درجه) با متوسط درجه حرارت ۳۵/٤ درجه‌ی سانتی گراد و متوسط رطوبت ۳٤/۰۵ درصد (در محدوده‌ی ماه‌های تیر تا شهریور) و در مزرعه‌ی گاو شیری موقوفات ملک آستان قدس رضوی انجام گرفت. چهل و شش رأس گاو هلشتاین شکم دوم به بالا[1] با متوسط وزن ٦٥±٦۷۰ کیلوگرم بر اساس شیر تولیدی و شکم زایش به طور تصادفی در یکی از دو گروه آزمایشی زیر قرار گرفتند:

گروه ۱ (۲۳ رأس) شامل گاوهایی بودند که در بهاربند معمولی (دارای سایبان) نگهداری شده و گروه ۲ (۲۳ رأس) گاوهایی بودند که در باکس‌های انفرادی مسقف نگهداری (فری استال[2]) شده و به مدت ۸ ساعت (ساعت ۱۰ الی ۱۸) در معرض مه پاش و فن قرار داشتند. هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در وزن بدن و نمره وضعیت بدنی[3] (BCS) در ابتدای آزمایش بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت. گاوهای گروه اول تحت شرایط محیطی با دمای بالا قرار داشته (جدول ۱)، در حالی که گاوهای گروه ۲ در یک محدوده‌ی دمایی ثابت و متعادل (۲۰°C-۲۲) قرار گرفته بودند. اطلاعات مربوط به دما و رطوبت از طریق دماسنج و رطوبت سنج های ثبت کننده داده‌ی تعبیه شده در بهار بندها (برای گروه ۱) و اصطبل های انفرادی (برای گروه ۲) گرفته شده و بر اساس میانگین حداقل و حداکثر دما و رطوبت در طول روز تصحیح گردیده است. همچنین میزان شاخص حرارتی –رطوبتی (THI) نیز بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید (ملادو و همکاران ۲۰۱۲):

THI = (۰/۸ × درجه حرارت)

+ [(۱٤/٤ – درجه حرارت) × (۱۰۰ / رطوبت)] + ٤٦/٤

سیستم خنک‌کننده در زیر سقف باکس های انفرادی قرار داشته و شامل یک مه پاش برای هر گاو با قطر دهانه‌ی ۲۲ میلی‌متری که در هر ساعت ٤/٥ لیتر آب با درجه حرارت °C ۱۸-۲۰ را بر روی بدن گاوها می‌پاشید و فن‌هایی با موتور ۵۰۰ وات بود (یک فن به ازای ۲ گاو). تمامی گاوها با جیره‌ای مشابه به صورت مخلوط[4] (TMR) در دو نوبت (۸ صبح و ۱۸ عصر) تغذیه شده و دسترسی آزاد به آب آشامیدنی داشتند.

حدود ۱۰ میلی‌لیتر خون به طور هفتگی و بین روزهای ۱ تا ٦۰ پس از زایمان از طریق سیاهرگ زیر دمی و توسط سوزن ونوجکت، قبل از خوراکدهی صبحگاهی اخذ گردید. پنج میلی لیتر از این نمونه در لوله‌های آزمایش حاوی ماده منعقد کننده‌ی EDTA[5] جهت ارزیابی متابولیت‌های پلاسما و ٥ میلی‌لیتر نیز در لوله‌های مخصوص CBC[6] و حاوی K3EDTA ریخته شده و تا زمان رسیدن به آزمایشگاه، درون فلاسک یخ نگهداری شدند. نمونه‌های لوله‌ی اول بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه به مدت ۱۵ دقیقه با سانتریفیوژ دور g × ۳۰۰۰ و در دمای °C ٤ جهت جداسازی پلاسمای خون، سانتریفیوژ گردیدند. نمونه‌های پلاسما تا زمان انجام آنالیز مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسما، مالون‌دی‌آلدهید، ایمنوگلوبولین‌ها و سایتوکین ها در دمای °C ۲۰- فریز شدند. نمونه‌های CBC نیز پس از ارسال به آزمایشگاه، توسط دستگاه هماتولوژی آنالایزر (Symex K 1000, TOA Ltd., Tokyo, Japan) جهت تعیین شمار سلول های خونی مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، تیوردوکسین ردوکتاز و همچنین ظرفیت کل آنتی اکسیدانتی با استفاده از کیت‌های تجاری (RANSEL by Randox Laboratories, UK) و دستگاه

[1] Multiparous
[2] Free stall
[3] Body Condition Score
[4] Total Mixed Ration
[5] Ethylene diamine tetra acetic acid
[6] Cell blood count

اسپکتروفتومتر (UN2CO-WFT2100, Shanghai, China) اندازه‌گیری گردید. میزان مالون‌دی‌آلدهید پلاسما (به عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدها) نیز توسط روش واکنش با اسید تیوباربیتوریک اندازه گیری شد (اوکاوا و همکاران ۱۹۷۹). مقادیر ایمنوگلوبولین‌های A (IgA)، M (IgM) و G (IgG) نیز با استفاده از کیت‌های تجاری الایزا (Bethyl Laboratory, Montgomery, TX, USA) و توسط دستگاه میکروپلات ریدر (STAT FAX 2100, Awareness Technology, Inc., USA) مورد سنجش قرار گرفتند. همچنین غلظت سایتوکین‌های پلاسما شامل اینتر لوکین ۱ (IL-1[1]) و فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- α[2]) به عنوان نشانگرهای التهابی نیز توسط کیت‌های تجاری الایزا (Pierce, Rockford, IL) مورد ارزیابی قرار گرفتند (لو جین و همکاران، ۲۰۱٤). مقادیر ROS پلاسما نیز توسط آنالایزر فلورسانس (FLx800, Bio Tek, USA) و بر طبق روش تعریف شده توسط کیم و همکاران (۲۰۰٤) مورد ارزیابی قرار گرفت.

داده‌های این آزمایش توسط رویه MIXED model نرم افزار SAS (۲۰۰٤) و در قالب طرح کاملا تصادفی با روش اندازه گیری مکرر[3] و بر اساس مدل آماری زیر آنالیز شدند (صفا و همکاران ۲۰۱۳):

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + A_{(i)j} + D_k + (T \times D)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

که در این مدل، Y_{ijk}= متغیرهای وابسته، μ= میانگین کل، T_i= اثرات گروه‌های آزمایشی، D_k= اثر دوره (هفته)، $A_{(i)j}$= خطای تصادفی و ε_{ijk}= خطای باقیمانده می باشد. مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی نیز (در سطح معنی داری P< ۰/۰۱ و P<۰/۰۵)از طریق بررسی مقایسه میانگین حداقل مربعات که بر اساس آزمون توکی-کرامر تصحیح شده بود، انجام گردید.

نتایج و بحث

جدول ۱ نشان می‌دهد که گاوهای گروه ۱ تحت شرایط تنش گرمایی ملایمی قرار داشته‌اند. بر اساس تقسیم بندی ارائه شده توسط عطریان و اقدم شهریار (۲۰۱۲)، شدت تنش گرمایی در چهار وضعیت خفیف (۷۸ >THI≥۷۲)، ملایم (۸۸ >THI≥۷۹)، شدید (۹۸ >THI≥۸۹) و بسیار شدید (THI ≥ ۹۸) تعریف می‌گردد. ظرفیت گرمایی[4] گاوهای شیری در THI بین ۷۰ تا ۷٤ تحت تاثیر قرار گرفته و در مقادیر THI بین ۷٤ تا ۷۹ واحد در وضعیت خطر قرار می‌گیرند (مادیر و همکاران ۲۰۰٦).

آنالیز نشانگرهای اکسیداتیو نشان دادند که گاوهای گروه ۱ در شرایط تنش اکسیداتیو قرار دارند (جدول ۲). بر اساس نتایج این جدول، رادیکال‌های آزاد اکسیژن (P<۰/۰۰۱) و میزان مالون‌دی‌آلدهید (P<۰/۰۱) در پلاسمای گاوهای گروه دوم بیشتر از گروه اول بود. بیشتر بودن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گاوهای گروه اول نشان می‌دهد که گرما موجب ایجاد تنش اکسیداتیو در این دام‌ها شده است. همچنین در این گاوها میزان پراکسیداسیون لیپیدها که یکی از اعمال رادیکال‌های آزاد بوده، بیشتر از گاوهایی است که در معرض سایه و سیستم خنک کننده قرار داشته‌اند. نتایج ما در زمینه‌ی پراکسیداسیون لیپیدها مطابق با یافته های کالاماری و همکاران (۲۰۱۱) می باشد که عنوان کرده‌اند افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در اثر هوای گرم موجب افزایش نرخ پراکسیداسیون لیپیدها می‌گردد.

تنش گرمایی از طریق افزایش نرخ متابولیکی موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در اوایل شیرواری در گاو می‌گردد. رادیکال‌های آزاد اتم‌ها یا مولکول‌هایی بوده که به طور دائم و طی فرآیندهای فیزیولوژیکی

[1]Interleukin-1
[2]Tumour necrosisfactor-alpha
[3]Repeated measurement
[4]Homoeothermic capacity

نظیر متابولیسم هوازی و یا توسط لوکوسایت‌ها و ماکروفاژها طی واکنش‌های التهابی در بافت‌های بدن انسان و حیوانات تولید می‌شوند. رادیکال‌های آزاد به شدت ناپایدار و واکنشگر بوده و موجب آسیب به مولکولهای زیستی نظیر DNA، پروتئینها، چربیها وکربوهیدراتها می‌شوند. (دوراکوا ۲۰۱٤). تنش اکسیداتیو در پی افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و یا کاهش تولید آنتی اکسیدان‌ها در بدن جانوران رخ داده و در پی آن بدن حیوان دچار آسیب می‌گردد (تریویزان و همکاران ۲۰۰۱).

میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز (P<۰/۰۰۱)، سوپر اکسید دیسموتاز (P<۰/۰۱) و همچنین ظرفیت کل آنتی اکسیدانی (P<۰/۰۵) نیز در گاوهای گروه اول به طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای گروه دوم بود. از آن جایی که آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز نقش مهمی در پاک-سازی رادیکال‌های آزاد نظیر سوپر اکسید ($O_2^{\bullet-}$) و هیدروکسیل ($HO^{\bullet}$) داشته، بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم ها در گروه ۱ بدلیل تولید بیشتر رادیکال‌های آزاد، بدیهی به نظر می‌رسد (برنابوچی و همکاران ۲۰۰۲).

جدول ۱- شرایط محیطی (درجه حرارت و رطوبت) محیط در طول آزمایش[۱].

هفته	متوسط حرارت (°C)	متوسط رطوبت (٪)	شاخص حرارتی-رطوبتی (THI)
۱	۳٤/۸	۳۳/٦	۸۱/۰۹
۲	۳٦/۵	۳۳	۸۲/۸۹
۳	۳۳/٤	۳۳/۲	۷۹/٤۲
٤	۳۷/۲	۳۲/۵	۸۳/۵۷
۵	۳٦/۱	۳٤/۳	۸۲/۷۲
٦	۳۵/۹	۳۵/۷	۸۲/۷۹
۷	۳۳/۸	۳٦/۱	۸۰/٤٤

[۱] شرایط محیطی که گاوهای گروه ۱ در آن قرار داشتند.

جدول ۲- میانگین حداقل مربعات (LSM) آنزیم های آنتی اکسیدانی و مالون‌دی‌آلدهید پلاسما

منبع تغییرات	گروه های آزمایشی[۱]		خطای استاندارد (SEM)	احتمال خطا (P)
	۱	۲		
گلوتاتیون پراکسیداز (U/mL)	۱۸۳/٦۳[a]	۱٦٦/۷۹[b]	۲/۱۱	<۰/۰۰۱
کاتالاز (U/mL)	٤/۵۲	٤/۳۳	۰/۰۹	۰/۲۰
سوپر اکسید دیسموتاز (U/mL)	۱۷۰/۲۷[a]	۱٤٤/۲۷[b]	٤/۳۷	۰/۰۰۲
تیوردوکسین ردوکتاز(U/mL)	۳۰/۷۰	۳۰/۱۵	۰/۲۹	۰/۲۲
ظرفیت کل آنتی اکسیدانی(U/mL)	٤/۷۰[a]	٤/۲۸[b]	۰/۱۲	۰/۰۲
رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS)	۵۷٦/۷۸[a]	۵٦۰/۱۵[b]	۲/۳۰	<۰/۰۰۱
مالون‌دی‌آلدهید (nmol/mL)	۲/۱۳[a]	۱/۸٤[b]	۰/۰۷	۰/۰۱

[۱] حروف غیر مشابه (a و b) در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) می باشند.

یافته های حاصله با نتایج هارمون و همکاران (۱۹۹۷) و فری (۱۹۹۸) که عنوان نمودند تنش گرمایی موجب افزایش نشانگرهای اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌های پلاسما در گاوهای هلشتاین در اواسط شیرواری می‌شود، همخوانی داشت. اما برخلاف یافته-های ما، برنابوچی و همکاران (۲۰۰۲) دریافتند که تنش گرمایی ملایم تاثیری بر فعالیت آنتی اکسیدان‌های پلاسما در گاوهای شیری واقع در دوره‌ی انتقال نداشته در حالیکه موجب افزایش رادیکال‌های آزاد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدها در گلبول های قرمزشده است.

نتایج مقادیر ایمنوگلوبولین‌ها و سایتوکین‌ها در جدول ۳ آورده شده است. بر اساس این نتایج، میزان ایمنوگلوبولین‌های A و G (P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱، به ترتیب) در گروه ۲ به طور معنی‌داری بالاتر از گروه ۱ بوده اما تفاوت معنی‌داری (P = ۰/٦) بین گروه ها برای مقادیر ایمنوگلوبولین M مشاهده نشد. میزان سایتوکین‌های التهابی پلاسما شامل اینترلوکین ۱ (P<۰/۰۱) و فاکتور نکروز تومور آلفا (P<۰/۰۰۱) نیز در گاوهای گروه دوم بهتر از گاوهای تحت تنش گرمایی (گروه اول) بود (جدول ۳). ایمنوگلوبولین‌ها مولکول-هایی پپتیدی مترشحه از لنفوسیت‌های B بوده که در شرایط التهاب و جهت مقابله با پاتوژن‌ها و آنتی‌ژن‌های بیگانه، مقادیر آن‌ها افزایش می‌یابد. سایتوکین‌ها مولکول‌هایی ارتباطی بوده که توسط ماکروفاژها ترشح می‌شوند. سایتوکین‌ها به همراه سایر متابولیت‌های سمی تولید شده توسط ماکروفاژها به عنوان ابزاری موثر در فعالیت‌های میکروب‌کشی محسوب می‌شوند (عمار و همکاران ۲۰۰۰).

جدول ۳- میانگین حداقل مربعات (LSM) ایمنوگلوبولین ها و سایتوکین‌های پلاسما.

منبع تغییرات	گروه های آزمایشی		خطای استاندارد (SEM)	احتمال خطا (P)
	۱	۲		
ایمنوگلوبولین A(ng/mL)	۰/۹۷[b]	۱/۰٤[a]	۰/۰۱	۰/۰۰۲
ایمنوگلوبولین G (ng/mL)	۱۵/۰۹[b]	۱٦/۳۱[a]	۰/۱۸	<۰/۰۰۱
ایمنوگلوبولین M (ng/mL)	۱/۵۳	۱/۵٤	۰/۰۲	۰/٦
اینترلوکین ۱ (ng/mL)	٤/۲۳[b]	٤/٤۵[a]	۰/۰٤	۰/۰۰٤
فاکتور نکروز تومور(ng/mL)	۰/۸٤[b]	۰/۹۹[a]	۰/۰۱	<۰/۰۰۱

حروف غیر مشابه (a و b) در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) می باشند.

مطالعات زیادی به اثرات تنش اکسیداتیو بر تضعیف سیستم ایمنی گاوهای شیری خصوصا در دوره‌ی انتقال پرداخته‌اند (سوردیلو ۲۰۰۵ و وایلد ۲۰۰٦). غشای سلول‌های ایمنی نظیر لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع بوده که این خصوصیت موجب حساس بودن این سلول‌ها در برابر تنش های اکسیداتیو می‌گردد. در نتیجه‌ی افزایش رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش اکسیداتیو (گاوهای گروه اول)، پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلول‌های ایمنی نیز افزایش می‌یابد. بنابراین توانایی تولید ایمنوگلوبولین و سایتوکین در گاوهای تحت تنش اکسیداتیو کاهش یافته و این موضوع دام‌ها را در برابر بیماری‌های عفونی نظیر ورم پستان مستعد می‌سازد (سورای ۲۰۰۲). نتایج حاصله از این طرح با گزارش های فرانکی و همکاران (۱۹۹٦b) و فرین و همکاران (۲۰۱۲) همخوانی داشته که نشان دادند تنش گرمایی موجب کاهش تکثیر و تمایز لنفوسیت‌های B شده و نهایتا تولید آنتی بادی یا ایمنوگلوبولین‌ها در حیوانات

تحت تنش با کاهش همراه بوده است. همچنین این محققین دریافتند که گرما نه تنها موجب کاهش سطح ایمنی سلولی شده، بلکه بر کاهش تولید سایتوکین‌ها نیز اثر گذار می‌باشد.

جدول ٤ مقادیر پروفایل هماتولوژیکی را در بین دو گروه نشان می‌دهد. مقادیر گلبول‌های سفید (P<۰/۰۱)، لنفوسیت‌ها (P<۰/۰۵)، گلبول‌های قرمز (P<۰/۰۱)، هموگلوبین (P<۰/۰۵) و هماتوکریت (P<۰/۰۰۱) در گاوهایی که در دمای متعادل قرار داشتند (گروه دوم) بیشتر از دام های تحت تنش گرمایی است. در حالیکه مقادیر مونوسیت در گاوهای تحت تنش گرمایی بیشتر از گاوهای گروه دوم بود (P<۰/۰۵).

جدول ۴- میانگین حداقل مربعات (LSM) پروفایل هماتولوژیکی خون

منبع تغییرات	گروه های آزمایشی		خطای استاندارد (SEM)	احتمال خطا (P)
	۱	۲		
گلبول‌های سفید (µL / تعداد)	٦٧٨٤/٧١[b]	٧٠٩٧/٠١[a]	٧١/٧٧	۰/۰۰۲
لنفوسیت (٪)	٣٤/٨٨[b]	٣٥/٤٧[a]	۰/١٨	۰/۰٣
مونوسیت (٪)	١١/٠٠[a]	١٠/٦٠[b]	۰/١٢	۰/۰٤
نوتروفیل (٪)	٤٧/٦٦	٤٨/٥٨	۰/٣٨	۰/١٢
بازوفیل (٪)	۰/٨٣	۰/٨١	۰/۰۰٧	۰/۰٨
ائوزینوفیل (٪)	٤/٢٠	٣/٩٨	۰/۰٨	۰/۰٨
گلبول‌های‌قرمز(میلی متر مکعب/^{٦} ١٠×)	٦/٢٢[b]	٦/٣٣[a]	۰/۰٢	۰/۰۰٥
هموگلوبین (g /١٠٠ mL)	١٠/٦٤[b]	١٠/٨٥[a]	۰/۰٥	۰/۰٢
هماتوکریت (٪)	٢٩/١٦[b]	٢٩/٥٧[a]	۰/۰٢	<۰/۰۰١
پلاکت (µL / ^{٣}١٠×)	٢٨٢/٤٧	٢٨٨/٥٢	٥/٥٩	۰/٤

حروف غیر مشابه (a و b) در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی دار (P<۰/۰٥) می باشند.

یافته‌های هماتولوژیکی این پژوهش با نتایج سایرین (پاپی و همکاران ۱۹۷۳، کالاماری و همکاران ۲۰۱۱) مطابقت داشت که نشان دادند THIدارای اثرات منفی بر مقادیر گلبول‌های سفید می‌باشد. کِلی (۱۹۸۵) نشان داد که مقادیر بازوفیل و ائوزینوفیل در اثر گرما افزایش می‌یابد که این یافته‌ها با نتایج ما متناقض می‌باشد. هرچند که یک افزایش نسبی برای مقادیر این دو متغیر در گروه تحت تنش مشاهده می‌شود، اما تفاوت بین دو گروه معنی‌دار نمی‌باشد.

تنش گرمایی موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در گلبول‌های قرمز شده که این امر منجر به مرگ این سلول‌ها می‌گردد (برنابوچی و همکاران ۲۰۰۲). با توجه به این موضوع، کاهش مقادیر گلبول‌های قرمز و درصد حجمی این سلول‌ها (هماتوکریت) در گاوهای تحت تنش گرمایی قابل توجیه است .

این نتایج با گزارشات چاندرا و همکاران (۲۰۱۲) و پارمار و همکاران (۲۰۱۳) همخوانی داشت که اعلام نمودند میزان گلبول‌های سفید، هماتوکریت و هموگلوبین در گاو شیری، در فصول سرد سال بیشتر از فصول گرم سال می‌باشد. همچنین این محققین ثابت کردند که یک رابطه‌ی منفی بین درجه حرارت هوا و پارامترهای هماتولوژیکی وجود دارد؛ در حالیکه همبستگی بین درجه حرارت هوا و پارامترهای اکسیداتیو پلاسما مثبت می‌باشد .

در مطالعه‌ای مشابه، کوبکووا و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که استفاده از سیستم‌های خنک کننده در فصول گرم سال موجب بهبود پروفایل هماتولوژیکی نظیر گلبول‌های قرمز و هماتوکریت می‌شود .

نتیجه گیری

مقادیر THI بالاتر از ۸۰ درجه موجب برهم خوردن سیستم هموستاز گاوهای شیری می‌شود. تنش گرمایی موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌گردد. همچنین سیستم ایمنی و پروفایل هماتولوژیکی بدن در اثر گرما تحت تاثیر قرار گرفته و تضعیف می‌گردد. به نظر می‌رسد که استفاده از شیوه‌های مدیریتی نظیر کاربرد سیستم‌های خنک کننده موجب تعدیل اثرات مخرب تنش گرمایی در گاوهای شیری تازه زا شده و ضمن بهبود وضعیت ایمنی و پروفایل هماتولوژیک دام‌ها، تنش اکسیداتیو و حساسیت این دام ها به بیماری‌های عفونی و متابولیکی را به شدت کاهش می‌دهد.

منابع مورد استفاده

صفا س ، مقدم غ، طهماسبی ع، دقیق کیا ح، مختارپور ا،۱۳۹۳. اثرات تنش گرمایی ونوع سیستم خنک سازی برعملکرد تولیدی ومتابولیسم گاوهای شیری هلشتاین در شرایط آب و هوایی گرم. مقاله شماره ۱۱۱۵، ششمین کنگره علوم دامی کشور،تبریز.

صفا س ، مقدم غ، طهماسبی ع، دقیق کیا ح، مختارپور ا،۱۳۹۳. بررسی دو استراتژی مدیریتی خنک کننده بر روی عملکرد تولید مثلی گاوهای شیری نژاد هلشتاین در شرایط آب و هوایی گرم. مقاله شماره ۱۱۱٦، ششمین کنگره علوم دامی کشور، تبریز.

Amar EC, Kiron V, Satoh S, Okamoto N and Watanabe T, 2000. Effects of dietary b-carotene on the immune response of rainbow trout *Oncorhynchusmykiss*. Fisheries Science 66: 1068-1075.

Atrian P and AghdamShahryar H, 2012. Heat Stress in Dairy Cows (A Review). Research in Zoology 2(4): 31 –44.

Avendano-Reyes L, Alvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderon A, Algandar-Sandoval A, Rodriguez-Gonzalez E, Perez-Velazquez R, Macias-Cruz U, Diaz-Molina R, Robinson PH and Fadel JG, 2010. Comparison of three cooling management systems to reduce heat stress in lactating Holstein cows during hot and dry ambient conditions. Livestock Science 132:48–52.

Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N, and Nardone A, 2002. Markers of Oxidative Status in Plasma and Erythrocytesof Transition Dairy Cows during Hot Season. Journal of Dairy Science 85:2173–2179.

Calamari L, Abeni F, Calegari F and Stefanini L, 2007. Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 2. Blood minerals and acid-base chemistry. International journal of biometeorology 52:97-107.

Calamari L, Petrera F, Abeni F and Bertin G, 2011. Metabolic and hematological profiles in heat stressed lactating dairy cows fed diets supplemented with different selenium sources and doses. Livestock Science 142: 128–137.

Chandra B, Singh SV, Hooda OK, Upadhyay R, Beenam C and Vaidya M, 2012. Influence of temperature variability on physiological, hematological and biochemichal profile of growing and AadultShahiwal cattle. Journal of Environmental Research and Development 7: 986-994.

Collier R, Dahl G and Van Baale M, 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. Journal of Dairy Science 89:1244-1253.

DurackovaZ, 2014. Free Radicals and Antioxidants for Non-Experts. Pp. 4-33. In: Ismail (Issy) Laher (eds). Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants. Springer.

Ferrian S, Guerrero I, Blas E, Fernando JG, Viana D, Juan JP and Juan MC, 2012. How selection for reproduction or foundation for longevity could have affected blood lymphocyte populations of rabbit does under conventional and heat stress conditions. Veterinary Immunology and Immunopathology 150: 53–60.

Franci O, Ranfi F, Scaccini C, Amici A, Merendino N, Tommasi G and Piccolella E, 1996b. Differential effect ofalpha-tocopherol and ascorbate on oxidative injury induced in immune cells by thermal stress. J BiolRegulHomeost Agents 10: 54–59.

Jian G, Lili N, Dengfeng W, Binlin S and Sumei Y, 2014. Effect of dietary organic selenium on milk selenium concentration and antioxidant and immune status in midlactation dairy cows. Livestock Science 170: 84–90.

Karyak OG, Safi S, Froushani AR and Bolourchi M, 2011. Study of the relationship between oxidative stress and subclinical mastitis in dairy cattle. Iranian Journal of Veterinary Research 12: 350–353.

Kelley K and Greenfield RE, Evermann JE, Parish SM and Perryman LE, 1982. Delayedtype hypersensitivity, contact sensitivity and PHA skin-test responses of heat- and coldstressed calves. American Journal of Veterinary Research 43:775-779.

Kim SH, Johnson VJ, Shin TY and Sharma RP, 2004. Selenium attenuates lipopolysaccharide-induced oxidative stress responses through modulation of p38 MAPK and NF-B signaling pathways. ExpBiol Med 229: 203–213.

Koubkova M, Knizkova I, Kunc P, Hartlova H, Flusser J, Dolezal O, 2002. Influence of high environmental temperatures and evaporative cooling on some physiological, hematological and biochemical parameters in high-yielding dairy cows. Czech J Anim Sci 47 (8): 309–318.

Mader TL, Davis MS and Brown-Brandl T, 2006. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. Journal of Anim science 84:712– 719.

Mellado M, Zuniga A, Veliz FG, De Santiago A, Garcia JE and Mellado J, 2012. Factors influencing pregnancy per artificial insemination in repeat-breeder cows induced to ovulate with a CIDR-based protocol. Animal Reproduction Science 134: 105–111.

Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E, and Madsen FC, 1993. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. Journal of Dairy Science 76:2812–2823.

Ohkawa H, Ohishi N and Yagi K, 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Chemistry 95: 351–358.

Paape MJ, Schultze WD and Miller RH, 1973. Leukocytic response to adrenocorticotrophic hormone as influenced by the infectious history of the mammary gland. Journal of Dairy Science 56: 733– 737.

Parmar M S, Madan AK, Rastogi SK and Ruokuobeinuo H, 2013. Comparative Study of Seasonal Variations on Hematological Profile in Sahiwal Cows (BosIndicus) and Murrah Buffalo (BubalusBubalis). Journal of Animal Research 3: 167-171.

Pitkin, DH, 1965. Effect of physiological stress on the delayed hypersensitivity reaction. Experimental Biological Medicine 120:350-35.

Regnier J, Kelley A, 1981. Heat- and cold stress suppresses in vivo and in vitro cellular immune response of chickens. American Journal of Veterinary Research 42: 294-299.

Safa S, Soleimani A and HeraviMoussavi A, 2013. Improving Productive and Reproductive Performance of Holstein Dairy Cows through Dry Period Management. Asian AustralasJAnimSci 26: 630-637.

SAS (2004) Statistical and analysis system. SAS Institute, Cary, N.C., USA.

Sordillo LM, 2005. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. Livestock Production Science 98: 89–99.

Surai PF, 2002. Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction. Nottingham University Press. Nottingham, United Kingdom.

Surai PF, 2006. Selenium in food and feed, selenomethionine and beyond. In: Surai, P.F. (Ed.), Selenium in Nutrition and Health. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp. 151 – 212.

Tanaka M, Kamiya Y, Suzuki T, Kamiya M, Nakai Y, 2008. Relationship between milk production and plasma 549 concentrations of oxidative stress markers during hot season in primiparous cows. Animal Science Journal 79:481 -486.

Tomaszewski MA, de Haan MA, Thompson JA and Jordan ER, 2005. The Impact of Cooling Ponds in North Central Texas on Dairy Farm Performance. Journal of Dairy Science 88:2281–2286.

Trevisan M, Browne R, RamM, Muti P, Freudenhei M, Carosella J and Armstrong D, 2001. Correlates of markers of oxidative status in the general population. American Journal of Epidemiology 154: 348– 356.

West J W, 2003. Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle. Journal of Dairy Science 86:2131–2144.

Wilde D, 2006. Influence of macro and micro minerals in the periparturient period on fertility in dairy cattle. Animal Reproduction Science 96:240–249.

Yoshimi N, Ann B, Ranadhir M, Charles W, Caldwell EB. Abdalla B and Harold DJ, 1990. Suppressed peripheral blood lymphocyte blastogenesis in pre- and postpartal sheep by chronic heat-stress, and suppressive property of heat stressed sheep serum on lymphocytes. Developmental and Comparative Immunology 14: 139-149.

The effects of using cooling systems on oxidative status, immunity and hematological profiles in Holstein lactating cows during hot weather

S Safa[1], Gh Moghadam[2*], A Tahmasbi[3] and A Mokhtarpour[4]

Received: June 04, 2014 Accepted: November 07, 2015
[1]PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3]Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad, Iran
[4]Assistan Professor , Research Center of Special Domestic Animals, University of Zabol, Zabol, Iran
[*]Corresponding author: E mail: ghmoghaddam@tabrizu.ac.ir

Abstract

BACKGROUND: Use of cooling systems can improve blood anti-oxidants of dairy cows during the hot weather. **OBJECTIVES:** This study was conducted to evaluate the advantages of cooling systems on immunity, oxidative status and cell blood counts of early lactating dairy cows during hot weather. **METHODES:** Forty six multiparous Holstein dairy cows were blocked according to milk yield and parity into two treatments after parturition as follows: group 1, the heat stressed cows and group 2, cows were housed in individual roofed boxes and were cooled 8 hours per day with sprinkle and fan. RESULTS: The production of oxygen free radicals ($P<0.001$), malonaldehyde ($P<0.01$) and activity of glutathione peroxidase ($P<0.001$) and superoxide dismutase ($P<0.001$) and total antioxidant capacity ($P<0.05$) were higher in group 1 in compared with group 2. But the concentrations of immunoglobulin A ($P<0.01$), immunoglobulin G ($P<0.001$), interlukin-1 ($P<0.01$) and tumor necrosis factor-alpha ($P<0.001$) in group 2 were greater than group 1. Furthermore, the hematological factors such as white blood cells ($P<0.01$), lymphocytes ($P<0.05$), monocytes ($P<0.05$), red blood cells ($P<0.01$), hemoglobin ($p<0.05$) and hematocrit percentage ($P<0.001$) were better for cows in group 2. **CONCLUSIONS:** With regard to these results, using of cooling systems can improve oxidative situation, immunity and hematological profiles of lactating dairy cows during hot weather.

Key words: Oxidative stress, Immunity, Hematological profile, Heat stress, Holstein cows.