تأثیر بتاکاروتن در باروری گاوها: یافته‌های بالینی و آندوکرینولوژیکی

منبع :
Meinecke. B; W. Bittner and H. : Gips. 1986
The effect of B-Carotene on fertility in Cows.
Zuchthyg. verlag paul parey. Berlin und Hamburg, No: 21 PP: 225-232

مترجم : دکتر سید محسن احمدنژاد

مقدمه :

پیشنهاد شده است که بتاکاروتن علاوه بر داشتن نقش پیش‌سازی در ساختار ویتامین A از نظر فیزیولوژیکی نیز نقش مؤثری در تولید مثل گاوها دارد، بنابراین در مواردی از کاهش بتاکاروتن، نارسائیهایی از قبیل افزایش موارد فحلی خاموش- افزایش زمان بین شروع فحلی و تخمک‌گذاری و همچنین طولانی شدن زمان بین حداکثر میزان LH در پلاسمای محیطی و تخمک‌گذاری، افزایش وقوع کیستهای تخمدانی و کاهش رشد جسم زرد در گاوها گزارش شده است.

بهرحال با وجود دستیابی به یافته‌های مذکور، سایر محققین موفق به اثبات مشاهدات فوق نگشته‌اند، با این وجود آقای فولمن و همکارانش در سال ۱۹۸۳ تأثیر بتاکاروتن بر روی باروری گاوها را دریافتند.

هنوز دلیلی برای متناقض بودن این نتایج مشخص نشده است، اما اختلاف در شرایط اجرای آزمایشات (از قبیل کنترل فحلی و تعداد تلقیح) را می‌توان دلیل این اختلاف در مشاهدات (و یا حداقل برای بعضی از آنها) محسوب داشت. اکثر نشانه‌های بالینی که در ارتباط با فقدان کامل بتاکاروتن بوجود آمدند، مؤید این مطلب می‌باشند که اختلافات فونکسیونی آندوکرینی تخمدانها در این امر دخالت دارند و دلیل این امر وجود مقدار قابل توجه بتاکاروتن در مایع تخمدانی گاوها است.

بنابراین تحقیقات حاضر روی تغییرات هورمون استروئیدی تخمدانی در سرم محیطی در گاوهایی که دچار کمبود بتاکاروتن هستند تکیه می‌کند.

مواد و روش‌ها :

این تحقیقات روی شش رأس از گاوهای نژاد Deutsche Schwarzbunte با دو شکم زایش، بدون شیردهی و سالم انجام گرفت. آزمایش شامل چهار مرحله می‌باشد.

۱- مرحله اول: فقدان کامل بتاکاروتن[1]

۲- مرحله دوم: جانشین بتاکاروتن[2]

۳- مرحله سوم: برگشت تغذیه به حالت نرمال[3]

۴- مرحله چهارم: مطالعه مقایسه‌ای شاهدها[4]

(1)B- carotene dipletion
(2)B- carotene Substitution
3 - Restitution
4- comparative control studies

مرحله اول: فقدان کامل بتاکاروتن

کمبود بتاکاروتن در تمام دامهای مورد مطالعه به مدت ۵۰ تا ۶۰ روز با دادن غذایی ویژه شامل علوفه خشک کهنه به مقدار دلخواه گاو، همچنین روزانه ۲ کیلوگرم کنسانتره (گندم، جو، سبوس) ایجاد گردید. در پایان این دوره که جیره دامها فاقد بتاکاروتن بود، در دوره تولید مثل بعدی نمونه‌های سرمی تمام دامها جهت آنالیز گرفته شد. نمونه‌گیری در هر ۴ تا ۶ ساعت در طی دوره فحلی و هر ۲۴ ساعت در زمان بین دو فحلی (Inter-oestrus) از طریق ورید وداج بعمل آمد.

نمونه‌های سرمی بلافاصله کدگذاری و در دمای ۱۸ درجه زیر صفر نگهدای شدند. همزمان با خونگیری، معاینات کامل ژینکولوژیکی با توجه خاص به تعداد و بلوغ فولیکولهای تخمدان و موقعیت رحم در توشه رکتال بعمل آمد.

مرحله دوم: جانشینی بتاکاروتن

در این مرحله بدون قطع کردن جیره فاقد بتاکاروتن، جانشینی این ماده با دادن ۲/۲ درصد محلول بتاکاروتن شروع می‌شود. در این

مرحله بدون در نظر گرفتن زمانی که دامها به سیکل تناسلی میرسند، به هر حیوان ۰/۲۰ سانتی‌متر مکعب از این محلول از طریق عضلانی در فاصلهٔ زمانی یك هفته و بمدت چهار هفته تزریق می‌شود. خونگیری و سایر معاینات یك هفته پس از تزریق اولین دُز محلول فوق شروع و در طول دوره باروری ادامه پیدا می‌کند.

مرحله سوم: برگشت تغذیه به حالت نرمال

جانشینی بتاکاروتن (برگشت میزان آن به حالت طبیعی) بدنبال سه هفته استراحت انجام گرفت. در این مدت هیچگونه مطالعه‌ای روی دامها صورت نگرفت و فقط ملامسه از طریق رکتوم انجام پذیرفت. در این مرحله علوفه خشك کهنه از جیره غذایی حذف و بجای آن از علوفه تازه به میزان دلخواه گاو همراه با سایر مکملهای غذایی و کنسانتره که قبلاً ذکر شد استفاده گردید.

مرحله چهارم: مطالعه مقایسه‌ای شاهدها

در پایان مرحله سوم، خونگیری از تمام دامها در طی سیکل دو مرحله‌ای از طریق ورید وداج و همچنین معاینه ژنیکولوژی تخمدانها و رحم انجام گرفت. این مطالعات جهت مقایسه تغییرات کلی در زمانی که دام با جیره فاقد بتاکارونی تغذیه می‌شد با زمانیکه بتاکاروتن به جیره اضافه شد صورت گرفته است.

آزمایش سرم خون

هورمونهای استروئیدی زیر با شیوه Radio Immuno assay سرمی تعیین شدند:

۱- پرگننولون[1] ۲- ۱۷ آلفائیدروکسی پرگننولون[2] ۳- پرژسترون ۴- ۱۷ آلفا ئیدروکسی پرژسترون[3] ۵- دهیدرواپی اندروسترون[4] ۶- آندروستندیون[5] ۷- تستوسترون ۸- ۱۷ بتااسترادیول

غلظت لوتروپین (LH) سرم با روش پروفسور اسکام و کارگ (سال ۱۹۶۹)[6] و میزان ویتامین E و A و بتاکاروتن موجود در سرم با شیوه Vuil-leumier و همکاران (۱۹۸۳) اندازه‌گیری شد. این اندازه‌گیری شامل تخلیص اولیه توسط هگزان و بدنبال آن جداسازی با استفاده از کروماتوگرافی مایع در فشار بالا و بررسی فلورومتریك بود.

کلسترول نیز با استفاده از شیوهٔ هاردرز و هگلر با استفاده از COBAS-bio اندازه‌گیری شد.

آنالیزهای آماری:

جهت آنالیز آماری تمام ارقام فردی به شکل لگاریتمی منتقل و میانگین ($\bar{X}$)، انحراف معیار (SD)، خطای معیار میانگین $\bar{X}s$[7] برای تمام موارد در مراحل مختلف با استفاده از برنامه BMDP1D محاسبه شدند.[8]

جهت مشخص شدن اختلافهای آماری در پارامترهای سرمی در هر مرحله با مرحله بعدی، مقادیر میانگین برای هر دام و در هر مرحله نقطه معینی از دوره باروری محاسبه شد. سپس این میانگین‌ها با استفاده از برنامه BMDP2V مورد آنالیز واریانس قرار گرفتند.

همبستگی های بین مقادیر بتاکاروتن- ویتامین A، ویتامین F و کلسترول در فرم ضریب همبستگی[9] با استفاده از برنامه BMDP6D تحت بررسی قرار گرفت.

بحث و نتیجه:

یافته‌های بالینی- به استثنای یك‌دام (گاو E) که در مرحله جانشینی بتاکاروتن تأخیر در ایجاد جسم زرد در آن مشاهده شده هیچیك از حیوانات نشانه‌ای از اختلال در سیکل تناسلی را در مرحله مقایسه و با شاهدها، و جانشینی بتاکاروتن بروز ندادند. در مرحله فقدان کامل بتاکاروتن، فقط دو رأس از گاوها (گاوهای B ، C) علائم نامشخص بالینی سیکل را از خودشان دادند، علیرغم اینکه تخمك‌گذاری پروسه عادی خود را در دامهای فوق طی میکرد. علاوه بر اینها در گاوهای B ، c و D سیکل در مرحله‌ای که جیره فاقد بتاکاروتن بود بلوکه شده و علّت آن نیز وجود جسم زرد مقاوم در دو مورد و آندومتریت با ترشحات چرکی مخاطی در یك مورد بوده است.

دوره فحلی در حیواناتی که جیره غذایی آنها فاقد بتاکاروتن بود (۳۱ الی ۳۵ ساعت) طولانی‌تر از دوره فحلی مرحله جانشینی بتاکاروتن(۴/۷ ± ۲۵/۳ ساعت)و دوره فحلی در مرحلهٔ مطالعه مقایسه‌ای شاهدها (با دوره ۳/۳ ± ۲۵/۳ ساعت) می‌باشد.

پارامترهای سرمی

در سه راس از گاوها (A ، B ، C) زمان بین آزاد شدن لوتروپین و تخمك‌گذاری بعدی در مرحله‌ای که جیره غذایی فاقد بتاکاروتن بوده و طولانی‌تر شد اگرچه این اختلافات‌را نمی‌توان از نظر آماری معنی‌دار دانست.

1- pregnenolone
2- 17-a- Hydroxy pregnenolone
3- 17-a- Hydroxyprogestrone (17OHP1)
4- DehydroepiandroSterone (DHEA)
5- Androstendione(A)
6- Prof. Scham & Karg (1969)
7- Standard errors of means
8- Dixon (1981)
9- Correlation-Coefficient

در جدول زیر فاصله زمـانی (ساعت) بین

جدول ۱ـ فاصلهٔ زمانی (به ساعت) بین اوج LH و آزاد شدن تخمك در۶ گاو در اثناء فقدان کامل بتاکاروتن، مرحلهٔ جانشینی آن و گروه شاهد

دام	فقدان کامل بتاکاروتن	جانشینی بتاکاروتن	گروه شاهد
A	۴۴	۱۲	۲۴
B	۴۰	۳۰	*
C	۴۸	۲۴	*
D	۲۰	۲۷	۲۸
E	۲۵	۴۰	۲۴
F	۲۴	۲۶	۲۸
	۳۳/۵+۱۰/۹	۲۶/۸+۸/۳	۲۵/۵+۱/۹

* در این دامها در فواصل ۶ ساعتهٔ نمونه‌برداری از خون، اوج LH مشاهده نشد.

حداکثر میزان لوتروپین و تخمك‌گذاری در شش رأس از گاوها در مرحله فقدان کامل بتاکاروتن- جانشینی بتاکاروتن و همچنین در گاوهای شاهد، نشان داده شده است.

آزمـایشـات در مورد هورمـون استـروئید اختـلافـات معنـی‌داری را تنهـا در غلظت نستوسترون و ۱۷ بتااسترادیول آشکار ساخت، در طی مرحله‌ای که جیره فاقد بتاکاروتن بود به استثنای روز دهم و روز صفر از دورهٔ فحلی تمام حیوانات میانگین تستوسترونی بالاتر $P<0.05$ از مرحله جانشینی بتاکاروتن داشتند. همچنین این میانگین نسبت به دامهـای شاهـد نیز از میزان بالاتری برخوردار بوده اگرچه این اختلافات تنها در برخی از روزها در دورهٔ فحلی مشخص و قابل توجه بود. (شکل ۱)

غلظت ۱۷ بتا استرادیول سرم نیز در مرحله فقـدان کامـل بتـاکاروتن به میزان قابل توجهی افـزایش یافت (شکل ۲). از یافته‌های مهم در این رابطه میزان بالای ۱۷ بتااسترادیول حدود ۴۴ ساعت قبـل از تخمك‌گذاری در مرحله فقدان کامـل بتـاکـاروتن نسبت به مرحله جانشینی بتاکاروتن می‌باشد. (شکل ۳)

در مرحله فقـدان بتاکاروتن در جیره، میزان متوسط بتاکاروتن سرم کمتر از ۱۰ mg/l بوده در صورتیکه این میزان در مرحله جانشینی بتاکاروتن در گاوهای A و C به حداکثر ۲۰ mg/l و در سایر گاوها بین ۷ mg/l تا ۱۱ mg/l بوده است.

در مرحله کنتـرل مقـایسه‌ای، میزان متوسط بتاکاروتن سرم در تمام حیوانات بین ۲ mg/l تا ۸ mg/l بود.

غلظت بتـاکـاروتن سرم ۲۴ ساعت بعـد از تزریق بتاکاروتن افزایش چشمگیری را نشان داده است ولی بهرحال این میزان سریعاً کاهش پیدا کرده و تنهـا در صورت تزریق بعـدی افـزایش خواهد یافت. از این تغییرات این مطلب قابل نتیجه‌گیری است که بتاکاروتن که از خارج وارد بدن می‌گردد (بشکـل تزریقی) سریعـاً مصرف شده و همچون ویتامین A در مخازن طبیعی خود قابلیت ذخیره شدن را ندارد.

از غلظت سرمی بتاکاروتن این مطلب دستگیر می‌شود که بتـاکاروتن مصرف شده بلافاصله با زمان نیمه‌عمری در حدود ۴ ساعت جذب بدن می‌شود.

غلظت کلستـرول سرم بدون درنـظر گرفتن اینکه آزمایش در چه مرحله‌ای می‌باشد بین ۸۰ تا ۱۹۰ میلی‌گرم در هر یکصد سانتی‌متر مکعب سرم در نوسـان بوده و در تمـام حیوانات ارتباط مثبتی بین میزانهای بتاکاروتن و کلسترول سرمی مشاهده گردید.

خلاصه بحث و نتیجه:

تلاش در تحـریك باروری توسط ایجـاد تغییراتی در مواد غذایی بنـاچـار باعث ایجاد مسـائـل پیچیده‌ای می‌شود که علل آنهـا بدلیل مشکـلات بعدی از قبیل عکس‌العملهای فردی دام آزمایش شده به سادگی قابل توضیح نمی‌باشد.

جهت مشخص شدن حالت اخیر (که توضیح داده شد) تنهـا از یك گله گاو، در شرایطی که جیره فاقـد بتاکاروتن بود و همچنین جیره‌ای که دارای بتاکاروتن بوده و مقایسه اینها با گله شاهد، استفاده شد. نتایج آزمایشات فوق نشان دادند که در مرحله فقدان بتاکاروتن میزان بتاکاروتن سرم در تمام حیوانات کمتر از ۱ mg/l بوده است، از این مشـاهـدات این استنبـاط میشـود که انجام آزمـایشـات فوق در حقیقت باعث ایجاد کمبود بتاکاروتن خون گردیده است. تزریق یکنواخت بتاکاروتن به دامها باعث ایجاد غلظتهای مختلف بتـاکاروتن در دامها گردید. این یافته‌ها احتمالاً تفـاوتهای فردی حیوانات در جذب بتاکاروتن را نشان میدهند ولی با وجود تفاوت فاحش در میزان بتاکاروتن، تفاوت چندانی در میزان ویتامین A در مراحـل مختلف آزمـایش مشاهده نشده که این حالت پایداری ویتـامین A را میتـوان به ظرفیت ذخیره‌ای بالای کبد نسبت داد.

افزایش قابل توجه ویتامین E که در دو راس از گاوهـا (B و C) در مرحله جانشینی بتـاکـاروتن مشاهده شد را میتوان نشانه احتمال وجود برخی واکـنشهـای تداخلی تعبیر کرد، چرا که چنین مشاهداتی در سایر حیوانات قابل رؤیت نبود.

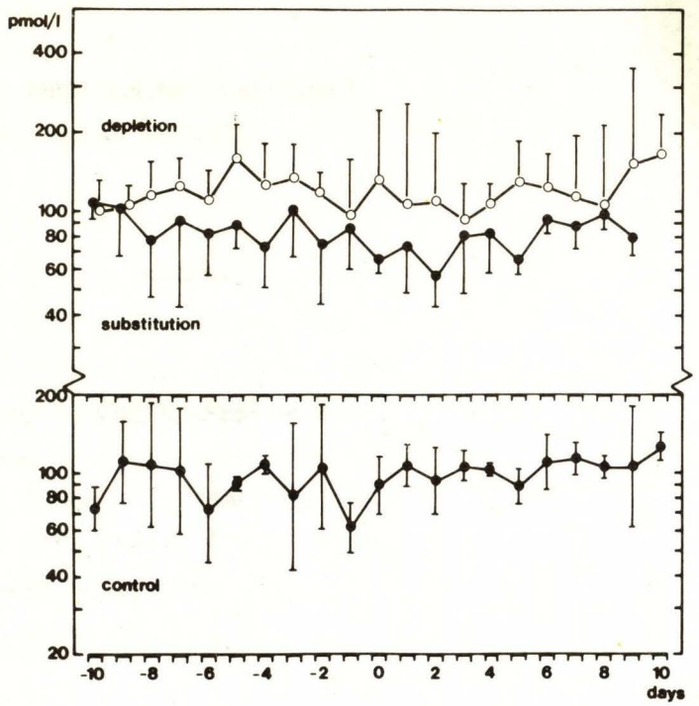
کلیه علائم بالینی مشخص‌کننـده اختلافات فونکسیونی در حیوانـات معـاینه شده در مرحله فقدان بتاکاروتن، با یافته‌های گزارش شده توسط سایر محـقـقـین مطابـقـت دارد. عادی شدن تغییرات بالینی که در همـان حیوان در مرحله جانشینی بتـاکـاروتن و در شاهدها مشاهده شد مؤید یك سری اثرات تناسلی بتاکاروتن (بدون وابسـتـه بودن به ویتـامین A) و همـچـنین برگشت‌پذیر بودن علائم اختلالات می‌باشد.

تأثیرات بالینی کمبـود و بتاکاروتن که توسط محققین زیادی توضیح داده شده و اثبات گشته اسـت مؤید این مطلب هسـتنـد که یك سری تغییرات در فعـالیت آنـدوکرینی تخمدان بوجود می‌آید. و به همین خاطـر مطالعـات ما متوجه جمع‌آوری اطلاعات آندوکرینی که قادر هستند ارتبـاط اتیولوژیکی بین تغییرات بالینی و عوامل بوجود آورنده آنها را آشکار سازند، گشته است. در همین رابـطه افـزایش زمـان بین آزاد سازی لوتـروپین از هیپـوفیز و شروع تخمك‌گذاری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.

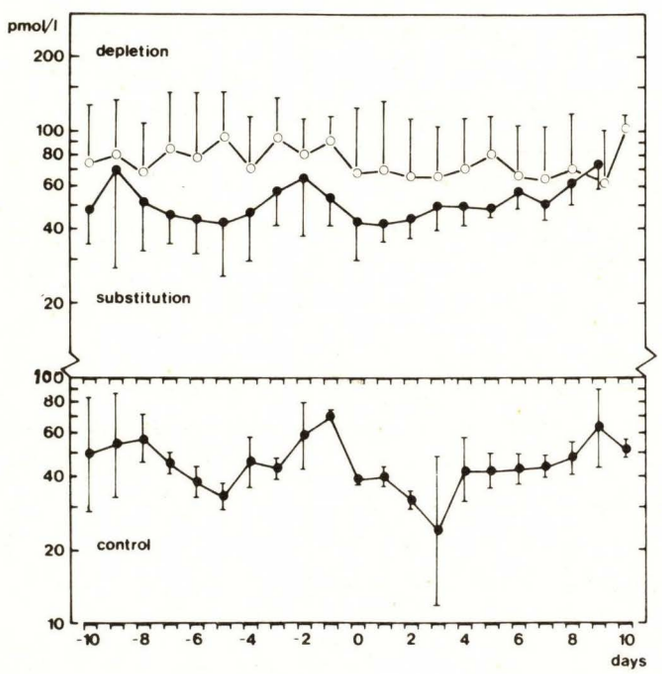
تا آنجائیکه به تخمدانها مربوط میشود و احتمال دارد که کاهش بتاکاروتن در تأخیر در بلوغ فولیکولی که مسئول تخمک‌گذاری بدنبال آزادسازی لوتروپین است مؤثر باشد. علاوه بر این، کاهش بتاکاروتن همانطوریکه افزایش غلظت تستوسترون و ۱۷ بتااستروژن نشان میدهد باعث ایجاد نارسائی در تولید هورمون استروئید فولیکولار میشود. سیکلهای تناسلی در مرحله فقدان بتاکاروتن با سیکلهای عادی فرق می‌کند. بهرحال در دوره‌های تناسلی میزان استروژن قبل از تخمک‌گذاری و سنتز تستوسترون نیز بدون هیچگونه تغییری در سطح بالایی باقی می‌مانند.

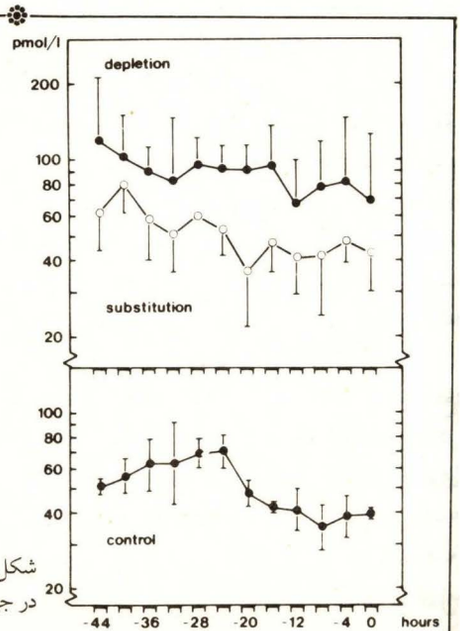
نتیجه چنین تغییری ممکن است پائین آمدن کیفیت تخمک را دربر گیرد و از آنجائیکه تقسیم میوز با آزادسازی لوتروپین از هیپوفیز شروع می‌شود، این خطر وجود دارد که هنگامیکه تخمک‌گذاری با تأخیر صورت گیرد، تخمک ممکن است در یک حالت overmature آزاد شود. از طرف دیگر این نکته می‌بایستی به خاطر سپرده شود که تغییراتی که در تولید هورمونهای فولیکولی که در طی کاهش بتاکاروتن صورت گرفته است ممکن است باعث فعالیت فحلی خاموش و همچنین طولانی شدن فحلی گردد. از غلظت بالای تستوسترون در زمان کاهش بتاکاروتن در تمام طول باروری نیز می‌توان بعنوان یک عامل اتیولوژیک در این راستا نام برد.

شکل ۱- غلظت‌های سرمی (میانگین ± انحراف معیار) تستوسترون در ۶ گاو در طی مراحل فقدان کامل بتاکاروتن، جانشینی آن و گروه شاهد. روز صفر همان روز آزاد شدن تخمک است.



شکل ۲- غلظت‌های سرمی (میانگین ± انحراف معیار) استرادیول ۱۷ بتا در ۶ گاو در طی مراحل فقدان کامل بتاکاروتن، جانشینی آن و گروه شاهد. روز صفر همان روز آزاد شدن تخمک است.





شکل ۳- غلظت‌های سرمی (میانگین ± انحراف معیار) استرادیول ۱۷ بتا در ۶ گاو در طی ۴۴ ساعت پس از اوولاسیون در جریان دوره‌های فقدان کامل بتاکاروتن، جانشینی آن و گروه شاهد. ۰=اوولاسیون.