DOI: 10.22092/VJ.2020.351530.1755
شماره ۱۳۳ زمستان ۱۴۰۰
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک

تاثیر استفاده از دانه کتان بعنوان منبع امگا ۳ برمیزان تولید شیر و بیان ژن های درگیر در رشد و نمو بافت پستان در بزهای سانن

• **حمید رضا سیدآبادي (نویسنده مسئول)**
موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزي، کرج، ایران
• **قباد عسگری‌جعفرآبادی**
گروه علوم دامي، دانشکده کشاورزي و منابع طبیعي، دانشگاه آزاد اسلامي واحد ورامین- پیشوا، تهران، ایران
• **امیررضا محمودی**
گروه علوم دامي، دانشکده کشاورزي و منابع طبیعي، دانشگاه آزاد اسلامي واحد ورامین- پیشوا، تهران، ایران
• **هدی جواهری بارفروش**
موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزي، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹-۰۵-۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹-۰۷-۲۰
Email: h_seyedabadi@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی اثر مصرف دانه کتان به عنوان منبع اسید چرب امگا-۳ بر بیان ژن‌های مؤثر در رشد و نمو بافت پستان در بزهای سانن آبستن شکم اول، تعداد ۳۰ رأس گیسه (بز ماده جوان) که در نیمه دوم اولین آبستنی خود بودند، انتخاب و پس از وزن‌کشی به سه گروه ۱۰ رأسی تقسیم شدند. یک گروه به عنوان شاهد منفی، جیره‌ای فاقد هرگونه منبع چربی دریافت نمود، گروه دوم دریافت‌کننده جیره حاوی چربي اشباع پالم (شاهد مثبت) و گروه سوم دریافت‌کننده دانة بزرک (کتان) اکسترود شده به عنوان منبع امگا-۳ بودند. جیره‌های هر سه گروه بر اساس احتیاجات بز شیری NRC 2007 تنظیم شدند. گروه‌های آزمایشی از ۲ ماه پایاني آبستني تا ۱۲ هفته پس از زایش تیمارهاي تغذیه‌اي را دریافت نمودند. طی دوره آزمایش، تولید شیر برای هر حیوان به‌طور هفتگی ثبت شد و نمونه‌گیري از بافت پستان در سه نوبت، ۲۴ الی ۳۶ ساعت بعد از زایش، دو و چهار ماه پس از زایش به منظور بررسی بیان ژن‌های *IGF-1*،*IGFBP3* و *IGFBP5* انجام شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بین تیمارها از نظر بیان ژن‌های مورد مطالعه تفاوت معنی داری وجود ندارد. همچنین برهمکنش بین تیمار و زمان نیز برای هیچکدام از ژن‌های فوق معنی‌دار نبود و تنها اثر زمان برای ژن *IGFBP-3* معنی دار شد (P<۰/۰۵).

کلمات کلیدی: بز شیری، امگا-۳ ، تولید شیر، بافت پستان، بیان ژن.

Veterinary Researches & Biological Products No 133 pp: 32-44

Effect of using flaxseed as omega-3 source on mammary gland growth and development gene expression in Saanen goat at their first pregnancy and lactation

By:Seyedabadi, H. R., (Corresponding Author) Animal Science Research Institute of IRAN (ASRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Asgari Jafarabadi, Gh., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Mahmoodi, A. R., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. and Javaheri Barforosh, H., Animal Science Research Institute of IRAN (ASRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Received: 2020-08-17 Accepted: 2020-10-11

Email: h_seyedabadi@yahoo.com

In order to investigate the effect of flaxseed consumption as a source of omega-3 fatty acids on the expression of genes effective in mammary gland tissue development in primiparous Sanan goats, 30 does (young female goats) in the second half of their first pregnancy were selected and divided into three groups of 10 based on their average initial live weight . One group received a diet without any fat source (negative control), the second group received a diet containing palm saturated fat (positive control) and the third group received extruded flaxseed (flax) as a source of omega-3. The diets of all three groups were adjusted according to the requirements of NRC 2007 dairy goats. Experimental groups received nutritional treatments from the last 2 months of pregnancy up to 4 months after parturition. During the experimental period, milk production was recorded weekly for each animal and mammary gland tissue sampling was performed three times, 24 to 36 hours after parturition, two and four months after parturition were performed to investigation the expression of IGF- 1, IGFBP3 and IGFBP5 genes. The results of this study showed that there was no significant difference among the treatments in terms of expression of the studied genes. Also, the interaction between treatment and time was not significant for any of the above genes and only the effect of time was significant for IGFBP-3 gene (P <0.05).

Keywords: Dairy goat, omega-3, milk production, breast tissue, gene expression

مقدمه

امروزه اهمیت سهم شیر و فرآورده‌های لبنی در تأمین احتیاجات غذایی جوامع بشری به لحاظ انرژی، پروتئین با کیفیت بالا، مواد معدنی و ویتامین‌های کلیدی به خوبی مشخص شده است (۹). بز شیری به عنوان یکی از حیوانات مهم تولیدکننده شیر، می‌تواند نقش قابل توجهی در تولید شیر داشته و همچنین با توجه به خواص منحصر به فرد این محصول، شیر بز می‌تواند به عنوان جایگزینی برای مصرف‌کنندگانی که به شیر گاو حساسند استفاده گردد (۲۵). بر اساس آمار فائو در سال ۲۰۱۲ از کل جمعیت بز دنیا (۹۲۱ میلیون راس) ۵۹/۷ درصد آن در آسیا وجود دارند. همچنین تولید شیر بز در دنیا در همین سال بیش از ۱۸ میلیون تن بوده که سهم ایران در تولید شیر بز در همین سال حدود ۵۰۰ هزار تن بوده است (۱۴). بنابراین، در سال‌های اخیر، تلاش‌ها روی بهبود رکوردهای تولید شیر از طریق غیر ژنتیکی و با دستکاری‌های محیطی متمرکز شده است. ظرفیت تولید شیر تا حد زیادی توسط تعداد سلول‌های سازنده شیر تعیین می‌شود. سلول‌های اپیتلیال غده پستان دارای سازمان‌دهی پیچیده‌ای بوده و به طور قابل ملاحظه‌ای قادر به تبدیل مواد مغذی موجود در خون به ترکیبات شیر هستند. محصول تولیدی این کارخانه بیولوژیك ارزشمند بوده و دستکاری تعداد این سلول‌ها به هر نحو، می‌تواند به‌طور مستقیم بر میزان تولید شیر اثر بگذارد و در این راستا عواملی که تعیین‌کننده میزان جمعیت سلول‌های اپیتلیال هستند، مهم‌ترین تأثیر را بر تولید شیر دارند (۳۰). کنترل رشد پستان، فرآیندی پیچیده است که کنش بسیاری از هورمون‌ها را در برداشته و نیز تحت تاثیر عوامل خارجی همانند دوره‌های نوری و جیره غذایی است (۳). از دیرباز تاکنون از مکمل‌های چربی بعنوان منبع انرژی در جیره دام‌های شیری استفاده شده است (۱۳). چنانچه برای تامین انرژی مورد نیاز در جیره، به جای چربی‌های اشباع از روغن‌های غیراشباع استفاده شود، می‌توان علاوه بر اجتناب از آثار نامطلوب چربی‌های اشباع، از مزایای متعدد آنها نیز بهره گرفت (۸). در سال‌های اخیر، اسیدهای چرب غیر اشباع به عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی در بافت‌های بیولوژیک شناخته شده‌اند. مصرف جیره‌ای که از نظر اسیدهای چرب ضروری کمبود داشته باشد، موجب آسیب دیدن رشد مجاری و پسرفت آلوئولی پستان و در نتیجه کاهش سلول‌های ترشح‌کننده شیر می‌شود، در حالی‌که مصرف جیره‌های غنی از چربی‌های

غیر اشباع، که حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب ضروری است، رشد پارانشیم پستان را افزایش می‌دهد (۶) همچنین نتایج مطالعه‌ای نشان داد اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع، موجب افزایش رشد پیش از بلوغ پستان در گوسفند و دیگر پستانداران می‌شوند (۷). ترکیب اسیدهای چرب در بافت چربی پستان، منعکس کننده مصرف بلندمدت اسیدهای چرب از طریق غذا است. علاوه بر این، ترکیب اسیدهای چرب رژیم غذایی، در ترکیب تری آسیل گلیسرول‌های ذخیره شده در بافت چربی پستان منعکس می‌شود. بنابراین، احتمال تغییر آن از طریق رژیم غذایی وجود دارد. تغییر اسیدهای چرب ذخیره شده در چربی پستان از نقطه نظر ذخیره و آزادسازی اسیدهای چرب مورد نیاز برای تمایز، تکثیر و ریخت‌زایی طبیعی سلول‌های اپیتلیال پستان حائز اهمیت است (۶). این اسیدهای چرب از ترکیبات اصلی غشاهای سلولی بوده و ترکیب آن‌ها بر عملکرد غشاهای سلولی تأثیر می‌گذارد. همچنین حضور اسیدهای چرب در چندین سامانه و فرآیند بیولوژیک، مانند: سامانه ایمنی، انعقاد خون و مقاومت عروقی، فعالیت‌های آنزیمی، تکثیر و تمایز سلولی و بیان گیرنده‌ها تشخیص داده شده و اسیدهای چرب خانواده امگا-۳ شرکای قدرتمند مسیرهای فوق محسوب می‌شوند (۲۵).

اثر منفی سطح تغذیه بر رشد پستان پیش از بلوغ هم در تلیسه‌های شیری و گوشتی و هم در بره‌ها به اثبات رسیده است (۲۹). طی مرحله بحرانی دوره پیش از بلوغ افزایش وزن غده پستان به‌واسطه افزایش بافت چربی، با افزایش وزن زنده روزانه همبستگی دارد و از سوی دیگر، توسعه پارانشیم پستان نسبت عکس با افزایش وزن زنده روزانه دارد. با میزان بالای افزایش وزن زنده روزانه در اولین سال زندگی، پارانشیم پستان دچار آسیب دائمی می‌شود. این اثر منفی پس از بلوغ رخ نمی‌دهد. به این ترتیب، هر گونه تغییر در ماموژنز طی دوره پیش از بلوغ، با استفاده از سطوح پایین/بالای تغذیه‌ای یا دستکاری‌های هورمونی، بر تولید شیر آتی طی اولین شیردهی اثرگذار خواهد بود. بنابراین، تنها طی دوره پیش از بلوغ و نزدیک بلوغ است که تغذیه سطح بالای انرژی اثر مخربی بر رشد آتی پستان می‌گذارد. این کاهش رشد پستان را می‌توان با کاهش سطوح هورمون رشد در سرم خون این تلیسه‌ها مرتبط دانست (۱۲). رشد سریع در ابتدای حیات حیوان اثر مخربی بر نمو پستان ندارد، مشروط بر آنکه میزان چربی داخل پارانشیمی غده پستان افزایش نیابد (۱۱). سلول‌های اپیتلیال پستان تنها در صورتی رشدیافته و سازمان‌دهی می‌شوند که به صفحه چربی منتقل شوند. این برهمکنش احتمالاً تحت تأثیر اسیدهای چرب ویژه برآمده از صفحه چربی است که قادرند تغییراتی را در نمو اپیتلیال ایجاد نمایند. اسیدهای چرب، بویژه اسیدهای چرب غیر اشباع، رشد سلول‌های اپیتلیال پستان را تحریک نموده و در واقع می‌توانند اثرات برون‌تنی سایر عوامل رشد مانند IGF-I و EGF را افزایش دهند (۱۹).

علاوه بر استروژن و هورمون رشد که نقش اصلی را در تحریک رشد پستان بر عهده دارند، عوامل رشد ویژه‌ای که از بافت پستان منشاء می‌گیرند، نیز در تنظیم رشد غده پستان حائز اهمیت می‌باشد. این عوامل رشد ممکن است بعنوان میانجی اثر استروژن و هورمون رشد باشند و یا از طریق آثار اختصاصی خود عمل نمایند. این عوامل رشد شامل عوامل رشد شبه‌انسولینی (IGF-I و IGF-II)، عامل رشد اپیدرمی (EGF)، عوامل رشد فیبروبلاستی (aFGF و bFGF)، عوامل رشد تبدیل کننده (TGFα و TGFβ)، عامل رشد مشتق از پلاکت (PDGF)، و عامل رشد مشتق از پستان-۱ (MDGF-1) هستند که بسته به نوع بافت یا سلول، میزان حساسیت گیرنده‌ها و نیز مسیرهای انتقال سیگنال، آثار متنوعی را ایجاد می‌نمایند (پاراپ و همکاران، ۲۰۰۰). حداقل تولید برخی از این عوامل رشد مانند IGF، تحت تأثیر مرحله تکاملی رشد پستان قرار می‌گیرد. بعلاوه، احتمال می‌رود عیار خونی هورمون رشد و عوامل رشد موضعی، حداقل در بخشی، واسطه اثرات سطح تغذیه و هورمون رشد برون‌زاد بر غده پستان باشند (۳۲). در جوندگان، انسان و نشخوارکنندگان، IGF-I به طور موضعی در استرومای غده پستان تولید می‌گردد و مقدار آن به میزان قابل‌ملاحظه‌ای در استروما بیشتر از پارانشیم بوده و با آغاز رشد آلومتریک غده پستان افزایش می‌یابد. از سوی دیگر با مقایسه بافت پستان در تلیسه‌های نابالغ سالم و تخمدان برداشته، مشاهده گردید که میزان IGF-I mRNAی استرومایی در گروه شاهد بالاتر و میزان IGFBP-3 mRNAی پائین‌تر از گروه تخمدان برداشته بود. این نتایج از این فرضیه حمایت می‌کنند که نمو مجاری پستان در تلیسه‌های نابالغ با تولید موضعی IGF-I و IGFBP-3 در بافت پستان تنظیم می‌گردد (۲۸). میزان IGF-I در بافت پستان با عیار IGF-I سرم خون همبستگی دارد، ولیکن برخلاف سرم، هیچگونه رابطه‌ای بین IGF-I و IGFBP-3 در بافت پستان وجود ندارد. احتمال دارد اثر IGFBP-3 هم تحریک‌کننده و هم بازدارنده باشد، یعنی IGFBP-3 موجود در خون اثر IGF-I را تشدید می‌کند در حالی‌که IGFBP-3موجود در بافت پستان فعالیت IGF-I را مهار می‌کند (۲۸). اکثر آثار IGF-I و IGF-II از طریق گیرنده اصلی IGF-I اعمال می‌گردد، که آن را با نام گیرنده نوع یک نیز می‌شناسند. بررسی‌های پیشین آشکار ساختند که اثر تحریکی GH برون‌زاد به واسطه اثر اندوکرینی IGF-I و نه تولید موضعی IGF-I در غده پستان است. بعلاوه، به دلیل اینکه سطوح خونی GH در اثر تغذیه بیش از اندازه کاهش می‌یابد، تغییرات در ترشح GH و یا تعدیل آثار زیستی آن احتمالاً در اثر مهاری سطوح بالای تغذیه‌ای بر رشد پستان پیش از بلوغ نقش دارند. در هر حال، GH و IGF-I سرم در پاسخ به سطح تغذیه در دو جهت مخالف تغییر می‌کنند. بنابراین، بحث و استدلال در ارتباط با این که اثر سطوح تغذیه بر رشد پستان پیش از بلوغ از طریق IGF-I خون اعمال می‌شود، بسیار مشکل است. حساسیت بافت پستان به IGF-I نیز ممکن است با سطح تغذیه دستخوش تغییر گردد. نتایج مطالعات انجام شده در این ارتباط حکایت از آن دارند که با وجود اثر تحریکی سطح تغذیه بر بیان mRNAی گیرنده IGF، اتصال ویژه IGF-I به بافت پستان تحت تأثیر سطح تغذیه قرار نگرفت. با این حال، حساسیت بافت پستان به IGF-I در محیط برون‌تنی، در سطوح بالای تغذیه کاهش یافت. این نتایج با اثر مهاری سطوح بالای تغذیه بر رشد پستان پیش از بلوغ مطابقت دارند. یکی از توضیحاتی که می‌توان در ارتباط با نتایج به ظاهر متناقض ارائه کرد، تعدیل موضعی اثر IGF-I در سطح ترجمه، اتصال به IGF-I، یا در سطح پس از اتصال به گیرنده است. احتمالاً IGFBP-3 در این تعدیل نقش دارد (۲۸). درمان با هورمون رشد یا استروژن در تلیسه‌ها بیان پروتئین IGFBP-3 را کاهش داد. بنابراین، میزان IGF-I آزاد، تحت تأثیر قرار گرفته و افزایش یافت. تحت شرایط مختلف، IGFBPها قادرند آثار IGF-I در غده پستان را افزایش داده و

یا مهار نمایند (۴).

با توجه به یافته‌های اخیر در ارتباط با نقش اسیدهای چرب غیر اشباع خانواده امگا-۳ در کنترل فعالیت‌های سلولی، انتظار می‌رود مصرف جیره‌های حاوی این ماده در اواخر اولین آبستنی که دوره‌ای بحرانی برای رشد پستان به شمار می‌رود، اثرات مثبت و محرکی بر تکثیر و سازمان‌دهی این سلول‌ها داشته باشد و به این ترتیب موجب بهبود عملکرد تولیدی دام گردد. لذا آزمایش حاضر به منظور بررسی تأثیر مصرف دانه کتان اکسترود شده که غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ است در نیمه دوم آبستنی اول بر بیان ژن های مرتبط با رشد پستان (IGF-I، IGFBP3 و IGFBP5) در بز سانن طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در ایستگاه تحقیقات گوسفند و بز موسسه تحقیقات علوم دامی کشور واقع در شهرستان کرج انجام شد. با توجه به اینکه ماده بزغاله‌های تحت آزمایش در پاییز تحت برنامه همزمان‌سازی فحلی قرار گرفته بودند، پراکنش زایش آنها حدوداً ۲۰ روز بوده و دو ماه آخر

جدول ۱- درصد اجزاء خوراك و ميزان مواد مغذي محاسبه شده در جيره دو ماه پايان آبستنی (بر اساس ماده خشك).

ترکیبات جیره	شاهد منفی	شاهد مثبت	امگا-۳
یونجه	۶۱	۲۵	۲۷
کاه گندم	۹	۴۵	۴۳
دانه جو	۲۴/۷	۶/۵	۴/۵
کنجاله سویا	۴/۸	۱۹/۲	۱۳
دانه بذرك	۰	۰	۱۲
پالمك	۰	۴	۰
مکمل ویتامین و مواد معدني	۰/۵	۰/۵	۰/۵
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
میزان مواد مغذي محاسبه شده			
ME (مگاکالري در کیلوگرم)	۲/۲۶	۲/۲۶	۲/۲۶
CP (٪)	۱۴	۱۴	۱۴
کلسیم (٪)	۰/۹۸	۰/۷۰	۰/۷۲
فسفر (٪)	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۷
NDF (٪)	۳۸/۸۱	۴۷/۱۲	۴۶/۸۴
ADF (٪)	۲۶/۷۲	۳۱/۵۶	۳۱/۴۴
EE (٪)	۱/۲۴	۴/۸۱	۴/۸۸
NFC	۴۹/۲۶	۴۳/۱۸	۴۳/۰۵

[1] در هر کیلوگرم مکمل این ترکیات وجود داشت: ویتامین A ۷۵۰۰۰۰ واحد بین¬المللي، ویتامین D3 ۲۰۰۰۰۰ واحد بین¬المللي، ویتامین E ۴۰۰۰ واحد بین¬المللي، منیزیم ۲۰ گرم، سدیم ۶۰ گرم، منگنز ۱۲ گرم، آهن ۶ گرم، مس ۳/۵ گرم، کلسیم ۱۸۰ گرم، روي ۱۷ گرم، کبالت ۵۰ میلیگرم، ید ۱۵۰ میلیگرم، سلنیوم ۱۰۰ میلیگرم و آنتي¬اکسیدان ۳ گرم.

[2] NDF: الیاف حاصل از شوینده خنثی؛ ADF: الیاف نامحلول در شوینده اسیدی؛ EE: عصاره اتری؛ NFC: کربوهیدرات های غیرفیبری.

آبستنی آنها (دوره آزمایش) طی بهمن و اسفند ماه بود. ۳۰ راس بز آبستن شکم اول از نژاد شیری سانن از یک گله مردمی (بخش خصوصی) با شرایط پرورش یکسان که با استفاده از اولتراسونوگرافی خارجی، تشخیص آبستنی شده بودند، طی دو ماه آخر آبستنی به ایستگاه منتقل و به طور تصادفی به سه گروه ده راسی تقسیم شد. دام‌ها طوری تقسیم بندی شدند که میانگین وزن هر گروه یکسان باشد.

جیره‌های مورد استفاده طی دو ماه آخر آبستنی و جیره شیردهی به شرح ذیل بودند:

جیره فاقد منبع چربی خارجی (شاهد منفی)

جیره دارای ۴٪ چربی مکمل اشباع (روغن پالم) با نام تجاری پالمك (شاهد مثبت)

جیره دارای ۴٪ چربی مکمل از منبع دانه بزرك اکسترود شده با نام تجاری omegalin که حدود ۴۵٪ از روغن آن اسید لینولنیك (امگا-۳) می‌باشد. هر ۱۰۰ گرم این ماده در حدود ۱۸/۷ گرم اسید لینولنیك دارد که ۱۵٪ آن قابل دسترس است.

جیره‌ها به گونه‌ای تنظیم شدند که ضمن تامین احتیاجات حیوان بر اساس

جدول ۲- درصد اجزاء خوراك و میزان مواد مغذي محاسبه شده در جیره شیردهی(بر اساس ماده خشك).

ترکیبات جیره	شاهد منفی	شاهد مثبت	امگا-۳
یونجه	۶۱	۲۵	۲۷
کاه گندم	۹	۴۵	۴۳
دانه جو	۲۴/۷	۶/۵	۴/۵
کنجاله سویا	۴/۸	۱۹/۲	۱۳
دانه بذرك	۰	۰	۱۲
پالمك	۰	۴	۰
مکمل ویتامین و مواد معدني	۰/۵	۰/۵	۰/۵
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
میزان مواد مغذي محاسبه شده			
(مگاکالري در کیلوگرم) ME	۲/۲۶	۲/۲۶	۲/۲۶
CP (٪)	۱۴	۱۴	۱۴
(٪) کلسیم	۰/۹۸	۰/۷۰	۰/۷۲
(٪) فسفر	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۷
NDF (٪)	۳۸/۸۱	۴۷/۱۲	۴۶/۸۴
ADF (٪)	۲۶/۷۲	۳۱/۵۶	۳۱/۴۴
EE (٪)	۱/۲۴	۴/۸۱	۴/۸۸
NFC	۴۹/۲۶	۴۳/۱۸	۴۳/۰۵

[1] در هر کیلوگرم مکمل این ترکیات وجود داشت: ویتامین A ۷۵۰۰۰۰ واحد بین¬المللي، ویتامین D۳ ۲۰۰۰۰۰ واحد بین¬المللي، ویتامین E ۴۰۰۰ واحد بین¬المللي، منیزیم ۲۰ گرم، سدیم ۶۰ گرم، منگنز ۱۲ گرم، آهن ۶ گرم، مس ۳/۵ گرم، کلسیم ۱۸۰ گرم، روي ۱۷ گرم، کبالت ۵۰ میلیگرم، ید ۱۵۰ میلیگرم، سلنیوم ۱۰۰ میلیگرم و آنتي¬اکسیدان ۳ گرم.

[2] NDF: الیاف حاصل از شوینده خنثی؛ ADF: الیاف نامحلول در شوینده اسیدی؛ EE: عصاره اتری؛ NFC: کربوهیدرات های غیرفیبری.

(NRC ۲۰۰۷)، تا حد امکان انرژی و پروتئین یکسان داشته باشند (جدول ۱ و ۲). لازم به توضیح است جیره آبستنی از دو ماه آخر آبستنی تا زمان زایش استفاده شد و جیره شیردهی از زمان زایش تا ۴ ماه پس از زایش در اختیار گروه های آزمایشی قرار گرفت.

پس از زایش، تولید شیر تک تک ماده بزها به طور هفتگی و به مدت ۱۲ هفته ثبت گردید. بزها به صورت دستی دوشیده شدند. ۱۲ ساعت پیش از دوشش بزغاله‌ها از مادران جدا شده و شب را در جایگاهی به طور مجزا نگهداری شدند تا دسترسی به شیر مادر نداشته باشند. پس از اعمال تیمارهای غذایی در دو ماه آخر آبستنی، ۲۴ الی ۳۶ ساعت بعد از زایش، دو ماه پس از زایش و چهار ماه پس از زایش از هر کدام از کارتیه‌های بافت پستان نمونه بافت گرفته شد. نمونه‌های بافتی با استفاده از سوزن بیوپسی نیمه اتوماتیک با گیج ۱۴ برداشته شدند، بدین صورت که ابتدا دام مهار و دوشیده شد به‌طوری‌که کمی شیر در پستان باقی بماند، سپس پستان ابتدا با آب گرم و سپس با بتادین اسکراب شستشو داده شد. پس از آن موهای قسمت عقبی پستان تراشیده شده و با مقدار کافی بتادین شستشو داده شد و با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی گردید. سپس ۲/۵ سی‌سی ماده بی‌حسی (لیدوکائین هیدروکلراید دو درصد) به زیر پوست در کل پستان تزریق و کمی ماساژ داده شد و از ناحیه‌ای در میانه کارتیه و حدود شش سانتی‌متر پایین‌تر از قاعده پستان، بین محل اتصال پستان با بدن و فضای سیسترنال پستان، نمونه‌گیری انجام شد. سپس هر کارتیه با دست دوشیده شد تا لخته‌های خون تشکیل شده، از طریق نوک پستان خارج شوند و لخته‌ای در پستان باقی نماند و سپس پنج سی‌سی ویتامین K به حیوان تزریق گردید. در هر بار نمونه‌گیری بین ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم از بافت پستان با طول تقریبی دو سانتی‌متر و قطر حدود ۰/۲ میلی‌متر برداشته شد. نمونه‌ها پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک، در کرایوتیوپ‌های عاری از DNase و RNase قرار داده شده و بلافاصله در

جدول ۳-توالی آغازگرهای مورد استفاده در واکنش‌های Real- time PCR.

شماره مرجع	آغازگر(5'به3')	جهت	طول توالی	نام ژن
XM_ ۰۰۵۶۸۰۹۶۸	ATCTCGCTCCTGGAAGATG	Forward	۲۲۷ bp	*GAPDH*
	TCGGAGTGAACGGATTCG	Reverse		
XM_۳. ۰۰۵۶۸۰۵۳۹	TGCTCTCCAGTTCGTGTG	Forward	۱۴۲bp	*IGF1*
	CATCTCCAGCCTCCTCAG	Reverse		
HM۱. ۴۶۲۲۶۰,۱	GGCAGTGAGTCGGAAGAAGA	Forward	۹۵bp	*IGFBP-3*
	GCGAGGTGGGATTTGGAGT	Reverse		
XM_۱. ۰۱۸۰۵۴۲۶۵	AGAGAGACTCCCGTGAGCAT	Forward	۱۶۰bp	*IGFBP-5*
	ACGAACTTGGACTGGGTCAG	Reverse		

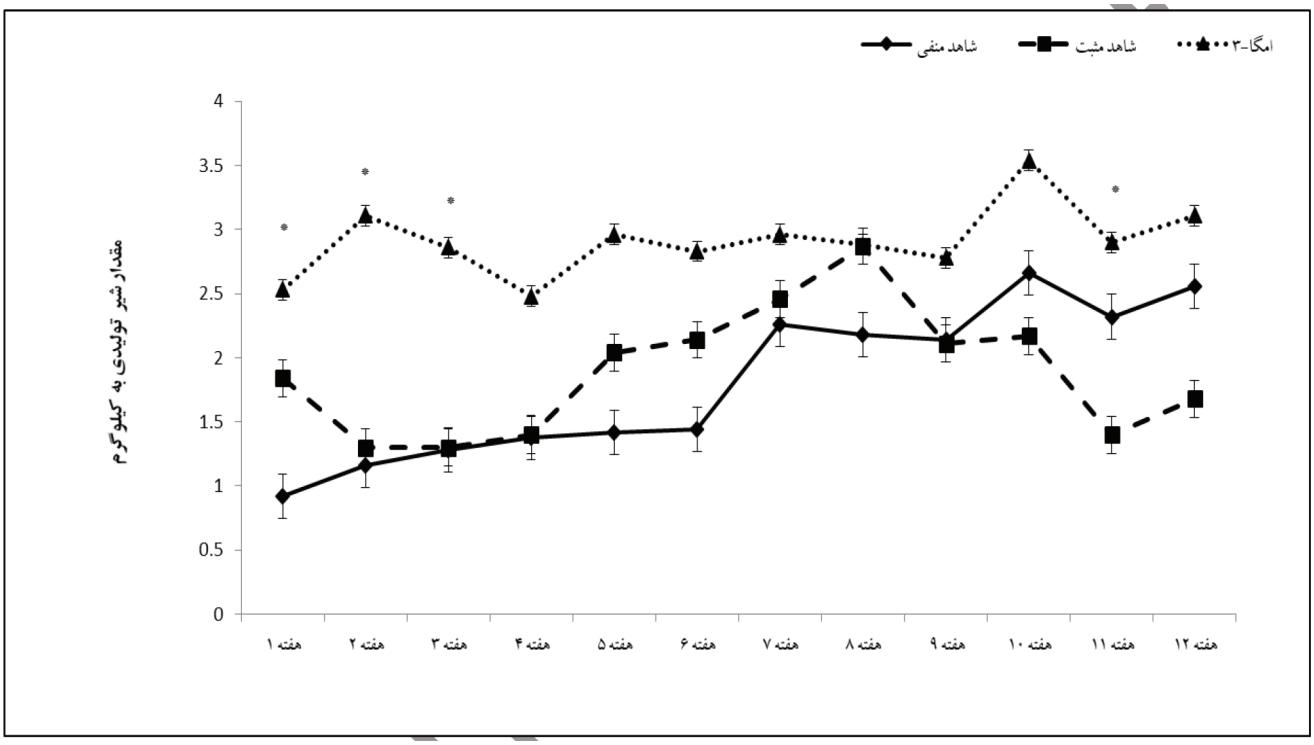
جدول ۴- میانگین تولید شیر، میزان خوراک مصرفی و وزن بدن در کل دوره (میانگین± اشتباه معیار).

فراسنجه				SEM	P Value		
	شاهدمنفی	امگا-۳	شاهد مثبت		امگا-۳VSشاهدمنفی	شاهدمثبتVSامگا-۳	شاهدمثبتVSشاهدمنفی
(تولید شیر روزانه (کیلوگرم	۱/۸۸	۲/۹۱	۱/۸۹	۰/۳۹	۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۹۸
(وزن بدن در کل دوره (کیلوگرم	۳۲/۸۲	۳۵/۱۳	۲۹/۶۸	۳/۳۴	۰/۶۴	۰/۲۳	۰/۵۴
(مصرف خوراک (کیلوگرم	۱/۳۲	۱/۵۹	۱/۳۲	۰/۰۶	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۹۴

معني‌داري در سطح ۵ درصد(p<۰/۰۵) در نظر گرفته شده است.

نیتروژن مایع انداخته شد. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، نمونه‌ها در فریزر۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز قرار داده شدند از نمونه‌های بافت پستان حاصل از سه بیوپسی با فاصله‌ی تقریباً دو ماهه که در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شده بودند، برای بررسی بیان ژن‌های *IGFBP3*، *IGF-1* و *IGFBP5* استفاده گردید. استخراج RNA کل از بافت پستان طبق دستورالعمل کیت استخراج SV Total RNA Isolation System (پرومگا، آمریکا) صورت گرفت. ارزیابی کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با روش الکتروفورز روی ژل آگارز و نانودراپ صورت گرفت. در ادامه، RNA استخراج شده با آنزیم DNaseI عاری از RNase از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب‌کننده RNA پاکسازی شد. برای سنتز cDNA از کیت سنتز cDNA شرکت ترمو فیشر (آمریکا) RevertAidTM H Minus First Strand cDNA Synthesis) Kit) استفاده شد. از هر نمونه ۲ میکروگرم از RNA کل جهت سنتز cDNA استفاده شد. طراحی آغازگرها به منظور بررسی بیان ژن های مورد مطالعه در این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار Primer premier نسخه ۵ (پرایمر بایوسافت، آمریکا) انجام شد و توسط شرکت سیناکلون (ایران) ساخته شد. توالی آغازگرهای استفاده شده برای بیان ژن های مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. جهت انجام واکنش Real Time PCR از کیت SYBER Green qPCR Master Mixes ساخت شرکت ترمو فیشر (آمریکا) استفاده شد. واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Maxima® SYBER Green'ROX qPCR Master Mix (2X)، ۰/۷۵ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت (۱۰ پیکو مول)، یک میکرولیتر cDNA الگو و ۱۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر بود. هر واکنش به صورت سه تکرار صورت گرفت. به منظور تهیه نمونه کنترل منفی برای انجام واکنش Real Time PCR به تیوپ دیگر، به جای cDNA آب دوبار تقطیر اضافه گردید و در ادامه نمونه‌ها در دستگاه Lightcyclear96 (رش، آلمان) با برنامه حرارتی زیر جهت اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌ها قرار داده شدند.

واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه، ۴۰ سیکل واسرشت‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه، دمای اتصال ۶۰ برای ۳۰ ثانیه و گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۳۰ برای ثانیه انجام شد. نمودار ذوب برای بررسی درستی داده‌ها رسم شد. در پژوهش حاضر، تغییرات نسبی بیان ژن‌ها نسبت به ژن *GAPDH* (ژن مرجع) نرمال شد. بیان نسبی ژن‌ها نسبت به *GAPDH* به روش $2^{-\Delta\Delta ct}$ محاسبه شد (۲۲). در روش فوق فرض بر این است که بازدهی ژن‌های مورد نظر نزدیک به ۱۰۰درصد است و برای این منظور از منحنی



نمودار ۱- مقایسه روند تغییرات تولید شیر بین سه گروه آزمایشی طی ۱۲ هفته پس از زایش. معنی‌داری در سطح ۵ درصد($p<0/05$) در نظر گرفته شده است.

استاندارد استفاده می‌شود. در این روش رقت‌های مختلفی از cDNA تهیه و برای آن‌ها Real time PCR گذاشته می‌شود.

تحلیل آماری داده‌ها

کل اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی با اندازه‌های تکرار شونده درزمان (Repeated Mesurement) آنالیز گردید. مدل آماری شامل اثرات ثابت جیره، زمان نمونه‌گیری و برهمکنش آنها و اثرات تصادفی بز در درون جیره‌ها و ساختار مدل خودبرگشتی بود. در جداول نتایج حداقل مربعات میانگین‌ها به همراه خطای میانگین استاندارد گزارش شده‌اند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی انجام و سطح معنی‌داری ۵٪ در نظر گرفته شد. مدل ریاضی طرح به صورت زیر است:

$$Yijk= \mu+Ti+ A (i)j+Sk+ (T\times S)jk+\varepsilon ijk$$

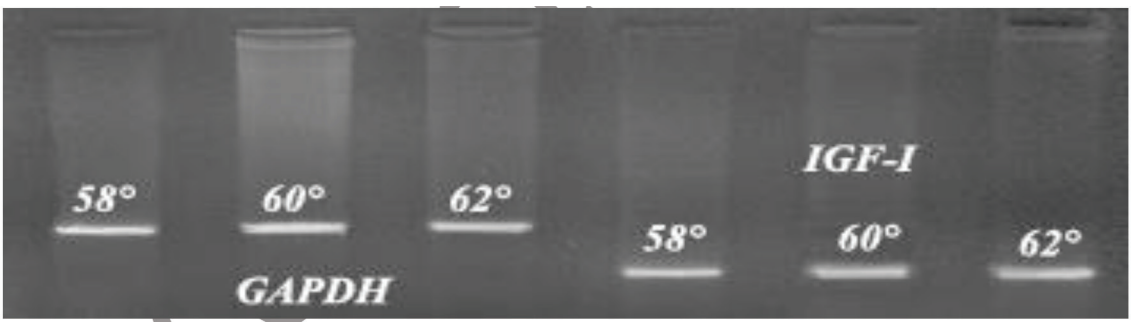
که در آن:

Yijk= هر مشاهده از آزمایش؛ μ = میانگین جامعه؛ Tj= اثر تیمار؛ A (i)j= اثر تصادفی حیوان در تیمار؛ Sk= زمان نمونه‌گیری؛ (T×S) jk= اثر متقابل تیمار در زمان نمونه‌گیری و εijk= اثر باقی مانده یا خطای آزمایش می‌باشند.

نتایج و بحث

همانگونه که در جدول ۴ مشاهده می‌شود از نظر وزن بدن در کل دوره بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). میزان مصرف خوراک در گروه آزمایشی امگا-۳ بطور معنی‌داری بالاتر از گروه‌های آزمایشی شاهد منفی و مثبت بود (P<۰/۰۱)، ولیکن بین دو گروه شاهد مثبت و منفی تفاوت معنی‌داری از نظر مصرف خوراک وجود نداشت (P>۰/۰۵). روند تغییرات هفتگی تولید شیر بین سه گروه آزمایشی طی ۱۲ هفته پس از زایش در نمودار ۱ نشان داده شده است. ملاحظه می‌گردد که با وجود آنکه تنها در ۴ هفته از ۱۲ هفته تولید شیر بین گروه‌ها تفاوت معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵) با این حال گروه آزمایشی امگا-۳، از ابتدای شیردهی تا هفته دوازدهم، تولید شیر خود را در سطح نسبتاً ثابتی حفظ نموده و نوسان چندانی در تولید این گروه دیده نمی‌شود. اما برای دو گروه دیگر، هم تولید کمتر و هم نوسانات بیشتری در تولید شیر وجود دارد مخصوصاً برای گروه شاهد مثبت که بعد از هفته هشتم افت تولید شیر کاملاً محسوس است.

نتایج ضد و نقیضی در رابطه با تاثیر استفاده از مکمل‌های چربی غیراشباع بر میزان تولید شیر در گاو گزارش شده است. Heravi Mousavi و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از مکمل‌های چربی غیراشباع، افزایش تولید شیر را مشاهده نمودند در حالیکه به گزارش Bharathan و همکاران (۲۰۰۸)، Abu-Ghazaleh و همکاران (۲۰۰۲) و Mattos و همکاران (۲۰۰۲) تولید شیر چندان تحت تأثیر مکمل‌های چربی غیراشباع قرار نگرفت. نسبت علوفه به کنسانتره، مرحله شیردهی و ترکیب جیره همگی متغیرهایی هستند که می‌توانند بر میزان تولید شیر در پاسخ به افزودن مکمل‌های چربی حاوی امگا-۳ نقش داشته باشند (۱۸) در مطالعه حاضر، با توجه به افزایش معنی‌دار مصرف ماده خشک در گروه مصرف‌کننده دانه بزرك (کتان)، شاید بتوان افزایش تولید شیر را به آن ربط داد، اگر چه هنوز در ارتباط با اینکه آیا مصرف خوراک بر تولید شیر اثر می‌گذارد یا اینکه متاثر از آن است بحث و اختلاف نظر وجود دارد، ولیکن بر اساس تئوری تنظیم انرژی مصرفی، دام‌ها برای تأمین نیازهای انرژی خود غذا می‌خورند و بنابراین می‌توان مصرف خوراک را متاثر از تولید شیر دانست. افزایش مصرف خوراک در گروه دریافت کننده امگا-۳، از سویی موجب افزایش فراهمی گلوکز به منظور ساخت لاکتوز و تولید شیر شده و از سوی دیگر با صرفه‌جویی در مصرف گلوکز توسط دیگر بافت‌ها، موجب هدایت میزان بیشتری گلوکز به غده پستان به منظور تولید لاکتوز و در نتیجه تولید شیر می‌شود. چربی‌های گیاهی و حیوانی در شکمبه تحت تأثیر لیپاز میکروبی هیدرولیز شده و گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد تولید می‌کنند. چنانچه این اسیدهای چرب غیر اشباع بوده وکمتر از ۲۰ کربن طول داشته باشند، پیش از رسیدن به روده کوچک هیدروژنه



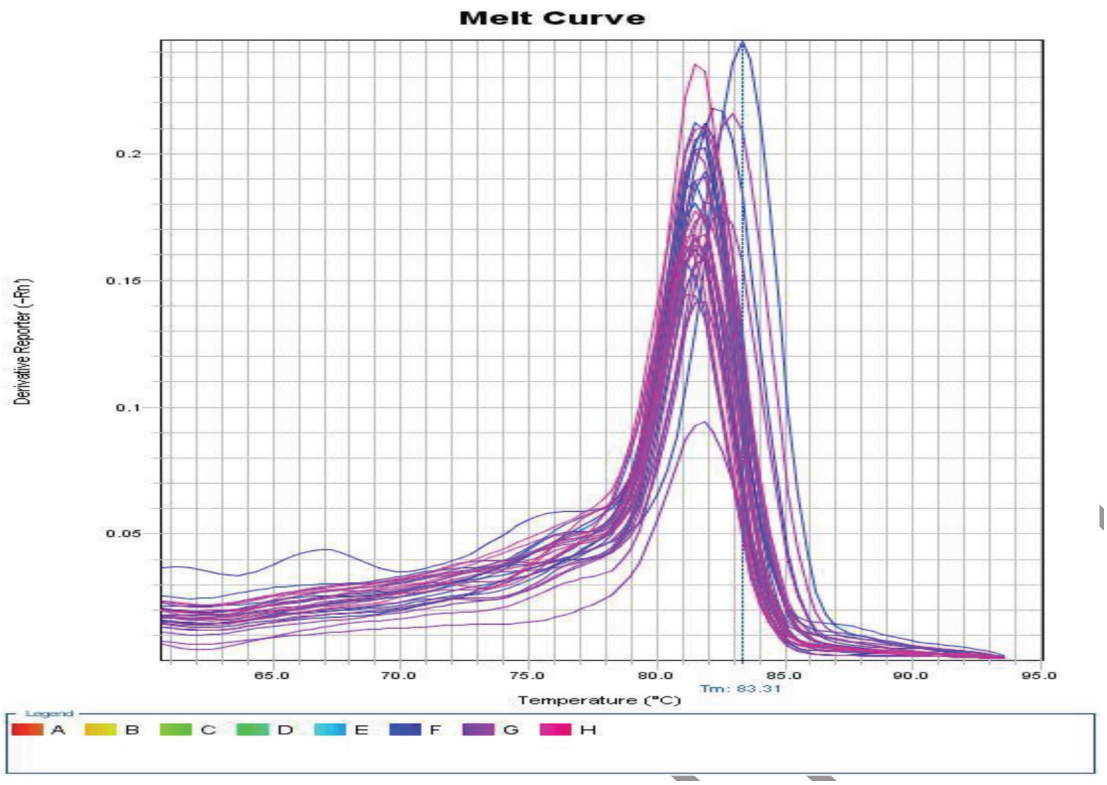
شکل۱-محصولات واکنش PCR ژن‌های *IGF-I* و *GAPDH*.

می‌شوند. این اسیدهای چرب واکنش‌پذیر، الگوی تخمیر شکمبه‌ای رابه گونه‌ای تغییر می‌دهند که نسبت پروپیونات به استات افزایش می‌یابد. گلیسرول نیز سریعاً به پروپیونات تبدیل می‌شود که گلوکوژنیک است (۳۱). همچنین افزایش تولید برای گروه امگا-۳ را می‌توان به افزایش بازده ساخت شیر در این حیوانات نیز نسبت داد، چرا که با افزودن مکمل‌های حاوی اسیدهای چرب بلندزنجیر چند غیراشباع به جیره، مقدار این اسیدهای چرب در چربی شیر افزایش و مقدار اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیر کاهش می‌یابد (۱۵) و در نتیجه نیاز به ATP و NADPH برای ساخت این اسیدهای چرب کاهش یافته و انرژی بیشتری صرف تولید شیر شده و در نهایت این نکته را نیز نبایستی از نظر دور داشت که جایگزین ساختن کربوهیدرات‌های جیره با مکمل چربی موجب می‌شود تا میزان تولید حرارت ناشی از سوخت و ساز کاهش‌یافته و لذا بازده صرف انرژی برای تولید شیر افزایش یابد (۵). تمامی موارد فوق در نهایت منجر به افزایش تولید شیر می‌شوند.

نتایج حاصل از اعداد جذب نمونه‌های RNA استخراج شده در طول موج‌های ۲۶۰/۲۸۰ در محدوده ۱/۹-۱/۸ بود که نشان‌دهنده کیفیت مطلوب RNA استخراج شده بود. نتایج منحنی Real Time PCR و محصولات PCR روی ژل آگارز نشان دادند که ژن‌های مورد مطالعه و GAPDH در بافت پستان تکثیر شده است (شکل۱). به منظور تعیین دمای بهینه اتصال پرایمرهای اختصاصی، یک واکنش PCR با شیب دمایی ۵۸ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ درجه سانتی‌گراد و ۶۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. با توجه به این که ژن‌های مورد مطالعه بهترین باند را در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نشان دادند این دما برای اتصال پرایمرها انتخاب شد.

در طی انجام واکنش Real-time PCR میزان تغییرات نور فلورسنت در هر سیکل به صورت منحنی تکثیر نشان داده می‌شود. برای منحنی تکثیر همه نمونه‌ها، یک حد آستانه در فاز نمایی تعریف شد که نشان‌دهنده سیکلی می‌باشد که در آن شدت نور فلورسنت ساطع شده از تکثیر واکنش به حد آستانه رسیده است. منحنی ذوب (دمایی است که در آن نیمی از محصول از حالت دو رشته‌ای خارج شده است) ژن‌های مورد مطالعه که در شکل ۲ نشان داده شده است اختصاصی بودن واکنش Real Time PCR را نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از بیان ژن در جدول ۵ و روند تغییرات ژن‌ها در نمودار ۲ آورده شده‌اند. همان‌گونه که در جدول ۵ ملاحظه می‌شود بین تیمارها از نظر بیان ژن‌های *IGFBP-3*، *IGF-I* و *IGFBP-5* تفاوت معنی‌داری



شکل۲-منحنی ذوب واکنش Real-Time PCR.

وجود نداشت. همچنین برهمکنش بین تیمار و زمان نیز برای هیچکدام از ژن‌های فوق معنی‌دار نبود واثر زمان تنها برای ژن *IGFBP-3* معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). همچنین بیان ژن *IGF-I* بین سه گروه آزمایشی در هیچ یک از دوره‌های نمونه‌گیری معنی‌داری نشد ولیکن روند تغییرات این ژن نشان می‌دهد که گروه شاهد مثبت که مکمل چربی اشباع دریافت نموده بود از دو تیمار آزمایشی دیگر بیان ژن بالاتری داشت. همچنین بیان این ژن در دو گروه آزمایشی شاهد مثبت و امگا-۳ در تمام دوره‌های نمونه‌گیری روند ثابت و یکنواختی را نشان داد اما در گروه آزمایشی شاهد منفی بیان این ژن یک روند صعودی را از نمونه‌گیری دوم به بعد به نمایش گذاشت (نمودار ۲).

IGFها توسط اکثر بافت‌های بدن ساخته می‌شوند و در آنها به روش اتوکرین یا پاراکرین عمل می‌کنند. mRNA ی IGF-I در بخش استرومایی غده پستان و نه در قسمت‌های اپیتلیال آن متمرکز شده است. بنابراین، به نظر می‌رسد که قسمت‌های استرومایی غده پستان مسئول سنتز موضعی IGF-I باشند (۲۶). در مطالعه جواهری بارفروشی و همکاران (۱۳۹۵) مشاهده شد که مصرف اسیدهای چرب اشباع در مقایسه با اسیدهای چرب غیر اشباع موجب ایجاد تغییر در درصد ناحیه اشغال شده توسط سلول‌های اپیتلیال و استروما می‌شود به طوری که در گروه مصرف‌کننده چربی اشباع درصد بافت اپیتلیال پستان کاهش و درصد استروما افزایش یافت. این نتایج در تایید نتایج حاصل از مطالعه Nakagawa و همکاران (۲۰۱۰) است که بر تولید IGF-I از بافت استرومایی تاکید داشتند. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز با نتایج قبلی مطابقت دارد. شاید بتوان دلیل آن را ذخیره‌شدن چربی در بخش استرومایی غده پستان در نتیجه مصرف چربی اشباع و توسعه این بخش در قیاس با بخش اپیتلیالی پستان دانست. چرا که مقدار mRNA برای IGF-I در بخش استرومایی پستان بالاتر است. این امر می‌تواند از رشد و نمو بخش اپیتلیالی پستان ممانعت نموده و در تولید شیر آتی حیوان اثر نامطلوبی بر جای گذارد. تجمیع این آثار را می‌توان در نمودار ۲ مشاهده نمود که در آن تولید شیر برای گروه شاهد مثبت از هفته هشتم شیردهی به بعد افت چشم‌گیری یافته است. با اینحال برای اظهارنظر دقیق در این زمینه نیاز به مطالعه و تحقیق بیشتری است. برخی از مطالعات اثرات تحریکی IGF-I بر ساخت DNA یا بر افزایش تعداد سلول‌ها در شرایط برون تنی در غده پستان نشخوارکنندگان را گزارش نموده‌اند (۱۷). اثر محرک رشد IGF-I نه به مقدار آن بلکه به آن دوره زمانی که بافت تحت تأثیر آن قرار می‌گیرد، بستگی دارد، به طوری که در بافت پستانی گوسفندان غیر آبستن یا در اوایل آبستنی این تأثیر حداقل ولی در اواخر آبستنی اثر آن (در واقع پاسخ دهی بافت به IGF-I) در حداکثر مقدار خود بود. IGF-I موجب پیشبرد تکثیر و بقای سلول‌های اپیتلیال پستان می‌شوند اما در همین زمان به تمایز سلول‌ها آسیب می‌زند.

بیان ژن IGFBP-۳ دربین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت. اما بیان این ژن باگذشت زمان دچار تغییر شد (P<۰/۰۵). این تغییر در زمان نمونه‌گیری دوم یعنی حدود دو ماه پس از زایش و بین گروه‌های شاهد مثبت و امگا-۳ نزدیک به معنی‌داری بود (P=۰/۰۷). در این دوره نمونه‌گیری که همزمان با اوج شیردهی حیوان است، بیان ژن IGFBP-۳ در گروه امگا-۳ در پایین‌ترین مقدار نسبت به دو گروه دیگر بود. تغییرات بیان این ژن برای دو گروه دیگر مشابه تغیرات بیان ژن IGF-I بود (نمودار ۲).

وضعیت تغذیه‌ای یکی از تنظیم‌گران مقادیر IGF-I و IGFBPs خون می‌باشد. محرومیت گاوهای شیرده از خوراک به مدت دو روز عیار IGF-I سرم را کاهش داده بنابراین عیار خونی پایین‌تر برای IGF-I که در اوایل شیردهی و نه در اواخر آن قابل مشاهده است ممکن است انعکاسی از تعادل منفی انرژی گاو طی اوایل شیردهی باشد (۱۱). Plath-Gabler و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که بالاترین میزان غلظت mRNA ی IGF-I در بافت پستان تلیسه‌های باکره و تلیسه‌های آبستن شکم اول دیده شد. بیان این ژن به طور معنی‌داری طی لاکتوژنز و گالاکتوپوئز کاهش یافته و سپس طی پسرفت پستان مجدداً افزایش یافت. غلظت mRNAی IGFBP-3 تنها در اوایل ماموژنز قابل ملاحظه بوده و سپس طی لاکتوژنز و پسرفت به طور معنی‌داری کاهش‌یافته و به حداقل مقدار خود رسید. در مطالعه حاضر نیز روند کاهشی بیان ژن IGFBP-3 با نزدیک شدن به پیک تولید حیوان قابل مشاهده است (نمودار ۲). این کاهش در میزان بیان به ویژه برای گروه امگا-۳ نسبت به دو گروه دیگر بیشتر است. یکی از دلایل احتمالی این امر را شاید بتوان با توجه به

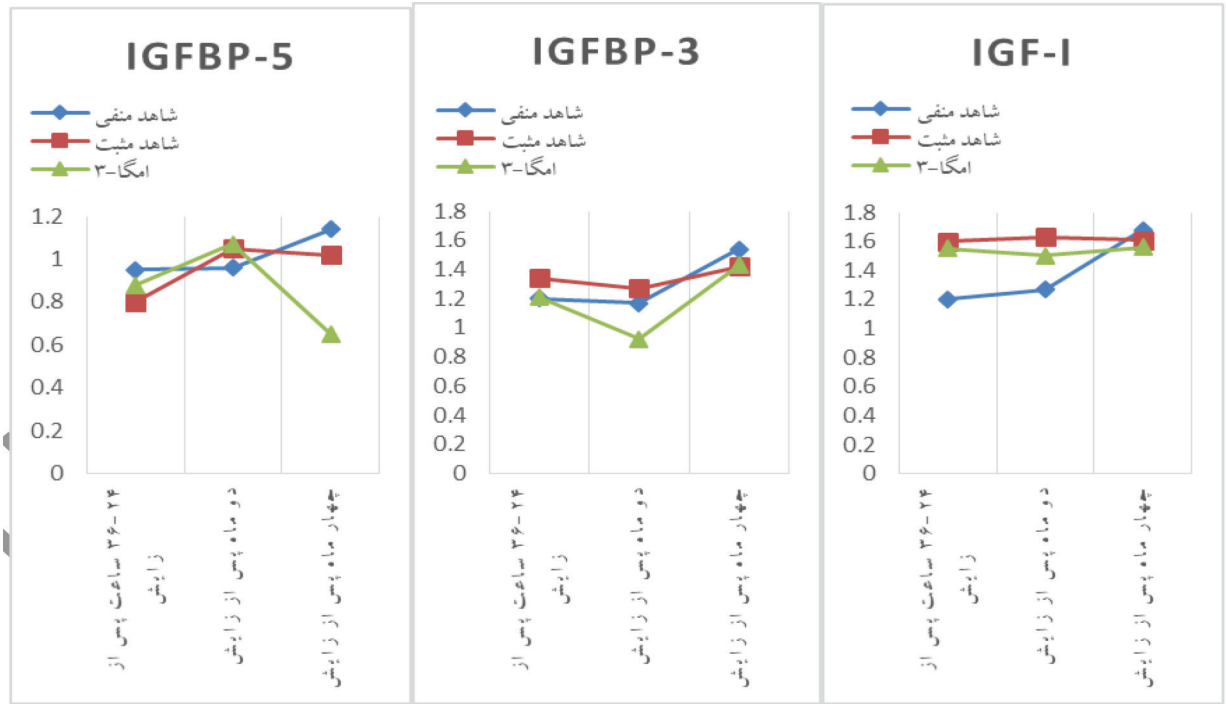
جدول۵- بیان ژن های مورد بررسی در سه گروه آزمایشی در کل دوره (LSMeans±SEM).

ژن				SEM			
	شاهد منفی	شاهد مثبت	امگا-۳		تیمار	زمان	زمان× تیمار
IGF1	۱/۴۷	۱/۶۱	۱/۵۴	۰/۰۷	۰/۴۷	۰/۵۶	۰/۷۴
IGFBP-3	۱/۳۰	۱/۳۴	۱/۱۸	۰/۰۷	۰/۳۶	۰/۰۲	۰/۵۷
IGFBP-5	۱/۰۲	۰/۹۶	۰/۸۷	۰/۰۶	۰/۶۶	۰/۴۵	۰/۳۵

نقش IGFBP-3 درتشدید اثر IGF-I بر تکثیر سلولی عنوان نمود. از آنجا که با شروع لاکتوژنز و آغاز شیردهی، ماموژنز در بافت پستان به پایان رسیده و یا در حداقل مقدار قرار دارد، بنابراین بیش از این نیازی به بیان IGF-I و IGFBP-3 نمی‌باشد، چرا که تکثیر سلولی به پایان رسیده و از این پس لازم است تا سلول‌های تشکیل شده به عنوان یه واحد تخصصی تولیدکننده شیر تکامل‌یافته و فعالیت ترشحی خود را آغاز نمایند. Finucane و همکاران (۲۰۰۸)، نیز نشان دادند همزمان با آغاز شیردهی بیان ژن‌های درگیر در سنتز ترکیبات شیر افزایش‌یافته و همزمان از بیان ژن‌های درگیر رشد وتوسعه سلولی ممانعت می‌گردد. از سوی دیگر هم IGF-I و هم IGFBP-3 علاوه بر تحریک تکثیر سلولی، در حفظ وضعیت موجود و کنترل فرآیند آپوپتوز نیز نقش قابل ملاحظه‌ای دارند (۲۱). منطقی به نظر می‌رسد بعد از پیک شیردهی که روند آپوپتوز سلول‌های اپیتلیال پستان شدت می‌یابد، کاهش تولید شیر روی دهد. گزارش شده IGFBP-3 در این مورد نقش تعدیل‌کنندگی دارد. یعنی در مواردی که بیان IGF-I بالاست و بافت در مرحله تکثیر سریع سلولی قرار دارد، اثرات IGF-I را تشدید می‌کند، اما زمانی‌که بافت به حد نهایی رشد خود رسید، با فعال سازی TNF-a مانع از تکثیر بی‌رویه و کنترل نشده سلولی شده و وضعیت موجود سلولی را حفظ می‌نماید (۲۰).

در مطالعه حاضر مشاهده می‌شود که بیان IGFBP-5 در دو گروه شاهد مثبت و امگا-۳ تا پیک شیردهی افزایش اندکی یافت و پس از آن روند کاهشی را در پیش گرفت که این روند به خصوص برای گروه امگا-۳ با شیب بیشتری همراه بود (نمودار ۲). گزارش شده که IGFBP-5 با تعدیل فعالیت IGF-I موجب تنظیم آپوپتوز در بافت‌ها می‌شود (۲۳). در واقع با استفاده از مدل‌های آزمایشگاهی ترانس ژنیک مشخص شد که IGFBP-5 فعالیت IGF-I را مهار می‌کند (۱۷). بنابراین قابل انتظار است که با نزدیک شدن به پایان دوره شیردهی بیان این ژن افزایش یابد، همانگونه که برای گروه شاهد منفی دیده می‌شود. اما آنچه که برای گروه امگا-۳ قابل مشاهده است کاهش قابل‌ملاحظه بیان این ژن ۴ ماه پس از آغاز شیردهی است. برای پاسخ به دلیل آن نیازمند در نظر گرفتن آثار متقابل کلیه ژن‌های دخیل در شبکه ژنی پستان می‌باشیم .

اطلاعات چندانی در خصوص بیان ژن‌های مرتبط با رشد سلول در شرایط نرمال و در حیوان سالم به ویژه در یک بافت سالم و دارای تولید مانند غده پستان در دست نیست. عمده مطالعات بر تومورهای پستان و اثر اسیدهای چرب غیر اشباع به ویژه خانواده امگا-۳ بر از بین بردن سلول‌های سرطانی متمرکز شده‌اند. پژوهش حاضر نشان داد که با استفاده از اسیدهای چرب امگا-۳ در زمانی که دوره بحرانی رشد پستان محسوب می‌شود، یعنی اواخر آبستنی اول، می‌توان افزایش تولید شیر را انتظار داشت که این افزایش تولید در کل دوره نه به واسطه افزایش تولید به تنهایی، بلکه بیشتر به دلیل حفظ تداوم شیردهی (گالاکتوپوئز) است. دلیل احتمالی آن را می‌توان در بلوغ زودهنگام بافت پستانی



نمودار۲ -تغییرات بیان ژن های مورد مطالعه در زمان های نمونه گیری.

پیش از زایش در گروه امگا-۳ دانست به طوری که در زمان زایش بخش اپیتلیالی پستان که در واقع بخش تولیدکننده شیر است به حداکثر رشد و تمایز خود رسیده است. از سوی دیگر اسیدهای چرب امگا-۳ با کنترل روند آپوپتوز در غده پستان (۱) موجب حفظ سلول‌های اپیتلیالی در پستان برای مدت طولانی‌تری شده و شیب نزولی منحنی شیردهی را کاهش داده و در نتیجه تداوم شیردهی را موجب خواهد شد.

پاورقی ها

1. Insulin- like growth factor- I (IGF-I) and –II (IGF-II).
1. Epidermal growth factor (EGF).
1. Fibroblast growth factors (aFGF and bFGF).
1. Transforming growth factor (TGFα and TGFβ).
1. Platelet- derived growth factor (PDGF).
1. Mammary- derived growth factor-1(MDGF-1).
1. Type 1 receptor.
1. Valorex محصول شرکت فرانسه.

منابع مورد استفاده

1-Javaheri Barforoush, H. 2016.The effect of omega3 nutrition. the growth and development of breast tissue to improve lactation in pregnant dairy goats in the first abdomen.Final Report of the Research Project.ASRI.

2-Abu-Ghazaleh, A. A., D. J. Schingoethe, A. R. Hippen, K. F. Kalscheur and L. A. Whitlock. 2002. Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. *Journal of Dairy Science*85: 2266-2276.

3-Akers, R. M., A. V. Capuco and J. E. Keys. 2006. Mammary histology and alveolar cell differentiation during late gestation and early lactation in mammary tissue of beef and dairy heifers. *Livestock Science* 105:44-49.

4-Akers, R.M., S.E. Ellis, S.D. Berry. 2005. Ovarian and IGF-I axis control of mammary development in prepubertal heifers. *Domestic animal endocrinology*. 29:259-267.

5-Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 83:1598-1624.

6-Anderson, B.M., M.B. MacLennan., L.M. Hillyer and D.W Ma. 2014. Lifelong exposure to n-3 PUFA affects pubertal mammary gland development. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism.* 39:699-706.

7-Bao, Z., J, Lin., L, Ye., Q. Zhang., J. Chen., Q. Yang and Q. Yu. 2016. Modulation of mammary gland development and milk production by growth hormone expression in GH transgenic goats. *Frontiers in physiology*. 7:278-285.

8-Bauman, D.E., L. H. Baumgard, B.A.corl, and J. M. Griinari. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceeding of the American society of animal science*.

9-Bauman, D.E., I.H. Mather, R.J. Wall, and A.L. Lock. 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science* 89:1235-1243.

10-Bharathan, M., D. J. Schingoethe, A.R. Hippen, K. F. Kalscheur, M.L. Gibson and K. Karges. 2008. Conjugated linoleic acid increases in milk from cows fed condensed corn distillers solubles and fish oil. *Journal of Dairy Science* 91: 2796-2807.

11-Davis Rincker, L. E., M.S. Weber Nielsen., L.T. Chapin., J.S. Liesman., K.M. Daniels., R.M. Akers, and M.J. VandeHaar. 2008. Effects of feeding prepubertal heifers a high-energy diet for three, six or twelve weeks on mammary growth and composition. *Journal of. Dairy Science.* 91:1926-1935.

12-Dessauge, F., L. Fiont, S. Wiart, J. M. Aubry and S. E. Ellis. 2009. Effects of ovariectomy in prepubertal goats. *J. Physiol. Pharmac*. 60(Suppl.3): 127-133.

13-Didarkhah, M., M. Vatandoost, E. Dirandeh and N. Dadashpour Davachi. 2020. Effects of Flaxseed-rich Diet on Reproductive Performance in Estrous-synchronized Baluchi Ewes. *Archives of Razi Institute.* 75: 397-404.

14-FAO. 2012. Food and Agriculture organization of the United Nations. http://www.fao.org.

15-Fatahnia, F., A. Nikkhah, M. J. Zamiri and D. Kahrizi. 2008. Effect of dietary fish oil and soybeen oil on milk production and composition of Holstein cows in early lactation. *Asian- Australian Journal of Animal Science* 21: 386-391.

16-Finucane , K.A., T.B. McFadden., J.P. Bond., J.J. Kennelly and F.Q. Zhao. 2008. Onset of lactation in the bovine mammary gland: Gene expression profiling indicates a strong inhibition of gene expression in cell proliferation. *Function Integration Genomics* 8 : 251-264

17-Flint, D. J., M. Boutinaud, E. Tonner, C. J. Wilde, W. Hurley, P.A. Accorsi, A.F. Kolb, C. B. A. Whitelaw, J. Beattie, and G. J. Allan. 2005. Insulin-Like growth factor binding proteins initiate cell death and extracellular matrix remodeling in the mammary gland. *Domestic Animal Endocology*. 29: 274-282.

18-Heravi Mousavi, A. R., R.O. Gilbert, T.R. Overton, D. E.Bauman and W.R. Butler. 2007. Effects of feeding fish meal and n-3 fatty acids on milk yield and metabolic responses in early lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90: 136-144.

19-Hurley, W.L. 2009. Mammary gland anatomy of cattle. Lactation biology website.

20-Husvéth F. 2011. Physiological and reproductional aspects of animal production Master thesis, Debrecen University University

of West Hungary, Pannon University.

21-Leibowitz, B.J and Cohick, W.S. 2009. Endogenous IGFBP-3 is required for both growth factor-stimulated cell proliferation and cytokine-induced apoptosis in mammary epithelial cells. *Journal of Cell Physiology*. 220:182–8.

22-Livak, K. J., and T. D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2−ΔΔCT method. *Methods* 25: 402-408.

23- Marshman,E., K.A. Green, D.J. Flint, A. White, C.H. Streuli, M. Westwood.2003.Insulin-like growth factor binding protein 5 and apoptosis in mammary epithelial cells. *Journal of Cell Science* 116: 675-682.

24-Mattos, R., C. R. Staples, J. Williams, A. Amorocho, M. A. McGuire and W.W. Tatcher. 2002. Uterine, ovarian, and production responses of lactating dairy cows to increasing dietary concentrations of menhaden fish meal. *Journal of Dairy Science* 85: 755-764.

25-Moallem, U. 2009. The effects of extruded flaxseed supplementation to high-yielding dairy cows on milk production and milk fatty acid composition. *Animal Feed Science and Technology* 152:232-242.

26-Nakagawa T., Sakamoto T., Hiraumi H., Kikkawa Y. S., Yamamoto N., Hamaguchi K., et al. 2010. Topical insulin-like growth factor 1 treatment using gelatin hydrogels for glucocorticoid-resistant sudden sensorineural hearing loss: a prospective clinical trial. *BMC Med.* 8:76 10.1186/1741-7015-8-76

27-Plath-Gabler, A., C. Gabler, F. Sinowatz, B. Berisha and D. Schams. 2001. The expression of the IGF family and GH receptor in the bovine mammary gland. *Journal of Endocrin*ol. 168: 39-48.

28-Purup, S., M. Vestergaard., M.S. Weber., K. Plaut., R.M. Akers, and K. Sejrsen. 2000. Local regulation of pubertal mammary growth in heifers. *Journal of Animal Science*. 78(Suppl.3):36-47.

29-Sejrsen, K., S. Purup., M. Vestergaard and J. Foldager. 2000. High body weight gain and reduced bovine mammary growth: physiological basis and implications for milk yeild potential. *Domestic animal endocrinology*. 19:93-104.

30-Thibault, C., D. Petitclerc, R, Spratt, M. Leonard, K. Sejrsen, and P.Lacasse.2003.Effect of feeding prepubertal heifers with high oil diet on mammary development and milk production. *Journal of Dairy Science* 86:2320-2326.

31-Thomas, M. G., B. Bao and G. L. Williams. 1997. Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets.*Journal of Dairy Science*75: 2512-2519.

32-Weber, M.S., S. Purup., M. Vestergaard., R.M. Akers and K. Sejersen. 2000. Nutritional and somatotropin regulation of mitogenic response of mammary cells to mammary tissue extracts. Domestic *Animal Endocrinology*. 18:159-164.