Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

Print ISSN: 2345 - 4261
Online ISSN: 2345 - 4253

Effects of protein levels and glutamine supplementation on hematological parameters, some inflammatory and immune indicators of Afshari fattening male lambs under heat stress condition

Hadi Mohamadzadeh[1*], Asadollah Teimouri Yansari[2], Eissa Dirandeh[3]

[1] PhD student in Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of animal Science and Fishery, University of Agriculture and Natural Resources Sari, Sari, Iran, Email: hmohamadzadeh2003@gmail.com

[2] Professor, Department of Animal Science, Faculty of animal Science and Fishery, University of Agriculture and Natural Resources Sari, Sari, Iran, Email: astymori@yahoo.com

[3] Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of animal Science and Fishery, University of Agriculture and Natural Resources Sari, Sari, Iran, Email: dirandeh@gmail.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 02/03/2023
Revised: 04/03/2023
Accepted: 04/04/2023

Keywords:
Glutamine
Heat Stress
Hematological Parameter
Immune system
Inflammatory Indicator

ABSTRACT

Background and Objectives: Heat stress (HS) potentially has several physiological complications that lead to great economic losses in the sheep and goat breeding industry, including reproductive disorders, immune system weakness, inflammation, electrolyte imbalance, and reduced feed intake. Glutamine is the most abundant amino acid in the body and this amino acid has different roles such as building proteins, increasing nitrogen balance, stimulating the immune system, anabolic and anti-catabolic effects on muscles, anti-inflammatory and antioxidant. This experiment was conducted to evaluate the effects of glutamine supplementation and protein level (equal to and 10% higher than the National Research Council requirement) on blood parameters, inflammatory and immune indices of fattening lambs during heat stress.

Materials and Methods: In this study, 16 Afshari male lambs with an average weight of 31.5 ± 0.22 kg and an average age of 3 to 4 months were used. The experimental lambs were tested in 4 treatments and 4 repetitions in a completely randomized design and a 2x2 factorial method for 45 days. Experimental treatments include 1- basic diet (metabolizable protein equal to requirements), 2- basic diet with glutamine (0.2 grams per kilogram of body weight), 3- diet with 10% more metabolizable protein than requirements, and 4- The diet had 10% higher metabolizable protein with glutamine (0.2 grams per kilogram of body weight). Blood sampling was done from the jugular vein two hours after the morning meal on the 15th, 30th, and 45th days of fattening with the help of Venoject tubes containing anticoagulants. Blood parameters including albumin (Alb) and total protein (TP) of plasma, alkaline phosphatase (ALP), and malondialdehyde (MDA) were measured with relevant kits and with an automatic analyzer. The concentration of cytokines including interleukin 2 (IL-2), interleukin 6 (IL-6), and interleukin 10 (IL-10) as well as Immunoglobulin G (IgG) was measured using ELISA kits.

Results: The effects of the treatments on blood Alb on the 15th day of fattening did not show any significant difference. While on days 30 and 45 of fattening, the effects of treatments on blood Alb were significant (P=0.0217 and P=0.0087, respectively). Glutamine increased total plasma protein concentration on days 30 and 45 (P=0.0071 and P=0.0019, respectively). Also, increasing the protein level in the diet of fattening lambs on days 30 and 45 increased the TP of plasma (P=0.0139 and

P=0.0386, respectively). On the 45th day of fattening, the addition of glutamine increased the blood ALP enzyme (P=0.0123). Also, taking glutamine supplements on the 30th and 45th days of fattening decreased MDA (P=0.0012 and P=0.0029, respectively). There was no significant difference in the number of red blood cells, hemoglobin level, hematocrit, mean concentration of hemoglobin in cells, and mean cell volume between treatments on the 15th and 30th days of fattening. While on day 45, glutamine decreased the number of red blood cells and hematocrit percentage (P=0.0036 and P=0.0081, respectively). The number of white blood cells increased on the 30th and 45th days of fattening with the addition of glutamine (P=0.0004 and P=0.0012, respectively). The effect of treatments on blood IgG, IL-2, and IL-10 on the 15th day of fattening was not significant, while the treatments on the 30th and 45th day of fattening increased the values of IgG (P=0.0287 and P<0.0001, respectively). In addition, IL-2 increased on days 30 and 45 under the influence of treatments (P<0.0001 and P<0.0001, respectively). On the 30th and 45th days of fattening, the addition of glutamine increased the levels of IL-10 (P=0.0194 and P=0.0007, respectively). The concentration of IL-6 on the 45th day of fattening decreased with the addition of glutamine and the addition of metabolizable protein levels (P=0.0004 and P=0.0233, respectively).

Conclusion: According to the results obtained from this research, the albumin and protein levels of the whole blood, the number of white blood cells, the amount of immunoglobulin G were the highest in the groups fed with treatments 2 and 4 and the lowest in the control group. In this study, glutamine significantly reduced the number of red blood cells and hematocrit percentage. Treatments 2 and 4 significantly increased anti-inflammatory cytokines (interleukin 2 and 10) and decreased pro-inflammatory cytokine interleukin 6. In general, according to the results of this study, the simultaneous use of glutamine supplement and a higher level of metabolizable protein (treatment 4) is suggested.

Cite this article: Mohamadzadeh, H., Teimouri Yansari, A., Dirandeh, E. (2023). Effects of Protein Levels and Glutamine Supplementation on Hematological Parameters, Some Inflammatory and Immune Indicators of Afshari fattening Male Lambs Under Heat Stress Condition. *Journal of Ruminant Research*, 11(2), 91-110.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejrr.2023.20957.1880
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پژوهش در نشخوارکنندگان
شاپا چاپی: ۲۳۴۵-۴۲۶۱
شاپا الکترونیکی: ۲۳۴۵-۴۲۵۳

اثرات سطوح پروتئین و مکمل گلوتامین بر فراسنجه‌های خونی و ایمنی، برخی شاخص‌های التهابی بره‌های نر پرواری افشاری در شرایط تنش گرمایی

هادی محمدزاده[1*]، اسداله تیموری یانسری[2]، عیسی دیرنده[3]

[1] دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، رایانامه: hmohamadzadeh2003@gmail.com
[2] استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، رایانامه: astymori@yahoo.com
[3] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، رایانامه: dirandeh@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۴
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۱۵

واژه‌های کلیدی:
تنش گرمایی
سیستم ایمنی
شاخص التهابی
فراسنجه خونی
گلوتامین

چکیده

سابقه و هدف: تنش گرمایی به‌طور بالقوه دارای عوارض فیزیولوژیک متعددی همچون ناهنجاری‌های تولیدمثلی، ضعف سیستم ایمنی، التهاب، عدم تعادل الکترولیتی و کاهش مصرف خوراک است که به خسارات اقتصادی زیادی در صنعت پرورش گوسفند و بز منجر می‌شود. گلوتامین فراوان‌ترین اسیدآمینه در بدن است که دارای نقش‌های مانند ساخت پروتئین، افزایش تعادل نیتروژن، تحریک سیستم ایمنی، اثرات آنابولیک و ضد کاتابولیک بر عضلات، ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدانت است. این آزمایش به‌منظور بررسی اثرات سطح پروتئین (برابر و ۱۰ درصد بالاتر از نیاز بر اساس توصیه انجمن ملی پژوهش‌ها، ۲۰۰۷) و مکمل گلوتامین بر فراسنجه‌های خونی و ایمنی، برخی شاخص‌های التهابی بره‌های پرواری طی تنش گرمایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از تعداد ۱۶رأس بره نر نژاد افشاری با میانگین وزن۰/۲۲± ۳۱/۵ کیلوگرم و میانگین سن ۳ تا ٤ ماه استفاده شد. بره‌های آزمایشی در ٤ تیمار و ٤ تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی و به روش فاکتوریل ۲×۲ به مدت ٤٥ روز مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره پایه (پروتئین قابل متابولیسم برابر احتیاجات)، ۲- جیره پایه همراه با گلوتامین (۰/۲ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۳- جیره دارای ۱۰درصد پروتئین قابل متابولیسم بیشتر از احتیاجات و ٤- جیره دارای۱۰ درصد پروتئین قابل متابولیسم بالاتر همراه با گلوتامین (۰/۲ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بود. خون‌گیری از سیاهرگ گردن دو ساعت پس از وعده غذایی صبح در روزهای ۱۵، ۳۰ و ٤٥ پرواربندی با کمک لوله‌های ونوجکت دارای ماده ضد انعقاد انجام شد. فراسنجه‌های خون شامل آلبومین و پروتئین کل پلاسما، آلکالین فسفاتاز و مالوندی‌آلدئید با کیت‌های مربوطه و با آنالایزر خودکار اندازه-گیری شدند. غلظت سیتوکین‌ها شامل اینترلوکین ۲، اینترلوکین ٦ و اینترلوکین ۱۰ و همچنین ایمنوگلوبولین G با استفاده از کیت‌های الایزا اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: اثر تیمارها بر آلبومین خون در روز پانزدهم پرواربندی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. درحالی‌که در روزهای ۳۰ و ٤٥ پرواربندی، اثرات تیمارها بر آلبومین خون معنی‌دار بود (به

ترتیب P=۰/۰۲۱۷ و P=۰/۰۰۸۷). گلوتامین غلظت پروتئین کل پلاسما در روزهای ۳۰ و ٤٥ را افزایش داد (به ترتیب P=۰/۰۰۷۱ و P=۰/۰۰۱۹). همچنین افزایش سطح پروتئین در جیره بره‌های پروار در روزهای ۳۰ و ٤٥ پروتئین کل پلاسما را افزایش داد (به ترتیب P=۰/۰۱۳۹ و P=۰/۰۳۸٦). در روز ٤٥ پرواربندی، افزودن گلوتامین سبب افزایش آنزیم آلکالین‌فسفاتاز خون شد (P=۰/۰۱۲۳). همچنین مصرف مکمل گلوتامین در روزهای ۳۰ و ٤٥ پرواربندی سبب کاهش مالون‌دی‌آلدئید شد (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱۲ و P=۰/۰۰۲۹). تفاوت معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز، سطح هموگلوبین، هماتوکریت، میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی و میانگین حجم گلبولی بین تیمارها در روزهای ۱۵ و ۳۰ پرواربندی مشاهده نشد. درحالی‌که در روز ٤٥، گلوتامین تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت را کاهش داد (به ترتیب P=۰/۰۰۳٦ و P=۰/۰۰۸۱). تعداد گلبول‌های سفید خون در روزهای ۳۰ و ٤٥ پرواربندی با افزودن گلوتامین افزایش یافت (به ترتیب P=۰/۰۰۰٤ و P=۰/۰۰۱۲). اثر تیمارها بر ایمنوگلوبولین G ، اینترلوکین ۲ و اینترلوکین ۱۰ خون در روز ۱۵ پرواربندی معنی‌دار نبود، درحالی‌که تیمارها در روز ۳۰ و ٤٥ پرواربندی مقادیر ایمونوگلوبولین G را افزایش دادند (به ترتیب P=۰/۰۲۸۷ و P<۰/۰۰۰۱). همچنین اینترلوکین ۲ در روزهای ۳۰ و ٤٥ تحت تأثیر تیمارها افزایش یافت (به‌ترتیب P<۰/۰۰۰۱ و P<۰/۰۰۰۱). در روزهای ۳۰ و ٤٥ پرواربندی، افزودن گلوتامین مقادیر اینترلوکین ۱۰ را افزایش داد (به ترتیب P=۰/۰۱۹٤ و P=۰/۰۰۰۷). غلظت اینترلوکین ٦ در روز ٤٥ پرواربندی با افزودن گلوتامین و افزودن سطح پروتئین قابل متابولیسم کاهش یافت (به ترتیب P=۰/۰۰۰٤ و P=۰/۰۲۳۳).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، سطح آلبومین و پروتئین کل خون، تعداد گلبول‌های سفید خون، مقدار ایمونوگلوبولین G در گروه‌های تغذیه‌شده با تیمارهای ۲ و ٤ بیشترین و در گروه شاهد کمترین بود. در این پژوهش گلوتامین به‌طور معنی‌داری تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت را کاهش داد. تیمارهای ۲ و ٤ به‌طور معنی‌داری سیتوکین‌های ضد التهابی (اینترلوکین ۲ و ۱۰) را افزایش و سیتوکین پیش التهابی اینترلوکین ٦ را کاهش دادند. به‌طورکلی، با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، استفاده هم‌زمان از مکمل گلوتامین و سطح بالاتر پروتئین قابل متابولیسم (تیمار ٤) پیشنهاد می‌شود.

استناد: محمدزاده، هـ، تیموری یانسری، ا.، دیرنده، ع. (۱٤۰۲). اثرات سطوح پروتئین و مکمل سازی گلوتامین بر فراسنجه‌های خونی و ایمنی، برخی شاخص‌های التهابی بره‌های نر پرواری افشاری در شرایط تنش گرمایی. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۱۱(۲)، ۱۱۰-۹۱.

DOI: 10.22069/ejrr.2023.20957.1880

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

تغییر اقلیم به سبب تأثیر بر سلامت و تولید دام، جدی‌ترین چالش بلندمدت دام‌پروران در حال حاضر و آینده است. افزایش روزهای گرم ناشی از گرمایش جهانی همراه با رطوبت زیاد، منجر به تضعیف سیستم ایمنی، کاهش عملکرد تولیدی و تولیدمثلی می‌شود (Al-Dawood، ۲۰۱۷). تنش گرمایی سبب تولید نوعی از پاسخ‌های پیچیده فیزیولوژیک در بدن می‌شود (Okoruwa، ۲۰۱٤). مغز وضعیت تنش گرمایی را درک می‌کند و از راه محور هیپوتالاموس– هیپوفیز– بخش مرکزی غده فوق کلیه[1] و محور سمپاتیک– آدرنال– مغزی نخاعی[2] تغییرات هورمونی اتفاق می‌افتد (Bagath و Sejian، ۲۰۱۸). هیپوتالاموس هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین[3] را ترشح می‌کند که بر هیپوفیز اثر می‌کند و هورمون آدرنوکورتیکوتروپین[4] از آن تولید می‌شود. هورمون آدرنوکورتیکوتروپین بر غده آدرنال تأثیر گذاشته و هورمون‌هایی نظیر گلوکوکورتیکوئیدها، نورآدرنالین و آدرنالین (کاته‌کولامین‌ها) تولید می‌شوند. گلوکوکورتیکوئیدها (کورتیزول) پاسخ تنش گرمایی را به‌طور مؤثری کاهش می‌دهند و اثر ضدالتهابی بر پاسخ سیستم ایمنی دارند، درحالی‌که کاته‌کولامین‌ها اثر التهابی دارند (Bagath و Sejian، ۲۰۱۸).

فراسنجه‌های خونی حیوانات به تغییرات دمای محیطی حساس هستند. آن‌ها شاخص‌های مهمی از پاسخ فیزیولوژیک به عوامل تنش‌زا می‌باشند که با تغییراتی در فراسنجه‌های خون‌شناسی، مانند گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، هموگلوبین، لنفوسیت‌ها، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و گرانولوسیت‌ها مشخص می‌شود (Okoruwa، ۲۰۱٤).

Riberio و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که گوسفندانی که در معرض تنش گرمایی قرار می‌گیرند به‌طور معنی‌داری حجم سلولی فشرده[5]، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت[6] خون افزایش می‌یابد. تنش گرمایی فراسنجه‌های بیوشیمیایی، همچون آلکالین فسفاتاز، مالون‌دی‌آلدئید، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، گلوکز، کلسترول، نیتروژن اوره‌ای خون و فراسنجه‌های تنش اکسیداتیو را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Al-Dawood، ۲۰۱۷).

پاسخ سلولی به نشتی دستگاه گوارش تحریک‌شده با گرما می‌تواند شامل فعال‌سازی عوامل تنش گرمایی، افزایش بیان پروتئین‌های شوک گرمایی، افزایش اکسیداسیون گلوکز و اسیدآمینه، کاهش سوخت‌وساز اسیدهای چرب، فعال‌سازی غدد و سیستم ایمنی از راه تراوش پروتئین شوک گرمایی باشد (Collier و همکاران، ۲۰۰۸).

گلوتامین فراوان‌ترین اسیدآمینه موجود در بدن است، زیرا در پلاسما و بافت بدن مقدار گلوتامین ۱۰ تا ۱۰۰ برابر بیشتر از سایر اسیدهای آمینه است (Roth، ۲۰۰۸). این اسیدآمینه دارای نقش‌های آنابولیک و تحریکی متفاوتی همچون ساخت پروتئین‌ها، افزایش تعادل نیتروژنی، تحریک سیستم ایمنی، اثرات آنابولیک و ضد کاتابولیک بر عضلات، تنظیم و تعدیل گلوکز از مسیر ساخت گلوکز، تولید اسیدهای آمینه شاخه‌دار، راه‌اندازی مسیرهای ترانس‌آمیناسیون و دآمیناسیون و محرک ساخت پروتئین است (Roth، ۲۰۰۸). ثابت‌شده است که گلوتامین در ساخت اسید نوکلئیک به‌منظور حمایت از تکثیر سلولی ضروری است (Berg و همکاران، ۲۰۰۷). در گوسفند، حداقل، گلوتامین اثر حفاظتی خود را در مقابل اکسیداسیون کبدی اسیدآمینه، به‌ویژه

۱. Hypothalamic- Pituitary- Adrenal Axis (HPA)
۲. Sympathetic- Adrenal- Medullary Axis (SAM)
3. Corticotropin Releasing Hormone (CRH)
4. Adrenocorticotropic Hormone (ACTH)
5. Packed Cell Volume (PCV)
6. Hematocrit (HCT)

برای متیونین اعمال می‌کند. بدین ترتیب گلوتامین نقش آنابولیک خود را اعمال می‌کند، زیرا متیونین در اغلب خوراک‌ها اولین اسیدآمینه محدودکننده است (Lobley و همکاران، ۲۰۰۱). همچنین گلوتامین یک مولکول مهم پیام‌دهی است، که اغلب با فعال کردن هدف راپامایسین پستانداران، با تحریک عملکردهای آنابولیک مانند ساخت پروتئین، رشد و تمایز سلول‌ها و مهار عملکردهای کاتابولیک مانند تخریب پروتئین و مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول عمل می‌کند (Curi و همکاران، ۲۰۰۷). لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها مقدار بالایی از گلوتامین را استفاده می‌کنند. برای لنفوسیت‌ها، این نیاز شامل تکثیر سلولی و برای ماکروفاژها، ساخت mRNA برای پروتئین‌های ترشحی، پیام‌رسان‌های پپتید و گیرنده‌های پروتئین است (Caroprese و همکاران، ۲۰۱۲). در تحقیق انجام‌شده بر روی بزها، مشخص شد که افزودن مکمل L- گلوتامین به جیره در شرایط تنش گرمایی سبب کاهش دمای رکتوم، شکنندگی اسمزی اریتروسیت‌ها و غلظت مالون‌دی‌آلدئید سرم و نیز سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز شد (Ocheja et al., 2017). پاسخ‌های التهابی فرایندی انرژی‌بر هستند، که احتمالاً به‌این‌علت است که بافت‌ها احتیاج به تولید واسطه‌های ایمنی و ترمیم سلول‌های آسیب‌دیده دارند (Peng و همکاران، ۲۰۱۱). همچنین محدودیت گلوتامین منابع کربن و نیتروژن برای ساخت واسطه‌های التهابی را کاهش می‌دهد (Yassad و همکاران، ۲۰۰۰). در یک پژوهش گلوتامین تولید سیتوکین‌ها توسط سلول‌های سیستم ایمنی را بهبود داد. به‌طوری‌که با افزایش غلظت گلوتامین مقدار IL-2 حدود ۳۰ درصد افزایش یافت (Wu و همکاران، ۲۰۲۲).

شناسایی راهبردهای مدیریت تغذیه‌ای برای کاهش حساسیت به تنش گرمایی بدون تأثیر منفی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک خون و ایمنی دام بسیار ارزشمند خواهد بود. تاکنون توجه کمتری به مدیریت تنش گرمایی و اثرات نامطلوب تنش گرمایی در گوسفندان و بزها شده است. هدف از این پژوهش، بررسی اثرات سطح پروتئین قابل متابولیسم و افزودن اسیدآمینه گلوتامین به‌عنوان ابزاری برای کاهش اثرات مضر تنش گرمایی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک خون، پاسخ ایمنی و شاخص‌های التهابی در بره‌های نر پرواری نژاد افشاری بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در فصل تابستان در استان مازندران و شهر ساری انجام شد. برای این منظور از ۱۶ رأس بره نر سالم از نژاد افشاری با متوسط سن (۰/۵± ٤ ماه) و وزن متوسط ۰/۲۲ ± ۳۱/۵ کیلوگرم، به روش فاکتوریل ۲ در ۲ و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تیمار و ٤ تکرار به‌مدت ٤٥ روز با جیره کاملاً مخلوط استفاده شد. چهار جیره آزمایشی به شرح زیر به‌عنوان تیمار آزمایشی مورداستفاده قرار گرفتند:

۱) جیره با سطح پروتئین قابل متابولیسم پایه (برابر احتیاجات، تنظیم‌شده بر اساس توصیه انجمن ملی پژوهش‌ها[7]) و بدون افزودن گلوتامین

۲) جیره با سطح پروتئین قابل متابولیسم پایه (برابر احتیاجات، تنظیم‌شده بر اساس توصیه انجمن ملی پژوهش‌ها) و افزودن گلوتامین (۰/۲گرم در هر کیلوگرم وزن بدن)

۳) جیره با ۱۰درصد پروتئین قابل متابولیسم بالاتر از احتیاجات و بدون گلوتامین

7. National Research Council (NRC)

٤) جیره دارای ١٠درصد پروتئین قابل متابولیسم بالاتر از احتیاجات و با افزودن گلوتامین (٠/٢گرم در هر کیلوگرم وزن بدن)

کلیه جیره‌های آزمایشی (جدول ١) با استفاده از نرم‌افزار سیستم تغذیه‌ای نشخوارکنندگان کوچک[8] (نسخه ١-٩-٥٥٦٦) تنظیم شدند. تنظیم جیره‌ها مطابق با توصیه‌های جدول احتیاجات غذایی انجمن ملی پژوهش‌ها (NRC، ٢٠٠٧) و همچنین معادلات پیشنهادی Cannas و همکاران (٢٠٠٤) انجام و به‌صورت کاملاً مخلوط دو بار در روز در حد اشتها و به فاصله‌ی ١٢ ساعت (٦:٠٠ صبح و ٦:٠٠ عصر) در اختیار دام‌ها قرار گرفتند. همچنین آب به‌صورت آزاد همواره در اختیار دام‌ها قرار گرفت. ترکیب شیمیایی اقلام خوراکی و جیره‌ها شامل درصد ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، عصاره اتری بر اساس روش‌های انجمن رسمی شیمی‌دانان کشاورزی (AOAC، ٢٠٠٥) و مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با روش Van Soest و همکاران (١٩٩١) اندازه‌گیری شدند (جدول ١).

برای عبوری سازی و محافظت گلوتامین، گلوتامین با فرمالدئید یک درصد اسپری و به‌مدت ٧٢ ساعت در دمای اتاق هوا خشک شد تا باقیمانده‌های فرمالدئید تبخیر شوند (Tanha و همکاران، ٢٠١٣). آزمایش در مرداد ماه، هنگامی‌که در طی روز دمای محیط از ٣٠ درجه کاهش نیافت (تحت تنش گرمایی)، انجام شد. برای محاسبه شاخص دمایی رطوبتی[9]، دمای محیط و رطوبت نسبی روزانه ثبت شد. اطلاعات هواشناسی، متشکل از حداکثر دمای روزانه و رطوبت نسبی، برای هرروز ثبت شد و برای محاسبه شاخص دمایی رطوبتی با استفاده از معادله زیر استفاده شد (Mader، ٢٠٠٦):

$$THI = (0.8 \times temperature) + [(\% RH/100) \times (temperature - 14.4)] + 46.4$$

در این معادله THI، شاخص دمایی رطوبتی؛ temperature، حداکثر درجه حرارت روزانه برحسب درجه سانتی‌گراد و RH، حداکثر رطوبت نسبی روزانه بر حسب درصد است.

میانگین مقدار شاخص دمایی- رطوبتی برابر ٨٢/٢٦ بود که نشان‌دهنده شرایط تنش گرمایی در طی دوره‌های آزمایشی است (جدول ٢). عملیات خون‌گیری در روزهای ١٥، ٣٠ و ٤٥ پرواربندی، دو ساعت پس از وعده غذایی صبح با کمک ونوجکت و لوله‌های دارای EDTA از سیاهرگ وداج ناحیه گردنی انجام شد. سپس نمونه‌های خون به آزمایشگاه منتقل‌شده و با سانتریفیوژ ٣٥٠٠ دور در مدت‌زمان ١٥ دقیقه سرم و پلاسمای نمونه‌های خونی جدا و برای آزمایش‌های بعدی به‌ترتیب سرم در فریزر با درجه برودت ٢٠- و پلاسما در ٨٠- نگهداری شد. فراسنجه‌های خونی شامل آلبومین و پروتئین کل پلاسما، آلکالین فسفاتاز و مالون‌دی‌آلدئید با کیت‌های آزمایشگاهی پارس آزمون و با آنالایزر خودکار اندازه‌گیری شد (Huntington و همکاران، ١٩٨٩). انسولین با استفاده از کیت‌های الایزا در دسترس تجاری و بر اساس پروتکل کیت (کیت‌های کمپانی رندوکس انگلستان) اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی پاسخ ایمنی و وضعیت التهاب عمومی، الگوی شمارش تفریقی خون بررسی شد. همچنین غلظت سایتوکین‌ها شامل اینترلوکین[10] ٢، اینترلوکین ٦ و اینترلوکین ١٠ با استفاده از کیت‌های الایزا مطابق با روش Caroprese و همکاران (٢٠١٢) اندازه‌گیری شد. همچنین از کیت‌های الایزا مطابق با روش Caroprese و همکاران (٢٠١٢) برای اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین G استفاده‌شده است.

8. Small Ruminant Nutrition System (SRNS)
9. Temperature-humidity index (THI)
10. Interleukin

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های حاصل از این آزمایش به‌صورت فاکتوریل ۲ در ۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه‌وتحلیل آن با استفاده از رویه MIXED نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱ سال ۲۰۰۳) و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن (Duncan، ۱۹۵۵) در سطح احتمال معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت. مدل آماری مورداستفاده این آزمایش:

$$Y_{ijk}= \mu+ A_i + B_j + AB_{(ij)} + \varepsilon_{(ij)k}$$

به‌طوری‌که: Y_{ijk} ارزش هر مشاهده در آزمایش؛ μ، میانگین جامعه؛ A_i، اثر سطح پروتئین قابل متابولیسم جیره؛ B_j، اثر گلوتامین جیره؛ $AB_{(ij)}$، اثر متقابل دو عامل و $\varepsilon_{(ij)k}$ اثر خطای آزمایشی است.

جدول ۱- درصد مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی بره‌های پرواری

Table 1- The percentage of food ingredients and chemical composition of experimental diets for fattening lambs

جیره با ۱۰درصد پروتئین بیشتر از سطح احتیاجات Diet with 10% more protein than the level of needs	جیره پایه با پروتئین در سطح احتیاجات Basic ration with protein at the level of needs	اقلام خوراکی (درصد ماده خشک) Ingredients (% of DM)
22.46	22.90	علف خشک یونجه (Alfalfa hay)
6.29	6.00	کاه گندم (Wheat straw)
28.94	27.00	دانه جو (Barley grain)
17.95	21.00	دانه ذرت (Corn grain)
5.99	4.00	کنجاله سویا (Soybean meal)
10.48	12.00	سبوس گندم (Wheat bran)
0.80	0.70	کربنات کلسیم (Calcium Carbonate)
1.00	1.00	مکمل معدنی و ویتامینی [1] (Mineral and Vitamin premix)
5.49	5.00	تفاله چغندر قند (Sugar beet pulp)
0.40	0.40	نمک (Salt)
0.20	0.00	اوره (Urea)
		ترکیب شیمیایی (Chemical composition)
89.32	89.20	ماده خشک (٪) (Dry matter (%))
14.50	13.40	پروتئین خام (٪) (Crude protein (%))
3.78	3.93	عصاره اتری (٪) (Ether extract (%))
3.40	3.07	خاکستر (٪) (Ash (%))
35.07	36.20	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪) (Neutral detergent fiber (%))
15.90	16.17	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (٪) (Acid detergent fiber (%))
37.20	37.33	کربوهیدرات غیر الیافی (٪) (Non fiber carbohydrates (%))
2.41	2.40	انرژی قابل متابولیسم (Metabolizable energy (Mcal/kg))
108	98	پروتئین قابل متابولیسم (Metabolizable protein (g/d))

[1] یک کیلوگرم مکمل معدنی دام شامل: ویتامین A (۵۰۰۰۰۰ واحد بین المللی)، ویتامین D_3 (۱۰۰۰۰۰ واحد بین المللی)، ویتامین E (۱۰۰ میلی‌گرم)، کلسیم (۱۹۶۰۰۰ میلی‌گرم)، فسفر (۹۰۰۰۰ میلی‌گرم)، سدیم (۷۱۰۰۰ میلی‌گرم)، آهن (۳۰۰۰ میلی‌گرم)، منگنز (۲۰۰۰ میلی‌گرم)، منیزیم (۲۰۰۰ میلی‌گرم)، مس (۳۰۰ میلی‌گرم)، روی (۳۰۰۰ میلی‌گرم)، کبالت (۱۰۰ میلی‌گرم)، ید (۱۰۰ میلی‌گرم)، سلنیم (۱ میلی‌گرم)

[1] One kilogram of Mineral mix composition: vitamin A (500000 IU), Vitamin D_3 (100000 IU), Vitamin E (100 mg), Calcium (196000 mg), Phosphor (90000 mg), sodium (71000 mg), Iron (3000 mg), Manganese (2000 mg), Magnesium (2000 mg), Copper (300 mg), Zinc (3000 mg), Cobalt (100 mg), Iodine (100 mg), Selenium (1 mg)

جدول ۲- درجه حرارت، رطوبت نسبی و شاخص دمایی رطوبتی محیط در دوره آزمایش

Table 2- Temperature, relative humidity and temperature humidity index of the environment during the test period

روزهای پروار (Days of Fattening)	متوسط حرارت (سانتی‌گراد) (Mean Temperature(°C)	متوسط رطوبت (درصد) Mean humidity(٪)	شاخص حرارتی رطوبتی (Temperature humidity index)
۱ تا ۱۵ (1 to 15)	۳۱/۲۶±۳/۳۲	۷۲/٦٦±۸/۱۱	۸۳/٦۱±۵/۳۲
۱٦ تا ۳۰ (16 to 30)	۳۱/۵۳±٤/۱۸	۷۲/۷۳±۱۰/۰۰	۸٤/۰۳±٦/۰۷
۳۱ تا ٤۵ (31 to 45)	۲۸/۰٦±٤/۵۰	۷٦/٤٦±۱۰/٤٦	۷۹/۱٦±۵/٤۹

نتایج و بحث

فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون: اثرات جیره‌های با سطوح متفاوت پروتئین قابل متابولیسم و گلوتامین بر آلبومین، پروتئین کل، مالون‌دی‌آلدئید و آلکالین فسفاتاز در جدول ۳ نشان داده شده است. اثرات تیمارها بر آلبومین خون در روز ۱۵ پروار معنی‌دار نبود. اما در روزهای ۳۰ و ٤۵ پروار، اثرات تیمارها بر آلبومین خون معنی‌دار بود (P=۰/۰۲۱۷ و P=۰/۰۰۸۷). سطح آلبومین خون در گروه تغذیه شده با تیمارهای دارای سطوح بالاتر پروتئین قابل متابولیسم و گلوتامین بیشترین مقدار بود و گروه شاهد دارای کمترین سطح آلبومین بود. در روز ۳۰ پروار، سطح آلبومین خون در سطوح مختلف پروتئین تفاوت معنی‌داری داشت. همچنین مکمل گلوتامین به‌طور معنی‌داری آن را افزایش داد (P=۰/۰۲۱۵) در حالی‌که در روز ٤۵، فقط اثر گلوتامین معنی‌دار بود (P=۰/۰۰۲۹). گلوتامین غلظت کل پروتئین را در روزهای ۳۰ و ٤۵ افزایش داد (به‌ترتیب P=۰/۰۰۷۱ و P=۰/۰۰۱۹). کمترین غلظت پروتئین کل در بره‌های گروه شاهد مشاهده شد و غلظت پروتئین کل در همه‌ی گروه‌های دیگر بالاتر بود. همچنین اثر افزایش سطح پروتئین قابل متابولیسم جیره بره‌های پرواری در روزهای ۳۰ و ٤۵ در افزایش پروتئین کل پلاسما مؤثر بود (به‌ترتیب P=۰/۰۱۳۹ و P=۰/۰۳۸٦).

کاهش معنی‌دار در غلظت کل پروتئین و افزایش در غلظت پروتئین شوک گرمایی[11] در بزها در طی تنش گرمایی گزارش شده است که ممکن است ناشی از افزایش در حجم پلاسما در نتیجه تنش گرمایی باشد که می‌تواند سبب کاهش در غلظت کل پروتئین پلاسما گردد (Dangi و همکاران، ۲۰۱۲). در یک مطالعه مواجهه طولانی با نور خورشید، پروتئین کل پلاسما، آلبومین و گلوبولین را افزایش داد که دلیل این امر ناشی از انقباض عروق و کاهش حجم پلاسما طی تنش گرمایی بیان شده است (Helal و همکاران، ۲۰۱۰). در اغلب پژوهش‌های انجام شده، پروتئین کل و آلبومین در حیوانات تحت تأثیر تنش گرمایی و به علت دهیدراسیون افزایش می‌یابد (Ribeiro و همکاران، ۲۰۱۸). در برخی از پژوهش‌های انجام شده با جیره‌های با پروتئین قابل متابولیسم بالا، مقادیر پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند (Amanlou و همکاران، ۲۰۱۱). در حالی‌که، Houdijk و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند جیره‌های با پروتئین قابل متابولیسم بالا (۱۳۰ در مقابل ۸۵ درصد احتیاجات)، مقدار پروتئین کل و آلبومین را به‌طور معنی‌داری در ۳ هفته پایانی آبستنی افزایش دادند، ولی مقدار گلوبولین تغییرات معنی‌داری نشان نداد (جیره پایه ۱۲/۷ درصد پروتئین خام داشت). نتایج این آزمایش در توافق با گزارشات Abdel-Ghani و همکاران (۲۰۱۱) می باشد، آنها یک همبستگی مثبت بین پروتئین جیره و غلظت پروتئین کل پلاسما در بزها را گزارش کردند.

غلظت آلبومین از عوامل اصلی در حفظ کارکردهایی همچون تنظیم فشار اسمزی، جابه‌جایی مواد مغذی و آنزیم ها است. با توجه به نقش سم-زدایی آلبومین و توانایی پیوند با اسیدهای چرب غیر استریفیه علاوه بر بیلی‌روبین، غلظت بیشتر آلبومین در گاوهای تغذیه شده با مکمل گلوتامین ممکن است در

11. Heat Shock Protein (HSP)

کاهش التهاب در دوره پیش از زایش مؤثر باشد (Van der Vusse، ۲۰۰۹).

آلکالین‌فسفاتاز عملکردهای چندگانه عمومی در جذب چربی، حفاظت از عملکرد سد روده‌ای، تعیین ترکیب جمعیت میکروبی روده‌ای از طریق توانایی آن در دی‌فسفوریلات لیپوپلی‌ساکارید، معدنی‌سازی زیستی، تسهیل انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیر، فسفات، کلسیم به داخل سلول، پیش فعال‌سازی در مقابله با حمله اندوتوکسین باکتریایی، ساخت میانجی‌های عصبی، تنظیم رشد و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول در جنین دارد (Buchet و همکاران، ۲۰۱۳).

در رابطه با آنزیم آلکالین‌فسفاتاز در روزهای ۱۵ و ۳۰ پروار بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). درحالی‌که در روز ٤٥، افزودن گلوتامین آنزیم آلکالین فسفاتاز خون را افزایش داد (P=۰/۰۱۲۳). به‌طوری که بالاترین مقدار این آنزیم در تیمار دارای گلوتامین و ۱۰ درصد پروتئین پروتئین قابل متابولیسم بالاتر و کمترین مقدار در گروه شاهد مشاهده شد. تنش گرمایی سبب کاهش فعالیت آلکالین‌فسفاتاز و لاکتات‌دهیدروژناز در گوسفندان و بز می‌شود. کاهش این آنزیم‌ها در طی تنش گرمایی به‌علت کاهش فعالیت تیروئید است (Helal و همکاران، ۲۰۱۰). گزارش شده است که فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز پلاسما در خوک‌های تغذیه شده با گلوتامین به دلیل اثرات ضد تنش این اسیدآمینه، به‌طور معنی‌داری بعد از دو هفته پس از شیرگیری بالاتر از خوک‌های شاهد بود (Hsu و همکاران، ۲۰۱۲).

طی تنش گرمایی، دام‌ها در معرض تنش اکسیداتیو هستند که سطح رادیکال‌های آزاد در آن‌ها افزایش می‌یابد (Tanha و همکاران، ۲۰۱۳). پراکسیداسیون چربی پدیده به‌شدت مخرب است و زمانی‌که گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر[12] و رادیکال-های آزاد به اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه به غشای زیستی حمله کرده به‌وقوع می‌پیوندد. مالون‌دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون چربی است (Sahraei و همکاران، ۲۰۲۰). در این پژوهش افزودن مکمل گلوتامین در روزهای ۳۰ و ٤٥ پروار غلظت مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داد (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱۲ و P=۰/۰۰۲۹). گزارش شده است که استفاده از مکمل بتائین در اواخر آبستنی میش‌ها، مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داد. بتائین یک آنتی‌اکسیدان است که می‌تواند از پراکسیداسیون چربی از طریق تقویت سطح گلوتاتیون در بدن جلوگیری نماید. (Sahraei و همکاران، ۲۰۲۰).

گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دسموتاز و کاتالاز بخشی از سیستم دفاعی آنتی اکسیدانتی هستند که بافت‌ها را در مقابل تنش اکسیداتیو حفظ می‌کنند. گلوتامین رونویسی ژن‌های مربوط به واکنش‌های آنتی‌اکسیدانتی در سلول‌های مختلف را تنظیم می‌کند (Wu و همکاران، ۲۰۱۰). به‌نظر می‌رسد که افزایش دسترسی به گلوتامین در روده و عبوری کردن آن برای جلوگیری از تخمیر آن در شکمبه می‌تواند اثر محافظتی بر اکسیداسیون متیونین و فینل‌آلانین در کبد داشته باشد. واضح است که افزایش دسترسی متیونین، می‌تواند سطوح فیزیولوژیک سیستئین را افزایش داده و سطح گروه‌های سولفیدریل را در پلاسما بالا ببرد. همچنین گلوتامین در ساختار گلوتاتیون پراکسیداز که یکی از عناصر مهم سازنده سیستم آنتی‌اکسیدانتی است، نقش اساسی دارد. گلوتاتیون به‌طور عمده به‌صورت سنتز نوپدید[13] در کبد از گلوتامات، گلیسین و سیستئین ساخته می‌شود. گلوتامین به‌عنوان پیش‌ساز گلوتامات، با جلوگیری کردن از اکسیداسیون متیونین می‌تواند اثرات مثبتی بر افزایش سیستئین داشته باشد (Tanha و همکاران، ۲۰۱۳).

فراسنجه‌های هماتولوژیک: فراسنجه‌های هماتولوژیک در ارزیابی‌های وضعیت سلامت دام و

12. Reactive oxygen species (ROS)

13. *de novo*

به‌عنوان شاخص‌های تنش گرمایی استفاده می‌شوند. عواملی همچون گونه، جنس، سن، وضعیت فیزیولوژیک، تغذیه، بیماری، ساعت روز، رطوبت نسبی، دمای محیطی و فعالیت فیزیکی می‌توانند بر فراسنجه‌های خونی اثر بگذارند (Yaqub و همکاران، ۲۰۱۳). تغییرات فراسنجه‌هایی همچون تعداد گلبول‌های قرمز و شاخص‌هایی همچون میانگین حجم گلبولی[14] و میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی[15]، در تعیین تطبیق پذیری حیوان به محیط ارزش بالایی دارند. همچنین غلظت هموگلوبین و هماتوکریت نمایانگر تطابق حیوان با شرایط محیطی نامطلوب است. در واقع مقادیر هماتولوژیک در ارزیابی تنش و آسایش حیوان به‌ویژه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Yaqub و همکاران، ۲۰۱۳). تغذیه ضعیف در حیواناتی که تحت تنش گرمایی طولانی-تری قرار دارند، منجر به کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و سطح هموگلوبین خون می‌گردد. با افزایش دمای محیطی، اتلاف مایعات از راه دستگاه تنفس، سبب کاهش حجم پلاسما و افزایش غلظت هماتوکریت می‌شود. اگر فعالیت فیزیکی طولانی شود، دهیدراسیون اتفاق می‌افتد (اتلاف از راه فرآیند تبخیر) در نتیجه هماتوکریت افزایش می‌یابد. به‌طور کلی در طی تنش گرمایی، دهیدراسیون شدید در دام گزارش شده که در نهایت منجر به افزایش سطح هموگلوبین و حجم سلولی فشرده می‌شود (Bagath و Sejian، ۲۰۱۸). هم هموگلوبین و هم حجم سلولی فشرده نشانگرهای مهم دهیدراسیون در گوسفند در گرفته می‌شوند (Bagath و Sejian، ۲۰۱۸). سطح گلبول‌های سفید بعد از تنش حرارتی کاهش یافت. در مطالعه‌ای که توسط Okoruwa (۲۰۱٤) انجام شد، یک افزایش در گلبول‌های سفید حیوانات در معرض تنش گرمایی مشاهده شد.

تفاوت معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز، سطح هموگلوبین، هماتوکریت و میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی بین تیمارهای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پرواری مشاهده نشد (جدول ٤). در حالی‌که در روز ٤٥ گلوتامین به‌طور معنی‌داری تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت را کاهش داد (به‌ترتیب P=۰/۰۰۲۹ و P=۰/۰۰۸۱) که نشان می‌دهد مکمل‌سازی گلوتامین در این پژوهش اثرات ضدتنش گرمایی دارد.

گلبول‌های سفید خون گروه‌های متنوعی از سلول‌ها هستند که واسطه پاسخ ایمنی بدن هستند. لکوسیت‌ها معمولاً از سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک[16] منشأ گرفته و به انواع مختلف تمایز می‌یابند (Lacetera و همکاران، ۲۰۰۵). سلول هماتوپوئیتیک تحت تنش گرمایی به‌صورت بیان کاهشی[17] تنظیم می‌شود و یک کاهش در تولید و تمایز لکوسیت‌های جدید مورد انتظار است. بنابراین تنش گرمایی اثر منفی بر پاسخ ایمنی می‌گذارد. Lacetera و همکاران (۲۰۰۵) مشاهده کردند که تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در گاوهای شیری تحت تنش گرمایی کاهش یافت. تعداد گلبول‌های سفید خون در روز ۳۰ و ٤٥ پروار با افزودن گلوتامین به‌طور معنی‌دار افزایش یافت (به‌ترتیب P=۰/۰۰۰٤ و P=۰/۰۰۱۲) که نشان‌دهنده مؤثر بودن گلوتامین در خنثی‌سازی اثرات تنش گرمایی می‌باشد.

14. Mean Corpuscular Volume (MCV)
15. Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)
16. Hematopoietic
17. Downregulate

پاسخ ایمنی و شاخص‌های التهابی: اثرات تیمارها بر ایمنوگلوبولین G خون در روز ۱۵ پروار معنی‌دار نبود. در حالی‌که در روز ۳۰ و ٤٥ پروار اثرات معنی‌دار نشان داد (به‌ترتیب P=۰/۰۲۸۷ و P<۰/۰۰۰۱) (جدول ۵). به‌گونه‌ای که سطح ایمنوگلوبولین G خون در گروه تغذیه شده با تیمارهای دارای سطوح بالاتر پروتئین و گلوتامین بیشترین مقدار بود و گروه شاهد دارای کمترین سطح ایمنوگلوبولین G بود. در روز ۳۰ پروار سطح ایمنوگلوبولین G خون در سطوح مختلف پروتئین تفاوت معنی‌داری نداشت، ولی مکمل گلوتامین آن را افزایش داد (P=۰/۰۰۹۸). در روز ٤٥ پروار، هم مکمل‌سازی گلوتامین و هم افزایش سطح پروتئین ایمنوگلوبولین G خون را به طور معنی‌داری افزایش داد. هم‌چنین افزایش سطح پروتئین تأثیر معنی‌داری بر افزایش ایمنوگلوبولین G نشان داد (به‌ترتیب P=۰/۰۲۸۷ و P<۰/۰۰۰۱). ال گلوتامین در تمایز سلول‌های B به سلول‌های تولید کننده آنتی‌بادی نقش دارد. با افزایش سطح گلوتامین، تولید آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن افزایش می‌یابد (Caroprese و همکاران، ۲۰۱۲)؛ که با نتایج تحقیق حاضر هماهنگ است. از آنجایی‌که بیان ایمنوگلوبولین‌های G و A وابسته به سلول T یاریگر[18] است و گلوتامین تعداد سلول‌های Tیاریگر را افزایش می‌دهد، بنابراین انتظار بر این است که گلوتامین غلظت ایمنوگلوبولین‌های G و A را افزایش دهد (Wu و همکاران، ۲۰۱۰).

مطالعات برون‌تنی[19] نشان داده‌اند که گلوتامین می‌تواند حدود ۳۸ درصد انرژی قابل متابولیسم برای ماکروفاژها را فراهم کند (Newsholme و Parry-Billins، ۱۹۹۰). شواهد دیگر نشان می‌دهند که پاسخ تکثیر لنفوسیت‌های خرگوش، موش وانسان به میتوژنز بستگی به دسترسی گلوتامین دارد (Chang و همکاران، ۱۹۹۹). لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها مقدار بالای استفاده از گلوتامین را دارند. برای لنفوسیت‌ها، این نیاز شامل تکثیر سلولی و برای ماکروفاژها، ساخت mRNA برای پروتئین‌های ترشحی، پیام‌رسان‌های پپتید و گیرنده‌های پروتئین است. وقتی که لنفوسیت‌ها یا ماکروفاژها فعال می‌شوند، گلوتامین پیش‌ساز شناخته شده در ساخت پورین و پیریمیدین است که به مقدار زیاد مورد نیاز است. در گوسفند، چالش اندوتوکسین، جریان پلاسمایی گلوتامین را افزایش می‌دهد. در همان زمان، هر دو انباشت گلوتامات و مقدار جزئی ساخت پروتئین درون لنفوسیت‌ها افزایش می‌یابد (Lin و همکاران، ۲۰۰۵).

پاسخ سلول‌های خونی به پروتئین قابل متابولیسم چندان مورد بررسی قرار نگرفت. Houdijk و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که افزایش غلظت پروتئین قابل متابولیسم (از ۸۵ به ۱۳۰ درصد احتیاجات) در طی اواخر آبستنی ایمنی علیه انگل‌ها را افزایش داد. Nonnecke و همکاران (۲۰۰۳) هیچ تفاوتی در تعداد کل لکوسیت‌های خون شامل جمعیت لکوسیت‌های تک‌هسته‌ای و ایمنوگلوبولین M زمانی که از جایگزین شیر با ۳۰ درصد پروتئین خام و ۲۰ درصد چربی خام به میزان ۲/٤ درصد وزن در گوساله‌های شیرخوار مشاهده نشد.

تنش اکسیداتیو ناشی از تنش گرمایی، می‌تواند سبب آسیب DNA، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و التهاب شود (Nisar، ۲۰۱۳). گلوتامین یک محرک قوی ایمنی است و محرومیت گلوتامین سبب کاهش تکثیر لنفوسیت‌ها، وادار کردن بیان نشانگرهای فعال‌سازی در لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها، تأثیر بر تولید سیتوکین‌ها و تحریک مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود. گلوتامین به‌عنوان منبع انرژی اولیه برای آنتروسیت‌ها عمل می‌کند. متابولیت‌های مختلف چرخه کربس، که در طی متابولیسم گلوتامین و گلوکز تولید می‌شوند، مانند سیترات، فومارات و سوکسینات، در کنترل التهاب و ایمنی در هر دو ایمنی اکتسابی و ذاتی شرکت می‌کنند (Mills و همکاران، ۲۰۱۷).

18. T helper cells (TH)
19. *in vitro*

جدول ٤. اثر سطح پروتئین و مکمل گلوتامین بر فراسنجه‌های هماتولوژیک بره‌های پرواری در وضعیت تنش گرمایی

Table 3- The effect of protein level and glutamine supplementation on hematological parameters of fattening lambs in heat stress condition

سطح پروتئین (Protein level) سطح گلوتامین (درصد جیره) (Glutamine level (% diet))	تیمارها (Treatments)				اشتباه معیار میانگین (SEM)	احتمال معنی‌داری (P-value)			
	سطح پایه (Basal level)		۱۰درصد بالاتر (10 percent higher)			تیمار (Treatment)	سطح پروتئین (Protein level)	گلوتامین (Glutamine)	سطح پروتئین × گلوتامین (Protein level × Glutamine)
	صفر	۰/۲	صفر	۰/۲					
گلبول های قرمز (۱۰^۶ در میکرو لیتر) (Red blood cells (10^6/µl))									
روز ۱۵ پرواری (Day 15 of)	8.00	7.83	8.11	8.04	0.245	0.9357	0.6933	0.7973	0.6789
روز ۳۰ پرواری (Day 30 of)	8.31	7.90	8.15	7.74	0.235	0.4125	0.4902	0.1335	0.9436
روز ٤٥ پرواری (Day 45 of)	8.30^{a}	7.71^{b}	8.33^{a}	7.66^{b}	0.122	0.0273	0.9608	0.0036	0.8280
گلبول های سفید (۱۰^۳ در میکرو لیتر) (White blood cells (10^3/µl))									
روز ۱۵ پرواری (Day 15 of)	5.77	5.92	5.97	6.10	0.492	0.9296	0.6026	0.7019	0.9722
روز ۳۰ پرواری (Day 30 of)	5.87^{b}	6.47^{ab}	6.30^{ab}	7.00^{a}	0.439	0.1718	0.1482	0.0004	0.5985
روز ٤٥ پرواری (Day 45 of)	5.90^{c}	7.28^{ab}	6.57^{bc}	7.83^{a}	0.383	0.0048	0.0714	0.0012	0.8434
هموگلوبین (گرم در دسی لیتر) (Hemoglobin (g/dl))									
روز ۱۵ پرواری (Day 15 of fattening)	8.22	8.52	8.20	8.55	0.097	0.2749	1.000	0.0590	0.8752
روز ۳۰ پرواری (Day 30 of fattening)	8.25	8.47	8.27	8.55	0.091	0.4435	0.7463	0.1238	0.8713
روز ٤٥ پرواری (Day 45 of fattening)	8.50	8.37	8.72	8.45	0.142	0.6041	0.4416	0.3095	0.6977
هماتوکریت (درصد) (Hematocrit (%))									
روز ۱۵ پرواری (Day 15 of)	16.75	16.37	16.72	16.90	1.730	0.9501	0.7105	0.8817	0.6833
روز ۳۰ پرواری (Day 30 of)	17.55	16.02	17.35	16.87	1.614	0.3721	0.6183	0.1415	0.4247
روز ٤٥ پرواری (Day 45 of)	18.15^{a}	17.87^{ab}	16.82^{bc}	16.02^{c}	1.004	0.0393	0.6099	0.0081	0.3045
میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی (گرم در دسی لیتر) (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (g/dl))									
روز ۱۵ پرواری (Day 15 of)	49.27	52.15	49.20	50.95	3.745	0.6411	0.7394	0.2405	0.7690
روز ۳۰ پرواری (Day 30 of)	47.17	53.00	47.80	51.00	3.741	0.1474	0.7197	0.0328	0.4964
روز ٤٥ پرواری (Day 45 of)	46.92	52.35	48.87	50.40	3.258	0.1687	1.000	0.0543	0.2545

[a-b] میانگین‌های هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P<0.05$) .

[a-b] The mean of each row with different letters have significant difference ($P<0.05$).

تنش گرمایی سبب افزایش نفوذپذیری محتوای لومینال ازجمله به باکتری و اجزای باکتریایی در روده می‌شود که منجر به افزایش غلظت لیپوپلی‌ساکارید در خون باب کبدی و عمومی می‌شود (Pearce و همکاران، ۲۰۱۳). نشت محتویات لومینال به خون باب کبدی و در نهایت گردش خون عمومی سبب پاسخ التهابی می‌شود که می‌تواند اثرات مضر تنش گرمایی بر دام را افزایش دهد. تنش گرمایی می‌تواند منجر به تولید سیتوکین‌های پیش التهابی مانند اینترلوکین ٦، ۱۸ و عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا در گردش خون شود که التهاب را افزایش می‌دهد و در نهایت منجر به مقاومت به انسولین می‌شود (Pearce و همکاران، ۲۰۱۳). تنش‌ها می‌توانند بر پاسخ ایمنی بره‌ها، برای بهبودی بیماری‌ها اثر منفی بگذارند. التهاب یکی از نشانه‌ها و اولین پاسخ سیستم ایمنی بدن به عفونت است. التهاب موضعی که در محل عفونت ایجاد می‌شود، پاسخ فاز حاد را ایجاد می‌کند. این امر با انتشار سیتوکین‌های التهابی، به‌ویژه اینترلوکین ۱، اینترلوکین ٦ و عامل نکروز دهنده تومور از ماکروفاژ یا مونوسیت‌های خون در محل ضایعات التهابی یا عفونت ایجاد می‌شود (Montilla و Sandra، ۲۰۱۳).

سیتوکین‌ها تنظیم کننده‌های اصلی پاسخ التهابی هستند. گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن به‌عنوان مولکول‌های پیام‌دهی که سبب تولید سیتوکین می‌شود، از راه فعال‌سازی مسیر بیان ژن عامل هسته‌ای کاپا B[20] عمل می‌کند. علاوه بر این، پیام‌دهی التهابی نیز توسط لیپوپلی‌ساکاریدها[21] فعال می‌شود. در حیوانات تحت تنش گرمایی، لیپوپلی‌ساکارید به‌علت نفوذپذیری روده آسیب‌دیده زیاد می‌شود (Montilla و Sandra، ۲۰۱۳).

در این پژوهش اثر افزودن گلوتامین بر اینترلوکین ۲، ٦ و ۱۰ در روز ۱۵ پروار معنی‌دار نبود. که این عدم تأثیر می‌تواند ناشی از غلظت گلوتامین در جیره، گونه حیوانی و شرایط محیطی باشد. همچنین اثرات تیمارها در روز ۳۰ پروار بر اینترلوکین ٦ معنی‌دار نبود (جدول ۵). در حالی‌که در روز ۳۰ و ٤٥ پروار تولید اینترلوکین ۲ به‌طور معنی‌داری با افزودن گلوتامین به جیره افزایش یافت (P<۰/۰۰۰۱). به‌طوری‌که تیمار یک کمترین مقدار و تیمار ٤ بیشترین مقدار اینترلوکین ۲ را در هر دو مرحله ۳۰ و ٤٥ پروار داشتند. Kew و همکاران (۱۹۹۹) گزارش دادند که تغذیه گلوتامین پاسخ اینترلوکین ۲ در موش را بهبود بخشید. منشأ اینترلوکین ۲ سلول‌های T یاریگر ۱ هست و سلول‌های هدف آن لنفوسیت T فعال‌شده، لنفوسیت‌های B، سلول‌های کشنده طبیعی[22]، درشت‌خوار (ماکروفاژ) و الیگودندروسیت هستند (Kew و همکاران، ۱۹۹۹).

منشأ اینترلوکین ٦ از سلول‌های درشت‌خوار، لنفوسیت T کمک‌کننده، لنفوسیت‌های B، آستروسیت، اندوتلیوم است. همچنین سلول‌های هدف آن لنفوسیت‌های B، پلاسما سل‌ها، سلول‌های بنیادی خون‌ساز، لنفوسیت T و غیره است. عملکرد آن شامل فعال شدن لنفوسیت‌های B و تمایز به پلاسماسل B و ترشح پادتن، تحریک پروتئین فاز حاد، تمایز سلولی لنفوسیت T و ایجاد التهاب و خون‌سازی[23] است. در جریان التهاب نیز، میانجی‌های مختلفی توسط سلول‌های سیستم ایمنی، همانند سایتوکین‌های پیش التهابی مانند عامل نکروز دهنده تومور آلفا[24] و

20. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB)
21. Lipopolysaccharides (LPS)
22. Natural killer cells (NK cells)
23. Hematopoiesis
24. Tumor necrosis factor alpha (TNF-α)

اینترلوکین ٦ ترشح می‌شود که سبب تشدید پاسخ ایمنی می‌گردد. مقدار اینترلوکین ٦ در روز ٤٥ پروار با افزودن گلوتامین و افزودن سطح پروتئین قابل متابولیسم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (به ترتیب P=۰/۰۰۰٤ و P=۰/۰۲۳۳). به‌طوری‌که کمترین و بیشترین مقدار اینترلوکین ٦ به ترتیب در تیمار دارای گلوتامین و ۱۰ درصد پروتئین قابل متابولیسم بالاتر و گروه شاهد مشاهده شد. در توافق با این آزمایش، Parry-Billings و همکاران (۱۹۹۰) بیان کردند که سطح گلوتامین پلاسما همبستگی منفی با تولید اینترلوکین ٦ در بیماران تحت جراحی دارد. استفاده از گلوتامین توازن نیتروژن را بهبود بخشیده و اینترلوکین ٦ پلاسما را کاهش می‌دهد و بنابراین یک همبستگی منفی بین توازن مثبت نیتروژن و اینترلوکین ٦ پلاسما وجود دارد (Lin و همکاران، ۲۰۰۵). در مطالعه‌ای دیگر ساخت و ترشح اینترلوکین 1β و اینترلوکین ٦ در ماکروفاژهای احشایی خرگوش در معرض لیپوپلی ساکاریدها با افزودن گلوتامین افزایش یافت (Yassad و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین Peng و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که استفاده از گلوتامین با افزایش اینترلوکین ۱۰، ترشح سیتوکین‌های التهابی همچون اینترلوکین ٦ را در خرگوش‌ها مهار کرد.

اینترلوکین ۱۰ سایتوکینی با چند عملکرد در تنظیم سیستم ایمنی و التهاب است. اینترلوکین ۱۰ از سلول‌های مونوسیت و نیز از لنفوسیت T کمک‌کننده، ماکروفاژ و لنفوسیت T تنظیم‌کننده و ماست سل ترشح می‌شود و بر سلول‌های لنفوسیت T کمک‌کننده، لنفوسیت‌های B، ماست سل و درشت‌خوار تأثیر می‌گذارد. اینترلوکین ۱۰ همچنین موجب افزایش تکثیر و بقای لنفوسیت‌های B و تولید آنتی‌بادی می‌شود (Spittler و همکاران، ۱۹۹۵). تولید اینترلوکین ۱۰ در روز ۳۰ پروار با افزودن گلوتامین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P=۰/۰۱۹٤)، به‌طوری‌که تیمار ۱ کمترین و تیمار ۲ بیشترین سطح اینترلوکین ۱۰ را داشتند. در روز ٤٥ پروار، تولید اینترلوکین ۱۰ تحت تأثیر تیمارها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P=۰/۰۰۲۵) به‌طوری‌که گروه شاهد کمترین مقدار و تیمار ۲ بیشترین مقدار اینترلوکین ۱۰ را داشتند. موافق با نتایج این آزمایش، Wu و همکاران (۲۰۲۲) اظهار داشتند گلوتامین مقدار اینترلوکین ۱۰ در بره‌های پرواری نژاد هو در روزهای ۱۵، ۳۰ و ٤٥ پروار را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P<۰/۰۵). تولید اینترلوکین ۱۰ از ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها وابسته به حضور گلوتامین است(Spittler و همکاران، ۱۹۹۵). با توجه به افزایش سهم سلول‌های لنفوسیت در تیمارهای حاوی گلوتامین در این پژوهش، می‌توان افزایش در تولید اینترلوکین ۱۰ را انتظار داشت. اینترلوکین ۱۰ به‌عنوان یک سیتوکین ضدالتهابی شناخته می‌شود، بنابراین استفاده از گلوتامین در حیوانات با عوارض التهابی مفید است.

جدول ۵. اثر سطح پروتئین و مکمل گلوتامین بر ایمنی و فراسنجه‌های التهابی بره‌های پرواری در وضعیت تنش گرمایی

Table 4- Effect of protein level and glutamine supplementation on immunity and inflammatory parameters of fattening lambs under heat stress condition

سطح پروتئین (Protein level) سطح گلوتامین (درصد جیره) (Glutamine level (% diet))	تیمارها (Treatment)				اشتباه معیار میانگین (SEM)	احتمال معنی‌داری (P-value)			
	سطح پایه (Basal level)		۱۰درصد بالاتر (10 percent higher)			تیمار (Treatment)	سطح پروتئین (Protein level)	گلوتامین (Glutamine)	سطح پروتئین × گلوتامین (Protein level × Glutamine)
	صفر	۰/۲	صفر	۰/۲					
ایمنوگلوبولین G (نانوگرم در میلی لیتر) (Immunoglobulin G (ng/mlit))									
روز ۱۵ پرواز (Day of 15 fattening)	2.26	2.46	2.50	2.39	0.0846	0.6813	0.5682	0.7584	0.3162
روز ۳۰ پرواز (Day of 30 fattening)	2.91[b]	3.75[a]	3.42[ab]	3.79[a]	0.154	0.0287	0.1807	0.0098	0.2613
روز ٤٥ پرواز (Day of 45 fattening)	2.92[c]	4.69[a]	3.85[b]	4.65[a]	0.074	<0.0001	0.0063	<0.0001	0.0035
اینترلوکین ۲ (نانوگرم در لیتر) (Interleukin 2 (ng/l))									
روز ۱۵ پرواز (Day of 15 fattening)	45.82	46.55	43.40	41.65	6.167	.06682	0.2579	0.8708	0.6953
روز ۳۰ پرواز (Day of 30 fattening)	41.15[c]	57.32[a]	48.07[b]	57.95[a]	3.782	<0.0001	0.0691	<0.0001	0.1217
روز ٤٥ پرواز (Day of 45 fattening)	37.82[c]	61.62[a]	52.15[b]	62.32[a]	13.916	<0.0001	0.0017	<0.0001	0.0033
اینترلوکین ٦ (نانوگرم در لیتر) (Interleukin 6 (ng/l))									
روز ۱۵ پرواز (Day of 15 fattening)	29.52	33.45	34.65	30.12	3.327	0.1340	0.5984	0.8599	0.0260
روز ۳۰ پرواز (Day of 30 fattening)	30.27	29.32	30.55	27.10	3.073	0.4108	0.5376	0.1777	0.4318
روز ٤٥ پرواز (Day of 45 fattening)	32.90[a]	24.15[bc]	27.54[b]	21.82[c]	2.956	0.0011	0.0233	0.0004	0.3256
اینترلوکین ۱۰ (نانوگرم در لیتر) (Interleukin 10 (ng/l))									
روز ۱۵ پرواز (Day of 15 fattening)	12.01	10.87	10.64	9.82	2.248	0.6013	0.3040	0.4005	0.8909
روز ۳۰ پرواز (Day of 30 fattening)	11.54[b]	14.97[a]	12.10[ab]	13.73[ab]	1.873	0.0869	0.7240	0.0194	0.3538
روز ٤٥ پرواز (Day of 45 fattening)	11.81[c]	19.29[a]	14.87[bc]	17.42[ab]	2.203	0.0025	0.5997	0.0007	0.0449

[a-b] میانگین‌های هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<0.05) .

[a-b] The mean of each row with different letters have significant difference (P<0.05).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، سطح آلبومین و پروتئین کل خون در گروه تغذیه‌شده با تیمارهای دارای سطوح بالاتر پروتئین قابل متابولیسم و گلوتامین بیشترین مقدار بود و گروه شاهد دارای کمترین سطح آلبومین و پروتئین کل بود. در این پژوهش تیمارهای ۲ و ٤ به ترتیب در روزهای ۳۰ و ٤٥ پروار کمترین غلظت مالوندی‌آلدئید را نشان دادند. در روز ٤٥ گلوتامین به‌طور معنی‌داری تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت را کاهش داد که نشان می‌دهد مکمل‌سازی گلوتامین در این پژوهش اثرات ضد تنش گرمایی دارد. تعداد گلبول‌های سفید خون در روز ۳۰ و ٤٥ پروار در تیمار ٤ بیشترین و در گروه شاهد کمترین بود. همچنین تیمار ۲ و ٤ بالاترین سطح ایمونوگلوبولین G را نشان داد. تیمارهای حاوی گلوتامین (تیمارهای ۲ و ٤) به‌طور معنی‌داری سیتوکین‌های ضدالتهابی (اینترلوکین ۲ و ۱۰) را افزایش و سیتوکین پیش التهابی اینترلوکین ٦ را کاهش دادند. نتایج تحقیق حاضر نشان دادند که سطح پروتئین قابل متابولیسم و افزودن اسیدآمینه گلوتامین، صرف‌نظر از هزینه‌های تغذیه‌ای، به‌عنوان ابزاری برای کاهش اثرات مضر تنش گرمایی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، ایمنی و شاخص‌های التهابی در بره‌های پرواری تحت تنش گرمایی عمل می‌کند. در مجموع استفاده هم‌زمان از مکمل گلوتامین و سطح بالاتر پروتئین قابل متابولیسم (تیمار ٤) پیشنهاد می‌شود.

منابع

Abdel-Ghani, A.A., Solouma, G.M.A., AbdElmoty, A.K.I., Kassab, A.Y. and Soliman, E.B. 2011. Productive performance and blood metabolıtes as affected by protected protein in sheep. Open Journal of Animal Sciences, 1: 24-32.

Al-Dawood, A. 2017. Towards heat stress management in small ruminants –a review. Annals of Animal Science, 17(1): 59–88

Amanlou, H., Karimi, A., Mahjoubi, E. and Milis, C. 2011. Effects of supplementation with digestible undegradable protein in late pregnancy on ewe colostrum production and lamb output to weaning. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 95: 616-622.

AOAC. 2005. Official Method of Analysis. 18th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.

Bagath, M. and Sejian, V. 2018. Heat stress and immune function in livestock. Multidisciplinary Advances in Veterinary Science, 2(4): 395-398.

Berg, J.M., Tymoczko, J.L. and Stryer.L. 2007. Biochemistry. 6th ed. W.H. Freeman Custom Publishing, New York, NY.

Buchet, R., Millán, J.L. and Magne D. 2013. Multisystemic Functions of Alkaline Phosphatases. Pp. 27-51 in Phosphatase Modulators. J. Millan, Ed. Humana Press, Totowa, New Jersey.

Cannas, A., Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Pell, A.N. and Van Soest, P.G. 2004. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. Journal of Animal Science, 82:149-169.

Caroprese, M., Albenzio, M., Marino, R., Santillo, A. and Sevi, A. 2012. Immune response and milk production of dairy cows fed graded levels of rumen-protected glutamine. Research in Veterinary Science, 93:202–209.

Chang, W.K., Yang, K.D, and Shaio, M, F. 1999. Lymphocyte proliferation modulated by glutamine: involved in the endogenous redox reaction. Clinical and Experimental Immunology, 117: 482–488.

Collier, R.J., Collier, J.L., Rhoads, R.P. and Baumgard, L.H. 2008. Invited review: genes involved in the bovine heat stress response. Journal of Dairy Science, 91: 445–454.

Curi, R., Newsholme, P., Procopio, J., Lagranha, C., Gorjao, R. and Pithon-Curi, T.C. 2007. Glutamine, gene expression and cell function. Frontiers Biology Science, 12: 344–57.

Dangi, S.S., Gupta, M., Maurya, D., Yadav, VP., Panda, R.P., Singh, G., Mohan, N.H., Bhure, S.K., Das, B.C., Bag, S., Mahapatra, R.K. and Sarkar, M. 2012. Expression Profile of HSP genes during different seasons in goats (*Capra hircus*). Tropical Animal Health and Production, 44: 1905–1912.

Dikmen, S. and Hansen, P.J. 2009. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? Journal of Dairy Science, 92:109–116.

Duncan, D. B. 1955. Multiple ranges and multiple "F" test. Biometrics, 11: 1-12.

Helal, A., Hashem, A.L.S., Abdel – Fattah, M.S. and El –Shaer, H.M. 2010. Effects of heat stress on coat characteristics and physiological responses of Balady and Damascus goats in Sinai, Egypt. Amer. Euras. Journal of Agriculture and Environmental Science, 7: 60–69.

Hsu, C.B., Lee, J.W., Huang, H.J., Wang, C.H., Lee, T.T. and Yen, H.T. 2012. Effects of Supplemental Glutamine on Growth Performance, Plasma Parameters and LPS-induced Immune Response of Weaned Barrows after Castration. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 25: 674-681.

Houdijk, J.G.M., Kyriazakis, I., Jackson, F., Huntley, J.F. and Coop, R.L. 2000. Can an increased intake of metabolizable protein affect the periparturient relaxation in immunity against *Teladorsagia circumcincta* in sheep? Veterinary Parasitology, 91: 43-62.

Huntington, G. B., Reynolds, C. K. and Stroud, B. H. 1989. Techniques for measuring blood flow in splanchnic tissues of cattle. Journal of Dairy Science, 72: 1583–1595.

Kew, S., Wells, S., Yaqoob, P., Wallace, F.A., Miles, E.A. and Calder, P.C. 1999. Dietary glutamine enhances murine T-lymphocyte responsiveness. Journal of Nutrition, 129: 1524–1531.

Lacetera, N., Bernabucci, U., Scalia, D., Ronchi, B., Kuzminsky, G. and Nardone, A. 2005. Lymphocyte functions in dairy cows in hot environment. International Journal of Biometeorology, 50: 105–110.

Lin. M.T., Kung, S.P., Yeh, S.L., Liaw, K.Y., Wang, M.Y., Kuo, M.L., Lee, P.H. and Chen, W.J. 2005. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition attenuates plasma interleukin-6 in surgical patients with lower disease severity. World Journal of Gastroenterology, 11(39): 6197-6201.

Lobley, G.E., Hoskin S.O. and McNeil C.J. 2001. Glutamine in Animal Science and Production. Journal of Nutrition, 131: 2525S–2531S.

Mader T.L., Davis M.S. and Brown-Brandl T. 2006. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. Journal of Animal Science, 84: 712-719.

Mills, E.L., Kelly, B. and O'Neill, L.A. 2017. Mitochondria are the powerhouses of immunity. Nature Immunology, 18**:** 488.

Montilla, R. and Sandra, I. 2013. The effects of heat stress in redox balance and inflammatory signaling in porcine skeletal muscle. Graduate Theses and Dissertations. 13583.

Newsholme, E.A. and Parry-Billings, M. 1990. Properties of glutamine release from muscle and its importance for the immune system. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 14: 63S–67S.

Nisar, A., Sultana, M. and Ashraf, H. 2013. Oxidative stress-threat to animal health and production. International Journal of Livestock Research, 3: 76–83.

Nonnecke, B.J., Foote, M.R., Smith, J.M., Pesch, B.A. and Van Am-burgh, M.E. 2003. Composition and functional capacity of blood mononuclear leukocyte populations from neonatal calves on standard and intensified milk replacer diets. Journal of Dairy Science, 86: 3592-3604.

National Research Council. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Ocheja, O.B., J.O. Ayo., T. Aluwong. and N.S. Minka. 2017. Effects of L- glutamine on rectal temperature and some markers of oxidative stress in Red Sokoto goats during the hot-dry season. Journal of Tropical Animal Health and Production, 6: 1273-1280.

Okoruwa M.I. 2014. Effect of heat stress on thermoregulatory, live body weight and physiological responses of dwarf goats in southern Nigeria. European Scientific Journal, 10: 255–264.

Parry-Billings, M., Evans, J., Calder, P. and Newsholme, E.A. 1990. Does glutamine contribute to immunosuppression after major burns? The Lancet Oncology, 336: 523–525.

Pearce, S.C., Mani, V., Boddicker, R.L., Johnson, J.S., Weber, T.E., Ross, J.W., Rhoads, R.P., Baumgard, L.H. and Gabler, N.K. 2013. Heat stress reduces intestinal barrier integrity and favors intestinal glucose transport in growing pigs. Plos One, 8: E70215.

Peng, H.C. Chen, Y.L., Chen, J.R., Yang, S.S., Huang, K.H., Wu, Y.C., Lin, Y.H. and Yang, S.C., 2011. Effects of glutamine administration on inflammatory responses in chronic ethanol-fed rats. Journal of Nutrition Biochemistry, 22: 282-288.

Ribeiro, M.N., Ribeiro. N.L., Bozzi, R. and Costa, R.G. 2018. Physiological and biochemical blood variables of goats subjected to heat stress. Journal of Applied Animal Research, 46(1): 1036-1041.

Roth, E. 2008. Nonnutritive Effects of Glutamine. The Journal of Nutrition, 138: 2025S–2031S. 2011.

SAS. 2003. SAS Users Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Sahraei, H.R., Kiani, A., Azarfar, A. and Khamisabadi, H. 2020. Effect of Late Gestational Betaine Supplementation on Intermediate Metabolites, Homocysteine and Lipid Peroxidation in Pregnant Ewes and Their Offspring. Iranian Journal of Applied Animal Science, 10(3): 483-489.

Spittler, A., Winkler, S., Gotzinger, P., Oehler, R., Willheim, M., Tempfer, C., Weigel, G., Fugger, R., Boltz-Nitulescu, G. and Roth, E. 1995. Influence of glutamine on the phenotype and function of human monocytes. Blood, 86: 1564–1569.

Tanha, T., Amanlou, H., Chamani, M., Ebrahimnezhad, Y., Salamatdost, R., Maheri, N. and Fathi. M. 2013. Impact of glutamine on glutathione peroxidase activity (GPX) and total antioxidant status (TAS) during transition period in Holstein dairy cows. Journal of Cell and Animal Biology, 5: 206-214.

Van der Vusse, G. J. 2009. Albumin as fatty acid transporter. Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 24: 300–307.

Van Soest, P. J., Robertson, J. B. and Lews. B. A. 1991. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and nonstarch poly sacharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.

Wu, G., Bazer, F.W., Burghardt, R.C., Johnson, G.A., Kim, S.W. Li, X.L., Satterfield, M.C. and Spencer, T.E. 2010. Impacts of amino acid nutrition on pregnancy outcome in pigs: mechanisms and implications for swine production. Journal of Animal Science, 88: E195–E204.

Wu, Q.J., Wang, C., Zhu, L.L., Wang, S.Q., Zhao, L., Xing, Z.Y., Zhang, B.L., Jia, W.H., Ma, Y. and Wang, Y.Q. 2022. Effects of glutamine on growth performance and immune function of high- concentrate fattening Hu lambs. Small Ruminant Research, 216:106-113.

Yaqub, L.S., Kawu, M.U. and Ayo, J.O. 2013. Influence of reproductive cycle, sex, age and season on haematologic parameters in domestic animals: a review. Journal of Cell and Animal Biology, 7(4): 37-43.

Yassad, A., Husson, A., Bion, A. and Lavoinne, A. 2000. Synthesis of interleukin 1 and interleukin 6 by stimulated rat peritoneal macrophages: modulation by glutamine. Cytokine, 12: 1288-1291.