DOI: 10.22092/VJ.2022.358974.1985
شماره ۱۳۹ تابستان ۱۴۰۲
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

تغییرات بافت شناختی غده پستان بزهای سانن در آبستنی اول متعاقب مصرف چربی‌های اشباع و غیراشباع

• **هدی جواهری بارفروشی(نویسنده مسئول)**
بخش تحقیقات مدیریت پرورش دام و طیور، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **حسن صادقی‌پناه**
بخش تحقیقات مدیریت پرورش دام و طیور، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **نادر اسدزاده**
بخش تحقیقات مدیریت پرورش دام و طیور، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **مجید افشار**
آزمایشگاه مرکزی، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱-۰۳-۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱-۰۶-۰۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱-۰۵-۲۲ تاریخ انتشار: ۱۴۰۲-۰۴-۱
Emali: hoda.javaheribarfourooshi@gmail.com

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر مصرف منابع چربی اشباع و غیر اشباع در جیره اواخر آبستنی و اوایل شیردهی، بر تغییرات بافت‌شناختی غده پستان بزهای سانن شکم اول انجام شد. ۳۰ رأس بز ماده سانن از نیمهٔ دوم اولین آبستنی بر اساس وزن بدن به سه گروه تقسیم شدند. به هر گروه یکی از جیره‌های ۱) حاوی چربی اشباع (شاهد مثبت، C+)، ۲) حاوی دانه سویای برشته (امگا-۶، SB) و ۳) حاوی دانه بزرک اکسترود شده (امگا-۳، FS) اختصاص یافت. میزان تولید شیر به صورت هفتگی و نمونه‌گیری از بافت پستان در سه نوبت پس از زایش انجام شده و اطلاعات بافت‌شناختی غده پستان با استفاده از نرم‌افزار Image J به دست آمد. نتایج نشان داد مصرف دانه بزرک و دانه سویا موجب افزایش تولید شیر در کل دوره نسبت به گروه C+ شد (P<۰/۰۵). درصد سلول‌های اپیتلیال و درصد استروما در گروه FS در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین بود (P<۰/۰۵). مساحت آلوئول، لومن، اپیتلیال و تعداد سلول اپیتلیال در هر آلوئول در گروه SB بالاتر از سایر گروه‌ها اما تعداد آلوئول در واحد سطح برای گروه SB پایین‌تر از سایر گروه‌ها بود (P<۰/۰۵). با توجه به نتایج می‌توان چنین استنباط نمود که مصرف جیره‌های غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع، بویژه اسیدهای چرب امگا-۳، در دوره‌های بحرانی رشد پستان، با تأثیر بر رشد و نمو بافت پستان موجب بهبود عملکرد تولیدی و افزایش تولید شیر خواهد شد.

کلمات کلیدی: بز سانن، تولید شیر، مکمل چربی، سلول اپیتلیال، بافت‌شناسی

Veterinary Researches & Biological Products No 139 pp: 71-82

Histological Changes of Saanen Goat Mammary Gland in the First Pregnancy Following the Consumption of Saturated and Unsaturated Fats

By: Javaheri Barfourooshi, H., (Corresponding Author) Department of animal production management, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Sadeghipanah, H., Department of animal production management, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Asadzadeh, N., Department of animal production management, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. and Afshar, M., Central laboratory of Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Received: 2022-06-15 **Accepted: 2022-08-24**

Revised: 2022-08-13 **Published:2023-07-22**

Emali: hoda.javaheribarfourooshi@gmail.com

The aim of this study was to investigate the effect of saturated and unsaturated fat sources in the diet of late pregnancy and early lactation on histological changes in the mammary gland of nulliparous Saanen goats. Thirty does from the second half of pregnancy were divided into three groups based on body weight. For each group, the diet contained either: 1) saturated fat (positive control, C+), 2) roasted soybeans (omega-6, SB), or 3) extruded flaxseeds (omega-3, FS). Milk production was determined weekly and mammary tissue sampling was performed three times after kidding and the histological information of the mammary tissue was obtained using Image J software. The results showed that consumption of flaxseed and soybean increased milk production in the whole period compared to the C+ group ($P<0.05$). The percentages of epithelial cells and stroma were the highest and the lowest, respectively in the FS group compared to the other groups($P<0.05$). The areas of alveoli, lumen, epithelium and the number of epithelial cells per alveolus were higher in the SB group; however, the number of alveoli per unit area was lower in SB group than in the other groups ($P<0.05$). Based on the results, it is concluded that the consumption of diets rich in unsaturated fatty acids, especially omega-3 fatty acids, in critical periods of mammary gland growth, affects growth and development of mammary tissue, improves lactation performance and increases milk production.

Keywords: Saanen goat, Milk production, Fat supplement, Epithelial cell, Histology

مقدمه

غده پستان نشخوارکنندگان دارای ساختار بافتی ناهمگونی است که جمعیت‌های سلولی متعددی را در بر می‌گیرد. از آن جمله می‌توان به سلول‌های اپیتلیالی، سلول‌های مایواپیتلیالی، فیبروبلاست‌ها و آدیپوسیت‌ها اشاره کرد (۸). ظرفیت تولید شیر تا حد زیادي به تعداد سلول‌های اپیتلیال غدهٔ پستان بستگی دارد. این سلول‌ها داراي سازمان‌دهي پیچیده‌ای بوده و به طور قابل ملاحظه‌اي قادرند مواد مغذي موجود در خون را به ترکیبات شیر تبدیل کنند (۳). به طوری که Patton در سال ۱۹۶۹ اهمیت سلول اپیتلیالی پستان را به‌عنوان يك «کارخانهٔ بیولوژيك» تشخیص داده و پیشنهاد نمود که پس از «سلول فتوسنتزکننده»، به آن مقام دوم داده شود، چرا که عاملي براي حفظ بقاي پستانداران به‌شمار می‌رود (۳). با این اوصاف، تعداد و فعالیت ترشحی این سلول‌ها، از عوامل کلیدی تنظیم تولید شیر محسوب شده و بنابراین، دستکاری آن‌ها به هر نحو، مي‌تواند به‌طور مستقیم بر میزان تولید شیر اثر بگذارد (۸). کنترل رشد پستان، فرآیندی است که کنش بسیاري از هورمون‌ها را در برداشته و در عین حال تحت تأثیر عوامل خارجي همانند دوره‌های نوری و جیره غذایی نیز قرار می‌گیرد (۲).

از دیرباز تاکنون از مکمل‌هاي چربي بعنوان منبع انرژي در جیره دام‌هاي شیري استفاده می‌شود. ولیکن، در برخی موارد مشاهده شد که با مصرف جیره‌های پرچرب در دوره پیش از بلوغ، رشد و تکامل سلول‌های اپیتلیال در غده پستان آسیب می‌بینند (۱۲). اما در تحقیقات بعدی مشخص شد چنانچه در مراحل بحرانی رشد غده پستان، برای تأمین انرژي جیره، به جای چربی‌های اشباع از روغن‌هاي غیراشباع استفاده شود، علاوه بر اجتناب از آثار نامطلوب چربي‌هاي اشباع، مي‌توان از مزایاي متعدد آنها نیز بهره گرفت (۹). در سال‌های اخیر، اسیدهای چرب غیراشباع به عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی در بافت‌های بیولوژیک معرفی شده‌اند. این اسیدهای چرب از ترکیبات اصلی غشاء سلولی بوده و ترکیب آن‌ها بر عملکرد غشاهای سلولی تأثیر می‌گذارد (۱۴). اگرچه برخي از بافت‌ها از

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

ترکیبات جیره	جیره آبستنی			جیره شیردهی		
	C+[1]	SB[2]	FS[3]	C+	SB	FS
یونجه	۲۵	۲۳	۲۷	۴۰	۴۰	۴۰
کاه گندم	۴۵	۴۷	۴۳	-	-	-
دانه جو	۶/۵	۸	۴/۵	۴۰/۹	۳۷/۳	۳۷/۴
کنجاله سویا	۱۹/۲	۰	۱۳	۱۴/۲	۰	۹/۵
دانه سویای برشته	۰	۲۱/۵	۰	۰	۲۱/۵	۰
دانه بزرك	۰	۰	۱۲	۰	۰	۱۲
پالمك	۴	۰	۰	۳/۸	۰	۰
مکمل ویتامین و مواد معدنی[4]	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
میزان مواد مغذي محاسبه شده[5]						
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالري در کیلوگرم)	۲/۲۶	۲/۲۶	۲/۲۶	۲/۷۳	۲/۶۸	۲/۷۱
پروتئین خام (درصد)	۱۴	۱۴	۱۴	۱۶/۵	۱۶/۵	۱۶/۵
کلسیم (درصد)	۰/۷۰	۰/۶۱	۰/۷۲	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰
فسفر (درصد)	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۷	۰/۳۲	۰/۳۴	۰/۳۵
NDF (درصد)	۴۷/۱۲	۵۰/۱۵	۴۶/۸۴	۲۹/۶۲	۳۱/۲۵	۲۹/۷۷
ADF (درصد)	۳۱/۵۶	۳۳/۲۱	۳۱/۴۴	۱۷/۶۰	۱۹/۰۹	۱۷/۷۹
EE (درصد)	۴/۸۱	۴/۸۹	۴/۸۸	۵/۱۲	۵/۱۹	۵/۱۸
NFC (درصد)	۴۳/۱۸	۴۱/۴۸	۴۳/۰۵	۵۰/۷۲	۴۷/۲۵	۵۰/۱۸
اسیدهای چرب (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)						
14:0	۰/۴۵	۰/۱۷	۰/۰۸	۰/۴۷	۰/۲۱	۰/۱۱
16:0	۱۸/۰۹	۶/۸۲	۴/۱۵	۱۷/۶۶	۷/۱۱	۴/۵۱
16:1	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹
18:0	۱/۸۷	۱/۸۸	۲/۱۰	۱/۸۴	۱/۹۵	۲/۱۵
18:1	۱۶/۵۱	۱۱/۸۶	۱۰/۱۸	۱۵/۶۳	۱۱/۷۷	۱۰/۰۷
18:2	۹/۵۱	۲۹/۵۲	۱۱/۴۰	۹/۳۱	۲۹/۴۳	۱۱/۴۵
18:3	۱/۷۵	۴/۷۶	۲۴/۷۹	۲/۴۶	۵/۵۳	۲۵/۴۳
18:3/18:2	۷/۸۰	۶/۶۲	۵/۵۰	۵/۴۴	۴/۲۵	۳/۴۲

نظر ترکیب اسیدهاي چرب مشابه هستند، با این حال، تنوع گسترده‌اي در نسبت‌هاي اسیدهای چرب با چند پیوند غیر اشباع (Polyunsaturated fatty acid ;PUFA)، اسیدهای چرب با یک پیوند غیراشباع (Monounsaturated fatty acid; MUFA) و اسیدهای چرب اشباع (Saturated fatty acid; SFA) در بین تمامي بافت‌ها به چشم می‌خورد. این تفاوت‌هاي بزرگ در مقادیر بافتي اسیدهاي چرب، مي‌تواند نشانه‌اي از آن باشد که براي عملکرد مناسب هر بافت اسیدهاي چرب ویژه‌ای مورد نیاز است (۴). با توجه به نقش اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع در بسیاری از کنش‌های فیزیولوژیکی، بویژه اثر محرک آن بر رشد سلول، انتظار می‌رود با مصرف مواد خوراکی حاوی این ترکیبات، به عنوان غذاهای فراسودمند (Functional foods)، در اواخر اولین آبستنی که دوره‌ای بحرانی برای رشد پستان محسوب می‌شود، موجب افزایش بافت پارانشیمی نسبت به استرومای احاطه کننده‌ی آن شده و به این ترتیب، تأثیر مثبت و محرکی بر رشد، تکثیر و سازماندهی بافت پستان داشته باشد. بهبود رشد و نمو بافت پستان، در بهبود عملکرد تولیدی حیوان انعکاس خواهد داشت. از آنجا که تاکنون عمده‌ی مطالعات در ارتباط با تغییر در تعداد و کنش سلول‌های اپیتلیال پستان در گامه‌های مختلف رشد، روی حیوانات آزمایشگاهی متمرکز بوده و مطالعات محدودی در این ارتباط بر بافت پستان نشخوارکنندگان، به ویژه در شرایط سلامت وجود دارد، آزمایش حاضر با هدف ارزیابی تأثیر دستکاری جیره و مکمل نمودن آن با دانه بزرک اکسترود شده (غنی از اسیدهای چرب امگا-۳) و دانه کامل سویای فرآوری شده (غنی از اسیدهای چرب امگا-۶)، بر رشد بافت پستان طی اولین آبستنی در بز شیری طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در ایستگاه تحقیقات گوسفند و بز مؤسسه تحقیقات علوم دامي کشور واقع در شهرستان کرج با طول جغرافیایي ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی و عرض ۳۵ درجه و ۴۹ دقیقه شمالی انجام شد. سی رأس بز آبستن شکم اول از نژاد شیری سانن با شرایط پرورش یکسان که باروش اولتراسونوگرافی خارجی، تشخیص آبستنی شده بودند، از یک گله خصوصی انتخاب شده و طی دو ماه آخر آبستنی به ایستگاه منتقل و به طور تصادفی به سه گروه ده رأسی تقسیم شدند. این گروه‌بندی به شیوه‌ای انجام شد که میانگین وزن گروه‌ها یکسان باشد. بزهای هر گروه، یکی از سه جیره غذایی زیر را دریافت نمودند. این جیره‌ها از دو ماه آخر آبستنی (جیره آبستنی) تا چهار ماه پس از زایش (جیره شیردهی) در اختیار ماده بزها قرار گرفتند: ۱) جیره حاوی چربي اشباع (روغن پالم) با نام تجاري پالمك (شاهد مثبت، C+)؛ ۲) جیره حاوی دانه سویای برشته شده (گروه امگا-۶، SB) و ۳) جیره حاوی دانه بزرك اکسترود شده با نام تجاري امگالین (Omegalin, Valorex, France) که حدود ۴۵٪ از روغن آن اسید لینولنیك مي‌باشد (گروه امگا-۳، FS). جیره‌ها به گونه‌اي تنظیم شدند که ضمن تأمین احتیاجات حیوان بر اساس NRC (۱۵)، تا حد امکان انرژي و پروتئین یکسان داشته باشند. اجزاء و ترکیبات هر دو جیره در جدول یک ذکرشده‌اند. جیره‌ها به صورت کاملاً مخلوط آماده شده و دو بار در روز (صبح و عصر) در اختیار بزها قرار می‌گرفت و هر بار باقیمانده غذا از آخورها جمع‌آوری می‌شد.

پس از زایش تولید شیر تک تک ماده بزها 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. مقدار شیر دوشیده شده در ۱۲ ساعت، در دو ضرب گردید تا تولید شیر در ۲۴ ساعت به دست آید. ۲۴ الي ۳۶ ساعت بعد از زایش، دو و چهار ماه پس از زایش از هر کدام از کارتیه‌هاي بافت پستان نمونه بافت گرفته شد. نمونه‌های بافتی با استفاده از سوزن بیوپسی نیمه اتوماتیک با گیج (Gage) ۱۴برداشته شد. بدین صورت که ابتدا دام مهار و دوشیده شد، به‌طوری‌که کمی شیر در پستان باقی بماند،

ادامه جدول ۱- درصد اجزاء خوراك و میزان مواد مغذي محاسبه شده در جیره پایان آبستنی و اوایل شیردهی (بر اساس ماده خشك).

ترکیبات جیره	جیره آبستنی			جیره شیردهی		
	C+[1]	SB[2]	FS[2]	C+	SB	FS
مجموع اسیدهای چرب اشباع ، SFA[6]	۲۰/۴۲	۸/۸۷	۶/۳۳	۱۹/۹۷	۹/۲۶	۶/۷۷
مجموع اسیدهای چرب غیراشباع ، UFA[7]	۲۷/۸۵	۴۶/۲۳	۴۶/۴۶	۲۷/۴۹	۴۶/۸۲	۴۷/۰۴

۱- گروه آزمایشی+C: گروه شاهد مثبت، جیره حاوی منبع چربي اشباع (روغن پالم) با نام تجاري پالمك؛ ۲- گروه آزمایشی SB: گروه امگا-۶، جیره حاوی منبع چربي غیر اشباع از دانه سویای برشته شده؛ ۳- گروه آزمایشی FS: گروه امگا-۳، جیره حاوی منبع چربی غیر اشباع از دانه بزرک اکسترود شده.

۴هر کیلوگرم مکمل شامل: 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 بود.

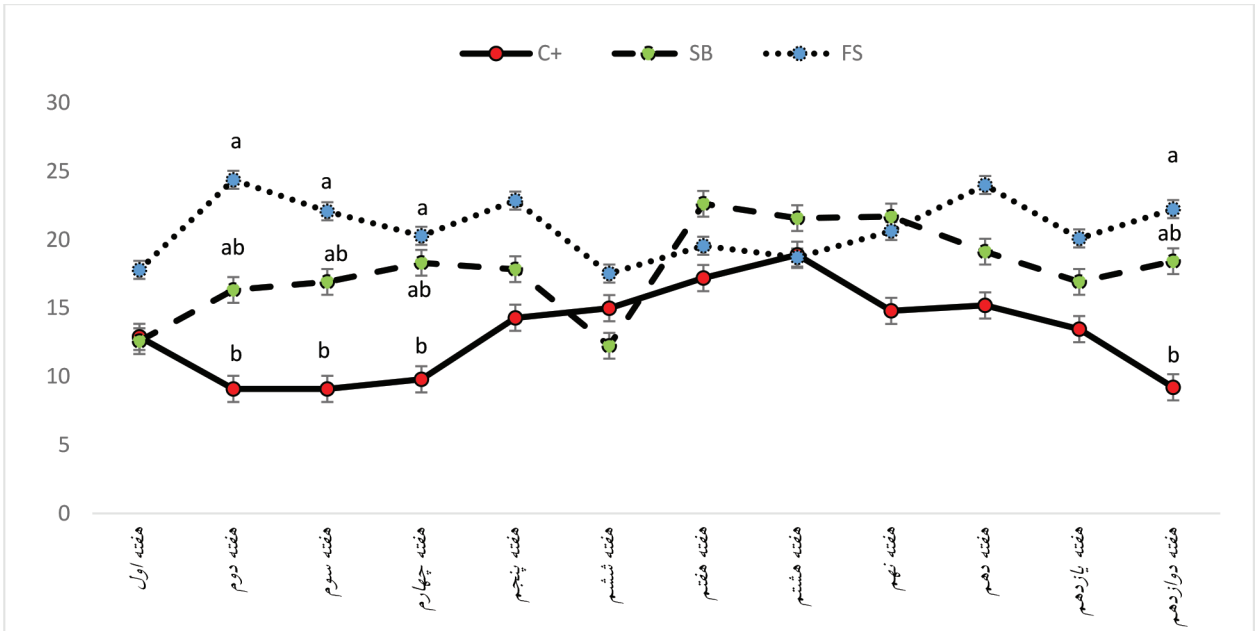
۵NDF: الیاف حاصل از شوینده خنثی؛ ADF: الیاف نامحلول در شوینده اسیدی؛ EE: عصاره اتری؛ NFC: کربوهیدرات های غیرفیبری

۶ برابر است با مجموع اسیدهای چرب 14:0، 16:0 و 18:0.

۷ برابر است با مجموع اسیدهای چرب 16:1، 18:1، 18:2 و 18:3.

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 (۱۷) نمونه‌گیری انجام شد. پس از اتمام نمونه‌گیری، موضع با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شد. به‌منظور قطع سریع‌تر خونریزی، کمپرس با یخ روی موضع انجام گردید و روی محل بیوپسی با اسپری تتراسیکلین پوشانده شد. سپس کارتیه با دست دوشیده شد تا لخته‌های خون تشکیل شده، از طریق نوک پستان خارج شوند و لخته‌ای در پستان باقی نماند و پس از آن پنج سی‌سی ویتامین K به حیوان تزریق گردید.

به منظور تضمین سلامت، نگهداری و پایدار نمودن بافت تا هنگام انتقال به آزمایشگاه، نمونه‌ها در ظروف دارای شماره دام و تاریخ، حاوی محلول تثبیت کننده فرمالین ۱۰ درصد، قرار داده شدند. مراحل آبگیری، شفاف‌سازی با الکل و الکل‌گیری و آغشتگی به پارافین به طور متوالی توسط دستگاه هیستوکینت (Jung Histokinette ,۲۰۰۰ Cambridge instruments, UK.) و به روش مرسوم انجام شد. با استفاده از قالب‌های لوکهارت و پارافین مایع، نمونه‌ها برای برش دادن آماده شدند. پس از خشک شدن پارافین و آماده شدن نمونه‌ها برای برش، با استفاده از دستگاه میکروتوم (Leica, Germany ,۲۱۴۵ Autocut RM) به هر نمونه برش‌های سریالی با ضخامت چهار میکرون داده شد. سپس دو الی سه برش بهتر که فاصله بین آنها حداقل ۳۰ میکرون بود، انتخاب شده و درون بن‌ماری محتوی آب ۵۰ درجه قرارداده شد تا چروک‌های ناشی از برش باز شوند. سپس لام با زاویه ۴۵ درجه زیر برش‌ها درون آب برده شده و به آرامی برش‌ها از سطح آب به روی لام منتقل شدند. پس از خشک شدن و درج شماره نمونه روی لام، رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین به روش مرسوم انجام شد. پس از اتمام مرحله رنگ‌آمیزی، مقداری چسب کانادا بالزام روی برش رنگ شده ریخته شد، سپس لامل را با زاویه ۴۵ درجه به طوری روی لام قرار گرفت که کلیه حباب‌های بین لام و لامل از درون چسب خارج شد و این عمل با کمی فشار بوسیله‌ی پنس انجام گردید تا کمترین فاصله نیز بین لام و لامل وجود داشته باشد (عمل مونته کردن). پس از رنگ‌آمیزی، هسته‌ها به رنگ آبی و سیتوپلاسم به رنگ قرمز و صورتی شدند. پس از آماده شدن لام‌ها و خشک شدن کامل چسب آنها، اسلایدها با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین با استفاده از بزرگ‌نمایی ۲۰ مورد بررسی قرار گرفته و از آنها عکس تهیه گردید. بر اساس روش براون و همکاران (۶) برای هر برش بافت ۶ میدان (Field) به طور تصادفی انتخاب شده و از آنها عکس‌برداری شد. در مجموع ۱۰ حیوان برای مطالعات بافت‌شناختی استفاده شدند. با احتساب این که



شکل۱- نمودار روند تغییرات میانگین تولید شیر هفتگی بین سه گروه آزمایشی طی ۱۲ هفته. C+، جیره حاوی منبع چربي اشباع (شاهد مثبت) با نام تجاري پالمك؛ SB، جیره حاوی منبع چربي غیر اشباع از دانه سویای برشته شده (امگا-۶)؛ FS، جیره حاوی منبع چربی غیر اشباع از دانه بزرک اکسترود شده (امگا-۳) با نام تجاری امگالین. معني‌داري در سطح ۵ درصد (P/۰۵>۰) در نظر گرفته شده است.

برای هر حیوان دو اسلاید تهیه شده و روی هر لام نیز دو برش بافت قرار داشت، بنابراین، تعداد عکس‌های گرفته شده برای هر حیوان در هر نوبت بیوپسی ۲۴ عکس بود. در مجموع، تعداد ۷۲۰ عکس مورد بررسی قرار گرفتند. عکس‌های تهیه شده با استفاده از نرم‌افزار Image j نسخه ۱/۴۷ (National institues of Health, USA) مورد ارزیابی قرار گرفتند (۱) و توسط ابزارهای مختلف این نرم‌افزار، درصد اپیتلیال، درصد لومن، درصد استروما، مساحت آلوئول، مساحت لومن، مساحت اپیتلیال، میانگین تعداد سلول اپیتلیال در هر آلوئول و تعداد آلوئول در هر عکس محاسبه شدند (۲). هر تصویر مساحت ۵۸۸۳۴/۶۷ میکرومترمربع را اشغال کرده بود. به منظور محاسبه درصد اپیتلیال، درصد لومن و درصد استروما، شبکه شفافی با ۸۸ نقطه تقاطع روی هر تصویر قرار داده شده و تعداد نقاطی که روی سلول اپیتلیال، لومن یا استروما قرار گرفته بودند، شمارش گردیده و سپس بر حسب درصد محاسبه شد. به منظور محاسبهٔ مساحت آلوئول، مساحت لومن و مساحت اپیتلیال، از ابزار Freehand selection و برای شمارش تعداد سلول‌ها و تعداد آلوئول‌ها، از ابزار Multi-point selection موجود در نرم‌افزار استفاده گردید. اطلاعات به دست آمده از نرم‌افزار پس از ثبت و مرتب‌سازی، با استفاده Proc mixed در نرم‌افزار SAS (۱۸) و با رویه داده‌های تکرار شونده در زمان آنالیز شدند. طرح آماری مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی و مدل آماری شامل اثر جیره، زمان نمونه‌گیری و اثر متقابل جیره و زمان نمونه‌گیری و اثر تصادفی بز درون جیره‌ها و ساختار مدل خودبرگشتی (Autoregressive order) بود. در جداول حداقل مربعات میانگین‌ها به همراه خطای میانگین استاندارد گزارش شده‌اند. میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج ذکر شده در مطالعه قبلی ما، وزن بدن ماده بزها در کل دوره بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشتند. اما تولید شیر در کل دوره برای گروه FS (۳۱/۴۷ کیلوگرم) بالاتر از C+ (۲۱/۴۶ کیلوگرم) بود ولی تفاوت معنی‌داری بین تولید شیر گروه SB (۳۰/۷۲ کیلوگرم) با دو گروه آزمایشی دیگر وجود نداشت (P<۰/۰۵). به منظور مقایسه آسان‌تر بین تغییرات بافت پستان با تغییرات تولید شیر گروه‌های آزمایشی، منحنی شیردهی در اینجا مجدداً آورده می‌شود (۱۱).

میانگین تولید شیر (کیلوگرم) در هر هفته و روند تغییرات تولید شیر بین چهار گروه آزمایشی طی ۱۲ هفته رکوردبرداری در شکل یک نشان داده شده است.

نتایج حاصل از مطالعات بافت‌شناختی در جدول دو نشان داده شده‌اند. درصد سلول‌های اپیتلیال بطور معنی‌داری برای گروه آزمایشی FS بیشتر از گروه آزمایشی SB و C+ بود (P<۰/۰۵). درصد استروما برای گروه‌های آزمایشی C+ و SB بالاتر از گروه آزمایشی FS بود (P<۰/۰۵). درصد

جدول ۲- میانگین اندازه‌هاي بافت شناختي پستان در گروه‌های آزمایشی طی ۱۲ هفته پس از زایش.

فراسنجه	جیره آبستنی			SEM
	C+[1]	SB[2]	FS[2]	
تعداد بز در هر گروه	۱۰	۱۰	۱۰	-
درصد سلول هاي اپيتليال	۳۷/۶۴ c	۴۲/۴۳ b	۴۸/۹۶ a	۱/۱۹
درصد استروما	۴۳/۱۳ a	۴۰/۰۸ a	۳۳/۳۶ b	۱/۵۵
درصد لومن	۲۰/۸۳	۱۸/۲۲	۲۰/۴۲	۰/۹۰
مساحت آلوئول (میکرومتر مربع)	۳۴۵۶/۳۰ b	۷۱۰۴/۹۶ a	۴۸۹۲/۸۵ b	۴۴۸/۳۰
مساحت لومن(میکرومتر مربع)	۱۵۲۳/۹۹ b	۲۹۰۸/۸۹ a	۱۸۳۳/۱۸ b	۲۲۵/۶۶
مساحت اپیتلیال(میکرومتر مربع)	۱۹۳۳/۷۴ c	۴۱۹۰/۳۵ a	۳۰۶۳/۰۰ b	۲۵۶/۷۲
تعداد سلول اپیتلیال در هر آلوئول	۲۹/۵۲ b	۳۷/۶۷ a	۳۲/۱۹ b	۱/۲۵
تعداد آلوئول	۷/۰۰ a	۴/۴۵ b	۷/۸۶ a	۰/۳۹

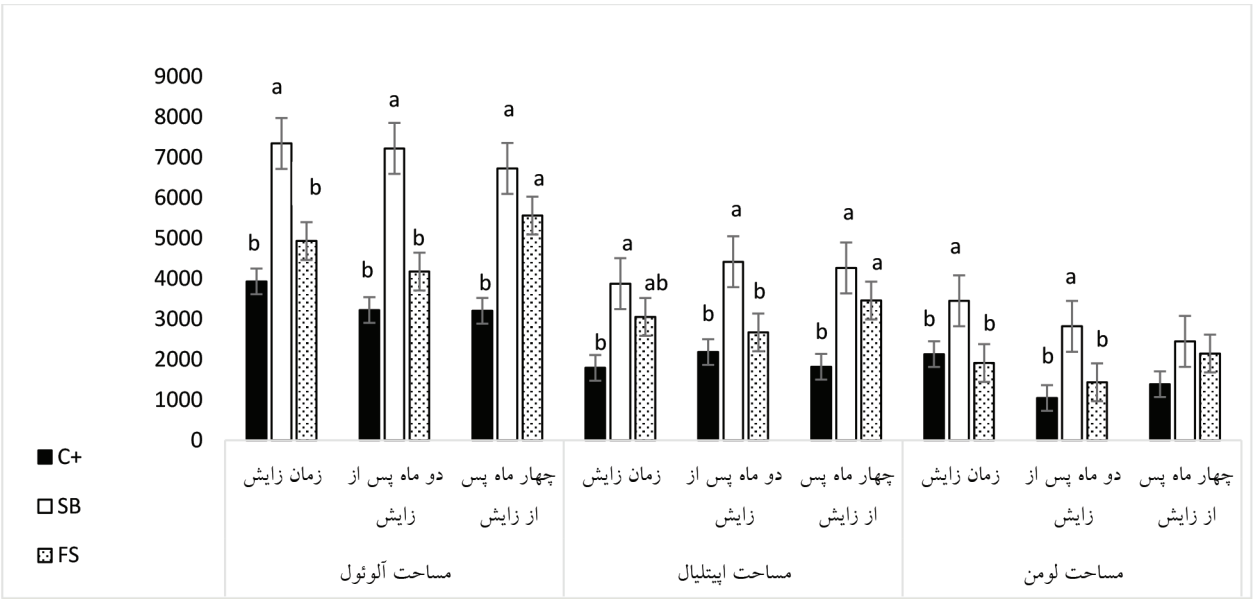
۱- گروه آزمایشی+C: گروه شاهد مثبت، جیره حاوی منبع چربي اشباع (روغن پالم) با نام تجاري پالمك؛ ۲- گروه آزمایشی SB: گروه امگا-۶، جیره حاوی منبع چربي غیر اشباع از دانه سویای برشته شده؛ ۳- گروه آزمایشی FS: گروه امگا-۳، جیره حاوی منبع چربی غیر اشباع از دانه بزرک اکسترود شده. معني‌داري در سطح ۵ درصد (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شده است.

لومن تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی نداشت. مساحت آلوئول، لومن و اپیتلیال برای گروه آزمایشی SB بالاتر از دو گروه آزمایشی دیگر بود (P<۰/۰۵). میانگین تعداد سلول اپیتلیال در هر آلوئول برای گروه SB بالاترین و تعداد آلوئول‌ها در هر برش بافت برای این گروه پایین‌ترین مقدار در مقایسه با دو گروه دیگر بود (P<۰/۰۵). با توجه با بالاتر بودن درصد اپیتلیال و پایین‌تر بودن درصد استروما در گروه FS در مقایسه با دو گروه آزمایشی C+ و SB می‌توان احتمال داد که مکمل چربی حاوی اسید چرب امگا-۳ قادر است روی تکثیر و حفظ سلول‌های اپیتلیال تأثیر بگذارد که در واقع با افزایش در تعداد سلول‌های اپیتلیال در اوایل شیردهی و فعالیت ترشحی آن‌ها پیش از پیک شیردهی منطبق است (۵). در اکثر گونه‌ها ظاهر بافت‌شناختی معمول بافت پارانشیمی بسیار مشابه است؛ نواحی وسیع حفره آلوئولی و بافت استرومایی فشرده شده بین آلوئول‌ها که در اواخر آبستنی تا شیردهی قابل مشاهده است. ناحیه نسبی اشغال شده توسط اپیتلیوم و فضای حفره آلوئولی مشابه هستند، تقریباً ۴۰ درصد برای هرکدام و ۲۰ درصد باقیمانده توسط بافت استرومایی پوشیده شده است. سلول‌های آلوئولی به طور پیشرونده‌ای متحمل تمایزهای بیوشیمیایی و ساختاری ضروری برای آغاز ترشح فراوان شیر (لاکتوژنز) در زمان زایش می‌شوند (۷).

در پژوهش حاضر، در بزهای دریافت کننده مکمل چربی غیراشباع (SB) مساحت آلوئول و اپیتلیال به طور معنی‌داری بزرگ‌تر از سه گروه دیگر بود. جواهری بارفروشی (۱۰) نیز در مطالعه خود با استفاده از روغن ماهی در تغذیه گاوهای خشک، نتایج مشابهی را بر بافت پستان مشاهده نمود. اسیدهای چرب بویژه اسیدهای چرب غیراشباع، رشد سلول‌های اپیتلیال پستان را تحریک نموده و قادرند اثرات برون‌تنی سایر عوامل رشد مانند IGF-I و EGF را افزایش دهند (۱۳). با توجه به نتایج بافت‌شناختی به نظر می‌رسد مصرف جیره حاوی دانه بزرک اکسترود شده یا دانه سویا که غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشند، موجب پیشبرد رشد و نمو بخش‌های اپیتلیالی پستان می‌شود؛ به گونه‌ای که در زمان زایش بافت پستان ساختاری کاملاً بالغ با سلول‌های اپیتلیالی فعال در مقایسه با دو گروه دیگر داشته است.

شکل‌های دو و سه به ترتیب تغییرات درصد و مساحت قسمت‌های مختلف بافت پستان را در سه گروه آزمایشی طی سه دوره نمونه‌برداری نشان می‌دهند.

همان‌گونه که در شکل دو ملاحظه می‌شود گروه آزمایشی FS طی ۱۲ هفته پس از زایش از نظر درصد اپیتلیال و درصد استروما تغییرات ثابتی داشته در حالی که برای گروه C+ می‌توان روند افزایشی درصد استروما را ملاحظه نمود (P<۰/۰۵). درصد لومن در هر سه گروه آزمایشی با گذشت زمان کاهش در اندازه را نشان داد(P<۰/۰۵). در شکل سه نیز مشاهده می‌شود مساحت آلوئول در زمان زایش در گروه آزمایشی C+ و FS کمتر از گروه SB بوده است (P<۰/۰۵). در اواخر شیردهی مساحت آلوئول تنها برای گروه C+ به طور معنی‌داری کمتر بود (P<۰/۰۵). اما آنچه اهمیت دارد مساحت ناحیه اشغال شده توسط سلول های اپیتلیال



شکل ۲- تغییرات درصد قسمت‌های مختلف بافت پستان در سه گروه آزمایشی طی سه دوره نمونه‌گیری (زمان زایش، دو ماه پس از زایش، چهار ماه پس از زایش). گروه آزمایشی+C: گروه شاهد مثبت، جیره حاوی چربی اشباع (روغن پالم) با نام تجاری پالمك؛ گروه آزمایشی SB: گروه امگا-۶، جیره حاوی چربی غیر اشباع از منبع دانه سویای برشته شده؛ گروه آزمایشی FS: گروه امگا-۳، جیره حاوی چربی غیر اشباع از منبع دانه بزرک اکسترود شده. معنی‌داری در سطح ۵ درصد(P<۰/۰۵) در نظر گرفته شده است.

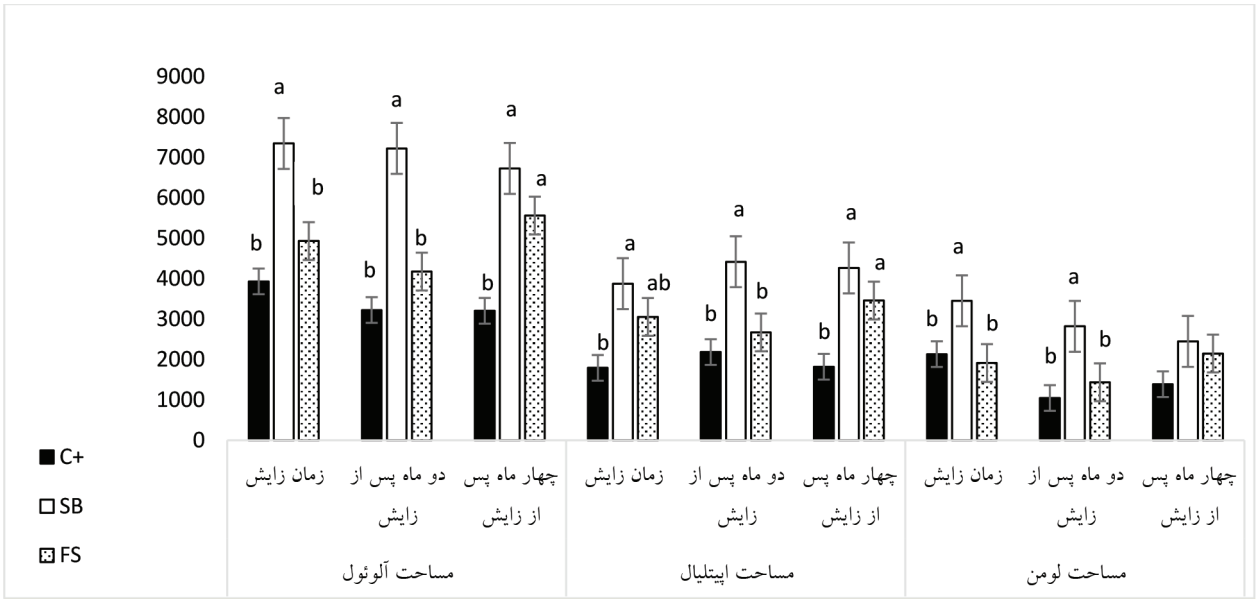
در برش بافت پستان است که مشاهده می‌شود در تمام دوره‌های نمونه‌گیری برای گروه SB بالاتر از دو گروه دیگر بوده و در چهار ماه پس از زایش که به پایان دوره شیردهی حیوان نزدیک می‌شود، دو گروه SB و FS مساحت اپیتلیال بالاتری در مقایسه با گروه آزمایشی C+ داشتند (P<۰/۰۵).

با توجه به روند تغییرات درصد و مساحت قسمت‌های مختلف بافت پستان طی چهار ماه شیردهی که در شکل‌های دو و سه نشان داده شده است، حکایت از اهمیت تأثیر مصرف اسیدهای چرب اشباع در مقایسه با اسیدهای چرب غیراشباع بر درصد ناحیه اشغال شده توسط سلول‌های اپیتلیال و استروما دارد، به نحوی‌که موجب کاهش درصد اپیتلیال و افزایش درصد استروما در گروه C+ گردید. همچنین مشاهده می‌شود که مساحت آلوئول و اپیتلیال در دو گروه SB و FS با نزدیک شدن به پایان دوره شیردهی، برخلاف گروه آزمایشی C+، کاهش نمی‌یابد. این امر شاید در ارتباط با به تعویق افتادن روند آپوپتوز در این گروه‌های آزمایشی باشد که موجب حفظ ساختارهای تولیدکننده شیر برای مدت زمان طولانی‌تر و در نهایت تداوم شیردهی (Lactation persistency) بالاتر برای این گروه‌ها می‌شود. برای اطمینان از این امر به پژوهش‌های بیشتری نیاز است.

رشد سلول‌های اپیتلیال توسط اسیدهای چرب غیراشباع و مشتقات آنها تحریک می‌شود. همچنین اسیدهای چرب غیراشباع و مشتقات آنها موجب افزایش آثار تکثیری EGF می‌شوند. اسیدهای چرب مشتق از آدیپوسیت‌ها، ممکن است از طریق سازوکارهای مستقیم و غیرمستقیم در این امر نقش داشته باشند که از طریق آنها لیپیدها و مشتقات آنها می‌توانند رشد اپیتلیال و احتمالاً مورفوژنز را تنظیم نمایند (۱۶). ترکیب اسید چرب در بافت آدیپوز منعکس کننده مصرف بلندمدت اسیدهای چرب از طریق غذا است. ترکیب اسیدهای چرب رژیم غذایی در ترکیب تری آسیل گلیسرول‌های ذخیره شده منعکس می‌شود و بنابراین، ممکن است بتوان از طریق رژیم غذایی آن را تغییر داد. تغییر اسیدهای چرب ذخیره شده در چربی پستان، از نقطه نظر ذخیره و آزادسازی اسیدهای چرب مورد نیاز برای تمایز، تکثیر و مورفوژنز طبیعی سلول‌های اپیتلیال پستان حائز اهمیت است (۱۹).

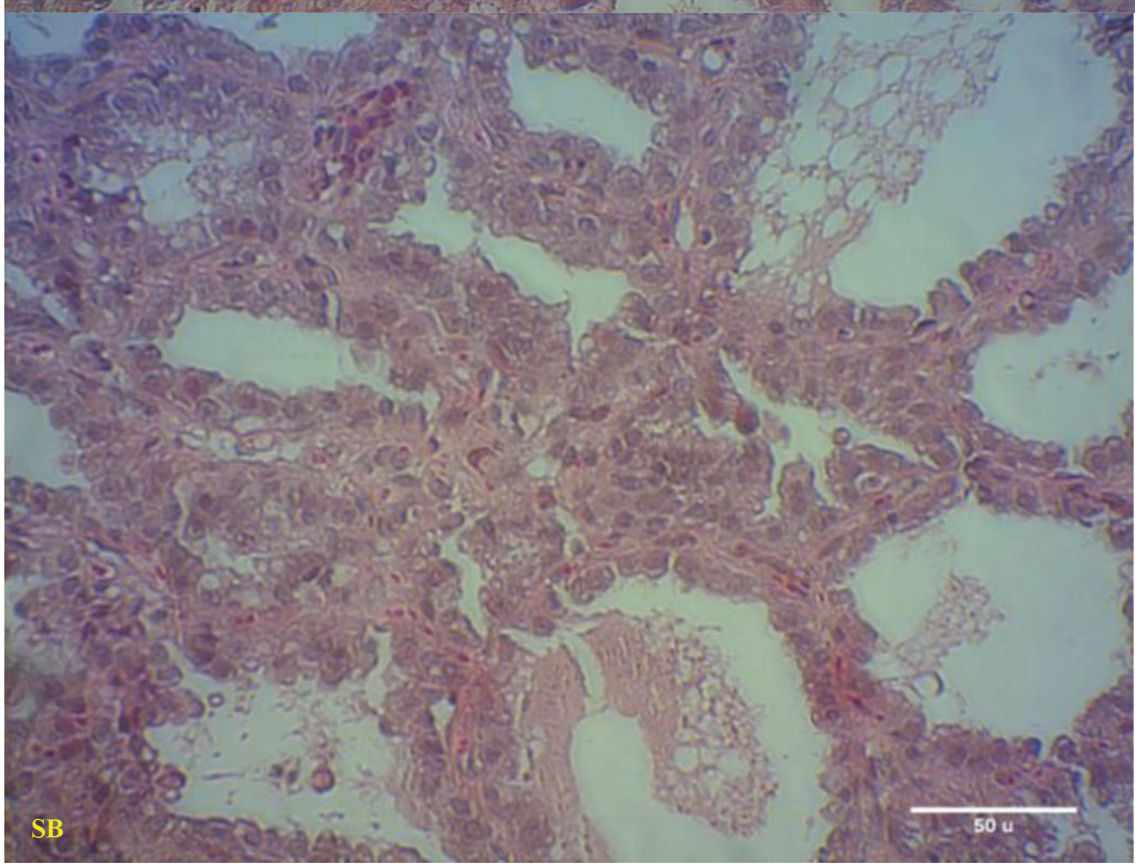
شکل چهار برش بافت پستان را براي گروه‌هاي C+، SB و FS نشان مي‌دهند. با مقايسه بين گروه‌ها ملاحظه مي‌شود كه گروه FS سلول‌هاي اپيتليال متراكم‌تر، استروماي كمتر و سلول‌هاي اپيتليال با ارتفاع بيشتري دارد.

اسید لینولئیک می‌تواند تکثیر سلول‌های طبیعی پستان را در جوندگان تحریک نماید. مشاهده شده اسید لینولئیک، اسید آراشیدونیک و پروستاگلاندین E2 (PGE2) قادرند اثر میتوژنیک فاکتور رشد اپیدرمی (EGF) را در سلول‌های اپیتلیال طبیعی پستان در محیط کشت افزایش دهند. بنابراین پیشنهاد گردید که اسیدهای چرب به طور مستقیم بر تکثیر سلول‌های طبیعی اپیتلیال پستان اثر می‌گذارند. از آنجایی که PGE۲ مشتق شده از اسید آراشیدونیک سطوح آدنوزین مونو فسفات سیکلیک



شکل ۳- تغییرات مساحت قسمت‌های مختلف آلوئول در بافت پستان در سه گروه آزمایشی طی سه دوره نمونه‌گیری (زمان زایش، دو ماه پس از زایش، چهار ماه پس از زایش). گروه آزمایشی+C: گروه شاهد مثبت، جیره حاوی چربي اشباع (روغن پالم) با نام تجاري پالمك؛ گروه آزمایشی SB: گروه امگا-۶، جیره حاوی چربي غیر اشباع از منبع دانه سویای برشته شده؛ گروه آزمایشی FS: گروه امگا-۳، جیره حاوی چربی غیر اشباع از منبع دانه بزرک اکسترود شده. معني‌داري در سطح ۵ درصد (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شده است.

C+
50 u


SB
50 u

(cAMP) درون سلولی را افزایش می‌دهد و همچنین آثار میتوژنیک cAMP بر سلول‌های اپیتلیالی پستان به اثبات رسیده است، بنابراین گمان می‌رود که مسیرهای فعال شده با cAMP در اعمال اثر اسیدهای چرب دخیل باشند (۲۰). برهمکنش اپیتلیال-آدیپوسایت نقش ویژه‌ای در نمو بخش اپیتلیالی پستان موش کوچک آزمایشگاهی بازی می‌کند. نمو پستان همچنین تحت تأثیر اسیدهای چرب غیراشباع رژیم غذایی قرار دارد. کمبود این اسیدهای چرب ضروری موجب توقف و یا کاهش رشد و مورفوژنز اپیتلیال پستانی بویژه در موش‌های آزمایشگاهی کوچک می‌شود. با وجودی که اسیدهای چرب ضروری برای کنش‌های طبیعی پستان مورد نیازند، مصرف مقادیر بالای این اسیدهای چرب ضروری از طریق غذا، موجب تسریع رشد تومورهای پستانی می‌شود. برخلاف هورمون‌ها و عوامل رشد که برای اعمال آثارشان نیازمند گیرنده‌های اختصاصی بر روی سلول هستند، اسیدهای چرب ضروری قادرند از میان غشاء (و اتصال به برخی از پروتئین‌ها) به درون سلول انتشار یافته، متابولیزه شده و/یا به طور مستقیم بر فعالیت برخی از مسیرهای درون سلولی تأثیر بگذارند. تأثیر اسید لینولئیک (18:2ω6) بر افزایش تکثیر سلولی ناشی از تحریک EGF از جمله‌ی این آثار است (۲۱).

نتایج حاصل از پژوهش حاضر به لحاظ تغییرات بافت شناختی، با تغییرات مورفولوژیک غده پستان که توسط جواهری بارفروشی و همکاران (۱۱) گزارش شده نیز همخوانی دارد. حجم پستان و اندازه کارتیه‌های پستان دو صفت مهم در تعیین عملکرد شیردهی حیوان به شمار می‌روند، به دلیل اینکه بیانگر مقدار شیر تولید و ذخیره شده در پستان می‌باشند. مصرف مکمل‌های چربی غیراشباع (جیره‌های حاوی دانه بزرک و دانه سویا) موجب شد تا گروه‌های آزمایشی SB (۵۵۵/۳۳ سانتی‌متر مکعب و ۳۷/۲۵ سانتی‌متر) و FS (۶۷۲/۸۶ سانتی‌متر مکعب و۳۸/۶۷ سانتی‌متر) حجم، محیط و کارتیه‌های بزرگتری در مقایسه با گروه C+ (۵۱۱/۲۳

شکل۴- برش بافت پستان برای گروه‌های C+ ، SB و FS در اولین بیوپسی (۲۴ الی ۳۶ ساعت پس از زایش). +C: گروه شاهد مثبت، جیره حاوی چربي اشباع (روغن پالم) با نام تجاري پالمك؛ SB: گروه امگا-۶، جیره حاوی چربي غیر اشباع از منبع دانه سویای برشته شده؛ FS: گروه امگا-۳، جیره حاوی چربی غیر اشباع از منبع دانه بزرک اکسترود شده. به تفاوت اندازه آلوئول‌ها، قطر لومن، تراکم و ارتفاع سلول‌های اپیتلیال بین سه گروه آزمایشی توجه شود.

سانتی‌متر مکعب و ۳۳/۹۹ سانتی‌متر) داشته باشند، که این تغییرات در تولید شیر بالاتر این گروه‌ها منعکس شده است. با در نظر گرفتن نقش تعیین‌کننده صفحه چربی پستان بر رشد و نمو سلول‌های اپیتلیال و اهمیت نوع اسید چرب ذخیره شده در این بافت، می‌توان حجم بیشتر غده پستان و تولید شیر بالاتر در گروه‌های تغذیه شده با مکمل‌های چربی غیراشباع (جیره‌های حاوی دانه بزرک و دانه سویا) را نتیجه تأثیر اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه موجود در این مکمل‌های چربی به عنوان ترکیبات فراسودمند (Functional components)، بر رشد و نمو سلول‌های اپیتلیالی غده پستان دانست. به این ترتیب، با توجه به نتایج، می‌توان اثر مثبت مصرف روغن‌های غیر اشباع را بر رشد پستان و صفات ریخت‌شناسی آن در ابعاد ماکروسکوپی و میکروسکوپی به وضوح مشاهده نمود. بدیهی است هر چه پستان حجم بیشتری داشته باشد، ظرفیت تولید و ذخیره شیر نیز افزایش می‌یابد. البته به شرطی که حجم بیشتر پستان نه به‌واسطه تجمع چربی در این بافت، بلکه به دلیل افزایش تعداد و مساحت اشغال شده توسط سلول‌های اپیتلیالی پستان باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج ذکر شده در این مقاله بیانگر آن هستند که با افزودن دانه بزرک به جیره از اواسط دوران آبستنی، دوره‌ای که سلول‌های بافت پستان در حال رشد و تکثیرند، می‌توان موجب تحریک روند تکثیر و نمو سلول‌های اپیتلیال آلوئول شده و در عین حال با حفظ و توسعه سلول‌های پارانشیمی تولیدکننده شیر طی دوره شیردهی، عملکرد شیردهی را در ماده‌بزهای سانن بهبود بخشید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از همکاری بی‌دریغ پرسنل آزمایشگاه مرکزی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، به ویژه آزمایشگاه پوست والیاف دامی ابراز می‌دارند.

منابع مورد استفاده

1. Abramoff, M. D., P. J. Magelhaes, and S. J. Ram. 2004. Image Processing with Image J. *Biophotonics Int*, 11, 36–42.

2. 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. *Livest Sci*, 105, 44-49.

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

4. Bilby, T.R., A. Guzeloglu, L.A. MacLaren, C.R. Staples, and W.W. Thatcher. 2006. Pregnancy, bovine somatotropin, and dietary n-3 fatty acids in lactating dairy cows: II. Endometrial gene expression related to maintenance of pregnancy. *J Dairy Sci*, 89, 3375-3385.

5. Boutinaud, M., J. Guinard-Flament, and H. Jammes. 2004. The number and activity of mammary epithelial cells, determining factors for milk production. *Reprod Nutr Dev, EDP Sci*, 44, 499-508.

6. Brown, E. G., M. J. VandeHaar, K. M. Daniels, J. S. Liesman, L. T. Chapin, J. W. Forrest, R. M. Akers, R. E. Pearson, and M. S. Weber Nielsen. 2005. Effect of increasing energy and protein intake on mammary development in heifer calves. *J Dairy Sci*, 88, 595-603.

7. Capuco, A.V. and R.K. Choudhary. 2020. Symposium review: Determinants of milk production: Understanding population dynamics in the bovine mammary epithelium. *J Dairy Sci*, 103, 2928-2940.

8. Herve, L., H. Quesnel, V. Lollovier, and M. Boutinaud. 2016. Regulation of cell number in the mammary gland by controlling the exfoliation process in milk in ruminants. *J Dairy Sci*, 99, 854-863.

9. Hue-Beauvais, C., Y. Faulconnier, M. Charlier, and C. Leroux. 2021. *Genes*. 12, 523.

10. Javaheri Barfourooshi, H., A. Towhidi, H. Sadeghipanah, M. Zhandi, S. Zeinoaldini, E. Dirandeh, and R. M. Akers. 2018. Effect of dietary fish oil on mammary gland development and milk production of Holstein cow. *Ann Anim Sci*, 18, 973-990.

11. Javaheri Barfourooshi, H., H. Sadeghipanah, N. Asadzadeh, N. Papi, and F. Mousavipoor. 2020. Effect of fat supplemental type on milk production, and composition and mammary gland morphological parameters in primiparous Saanen does. *Anim Prod*, 22, 479-490.

12. Kamikawa, A., O. Ichii, D. Yamaji, T. Imao, C. Suzuki, Y. Okamatsu-Ogura, A. Terao, Y. Kon, and K. Kimura. 2009. Diet-induced obesity disrupts ductal development in the mammary glands of nonpregnant mice. *Dev Dyn*, 238, 1092-1099.

13. Liu, J. and D. W. L. Ma. 2014. The role of n-3 Polyunsaturated fatty acids in the prevention and treatment of breast cancer. *Nutrients*, 6, 5184-5223.

14. Moallem, U. 2009. The effects of extruded flaxseed supplementation to high-yielding dairy cows on milk production and milk fatty acid composition. *Anim Feed Sci Tech*, 152, 232-242.

15. National Research Council. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and new world Camelids. The National Academic Press, Washington, DC.

16. Peters, J. M., Y. M. Shah, and F. J. Gonzalez. 2013. The role of peroxisome proliferator- activated receptors in carcinogenesis and chemoprevention. *Nat Rev Cancer*, 12, 181-195.

17. Safayi, S. Theil, P. K. Elbrond, V. S. Hou, L. Engbaek, M. Norgaard, J. V. Sejrsen, K. and M. O. Nielsen. 2010. Mammary remodeling in primiparous and multiparous dairy goats during lactation. *J Dairy Sci*, 93, 1478-1490.

18. SAS Institute. 2004. SAS User's guide. Statistics, Version 9.1.

3 editions.SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

19. Varga, T., Z. Czimmerer, and L. Nagy. 2011. PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1812, 1007-1022.

20. Wang, B., L. Wu, J. Chen, L. Dong, C. Chen, Z. Wen, J. Hu, I. Fleming, and D. W. Wang. 2021. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther*, 6, 94.

21. Yonezawa, T., S. Haga, Y. Kobayashi, K. Katoh, and Y. Obara. 2008. Unsaturated fatty acids promote proliferation via ERK1/2 and Akt pathway in bovine mammary epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 367, 729-735.