بررسی مقادیر ظرفیت کل آنتی اکسیدانی(TAC)پلاسمای گاوهای شیری نژادهلشتاین در پایان آبستنی و ارتباط آن با مقدار پارامترفوق در گوساله‌های نوزاد حاصله

سوگند مشفقی[1*]، حمیدرضا ظهیری[2]

۱ـ دانش آموخته دکترای تخصصی کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، تهران ـ ایران.
۲ـ گروه بیوشیمی، آموزشکده دامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان ـ ایران.
*نویسنده مسئول: sogand_vet2000@yahoo.com

چکیده

به منظور خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد مختلف تولید شده در سلول در حین تنفس سلولی، مجموعهٔ عوامل آنتی اکسیدانی بدن، توانایی‌ای تحت نام ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC) دارند که در مایعات متعدد بیولوژیک از قبیل سرم، پلاسما، شیر وادرار قابل ارزیابی است.

با توجه به موارد مذکور، اقدام به اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما از ۱۰۰ گاوآبستن در دوهفته مانده به آخر آبستنی گردید وسپس مقادیر TAC درگوساله‌های نوزادسه روزه پس از دریافت آغوزبه جهت ارزیابی انتقال مادری TAC ووجود یا عدم وجود ضریب همبستگی بین TAC مادر و گوساله نوزاد اندازه‌گیری شد. نتایج داده‌ها، همبستگی مثبت ومعنی‌داری را بین TAC مادر و TAC گوسالهٔ نوزاد در حد و در سطح نشان داد و اختلاف میانگین سطوح TAC در گاوها بیشتر از گوساله‌ها برآورد گردید. این مفاهیم بیانگرآن است که با افزایش TAC پلاسمای مادر میزان TAC پلاسمای گوساله نوزاد نیز افزایش می‌یابد و این افزایش در گوساله‌های نوزاد گامی در جهت کاهش صدمات پاتولوژیک اکسیداتیو حاصله از استرس‌های مختلف وارده به گوساله‌های نوزاد است وبه عنوان نوعی تمهید در بهبود مدیریت گاوداری‌های شیری و کاهش مصرف داروها و بهبود شرایط اقتصادی درآن‌ها تلقی می‌شود. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، ۱۳۸۷، دوره ۴، شماره ۱، ۲۰-۱۷.

واژه‌های کلیدی: ظرفیت کلی آنتی اکسیدان، گاو، گوساله.

Study of plasma total antioxidant capacity (TAC) of dairy Holstein cow in late pregnancy and its correlation with newborn calves

Moshfeghi,S.[1]*, Zahiri,H.[2]

[1]Post Graduated of Veterinary Medicine, Islamic Azad Univercity Sciences & Researches Campus, Tehran,Iran. [2]Department of Clinical Biochemistry ,Univercity of Boalisina, Hamedan, Iran.

Abstract

Free radicals can be produced during the respiratory oxidation of different cells. These free radicls can damage to various macromolecules as protein,fat,nucleic acids and…,are harmful for body. The natural defence system that can prevent the damage of free radicals and neutralize them,have tittled under the name of total antioxidant capacity(TAC)and probably can transport from maternal plasma to its fetus or by clostrum after calving. In this respect we have determined 100 dairy cattle(2weeks before calving)and its calves(3 day calf after reciving clostrum) and measured plasma TAC level in them by ferric reducing ability of plasma (frap)method. The results were analyzed by T_test and pearson correlation and positive correlation was shown between maternal and newborn plasma TAC with (r=0.47 and p<0.005)by meanvalue(1222+_0.88) μ mol/lit in cows and (963+_0.73) μmol/lit in calves. Then could be determined the possitive transport of antioxidant agents from maternal blood to fetus in pregnancy course with combination of clostrum after 3 days of calf birth. so care a rich antioxidant status in pregnant cow and then in its newborn calves,is a way to improve management and decrease pathological damage from different oxidative stress in cow and calves. ***Vet. J. of Islamic. Azad. Univ., Garmsar Branch. 4,1:17-20,2008***

Keywords: TAC,Cow,Calf

مقدمه

در گاوداری‌های شیری موارد متعددی از عوامل استرس‌زا وجوددارد که منجربه افزایش مقدار رادیکال های آزاد سلولی شده و بروز ضایعات اکسیداسیونی پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک سلولی و نهایتاً شرایط بروز موارد پاتولوژیک و بیماری‌های متعدد به بدن را فراهم می‌آورد.

عوامل آنتی اکسیدانی بدن، عوامل متعددی جهت خنثی‌سازی رادیکال های آزاد مختلف تولید شده در سلول در حین تنفس سلولی (از قبیل رادیکال آزاد اکسیژن) و جلوگیری از تجمع آنها در سلول هستند. این عوامل شامل انواع مختلف آنزیمی پراکسیدازها، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و

BEST

انواع غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدان‌ها از قبیل پروتئین‌های آلبومین، ترانسفرین، متالوتیونین و انواع ویتامین‌های E و C بدن می‌باشند. مجموعهٔ عوامل آنتی‌اکسیدانی بدن، توانایی بالقوه‌ای در احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد مختلف حاصله از چرخه سلولی دارند که این توانایی تحت نام ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC= TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY)نامیده می‌شود و در مایعات متعدد بیولوژیک از قبیل سرم، پلاسما، شیر و ادرار قابل ارزیابی است. امروزه مطالعات وسیعی در طب انسانی بر روی عوامل موثر بر میزان TAC سرم از قبیل عوامل مختلف تغذیه ای و پاتوژنها و تغییرات آن در خلال بیماریهای مختلف انجام شده است. از آنجائی که با افزایش ظرفیت TAC از اثرات مضر رادیکالهای آزاد در بدن کم میشود، توجه به افزایش آن و خنثی سازی رادیکالهای آزاد از اهمیت ویژه ای برخوردار است. جهت ارزیابی TAC در سرم روشهای متعددی در طب انسانی و دامی استفاده میشود که عبارتند از (RANDOX - TEAC) - FRAP - ORAC و روش فتومتری. PLC بین روش RRAP و ORAC همبستگی مشخصی وجود دارد . در تحقیق حاضر به جهت سهولت دسترسی و تسهیل از روش FRAP بهره گرفته شده است.

هدف از انجام این مطالعه اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما در دو هفته مانده به آخر آبستنی گاو و در گوساله‌های نوزاد سه روزه پس از دریافت آغوز، به جهت ارزیابی انتقال مادری TAC و وجود یا عدم وجود ضریب همبستگی بین TAC مادر و گوساله میباشدتااحتمالا بتوان با افزایش مقدار TAC، درگاووومتعاقبادرگوساله نوزاد، گامی در جهت بهبود مدیریت گاوداری‌های شیری و کاهش صدمات اکسیداتیو حاصله از استرس‌های مختلف در گاو و گوسالهٔ نوزاد برداشت.

مواد و روش کار

جهت تعیین حجم نمونه و تعیین ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما، اقدام به مطالعه پایلوت گردید. بعد از تعیین حجم نمونه، تعداد ۱۰۰ راس گاوشیری بطور تصادفی از یک گاوداری با شرایط تغذیه‌ای، محیطی، نژاد و دورهٔ شیرواری یکسان انتخاب و در دو هفته مانده به آخر آبستنی اقدام به اخذ 5CC نمونه خون در حضور ضدانعقاد EDTA شد و سپس از تعداد ۱۰۰ گوسالهٔ نوزاد گاوهای فوق نیز در سه روزگی اقدام به نمونه‌گیری شد. نمونه‌های خون گرفته شده در کنار یخ به آزمایشگاه ارسال و در آنجا با عمل سانتریفوژ پلاسما جداسازی شده و جهت تعیین ظرفیت کل

جدول۱ - توزیع میانگین و انحراف معیار مقادیر پارامتر «TAC» در دام‌های تحت مطالعه.

	پارامتر	تعداد	میانگین	انحراف معیار (st.d)	حداقل	حداکثر
گاو	TAC ($\mu mol/Lit$)	۱۰۰	۱۲۲۲/۸۸۸۷	۱۹۵/۳۳۱۷	۸۵۰/۲۶	۱۵۶۰/۰۰
گوساله	TAC ($\mu mol/Lit$)	۱۰۰	۹۶۳/۷۳۶۳	۱۲۸/۷۶۲۸	۷۱۶/۶۳	۱۲۰۰/۲۸
Total	-	۲۰۰	۱۰۹۳/۳۱۲۵	۲۱۰/۰۰۹۵	۷۱۶/۶۳	۱۵۶۰/۰۰

جدول ۲: ضریب همبستگی بین میزان TAC در گاو و گوساله حاصله: TAC=آنتی اکسیدان گاو ، TAC1 =آنتی اکسیدان گوساله.

	TAC1	*TAC*
(*r*)ضریب همبستگی TAC تعداد	۱ ۱۰۰	۱۰۰۰/۴۷
(r) ضریب همبستگی TAC_1 تعداد	۱۰۰۰/۴۷	۱ ۱۰۰

TAC =آنتی اکسیدان گاو
TAC_1 =آنتی اکسیدان گوساله

آنتی اکسیدانی پلاسما (TAC) بر طبق روش FRAP=Ferric reducing ability of plasma، نمونه‌ها در فریزر نگهداری شدند و سپس بر طبق زیر روش FRAP روی نمونه‌های خون انجام شد:

ابتدا ئا محلولهای اسید کلریدریک ۴۰ میلی مولار - بافر استات ۳۰۰ میلی مولار - کلرید آهن ۴۰ میلی مولار و معرف TPTZ ۱۰ میلی مولار آماده شد. سپس محلول کار FRAP شامل (کلرید آهن + معرف TPTZ)تهیه شد و نهایتا ۴ محلول استاندارد یون آهن (از سولفات آهن) با غلظتهای ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومول در لیتر تهیه شد. به تمام نمونه های استاندارد و مجهول، ۱/۵ میلی لیتر از محلول کار FRAP ریخته و لوله ها به مدت ۵ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد و جذب نوری کلیه نمونه ها در طول موج ۵۹۳ نانومتر مقابل محلول بلانک قرائت گردید.

نتایج

میانگین مقادیر TAC در ۱۰۰ راس گاو شیری آبستن در یک گاوداری مقدار ($\mu mol/Lit$) ۱۲۲۲±۰/۸۸ ارزیابی شد. بالاترین مقدار TAC، ($\mu mol/Lit$) ۱۵۶۰ و کمترین مقدار ($\mu mol/Lit$)۸۵۰/۲۶ بودند. مقادیر TAC در گوساله‌ها نیز به ترتیب از ماکزیمم ($\mu mol/Lit$)۱۱۰۰/۲۸ و مینیمم ($\mu mol/Lit$) ۷۱۶/۶۳ و میانگین ($\mu mol/Lit$) ۹۶۳±۰/۷۳ برخوردار بود.

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار spss و ضریب همبستگی

بین پارامترها توسط آزمون پیرسون (r) انجام شد. نتایج داده‌ها همبستگی مثبت و معنی‌داری را بین TAC مادر و TAC گوسالهٔ نوزادر در حد و در سطح نشان داد و اختلاف میانگین سطوح TAC در گاوها بیشتر از گوساله‌ها برآورد گردید. این مفاهیم بیانگر آن است که هرچه میزان TAC مادر در آبستنی بالا باشد متعاقباً TAC گوساله نیز بالا می‌رود که احتمالاً افزایش میزان TACگوساله بتواند گامی موثر در بهبود مدیریت گاوداری‌ها قلمداد شود

بحث و نتیجه‌گیری

علل زیادی از جمله علل ارثی و محیطی منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها شده و در نتیجه سبب ایجاد استرس اکسیداتیو در بدن می‌شوند. رادیکال‌های آزاد، به خصوص رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب اختلال در وظایف بیولوژیک سلول‌ها و اختلال در ارگان‌های حیاتی سلول از جمله میتوکندری و میکروزوم‌ها می‌گردند (۶،۴). در نهایت آسیب‌های اکسیداتیو منجر به تغییر ساختار بیومولکول‌هایی نظیر پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک بدن می‌شود (۱۱،۶،۴).

آنتی اکسیدان‌ها از عوامل مهم پیشگیری کننده از آسیب‌های رادیکال‌های آزاد در شرایط استرس هستند.

در حالت طبیعی در بدن، سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در تعادل با سرعت تولید رادیکال‌های فعال می‌باشد و این امر در حفظ هموستاز بدن مهم است (۱۲،۲). کاهش مقادیر عوامل آنتی اکسیدانی موجب کاهش احیاء رادیکال‌های آزاد تولید شدهٔ حاصل چرخه تنفس سلولی می‌شود. و در نتیجه احتمالاً زمینه را برای بروز ضایعات پاتولوژیک اکسیداتیو فراهم می‌کند (۱۱،۱۰،۳).

جهت ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی سرم از روشهای متعددی در طب انسانی استفاده میشود شامل: (TEAC - ORAC - RANDOX) روش فتومتری PLC و روش FRAP. که در این میان روش FRAP به جهت سهولت و دقت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در تحقیقات مختلف در مورد تاثیر پذیری میزان TAC سرم انسانها از رژیمهای مختلف غذائی گیاهی و حیوانی اطلاعاتی وجود دارد. همچنین از اثر استرسهای اکسیداتیو در شرایط مختلف بر میزان TAC سرم انسانها و نیز تاثیر پذیری ظرفیت کل آنتی اکسیدانی در بیماریهای التهابی تحقیقاتی صورت گرفته است (۵،۴،۲،۱).

مطالعهٔ انجام شده جهت ارزیابی وجود یا عدم وجود ضریب همبستگی میزان TAC بین مادر و گوسالهٔ نوزاد می‌باشد و این خود به عنوان نوعی توجه به میزان قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد بدن و در نتیجه کاهش صدمات پاتولوژیک حاصله از آنها است. در تحقیق حاضر، میانگین میزان TAC در پلاسمای ۱۰۰ گاو و آبستن، ($\mu mol/L$)۰/۸۷+۱۲۲۲ برآورد گردید (جدول ۱) که متاسفانه تحقیقات مشابه و زیادی در مورد TAC گاو در منابع مختلف موجود نیست و تنها گزارشات معدود در خصوص کاهش TAC در سرم گاوهای گوشتی در خلال استرس و بیماری‌های تنفسی بعد از حمل و نقل وجود دارد (۹،۸).

حداقل میزان پارامتر TAC در گاوهای تحت مطالعه ($\mu mol/L$)۸۵۰/۲۶ و حداکثر آن ($\mu mol/L$)۱۵۶۰ به دست آمده که باز هم اطلاعات مشابهی در خصوص مقایسه در ایران وجود ندارد.

البته در انسان‌ها در مورد TAC و ارزیابی پارامترهای دخیل در آن و تغییرات TAC در خلال بیماری‌های مختلف گزارشات متعددی در اینترنت وجود دارد (۵،۴،۲،۱).

در دامپزشکی نیز در مورد ارزیابی پارامتر TAC در اسب و حیوانات آزمایشگاهی (rat) در خلال بیماری‌های مختلف گزارشاتی توسط محققین وجود دارد که خود بیانگر اهمیت پارامتر TAC می‌باشد (۱۴،۳،۲،۱).

در گوساله‌های تحت مطالعه نیز بر طبق جدول شمارهٔ ۱، حداقل میزان TAC پلاسما ($\mu mol/L$)۷۱۶/۶۳ و حداکثر آن ($\mu mol/L$)۱۲۰۰/۲۸ و میانگین TAC پلاسمای گوساله‌های ۹۶۳/۷۳ برآورد گردید که متاسفانه تاکنون در مورد TAC گوساله‌ها اطلاعات مشابهی جهت مقایسه وجود ندارد.

همچنین در تحقیق انجام شده بر طبق جدول ۲ وجود ضریب همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان آنتی اکسیدان‌های کلی پلاسمای خون (TAC) در گاو و گوسالهٔ نوزاد به میزان r=۰/۴۷ در سطح P<۰/۰۰۵ برآورد گردید و این بیانگر انتقال عوامل آنتی اکسیدانی از گاو به گوسالهٔ نوزاد است و با توجه به اینکه آنتی اکسیدانها یکی از عوامل خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد حاصل از استرس‌ها و کاهش صدمات پاتولوژیک استرس‌های مختلف هستند (۱۳) و با بهبود تامین مقادیر آنها در گاوهای آبستن و متعاقباً در گوساله‌های نوزاد امید است که نوعی تمهید در جهت کاهش عوامل مستعدکنندهٔ اکسیداتیو در گاوها و گوساله‌ها و متعاقباً کاهش مصرف داروها و کاهش ضررهای اقتصادی وارده به گاوداری‌ها باشد که پرداختن به این قضیه مستلزم تحقیقات وسیع دیگری در آینده می‌باشد.

RICEST

References

1. Dadkhah, A., Fatemi, F., Allameh, A. (2005) Enzymatic and non enzymatic antioxidant factors and plasma total antioxidant capacity in developing and adult rats.Mokcular and cellular biochamistry, **281:**145-152.
2. Jamro, A. Beltwoski, J. (2002) Cervastatin modulates plasma paraoxonase/arylesterase activity and oxidant/antioxidant balance in the rat, pharmcol, **54:** 143-150.
3. Gaiti, A., Scarinyi, L. (2002) Antioxidant system and lymphocyte proliferation in the horse, sheep and dog.Vet.Res, **33:**661- 668.
4. Ahmad, S. (1995) Oxidative stress and antioxidant defense in biology, Biomed paper,**45:** 62-95.
5. Benzie, L.F., strain:The ferric reducing ability of plasma (FRAP) , as a measure (antioxidant power): The frap assay.Anal biochem, **239:**70-76.
6. Buettner, G.R. (1993) The pecking order of free radicals and antioxidant:lipid peroxidation, altocopherol I and asco Arch Biochem Biophys, **300:** 535-543.
7. Chiou, T.J, Tzeng, W.F. (2000) The role of glutathione and antioxidant enzymes in menadionduced oxidative stress.Toxicol,**154:** 75-84.
8. Kankofer, M., Lipko, J. (2006) Plasma antioxidant status (TAC) and immune response in periparturient dairy cows,Vet. Med, **155:** 20-23. lublin.
9. Kankfer, M. (2007) Plasma antioxidant capacity in dogs with naturally occurring heart disease. J. Vet. Med. A Physiol Pathol Clin Med, **54:** 36 -9.
10. Kankofer, M., Lipko, J. (2006) The relationship between lipid peroxidation in tensity and total antioxidant capacity in cases of spontanusly relesed and retained bovine placenta, Vet. Med, **157:**405-409.
11. Kelly,F.J.(1993) Free radical disorders of preterms infant:Med Bull, **9:**668-678.
12. Lipko, M. (2005) Increse oxidative stress and Alterd levels of antioxidants in chronic obstructive pulmonary disease .inflammation, **22:**23-32.
13. Martins, E., Chubatsu, L.S., Meneghani. (1990) Role of antioxidant in protecting cellular DNA from damage by oxidative stress Biomed paper, **250:**95-97.
14. Prior, R.L., Cao, G. (1999) Invivo total antioxidant capacity. comparison of different analytical methods.Free rad and med, **27:**1173-1181.
15. Sharma, S.P. (2003) Changes in blood antioxidants and several lipid proxidation in women with age related molecular degeneration.published in Eur J. Ophthalmol Apr, **13:**281-286.
16. Sloter, L.F. (1984) Free radical mechanisms in tissue injury. Biochem , **222:**1-15.
17. Vohra, R.P., Sharma, S.P., Kansal, V.K. (2001) Age dependent variations in mitochondrial and cystosolic antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different regions of central nervous system of guina pigs.Indian J.Biochem.Biophys, **38:**321-326.