

بررسی پروتئین‌های فاز حاد در گاوهای مبتلا به تورم ضربه‌ای صفاق و نگاری

علی رضایی^{۱*}، امیرپرویز رضائی صابر^۱، افشین دواساز تبریزی^۱

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: A_Rezaie46@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۸۷/۸/۸، پذیرش نهایی: ۸۷/۱۰/۳۰)

چکیده

تورم ضربه‌ای نگاری و صفاق یکی از مهم‌ترین بیماری‌های دستگاه گوارش گاو می‌باشد که در صورت تشخیص در مراحل اولیه و قبل از ایجاد چسبندگی‌های شدید، می‌توان اقدامات درمانی مؤثرتری در مورد آن انجام داد که در این صورت پیشگویی خوبی برای بیماری متصور خواهد بود. در راستای تشخیص صحیح و به موقع این بیماری، ارزیابی پروتئین‌های فاز حاد مبتلایان صورت گرفت. به همین منظور از تعداد ۲۵ رأس گاو هلشتاین که در معاینه وجود بیماری در آن‌ها به طور بالینی تشخیص و با لاپاراتومی تأیید شده بود، نمونه خون از ورید و داج اخذ و سرم آن‌ها جدا گردید. به‌عنوان گروه کنترل از ۲۰ رأس گاو هلشتاین سالم نیز نمونه‌گیری انجام شد. بعد از آماده‌کردن نمونه‌های سرم پروتئین تام، هاپتوگلوبین، سرم آمیلوئید A و سرولوپلاسمین در مورد هر دو گروه اندازه‌گیری شد. سنجش پروتئین تام به روش بیوره، هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A به روش الایزا و سرولوپلاسمین به روش سنجش فعالیت اکسیدازی انجام شد. بررسی آماری دو گروه اختلاف معنی‌دار را در مقدار پروتئین تام، هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A نشان داد ($p < 0.05$). ولی مقدار سرولوپلاسمین سرم در دو گروه تفاوت واضح نداشت. این تحقیق نشان داد که مقادیر هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A در بیماری تورم ضربه‌ای صفاق و نگاری گاو افزایش می‌یابد.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸۷، دوره ۲، شماره ۳، ۱۹۷-۲۰۱.

کلمات کلیدی: گاو، تورم صفاق، نگاری، پروتئین

مقدمه

پروتئین‌های پلاسمایی است که توسط کبد و با دخالت سیتوکائین‌هایی نظیر اینترلوکین-۱ (IL-1)، اینترلوکین-۶ (IL-6) و عامل نکروز توموری آلفا (TNF- α) ساخته می‌شوند. این پروتئین‌ها را در مجموع پروتئین‌های مرحله حاد می‌نامند (۱۷ و ۱۸). غلظت این پروتئین‌ها در گردش خون متناسب با شدت ضایعه است و بنابراین اندازه‌گیری غلظت آنها پروسه‌ای را برای ارزیابی حضور و شدت فرایندهای بیماری‌زا

واکنش‌های متنوع میزبان در مقابله با عفونت، التهاب یا صدمات مکانیکی را مجموعاً پاسخ مرحله حاد می‌نامند که شامل طیف گسترده‌ای از پاسخ‌های پاتوفیزیولوژیک نظیر تب، افزایش سلول‌های سفید خون و تغییرات هورمونی می‌شود. این پاسخ‌ها در جهت به حداقل رساندن آسیب بافتی و افزایش فرآیند ترمیم عمل می‌کنند (۱۵، ۱۷ و ۱۸). دسته‌ای دیگر از این پاسخ‌های عمومی، شامل افزایش تولید تعدادی از

برای تفکیک بیماری حاد از مزمن کارایی بیشتری را نسبت به یافته‌های خون‌شناسی دارد.

با توجه به تحقیقات انجام گرفته در مورد پروتئین‌های فاز حاد و اهمیت این پروتئین‌ها در تشخیص بیماری‌های مختلف، در این مطالعه بر آن شدیم تا به دنبال انجام معاینات کامل بالینی در مورد گاوهایی که علائم بیماری تورم ضربه‌ای صفاق و نگاری را نشان می‌دادند مقدار هاپتوگلوبین، آمیلوئید A سرم، سرولوپلاسمین و پروتئین تام سرم را اندازه‌گیری نموده تا نقش آنها را در تأیید تشخیص بیماری ارزیابی نماییم.

مواد و روش کار

برای انجام این مطالعه از تعداد ۲۵ مورد گاو ماده نژاد هلشتاین مشکوک به تورم ضربه‌ای صفاق و نگاری ارجاعی به درمانگاه دام‌های بزرگ دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز که وجود بیماری در آنها با لاپاراتومی تأیید شده بود و ۲۰ مورد گاو ماده نژاد هلشتاین سالم به‌عنوان گروه شاهد، نمونه خون تهیه شد. سن گاوها تحت بررسی بین ۲ تا ۵ سال و فاصله شروع علائم تا زمان اخذ نمونه در گاوها مبتلا حداکثر سه روز بود. در تمام موارد خون‌گیری از ورید وداج و با استفاده از لوله خلأدار صورت گرفت. از نمونه‌های خون بعد از لخته شدن، حداکثر ظرف مدت ۳۰ دقیقه، با دستگاه سانتریفوژ با دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سرم جدا و تا زمان آزمایش در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

سنجش هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A در دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه و سرولوپلاسمین و پروتئین تام در دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام پذیرفت. برای اندازه‌گیری سرم آمیلوئید A و هاپتوگلوبین از کیت الایزا ساخت شرکت Tridelata کشور ایرلند استفاده شد. مقدار سرولوپلاسمین بر اساس روش Sunderman و Nomoto (۱۹۷۰) اندازه‌گیری شد (۲۱). به این صورت که فعالیت اکسیدازی سرولوپلاسمین به‌روش اسپکتروفتومتری سنجیده شد. سرولوپلاسمین می‌تواند ماده پارافنیل‌دی‌آمین را اکسید

فراهم می‌آورد. به‌طوری‌که در پزشکی و به‌صورت فزاینده‌ای در دامپزشکی تعیین غلظت پلاسمایی پروتئین‌های مرحله حاد مورد توجه قرار گرفته است (۷).

بدین ترتیب اطلاعات بالینی با ارزشی در مورد عفونت و ضایعات التهابی فراهم می‌گردد. طی چند ساعت پس از عفونت یا التهاب، الگوی ساخت پروتئین در کبد به‌طور چشمگیری تغییر می‌کند. این تغییر یا در نتیجه کاهش بعضی پروتئین‌ها است که به آنها پروتئین‌های فاز حاد منفی می‌گویند، نظیر آلبومین، ترانسفرین و گلوبولین متصل به کورتیزول و یا در نتیجه افزایش دسته دیگری از پروتئین‌ها است که به آنها پروتئین‌های فاز حاد مثبت می‌گویند و عمدتاً گلیکوپروتئین‌هایی نظیر پروتئین واکنش‌دهنده C، آمیلوئید A سرم، هاپتوگلوبین، آلفا یک اسیدگلیکوپروتئین، فیبرینوژن و سرولوپلاسمین را شامل می‌شوند (۱۷). اگر فرآیند آزادسازی سیتوکائین‌ها متوقف نگردد، پروتئین‌های مرحله حاد برخلاف اسمشان مزمن می‌شوند. هاپتوگلوبین، آمیلوئید A سرم و لیپوپلی‌ساکارید متصل به پروتئین به‌عنوان پروتئین‌های اصلی مرحله حاد در نشخوارکنندگان عمل می‌کنند (۱۰). که از این بین بر هاپتوگلوبین بیشتر تأکید می‌شود (۱۹). هاپتوگلوبین به عنوان اختصاصی‌ترین شاخص فرآیندهای عفونی و التهابی در گاو توصیف شده است (۲۰).

غلظت هاپتوگلوبین در لیپیدوز کبدی، پاستورلوز (۶)، ذات‌الریه (۱۸)، تب برفکی (۱۲)، التهاب پستان (۲۰)، پریکاردیت ضربه‌ای (۱۷) و... افزایش می‌یابد. هم‌چنین نشان داده شده است که استفاده از هاپتوگلوبین در بازرسی پیش از کشتار می‌تواند به بازرسی گوشت در تشخیص دام‌های مبتلا به عفونت و ضایعات پنهان آسیب‌شناختی کمک کرده و بهداشت غذای مورد مصرف انسان را بهبود بخشد (۱۷).

در مطالعه‌ای که Horadagoda و همکاران در سال ۱۹۹۹ انجام دادند، نشان داده شد که استفاده از پروتئین‌های فاز حاد

نتایج

میانگین مقادیر سرمی پروتئین تام، هاپتوگلوبین، آمیلوئید A سرم و سرولوپلاسمین در هر دو گروه مبتلا و شاهد در جدول شماره ۱ آورده شده است.

با توجه به جدول مقادیر سرمی پروتئین تام، هاپتوگلوبین و آمیلوئید A سرم در گاوهای مبتلا به تورم ضربه‌ای صفاق و نگاری تفاوت معنی‌دار با گاوهای سالم نشان داد ($p < 0/05$). ولی در مورد سرولوپلاسمین سرم بین گروه مبتلا و گروه شاهد اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود.

کرده فرآورده‌ای رنگی تولید کند که میزان آن متناسب با غلظت سرولو پلاسمین سرم است. در ضمن پروتئین تام به روش بیوره با استفاده از کیت تجاری ساخت شرکت زیست شیمی به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر BIOWAVE مدل F2100 ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری گردید. روش آماری در این تحقیق آزمون t -Test با استفاده از نرم افزار SPSS بود که مقایسه میانگین و انحراف معیار پارامترهای تحت بررسی بین دو گروه حاصل گردید.

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار پروتئین تام، هاپتوگلوبین، آمیلوئید A سرم و سرولوپلاسمین در گروه شاهد و مبتلا

پارامتر	گروه شاهد (تعداد = ۲۰)	گروه مبتلا (تعداد = ۲۵)
پروتئین تام (gr/dl)	$6/2 \pm 2/4$	$9/8 \pm 3/1^*$
هاپتوگلوبین (gr/l)	$0/07 \pm 0/03$	$1/46 \pm 0/17^*$
آمیلوئید A سرم ($\mu\text{g/ml}$)	$4/7 \pm 0/5$	$154/4 \pm 19/6^*$
سرولوپلاسمین (mg/dl)	$22/08 \pm 5/6$	$31/12 \pm 8/73$

* در هر ردیف اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0/05$ را نشان می‌دهد.

مقادیر هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A که پروتئین‌های فاز حاد اصلی در گاو محسوب می‌شوند در این بررسی اختلاف معنی‌داری بین گروه سالم و مبتلا داشتند.

Karreman و همکاران در سال ۲۰۰۰ عنوان می‌کنند که می‌توان از سنجش آمیلوئید A سرم در تشخیص التهاب سیستمیک گله‌های گاو شیری به‌عنوان یک آزمایش غربال‌گر استفاده کرد (۱۶).

در دامپزشکی به‌ویژه در گوسفند و گاو سنجش میزان هاپتوگلوبین سرم در تعیین وضعیت سلامت اهمیت دارد. میزان طبیعی هاپتوگلوبین در گاو و گوسفند کمتر از $0/1 \text{ mg/ml}$ می‌باشد. هاپتوگلوبین پاسخ شدیدی به عفونت می‌دهد به

بحث و نتیجه‌گیری

تغییرات پروتئین‌های سرم در مورد اختلالات متعددی گزارش شده است (۹). استفاده از پروتئین تام در تشخیص بیماری تورم ضربه‌ای نگاری و صفاق مطرح بوده است (۱) و (۳). در مطالعه حاضر نیز تفاوت معنی‌دار بین میزان پروتئین تام در گروه مبتلا و گروه سالم مشاهده گردید. اما جعفرزاده و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش نمودند که اندازه‌گیری پروتئین تام پلازما به‌تنهایی گرچه از نظر اختصاصی بودن در سطح قابل قبول می‌باشد، ولی حساسیت آن پایین است (۱۴).

طوری که میزان آن در گردش خون ۱۰۰ برابر یا بیشتر افزایش می‌یابد (۷ و ۹).

Alsemgeest و همکاران در سال ۱۹۹۴ بیان می‌کنند که اندازه‌گیری هاپتوگلوبین در تشخیص بیماری‌های التهابی و خیم گاو بسیار مؤثر است و افزایش تا میزان $2/16 \text{ gr/l}$ را در حالت‌های حاد نیز اظهار نموده‌اند در حالی که در گاوهای سالم مقدار بیش از $0/08 \text{ gr/l}$ نبوده است که از این نظر با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۲).

Salonen و همکاران در سال ۱۹۹۶ گزارش کردند که افزایش نسبتاً بالای هاپتوگلوبین و نیمه عمر کوتاه هاپتوگلوبین آن را به یک شاخص التهابی حساس تبدیل کرده است (۱۹).

Hirvonen و همکاران در سال ۱۹۹۹ عنوان می‌نمایند که حساسیت پروتئین‌های مرحله حاد در تشخیص بیماری‌های التهابی بیشتر از آزمایش‌های بالینی و هماتولوژی معمول است (۱۱).

Horadagoda و همکاران در سال ۱۹۹۹ آمیلوئید A سرم را به‌عنوان یک پروتئین مرحله حاد بسیار قابل اعتماد در تشخیص گاوهای مبتلا به التهاب حاد و مزمن معرفی کرده‌اند به این صورت که در حالت‌های حاد افزایش تا مقدار $160 \mu\text{g/ml}$ و در مراحل مزمن تا میزان $110 \mu\text{g/ml}$ را گزارش نموده‌اند که نتایج بررسی حاضر با توجه به این که گاوهای مبتلا در مرحله حاد بیماری بوده‌اند با مطالعات قبلی مطابقت دارد (۱۳).

سرولوپلاسمین از پروتئین‌های مرحله حاد مثبت است که دارای فعالیت اکسیدازی می‌باشد و به‌عنوان آنتی‌اکسیدان رادیکال‌های سوپراکسیداز را تصفیه می‌کند. در تحقیق حاضر بین گروه گاوهای سالم و بیمار اختلاف معنی‌دار در سطح سرولوپلاسمین سرم ملاحظه نگردید.

در توجیه این موضوع می‌توان بیان نمود چون سرولوپلاسمین از پروتئین‌های فاز حاد اصلی در گاو به شمار نمی‌رود (۱۷ و ۱۸)، این اختلاف واضح نبوده است.

پروتئین‌های فاز حاد چه از نظر سرعت و شدت واکنش در برابر شرایط التهابی تغییرات سریع‌تر و بیشتری از خود نشان می‌دهند (۷، ۹ و ۱۰). در ارزیابی فعالیت سیستم ایمنی بدن در مقابل محرک‌های خارجی پروتئین‌های فاز حاد نسبت به فاکتورهای هماتولوژیکی ارجحیت دارند که این امتیاز ناشی از بالا بودن سرعت پاسخ‌دهی، بالا بودن قدرت مانور آن‌ها و هم‌چنین راحت بودن اندازه‌گیری آن‌ها می‌باشد (۹، ۱۰، ۱۷ و ۱۸).

در پایان، می‌توان بیان نمود که مقادیر هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A در بیماری تورم ضربه‌ای صفاق و نگاری گاو افزایش می‌یابد.

فهرست منابع

۱. نادعلیان، م. (۱۳۷۴): بیماری‌های دستگاه گوارش نشخوارکنندگان، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۱۹۶-۱۸۴.
2. Alsemgeest, S.P.M., Kalsbeek, H.C., Wensing, T., Koeman, J.P., Van Ederen, A.M. and Gruys, E. (1994): Concentrations of serum amyloid-A and haptoglobin as parameters of inflammatory disease in cattle, *Veterinary Quarterly*, 16: 21-23.
3. Alsemgeest, S.P.M., Taverne, M.A.M., Boosman, R., Vanderweyden, B.C. and Gruys, E. (1993): Peripartum acute-phase protein serum amyloid-A concentration in plasma of cows and fetuses. *American Journal of Veterinary Research*, 54: 164-167.
4. Anderson, N.V. (1992): *Veterinary Gastroenterology*. 2nd ed., Lea & Febiger, USA, pp: 712-721, 725-734.
5. Bakes, J. and Illek, J. (2006): Plasma ceruloplasmin and fibrinogen during enzyme therapy of mastitis in dairy cows. *Acta Veterinaria Brno*, 75: 241-240.
6. Conner, J.G. Eckersall, P.D., Wiseman, A., Bain, R.K. and Douglas, T.A. (1989): The acute phase response in calves following infection with *Pasteurella haemolytica* and *Ostertagia ostertagii* and endotoxin administration. *Research in Veterinary Science*, 47: 203-207.
7. Eckersall, P.D. (2000): Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Revue de Medicine Veterinaire*, 151(7): 577-584.
8. Eckersall, P.D. (1995): Acute phase proteins as markers of inflammatory lesion. *Comparative Hematology*, 5: 1-5.
9. Gruys, E. and Toussaint M.J.M. (2005): Acute phase reaction and acute phase proteins. *Journal of Zhejiang University Science*, 68(11): 1045-1056.
10. Gruys, E., Obwolo, M.J. and Toussaint, M.J.M. (1994): Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *Veterinary Bulletin*, 64: 1009-1018.
11. Hirvonen, J., Huszencza, G., Kulcsar, M. and Pyorala, S. (1999): Acute phase response in dairy cows with acute postpartum metritis, *Theriogenology*, 51: 1071-1083.
12. Hofner, M.C., Fosbery, M.W., Eckersall, P.D. and Donaldson, A.I. (1994): Haptoglobin response of cattle infected with foot-and-mouth disease virus. *Research in Veterinary Science*, 57:125-128.
13. Horadagoda, N.U., Knox, K.M.G., Gibbs, H.A., Reid, S.W.J., Horadagoda, A., Edwards, S.E.R. and Eckersall, P.D. (1999): Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *Veterinary Record*, 144: 437-441.
14. Jafarzadeh, S.R., Nowrouzian, I., Khaki, Z., Ghamsari, S.M. and Adibhashemi, F. (2004): The sensitivities and specificities of total plasma protein and plasma fibrinogen for the diagnosis of traumatic reticuloperitonitis in cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, 65: 1-7.
15. Johnson, R.W. (1997): Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines; an integrated view. *Journal of Kerreman*, 22: 175-178.
16. Karreman, H.J., Wentink, G.H. and Wensing T. (2000): Using serum amyloid-A to screen dairy cows for subclinical inflammation. *Veterinary Quarterly*, 22: 175-178.
17. Murata, H., Shimada, N. and Yoshika, M. (2004): Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal*, 168: 28-40.
18. Petersen, H.H. (2004): Application of acute phase protein measurement in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research*, 35: 163-187.
19. Salonen, M., Hirvonen, J., Pyorala, S., Sankari, S. and Sandholm, M. (1996): Quantitative determination of bovine serum haptoglobin in experimentally induced *Escherichia-coli* mastitis. *Research in Veterinary Science*, 60:88-91.
20. Skinner, J.G., Brown, R.A.L. and Roberts, L. (1991): Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Veterinary Record*, 128: 147-149
21. Sunderman, F.W. and Nomoto, S. (1970): Measurement of human serum ceruloplasmin by its p-phenylendiamine oxidase activity. *Clinical Chemistry*, 16: 903-910.

Evaluation of acute phase proteins in cows affected by Traumatic Reticuloperitonitis

Rezaei, A.^{1*}, Rezaei Saber, A.P.¹, Davasaz Tabrizi, A.¹

1. Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran

**Corresponding author's email: A_Rezaie46@yahoo.com*

(Received: 29.10.2008, Accepted: 19.1.2009)

Abstract

Traumatic Reticuloperitonitis is one of the most important diseases of the bovine digestive system which if diagnosed in early stage and before severe adhesions develop, more effective treatments leading to better prognosis could be under taken. In the course of accurate and timely diagnosis of these diseases, acute phase proteins of the affected animals were evaluated. For this purpose, blood samples were taken from jugular vein of 25 Holstein cows in which the presence of disease clinically and confirmed with laparotomy and their sera separated. Blood sample were also collected from 20 healthy cows as the control group. After preparing serum sample, total protein haptoglobin, serum amyloid A and ceruloplasmin were measured in both groups. Total protein was determined by the Biuret method, haptoglobin and serum amyloid A by ELISA and ceruloplasmin through determination of the oxidative activity. Statistical analysis indicated significant difference in the amounts of total protein, haptoglobin and serum amyloid A between the two groups ($p < 0.05$) but there was no significant difference in the amount of ceruloplasmin. This study demonstrated that was of haptoglobin and serum amyloid A could be beneficial in the diagnosis of bovine traumatic reticuloperitonitis.

Keywords: Cow, peritonitis, reticulum, protein