بررسی تغییرات میزان ظرفیت کل انتی اکسیدانی پلاسمای خون گاوهای شیری هلشتاین در زایمانهای مختلف (شکم ۱ تا ۵)

سوگند مشفقی[1*]، مجید محمد صادق[1]

۱ـ استادیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار ـ ایران.

*نویسنده مسئول: sogand_vet2000@yahoo.com

دریافت مقاله: ۶مرداد۸۸ پذیرش نهایی: ۱۱اسفند۸۸

چکیده

جهت خنثی سازی رادیکالهای آزاد مختلف تولید شده در بدن در حین تنفس سلول، مجموعه عوامل آنتی اکسیدانی بدن، توانائی تحت نام ظرفیت کل آنتی اکسیدانی (TAC) دارند که در مایعات متعدد بیولوژیک از قبیل پلاسما، سرم، ادرار وشیر قابل ارزیابی است. عدم تعادل بین عوامل اکسیدانی وسیستم آنتی اکسیدانی بدن موجب افزایش تعداد رادیکالهای آزاد بدن و افزایش پاتوژنسیتی آنها گردیده و نهایتا موجب بروز استرس اکسیداتیو در بدن می‌گردد. با توجه به موارد مذکور اقدام به اندازه گیری ظرفیت کل آنتی اکسیدانی در پلاسمای ۱۰۰ راس گاو آبستن نژاد هلشتاین شیری در دوران شیرواریهای متعدد (از شکم ۱ تا ۵) در ماه آخر آبستنی به طور تصادفی و با توزیع یکسان با شرایط تغذیه ای و محیطی یکسان گردید و از گاوهای فوق در یک هفته قبل و بعد از زایمان خونگیری بعمل آمد وسپس مقادیر ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما در آنها اندازه گیری گردید. نتایج داده‌ها بر اساس ازمون انوای توکی اختلاف آماری معنی داری از مقادیر TAC پلاسما را در بین زایشهای ۱ تا ۴ گاوها نشان نداد ولی در زایمان پنجم مقادیر TAC پلاسما کاهش کاملا معنی داری را نشان می‌دهد ($P<0.001$). این مقادیر بیانگر آن است که با یکسان بودن شرایط تغذیه ای و محیطی، افزایش تعداد زایمان بخصوص از چهارم به بعد بعنوان نوعی استرس اکسیداتیو برای دام محسوب میشود و موجب کاهش معنی دار TAC خواهد شد. بنابراین احتمالا با انجام تمهیداتی در جهت افزایش تامین انتی اکسیدانها در گاوهای آبستن بخصوص در زایمانهای بالا بتوان قدمی در جهت بهبود شرایط اقتصادی و مدیریت گاوداریها برداشت. پژوهشنامه دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶، شماره ۱، ۲۲-۱۹.

واژه‌های کلیدی: گاو، ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما، تعداد زایمان.

مقدمه

در حین تنفس سلولی در بدن رادیکالهای آزاد مختلفی تولید می‌شوند که مهمترین آنها عبارتند از رادیکال سوپر اکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروکسیل (OH-) پراکسیل (ROO) و ... مواد شیمیائی مختلف در بدن از قبیل داروها، مواد توکسیک و همچنین شرایط نامساعد و عوامل متعدد استرس زای محیطی و داخلی در بدن منجر به افزایش تعداد رادیکالهای آزاد سلولی شده و موجب ضایعات اکسیداتیو به ماکرو مولکولهای بدن از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و... شده و نهایتا شرایط بروز موارد پاتولوژیک و بیماریهای متعدد به بدن را فراهم می‌آورند.

عوامل آنتی اکسیدانی بدن، عوامل متعددی جهت خنثی سازی رادیکالهای آزاد مختلف تولید شده در سلول در حین تنفس سلولی و جلوگیری از تجمع آنها در سلول هستند. این عوامل شامل انواع مختلف آنزیمی (پراکسیدازها، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پر اکسیداز) و انواع غیر آنزیمی آنتی اکسیدانها از قبیل پروتئین‌های آلبومین، ترانسفرین، متالوتیونین و انواع ویتامین‌های E , C بدن می‌باشند. مجموعه

Comparison of the total antioxidant capacity (TAC) level in plasma of dairy cattle in relation to number of parturient

Moshfeghi,S.[1*], Mohammad sadegh, M.[1]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Garmsar branch,Garmsar-Iran.*

Abstract

Free radicals can be produced during the respiratory oxidation of different cells.these free radicals 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 nuteralize them, have tittled under the name of total antioxidant capacity (TAC) and probably can change in some stress conditions such as number of parturient. In this respect,we have determined 100 dairy cattle(1 week before and after calving) and measured plasma TAC levels in them by ferric reducing ability of plasma (FRAP) method. The results were analyzed by ANOVA_test and siginificant difference was shown between TAC levels of parturation number 4 and 5 with ($p<0.001$).also in each parturition plasma TAC level decreased in after calving to compare before same Calving. ***Vet.Res. Bull. 6,1:19-22,2010.***

Keywords: TAC,calving,cow.

عوامل آنتی اکسیدانی بدن، توانائی بالقوه‌ای در احیاء کنندگی رادیکالهای آزاد مختلف حاصله از چرخه سلولی دارند که این توانائی تحت نام ظرفیت کل آنتی اکسیدانی بدن (capacity TAC = Total antioxidant) نامیده میشود و در مایعات متعدد بیولوژییک از قبیل سرم، پلاسما، شیر و ادرار قابل ارزیابی است. جهت ارزیابی ظرفیت کل آنتی اکسیدانی، روشهای متعددی در طب انسانی و دامی استفاده میشود که عبارتند از: (TEAC - RANDOX), ORAC FRAP ,و روشهای فتومتری. در مطالعه کنونی به جهت سهولت دسترسی به مواد روش FRAP و دقت آن از این روش بهره گیری میشود. اساس روش FRAP: (Plasma Ferric Reducing Ability Of)بر مبنای احیای فرم فریک یون آهن به فرم فرو توسط عوامل انتی اکسیدانی موجود در نمونه مجهول است که این ترکیب در محیط اسیدی آبی رنگ است و شدت جذب نوری آن در طول موج خاص توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری میشود.

در گاوداریهای شیری موارد متعددی از عوامل استرس زای وارده به دامها وجود دارد که یکی از آنها زایمان است. افزایش تعداد زایمان خود به عنوان نوعی استرس وارد آمده به دامها موجب افزایش تعداد رادیکالهای ازاد و صدمات پاتولوژیک حاصل از آنها به سلولها شده است. بنابر این هدف از انجام این مطالعه اندازه گیری ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما در خلال زایمانهای متعدد گاوها است. تادرصورت کاهش ظرفیت کل آنتی اکسیدانی در گاوها در خلال تعدد زایمان، بتوان با تامین مقادیر کافی مواد آنتی اکسیدان در جیره گاوهای آبستن بعنوان نوعی تمهید در جهت کاهش عوامل مستعد اکسیداتیو و کاهش صدمات پاتولوژیک ناشی از آنها به گاوها و نهایتا بهبود مدیریت صحیح گاوداریها گامی 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 از گاوهای شیرده نژاد هلشتاین در دوران شیرواریهای متعدد (از شکم ۱ تا ۵) به طور تصادفی و با توزیع یکسان، در ماه آخر آبستنی با شرایط تغذیه‌ای و محیطی یکسان انتخاب شد و از گاوهای فوق در ۱ هفته قبل و بعد از زایمان خونگیری بعمل آمد. از هر حیوان ۲ میلی لیتر خون هپارینه گرفته و به مدت ۱۰ دقیقه با نیروی g 800 سانتریفوژ و پلاسمای آن جدا و به میکرو تیوب ۰.۵ میلی لیتری منتقل و جهت تعیین ظرفیت کل آنتی اکسیدانی (TAC) بر طبق روش FRAP: (Of Plasma Ferric Reducing Ability)نمونه‌ها در فریزر ۲۰- نگهداری شدند. اساس روش FRAP بر این منوال است که در اینجا عوامل آنتی اکسیدانی موجود در نمونه مورد مطالعه موجب احیاء فرم فریک (Fe3+) به فرم فرو (Fe2+) میشوند که در محیط اسیدی آبی رنگ است. جهت انجام آزمایش FRAP، یک سری محلول استاندارد از یون آهن(Fe+2) با غلظتهای ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرو مول بر لیتر تهیه شد و به آنها معرف TPTZ اضافه شده و جذب نوری آنها بعنوان محلولهای استاندارد در طول موج ۵۹۳ نانومتر در مقابل بلانک آب مقطر قرائت شد و سپس جذب نوری کلیه نمونه‌های مجهول پلاسما در همین طول موج قرائت و میزان FRAP در آنها بر اساس نمودار حاصله از محلولهای استاندارد محاسبه شد.

جدول ۱ - توزیع میانگین مقادیر TAC در قبل و بعد از زایشهای مختلف گاوها (شکم ۱ تا ۵).

TAC (mmol/lit)	درشکم اول (Mean±Sd)	درشکم دوم (Mean±Sd)	درشکم سوم (Mean±Sd)	درشکم چهارم (Mean±Sd)	درشکم پنجم (Mean±Sd)
قبل از زایش	۸۹۲.۳±۱۱.۲	۸۹۰.۲۱±۹.۵	۸۸۵.۲±۸.۲	۸۶۰.۴±۱۱.۰	۷۹۰.۷±۹.۳
بعد از زایش	۸۶۰.۳±۱۰.۰	۸۶۸.۳±۸.۳	۸۳۸.۵±۱۳.۰	۸۲۹.۲±۱۲.۰	۷۶۶.۴±۷.۶

نتایج

میانگین مقادیر TAC در خون صد راس گاو شیری آبستن در دوران شیرواریهای مختلف (قبل و بعد از زایمانهای ۱ تا ۵) اندازه گیری گردید. مطالعه به روش مشاهده‌ای و مقطعی انجام شد و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای مربوطه, پس از اطمینان از نرمال بودن توزیع با تست کالموگراف- اسپیرنوف وبررسی کرتوزیس و اسکیونس منحنی داده‌ها با استفاده از آزمون انواو توکی انجام گردید. سطح اطمینان در آزمونها برابر ۹۵٪ در نظر گرفته شد. داده‌های حاصله در جدول ذیل ارائه شدند:

بر اساس اطلاعات حاصله از جدول فوق اختلاف معنی داری بین میانگین پارامتر TAC در زایشهای ۱ تا ۴ گاوها مشاهده نشد، ولی در زایمان پنجم مقادیر TAC در گاوها کاهش معنی داری را نشان میدهد ($p<۰/۰۰۱$).

بحث

با توجه به اینکه شرایط زایمانها یکسان است و با دانستن این نکته که زایمان، خود بعنوان توعی استرس وارد آمده به دام تلقی

میشود، احتمالا میتوان اینگونه نتیجه گیری کرد که با افزایش تعداد زایمان استرس زایمان موجب افزایش تعداد رادیکالهای آزاد در سلولها شده و با صرف آنتی اکسیدانهای بدن جهت خنثی سازی اینها، ظرفیت کل آنتی اکسیدانی کاهش می یابد اما نتیجه گیری قطعی از این مسئله نیازمند تحقیقات وسیع دیگری در آینده است.

در مورد پارامتر TAC شایان ذکر است که برای جلوگیری از آسیبهای بافتی در بدن احتیاج به یک شبکه دفاعی آنتی اکسیدانهای بیولوژیک است که نقش مهمی در خنثی سازی عوامل اکسیداتیو وارده به سلولها دارد (۶). در حالت طبیعی در بدن سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در تعادل با سرعت تولید رادیکالهای فعال میباشد و این امر در حفظ تعادل بدن مهم است. عدم تعادل بین عوامل اکسیدانی و سیستم آنتی اکسیدانی بدن موجب افزایش تعداد رادیکالهای آزاد بدن و افزایش پاتوژنسیتی آنها گردیده و نهایتا موجب بروز استرس اکسیداتیو در بدن میگردد. ظرفیت کل آنتی اکسیدانی را میتوان در بافتهای مختلفی از جمله کبد، کلیه، ماهیچه و در مایعات بیولوژیک بدن مانند ادرار، مایع مغزی نخاعی، شیر، سرم و پلاسما اندازه گیری کرد. جهت ارزیابی ظرفیت کل آنتی اکسیدانی، روشهای متعددی در طب انسانی و دامی استفاده میشود که عبارتند از: (RANDOX - TEAC), FRAP , ORAC و روشهای فتومتری. در مطالعه کنونی به جهت سهولت دسترسی به مواد روش FRAP و دقت آن از این روش بهره گیری میشود. در علم پزشکی گزارشات متعددی توسط محققین مختلف در خلال بیماریهای مختلف انسان در خصوص اندازه گیری و ارزیابی ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما و بافتهای مختلف به عمل آمده است (۷ و ۱۷). در دامپزشکی در مورد حیوانات آزمایشگاهی بخصوص Rat تحقیقات اندکی در زمینه اندازه گیری ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما و بافتهای مختلف بعمل آمده که هنوز نیز تحقیقات در این زمینه ادامه دارد (۲ و۳). در مورد ارزیابی ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما در نشخوارکنندگان و بویزه گاوها اطلاعات زیادی در دسترس نیست و تنها گزارشات معدودی در مورد ارزیابی آن در گاوها وجود دارد (۱۶و۱۷).

در مطالعه انجام شده اینگونه مشاهده گردید که در زایمانهای شکم ۱ تا ۴ گاوها با افزایش تعداد زایمان، میزان ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما تغییر چندانی نمیکند اما در زایمان پنجم در گاوها ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما نسبت به زایمانهای ۱ تا ۴ کاهش معنی داری را نشان میدهد که احتمالا میتوان اینگونه گفت که با افزایش سن گاو و افزایش تعداد زایمان، میزان آنتی اکسیدانهای طبیعی بدن کاهش میابد. همچنین با توجه به اینکه زایمان، خود بعنوان نوعی استرس است در هر زایمان نسبت به قبل از همان زایمان کاهش میزان TAC را داریم.

نتیجه‌گیری

لازم است که با مطالعات وسیعتر در آینده و توجه کاملتری به عوامل مختلف تامین و تقویت کننده میزان آنتی اکسیدانهای جیره غذائی و توجه به عوامل دخیل در میزان TAC خون و تامین مقادیر آنها در گاوهای آبستن در دوران آبستنی، تمهیداتی در جهت افزایش میزان TAC پلاسما و کاهش عوامل اکسیداتیو مختلف با بالا رفتن تعداد زایمان (بخصوص از زایمان پهارم به بعد) انجام داد تا مجموعا باعث بهبود مدیریت در گاوداریها و کاهش مصرف داروها و ضررهای اقتصادی وارده به آنها شود.

منابع

۱)مشفقی، سوگند: بررسی میزان همبستگی بین TAC و SE و ZN در درگاوهای آبستن و گوساله‌های نوزاد ۳ روزه، پایان نامه دکترای تخصصی ۱۳۸۶.

2-Dadkha,A., Fatemi,F., Allameh, A. A. (2005) differential effects of acetaminophen on enzymatic and non enzymatic antioxidant factors and plasma total antioxidant capacity in developing and adult rats. department of bichemistry, tarbiat modares university.

3-Jamro, A., Beltowski, J. (2002) cerivastatin modulates plasma paroxonase / arylesterase acitivity and oxidant -antioxidant balance in rat; *pharmacol*, **54**:143-150.

4-Agrawal, S., Soha, R.S. (1960) Relationship between susceptibility to protein oxidation, aging and maximum life span potential of different species, exp *Mrontology Gerontology*, **31(1)**: 387-322

5-Gaiti, A., Scarinyi, L. (2002) antioxidant system and lymphocyte proliferation in the horse, sheep and dog. department of clinical medicince, university of perugia, italy.

6-Ahmad, S. (1995) Oxidative stress and antioxidant defense In biology, Chapman and Hall, 62-95.

7-Benzie,LF.F.and Strain,!.!. The ferric reducing ability of plasma (FRAP), as a measure of (antioxidant

power":) The FRAP Assay. *Anal biochem*, **239**:70-76.

8-Buettner, G.R. (1993) the pecking order of free radicals and antioxidants lipid Peroxidation, alotcopherol and asco *Arch Biochem Biophys*, **300**:535-543

9-Cheryl, L., Fattman, M.L., SChold, D. (2003) Extera cellular superoxide' dismutase in biology and medicine. free Radic. *BioI Med*, **53(3):**236-258.

10-Chiou, T.J., Tzeng, W.F. (2000) The role of glutathion and antioxidant enzymes in menadioninduccd oxidative stress. *toxicol*, **154**: 75-84

11-Command drug,lN., Stijntjes, G.S., vermeulen, N.P.E (1995) Enzymes and transport systems involved in formation and disposition of glutathiones conjugates. Role in bioactivation and detoxification mechanisms of xenobiotics. *Pharmacol.Rev*, **47**:271-313

12-Confield, LM., Forage, IW., I aiclvucb. IG. (1999) Carotenoids as cellular antioxidants. proc. soc. *Exp. Biol. Med*, **200**:260-265.

13-Dr Gordon E., Carestens. (2000) Proper trace mineral nutrition optimizes and survival of newborn calves, Departmant or animal science texas Trace Mineral.vol16

14-Guillermo, E., Teban Meglia. (2004) Nutrition and immune responce in parturient dairy cows. faculty of veterinary medicine.Swedish university of agncultureal SCIence. Doctoral thesis.

15-Harvey,I., Chon, Nelly, A. Vissar (1993) Molecular and biochemical aspect of selenium metabolism and deficency in Essential and trace elements in health and disease,**191**:202.

16-Kako fer, M., Llipko, J. (2006) plasma antioxidant status (TAC)and immune response in periparturient dairy cows;Department of animal biochemistry, agricultural University 20-123 lublin.

17- Kankofer, M., Lipko, J., (2006) The relationship between lipid peroxidation in tesity and total antioxidant capacity in cases of spontarensly released and retained borine placenta,Department of animal biochemistry, agricultur university 20-123 *lublin vet med*, **157**:405-409.

18-Kelly, FJ:free radical disorders of preterm infants. *Br: Med. Bull*, **9**:668-678.

19-Maria, J., salguno,Bl laga, (2000) Zinc az an essential Micronutrient. school of pharmacy and biochemistry. univercity of Buenos Aires. *Nutrition Research*,**20 (5)**:737-735.

20- Martins, E,A.L., Chubatsu., Meneghani. (1999) Role of antioxidants in protecting cellular DNA from damage by oxidative stress, **250**:95

21-Patrick, M., moriarty, M. F. (1995) Classical Selenium dependent glutation peroxidase experission is decreased secondry to iron defficency in rats,roles ofNutreint Nutrition, 3145-3150

22- Pavlat, A., Pechova, J. (2000) Direct and indirect assessment of selenium status in cattle. University of veterinary and pharmacy scince. *Acta vet.Brno*,**69**:28 I 287

23-Prior, R.L., Cao, G. (1999) In vivo total antioxidant capacity comparison of different analyticalmethods. *Free Rad and Med*, **27**: 1173-1181

24- Sadstead, H.H. (1995) Requiennent and toxicity of essential trace elements, illustrated by zinc and. *Am J Clin Nutr*, **61**: 621- 4

25- Samokyszyn, R.M., Miller, D.M., Rcif, D.W., Aust, S.D. (1989) Inhibition of superoxide and ferritin dependent lipid peroxidation by ceruloplasmin. *J. BioI. Chem.*

26- Gidon,S. (1998) Superoxide dismutas Methods in enzymology, **74**:359-370

27- Simmer, K., Thompson, R.P. (1988) Zinc in the fetus and newborn. *Acta Paediatr Scan_d SuppI*, **319**: 158-163.

28- Sloter, L.F. (1984) Free radical mechanisms in tissue injury, *Biochem*, 222:1-15.

29- Smith, K.L., Hogan J. (1998) Selenium in dairy cattle :Its role in disease resistance.Veterinary medicine, **83**:72-78.

30- Control. H2O2 resistant Chinese hamster fibroblast cell line. *Arch Biochem.Biophys*, 249-260.

31- Suttle, et al. (1982) NRC.(2001) dietary zine effect growth. *journal of animal science*, **759**:1970-72

32-Vohra,R.P., Sharma, S.P., Kansal,V.K. (2001) Age dependent variations in mitochondrial and cysosolic antioxidant enzymes and lipid pereoxidation in different regions of central nervous system of guina pigs. *Indian j.Biochem. Biophys*, **38**:321-326.