مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۷، دوره ۶۳، شماره ۴، ۱۹۴-۱۹۱

بررسی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز وابسته به سلنیوم در خون میش‌های چرا رونده

محمد یگانه پرست[1]* کامران رضا یزدی[2] مجید ترابی گودرزی[1] مهدی خجسته کی[1] علیرضا طالبیان مسعودی[3]

۱) مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قم، قم-ایران.

۲) گروه علوم دامی دانشکده علوم زراعی و دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران-ایران.

۳)مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، اراک -ایران.

(دریافت مقاله: ۲ اردیبهشت ماه ۱۳۸۵، پذیرش نهایی: ۲۷ فروردین ماه ۱۳۸۶)

چکیده

در این تحقیق، طی سه فصل متوالی پاییز، زمستان وبهار از تعداد ۸گله مجزا، مربوط به‌سامان‌های عرفی مختلف مراتع منطقه زاغه‌سلمان و از هرگله تعداد ۱۵ راس میش جوان، خون‌گیری به عمل‌آمد. درآزمایشگاه میزان‌آنزیم‌گلوتاتیون پراکسیداز، هموگلوبین و درصد هماتوکریت در نمونه‌های خون تعیین‌شد. سپس غلظت‌آنزیم‌گلوتاتیون پراکسیداز بر حسب واحد برگرم هموگلوبین و واحد بر هر میلی لیتر هماتوکریت توسط نرم افزارآماری SPSSمورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت. آنالیز یافته‌ها نشان داد که میزان‌آنزیم‌گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به هموگلوبین و هماتوکریت به طور بسیار معنی داری از حداقل میزان ضروری آنها در خون بیشتر بود. میانگین‌های درصد هماتوکریت و میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به هر گرم هموگلوبین و نسبت به هر درصد هماتوکریت در بین فصول مورد بررسی بطور بسیار معنی داری متفاوت بودند ($p<0/01$). میانگین درصد هماتوکریت در بهار بیشترین و در زمستان کمترین بود. میانگین میزان‌آنزیم‌گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به هرگرم هموگلوبین و نسبت به هر درصد هماتوکریت. در پاییز بیشترین و در بهار کمترین مقدار بود. این مطالعه نشان داد که علیرغم وجود تفاوتهای فصلی وگله ای، هیچ یک ازگله‌های مورد بررسی ازنظر میزان‌آنزیم‌گلوتاتیون پراکسیداز، هموگلوبین و هماتوکریت خون دچار کمبود نبودند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، هموگلوبین، هماتوکریت، گوسفند.

مقدمه

در بدن دو نوع آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز وجود دارد. یک نوع آن فاقد سلنیوم و نوع دیگر واجد آن است(۶). حدود ۹۸ درصد آنزیم گلوتاتیون پراکسیدازوابسته به‌سلنیوم، درگلبول‌های قرمزخون حضوردارد. سلنیوم به میزان ناچیزی مورد احتیاج حیوان است و از طریق ایفای نقش در ساختمان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، با دخالت در کاتابولیسم پراکسیدها، در حفظ تمامیت غشاهای سلولی نقش اساسی دارد(۳). کمبود این عنصر بر تولید و مقاومت حیوانات در برابر بیماری‌ها اثر سوء دارد(۲). هر مولکول آنزیم گلوتاتیون پراکسیدازدارای چهار اتم سلنیوم است و بین این دو شاخص مهم خونی، ضریب همبستگی مثبت و بالایی وجود دارد(۱۵، ۱۲). این ضریب همبستگی توسط Verde و همکاران درسال۱۹۹۵ برابر ۰/۹۷ محاسبه گردید(۱۴).

محققین در مناطق مختلف جهان غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز خون گوسفندان را مورد بررسی قرار داده‌اند: Nouri و Asri در سال۲۰۰۴، در چهار فصل در سه شهر استان آذربایجان غربی با بررسی وضعیت خون گوسفندان گزارش نمودند که غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به طور چشمگیری در زمستان پایین‌تر از تابستان بود و در برخی از نواحی تا حد بحرانی منجر به ظهور علائم بالینی قابل رویت می‌باشد(۶). Andres و همکاران درسال ۱۹۹۴ با خونگیری ۱۵۸ گوسفند از هفت گله در دو فصل بهار و پاییز مشاهده نمودند که غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون در فصل پاییز به طور معنی‌داری از بهار بیشتر بود(۱).

با توجه به این که غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بر حسب واحد بر میلی گرم هموگلوبین خون یا واحد بر هریک درصد هماتوکریت بیان می‌گردد لذا بایستی به غلظت هموگلوبین و هماتوکریت خون نیز توجه شود. Eiello درسال۱۹۹۸ دامنه مرجع تغییرات غلظت هموگلوبین را ۹ تا ۱۵ گرم بر دسی لیتر خون و در خصوص هماتوکریت ۲۷ تا ۴۵ درصد اعلام نمود(۵). Ramprabhu و Dhanapalan درسال ۱۹۹۹)، با مطالعه دو نژاد گوسفند گزارش نمودند که غلظت هموگلوبین در دو نژاد ۵/۹۴ و ۶/۲۲ گرم بردسی لیتر و درصد هماتوکریت به ترتیب ۲۹/۱۷ و ۳۰/۸۳ درصد بود(۱۱) و همین محققین درسال۲۰۰۳ با بررسی پروفیل خون گوسفندان ناحیه‌ای از هند، غلظت هموگلوبین را ۶/۰۸ گرم بر دسی لیتر و درصد هماتوکریت را ۳۰ درصد گزارش نمودند(۱۰). Dias و همکاران درسال۲۰۰۴ در مطالعه گوسفندان در حال چرای پرتقال، غلظت هموگلوبین خون را ۳/۳±۳۷/۸ درصد گزارش نمودند(۴).

هدف از این تحقیق آگاهی از وضعیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز وابسته به سلنیوم در خون گوسفندان مراتع منطقه زاغه سلمان استان قم به‌ویژه در ارتباط با فصل می‌باشد.

مواد و روش کار

منطقه زاغه سلمان با مساحت پنجاه هزار هکتار واقع در جنوب غربی استان قم، مشتمل بر ۲۴ سامان عرفی، با متوسط بارندگی ۲۲۰ میلی متر و با ارتفاع ۱۰۳۴ تا ۲۷۵۰ متر است. ۶۱ درصد از مراتع منطقه مزبور قشلاقی و بقیه میان بند است. در این منطقه بیش از دوازده هزار راس گوسفند داشتی وجود

*)نویسنده مسؤول: تلفن: (۱۳۱) ۲۹۲۷۹۳۴-۰۲۵۱، نمابر: ۶۳-۶۷۰۵۹۶۰-۰۲۵۱

Email: myp@qomarc.ir

دارد که بیش از ظرفیت مجاز بوده و مراتع منطقه در حال تخریب است.

در این تحقیق ۸ گله با جمعیت کل ۲۰۰۰ راس، مربوط به سامان های عرفی مختلف منطقه زاغه سلمان انتخاب شده و در سه فصل متوالی شامل پاییز و زمستان سال ۱۳۸۳ و بهار سال ۱۳۸۴ مورد بررسی قرار گرفت. و به دلیل عدم وجود مراتع ییلاقی در منطقه مورد بررسی، از فصل تابستان صرف نظر شد. به این منظور در اواخر آبان، بهمن و اردیبهشت به هریک از گله ها مراجعه شده و به صورت تصادفی از پانزده راس میش جوان (یک یا دو بار زائیده) و با استفاده از ونوجکت هپارینه و توسط تکنسین دامپزشکی، خونگیری به عمل آمد و در فلاسک های حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل گردید و با استفاده از کیت آزمایشی با نام تجارتی RANCEL ساخت شرکت RANDOX انگلستان، مطابق با مندرجات راهنمای کیت (۱۲) میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون کامل، بر حسب واحد بر میلی لیتر اندازه‌گیری شد (آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالیزور واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون است و گلوتاتیون اکسید شده در حضور آنزیم گلوتاتیون رداکتاز و NADPH، فورا احیاء شده و همراه آن NADPH اکسید می شود. توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۴۰ نانومتر و با مقایسه طیف نمونه و شاهد آن و بر اساس میزان تغییر در جذب طیف و با لحاظ فاکتور رقیق سازی، میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز تعیین می‌گردد). میزان هموگلوبین، بر حسب گرم بر دسی لیتر خون (با استفاده از شیوه اکسیداسیون آهن دو ظرفیتی به آهن سه ظرفیتی و سپس طیف سنجی آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر)، و درصد هماتوکریت (با استفاده از لوله‌های موئینه، سانتریفوژ و حجم خوانی رسوبات) نیز در خون گوسفندان تعیین شد. سپس فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بر حسب واحد بر گرم هموگلوبین و واحد بر هر درصد هماتوکریت بیان شد و پس از مرتب کردن داده‌ها در نرم افزار Excel، با استفاده از نرم افزار SPSS 10 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز هر یک از گله‌ها با مقادیر رفرنس ذکر شده در راهنمای کیت مورد استفاده مقایسه شد (t-Test). برای مقایسه مقادیر پارامترهای اندازه‌گیری شده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و به منظور مقایسه‌های دو گانه از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اطمینان آماری ۹۹ درصد استفاده شد.

در همه گله‌های مورد بررسی در فصل زمستان علاوه بر چرا، تغذیه دستی نیز بسته به توان مالی و سلیقه دامدار با کمیت و کیفیت کم و بیش مشابهی انجام می‌شد و در برخی گله‌ها در فروردین هم ادامه داشت. وضعیت کلی تولید مثل همه گله‌ها تقریبا رضایت بخش بود.

نتایج

در این تحقیق در مجموع ۳۶۰ نمونه خونی (در هر فصل ۱۲۰ نمونه) اخذ شده، غلظت هموگلوبین (بر حسب گرم بر دسی لیتر)، درصد هماتوکریت و نسبت غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به هریک از آنها (بر حسب واحد بر میلی گرم هموگلوبین خون یا واحد بر هریک درصد هماتوکریت) به ترتیب در دامنه ۷/۲ تا ۱۳/۱، ۲۴ تا ۳۹، ۱/۰۸ تا ۴/۷۶ و ۰/۳۵ تا ۱/۵۴ قرار داشت. میانگین

جدول ۱- مقایسه میانگین و انحراف معیار پارامترهای خونی گوسفندان مورد بررسی در فصول مختلف. در هر ردیف، حروف لاتین غیر مشابه، نشانه وجود تفاوت معنی‌دار ($p<0/01$) بین میانگین ها است.

پارامترهای خونی	پاییز	زمستان	بهار
هموگلوبین (Hb)	$10/13^{a}\pm1/08$	$10/3^{a}\pm1/41$	$10/29^{a}\pm1/39$
هماتوکریت (Hct)	$30/95^{b}\pm3$	$30/59^{c}\pm3/48$	$31/21^{a}\pm4/89$
GPX / Hb	$301^{a}\pm90$	$273^{b}\pm78$	$184^{c}\pm48$
GPX / Hct	$99^{a}\pm27$	$89^{b}\pm23$	$61^{c}\pm16$

و انحراف معیار آنها نیز به ترتیب $1/301\pm0/24$، $10/877\pm3/858$، $30/89\pm2/52$ و $0/276\pm0/832$ بود.

در مورد هر یک از پارامترها، میانگین گله‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفت و مشاهده شد که بین گله‌ها از نظر غلظت هموگلوبین در فصل بهار و درصد هماتوکریت در فصول پاییز و زمستان تفاوت معنی‌داری وجود نداشت در حالی که در مورد سایر شاخص های خونی مورد بررسی بین گله‌ها تفاوت‌های بسیار معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/01$). همچنین به منظور بررسی وضعیت هر گله در مورد هر یک از موارد مذکور و در هر یک از فصول با استفاده از آزمون t، اقدام به مقایسه هر یک از میانگین ها با حداقل مقدار مناسب آنها در خون (درمورد هموگلوبین۹، در مورد هماتوکریت۲۷، درمورد نسبت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به هر گرم هموگلوبین۱۳۰ و درمورد نسبت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به هر درصد هماتوکریت۳۹/۴) نموده و مشاهده شد که هیچ یک از هشت گله مورد بررسی از نظر شاخص های خونی مورد بررسی در این تحقیق دچار کمبود نبودند و میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به هر گرم هموگلوبین و نسبت به هر درصد هماتوکریت. به طور بسیار معنی داری ($p<0/01$) از حداقل میزان ضروری آنها در خون بیشتر بود.

در جدول۱ میانگین غلظت هموگلوبین، درصد هماتوکریت و نسبت غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) به هر یک از آنها در خون گوسفندان کل گله های مورد بررسی در فصول پاییز، زمستان و بهار ارائه شده و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفته است. میانگین های غلظت هموگلوبین خون در فصول مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت اما میانگین های درصد هماتوکریت و میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به هر گرم هموگلوبین و نسبت به هر درصد هماتوکریت در بین فصول مورد بررسی به طور بسیار معنی‌داری متفاوت بودند ($p<0/01$). میانگین درصد هماتوکریت در بهار بیشترین و در زمستان کمترین بود. میانگین میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به هر گرم هموگلوبین و نسبت به هر درصد هماتوکریت. در پاییز بیشترین و در بهار کمترین مقدار بود.

بحث

در مورد غلظت مناسب آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون کامل بر حسب واحد بر گرم هموگلوبین، ارقامی چون کمتر از ۳۰ کمبود، ۳۰ تا ۵۰

حاشیه‌ای و بیش از ۵۰ مناسب(۷)، و کمتر از ۶۰ کمبود، ۶۱ تا ۱۰۰ حاشیه‌ای متمایل به کمبود، ۱۰۱ تا ۱۳۰، حاشیه‌ای و بیش از ۱۳۰ مناسب(۱۲) و کمتر از ۳۰ کمبود، ۳۰ تا ۶۰ مارژینال و بیش از ۶۰ مناسب(۸) ذکر شده‌اند. نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد که با توجه به ارقام ارائه شده در جداول ۱ و ۲ میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گرم هموگلوبین و نسبت به درصد هماتوکریت به طور بسیار معنی‌داری از حداقل میزان ضروری آنها در خون بیشتر بود. در این مطالعه تغییرات فصلی در میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز خون گوسفندان به خوبی مشهود بود و مشاهده شد که میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به هر گرم هموگلوبین و نسبت به هر درصد هماتوکریت در پاییز بیشترین و در بهار کمترین مقدار بود و تفاوت بین میانگین فصول مورد بررسی بسیار معنی‌دار بود. این نتیجه با مشاهدات Nouri و Asri در سال ۲۰۰۴(۶)، Andres و همکاران در سال ۱۹۹۴(۱) و Wheatley و Beck در سال ۱۹۸۸(۱۶) مشابهت داشت. در بیان علت تغییرات فصلی در غلظت این آنزیم در خون Zachara و همکاران در سال ۱۹۸۹(۱۵) با مطالعه وضعیت غلظت سلنیوم و آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون میش‌های آبستن و غیرآبستن گزارش نمودند که آبستنی تاثیر معنی‌داری در این خصوص نداشت و طبق گزارش Andres و همکاران در سال ۱۹۹۴ تفاوت‌های مشاهده شده منشاء تغذیه‌ای دارد(۱). سلنیوم خون و در نتیجه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز وابسته به سلنیوم رابطه‌ای نزدیک و مستقیم با مقدار دریافت روزانه این عنصر از طریق مواد غذایی دارد. میزان سلنیوم خون می‌تواند دستخوش تغییرات فصلی گردد و مقدار آن بسته به نوع غذای دریافتی تغییر یابد(۱۶).

Eiello در سال ۱۹۹۸ دامنه مرجع تغییرات غلظت هموگلوبین را ۹ تا ۱۵ گرم بر دسی لیتر خون و در درصد هماتوکریت ۲۷ تا ۴۵ درصد اعلام نمود(۵). نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد که میزان هموگلوبین و هماتوکریت خون در هیچ‌یک از گله‌ها و فصول مورد بررسی دچار کمبود نبود. در این تحقیق میانگین غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت به ترتیب ۱/۳۰۱ ± ۱۰/۲۴، ۳/۸۷۷ ± ۳۰/۸۵۸ بود که غلظت هموگلوبین حاصل از این مطالعه از مقادیر گزارش شده توسط Ramprabhu و Dhanapalan در سال ۲۰۰۳ و ۱۹۹۹ (۱۰،۱۱) بسیار بیشتر بود ولی میانگین درصد هماتوکریت خون گوسفندان با مقادیر گزارش شده توسط این محققین مشابهت داشت و از میانگین گزارش شده توسط Dias و همکاران در سال ۲۰۰۴ در مطالعه گوسفندان در حال چرای پرتقال(۴)، بسیار کمتر بود.

References

1. Andres, S., Sanchez Jimenez, A., Rodriguez, J., Barrera, R., Mane, MC., Trenti, F. (1994) Seasonal variations of blood glutathione peroxidase (GSHPx) activity and muscle enzyme activities in sheep. Proceedings of the 18th World Buiatrics Congress, 26th Congress of the Italian Association of Buiatrics, Bologna, Italy. 2: 1549-1551.
2. Bendich, A. (1993) Symposium: Antioxidants, immune response, and animal function. J. Dairy Sci. 76: 2789- 2794.
3. Church, D. C., Pond, W. G. (1988) Basic animal nutrition and feeding. Wiley Press, New York, USA, pp.472.
4. Dias, M. I. R., Carneiro, M. J. R., Azevedo, J. M. T. Ferreira, A. J., Cabrita, A. M. S. (2004) Hematological parameters, general biochemical parameters, serum electrolytes and hormones related with thyroid function in the Portuguese Churra da Terra Quente ewe. Rev. Port. Cienc. Vet. 99: 99- 107.
5. Eiello, S. E. (1998) The merck veterinary manual. Eighth edition by Merck and Company., INC. Germany.
6. Nouri, M., Asri, S. (2004) Survey of the blood GSHPX seasonal variation and pathologic changes in the hearts and skeletal muscles of sheep in west Azarbaidjan. J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 59:253-257.
7. Paynter, D. I. (1996) Diagnosis of mineral deficiencies. in: Detection and treatment of mineral nutrition problem in grazing sheep. Edited by Masters, D. G. and White, C. L., Australian Centre of International Agricultural Research publications. pp. 52.
8. Radostits, O. M., Gay, C. C., Blood, D. C., Hinchcliff, K. W. (2000) Veterinary Medicine. W. B. Saunders Company. London, UK, (9thed.) pp.1515-1532.
9. Rameshkumar, M., Thiruvenkadan, AK., Ganeshkumar, K., Karunanithi, K., Bhuvaneswari, N. (2003) Blood biochemical profile of Mecheri sheep of Tamil Nadu. Indian J. Small Rumin. 9: 74-76.
10. Ramprabhu, R., Dhanapalan, P. (2003) Blood biochemical profile of sheep in hilly tract of Ooty. Indian J. Anim. Health. 42: 31- 34.

11. Ramprabhu, R., Dhanapalan, P. (1999) Comparative blood profile of sheep in the hilly tract of Tamil Nadu. Int. J. Anim. Sci. 14: 255- 257.
12. RANDOX Laboratories Ltd., RANCEL kit for measurement of glutathione peroxidase in whole blood. RANCEL kit manual. United Kingdom.
13. Underwood, E. J. (1990) The mineral nutrition of livestock. (3rd ed.) CABI publishing,Oxon, UK.
14. Verde, MT., Sanz, MC., Ramos, JJ., Fernandez, A., Marca, MC., Saez, T. (1989) Selenium and glutathione peroxidase correlation in different blood samples in sheep. J. Appl. Anim. Res. 8: 21- 27.
15. Zachara, BA., Borowska, K., Zamorski, R., Kaptur, M. (1989) Blood selenium status, glutathione peroxidases, and creatine kinase activities in ewes during pregnancy and lactation and in lambs. proceeding of the 6th International Trace Element Symposium, Bydgoszcz, Poland, 3: 813-821.
16. Wheatley, I. F., Beck, N. F. G. (1988) The influence of season and husbandry on the selenium status of sheep in deficient area. Br. Vet. J. 144: 246-251.

J.Vet.Res. 63, 4:191-194, 2008

SURVEY OF BLOOD SELENIUM DEPENDENT GLUTATHIONE PEROXIDASE ACTIVITY IN GRAZING EWES

Yeganeparast, M.[1]*, Rezayazdi, K.[2], Torabi Goodarzi, M.[1], Khojastehkey, M.[1], Talebian Masoudi, A.R.[3]

[1]*Agriculture and Natural Resources Research Center of Qom, Qom-Iran.*

[2]*Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Tehran-Iran.*

[3]*Agriculture and Natural Resources Research Center of Markazi Province, Markazi-Iran.*

(Received 21 April 2006, Accepted 15 April 2007)

Abstract:

This study was conducted to determining the GPX, Hemoglobin concentration (Hb) and hematocrite percentage (Hct) in blood samples of young ewes were gathered at different places of Zagheh Salman pastures in Qom province. 15 blood samples were gathered through 8 flocks during autumn, winter and spring seasons randomly. At first the measures of GPX, Hb and Hct were determined and then GPX concentration in the basis of unit per gram of hemoglobin and unit per milliliter of hematocrite were calculated. Data were analyzed using SPSS software. Results showed that the ratios of GPX to hemoglobin concentration (GPX/Hb) and hematocrite percentage (GPX/Hct) were higher than their marginal levels significantly.There were significant differences between three seasons for hematocrite percentage and the ratios of GPX to hemoglobin (GPX/Hb) and hematocrite (GPX/Hct).The mean of hematocrite percentage had a maximum level in spring and minimum in winter. The ratios of GPX to hemoglobin and hematocrite had a maximum level in autumn and minimum in spring. The results of this research indicate that, despite of differences between flock and seasons all of flock had higher amounts of mentioned blood factors than their marginal levels and they had no deficiency aspects for these blood factors.

Key words: glutathion peroxidase, hemoglobin, hematocrite, sheep.

***Corresponding author's email: myp@qomarc.ir, Tel: 0251-2927934(131), Fax: 0251-2931830**