

تعیین مقادیر برخی از آنزیم‌های سرم خون فیل ماهی خاویاری

داور شاهی سونی^{۱*}، مهرداد مهری^۲، ابراهیم تقوایی مقدم^۳

گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(دریافت مقاله: ۲۱ خردادماه ۱۳۸۴، پذیرش نهایی: ۲۳ مهرماه ۱۳۸۵)

چکیده

جهت تعیین مقادیر مرجع برخی از آنزیم‌های سرم خون فیل ماهی، خونگیری از ساقه دم ۱۸ قطعه ماهی نر و ۱۸ قطعه ماهی ماده صید شده در صیدگاه بندرتارکمن و چالاشت انجام گرفت. پس از جدا کردن سرم خون در آزمایشگاه مقادیر آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، اسید فسفاتاز (ACP)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و کراتین کیناز (CPK) توسط دستگاه اتو آنالایزر اندازه‌گیری گردید. از نرم افزار SPSS جهت آنالیز آماری اطلاعات استفاده و مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار تعیین گردید. از آزمون *t*-student جهت مقایسه مقادیر بین دو جنس نر و ماده و آزمون همبستگی پیرسون جهت تعیین ارتباط بین آنها استفاده شد. اختلاف معنی‌دار بین دو جنس و نیز همبستگی بین آنزیم‌های اندازه‌گیری شده مشاهده نشد. مقادیر مرجع تعیین شده در این مطالعه برای آنزیم‌های اندازه‌گیری شده در کل جمعیت به شرح زیر می‌باشد: ALT: $6/06 \pm 1/14$ ، AST: $29/27 \pm 6/29$ ، ALP: $76/13 \pm 13/54$ ، ACP: $16/76 \pm 2/53$ ، LDH: $20/83/05 \pm 495/18$ ، CPK: $6724/85 \pm 2079/29$ ، واحد بین‌المللی در لیتر (IU/L).

واژه‌های کلیدی: فیل ماهی، آنزیم، سرم، خون.

مبنایی برای مقایسه با حالات غیر طبیعی و بیماری‌ها استفاده کرد.

مقدمه

بررسی فاکتورهای خون شناسی و بیوشیمیایی می‌تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری‌های عفونی، خونی و مسمومیت‌های آبزیان ایفا کند. به طور کلی اتفاق نظر محققین بر این است که فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف با هم تفاوت داشته، ارتباط و وابستگی زیادی با شرایط محیطی، تغذیه‌ای، سن و... دارد. بنابراین باید برای هرگونه ماهی در شرایط اقلیمی هر منطقه مقادیر طبیعی این فاکتورها وجود داشته باشد. سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های مایعات بیولوژیک ما را به نحوه کارکرد بافت‌ها و اعضای مختلف راهنمایی می‌کند. رهایی آنزیم‌ها و ورود آنها به گردش خون علل مختلفی دارد از جمله نکروز سلولی و آنوکسی که باعث از دست رفتن یکپارچگی غشای سلولی شده و آنزیم داخل سلول وارد پلاسما می‌شود. در نتیجه می‌توان با اندازه‌گیری آنزیم‌های سرم و با توجه به میزان طبیعی آنزیم در سرم، پی به تغییرات ایجاد شده در اندام درگیر ببریم (۱، ۳، ۴). ماهیان خاویاری یکی از ارزش‌ترین ماهیان شیلاتی به شمار می‌آیند، که متأسفانه نسل این نوع ماهیان به دلیل آلودگی محیط آبی و صید بی‌رویه در حال انقراض است. در زمینه فیزیولوژی، بیماری‌ها و تحقیقات در زمینه پاراکلینیکی اطلاعات محدودی به خصوص در مورد این گونه ماهی وجود دارد و برای حفظ و نگهداری این گونه کمیاب و در حال انقراض ضرورتاً باید اطلاعات جامع و کاملی از آنها در اختیار باشد. به طور کلی هدف از انجام این تحقیق، به دست آوردن مقادیر مرجع برخی از آنزیم‌های سرمی و تهیه یک تابلوی مقایسه‌ای در فیل ماهی خاویاری بوده است، که بتوان از آن به عنوان

روش کار

نمونه‌گیری در منطقه جنوب شرقی دریای خزر در صیدگاه بندرتارکمن و چالاشت انجام گردید، انتخاب این ناحیه برای نمونه‌گیری از ماهیان خاویاری بالغ به علت فراوانی صید بود. ماهیان بعد از صید، به روش فیزیکی (ضربه به ناحیه سر) بیهوش گردیده و از ورید دمی آنها خونگیری به عمل می‌آمد و سپس سرم آنها جدا و در محیط سرد برای انجام آزمایش به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه آنزیم‌ها توسط دستگاه اتوآنالایزر مدل RA1000 اندازه‌گیری و کلیه اندازه‌گیری‌ها به روش‌های استاندارد (IFCC of clinical chemistry International federation) و به شرح زیر انجام پذیرفت: آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز به روش α -ketoglutarate/L-alanine، آنزیم فسفاتاز قلیایی به روش P-Nitrophenyl phosphate، آنزیم لاکتات دهیدروژناز به روش Pyroate، آنزیم کراتین فسفو کیناز به روش Creatine phosphate و آنزیم فسفاتاز اسیدی به روش P-Nitrophenyl phosphate و آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز به روش α -ketoglutarate/L-aspartate اندازه‌گیری شد. میانگین طول کل فیل ماهی‌ها ۱۴۳ سانتیمتر و متوسط وزن آنها ۳۷ کیلوگرم بود و تعداد ۱۸ ماهی نر و ۱۸ ماهی ماده بالغ مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج بدست آمده در ارتباط با آنزیم‌های مورد مطالعه با نرم افزار SPSS مورد تحلیل و بررسی آماری قرار گرفتند و مقادیر به صورت انحراف معیار \pm میانگین تعیین گردید. جهت مقایسه مقادیر، بین دو جنس نر و ماده از آزمون *t*-استودنت (*t*-student) و جهت تعیین همبستگی پارامترهای اندازه‌گیری شده از آزمون همبستگی



جدول ۱- مقادیر طبیعی (میانگین \pm انحراف معیار) آنزیم‌های سرمی فیل ماهی خاویاری بالغ.

| آنزیم | نرها | ماده‌ها | کل نمونه |
|-----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| AST(U/L) ¹ | ۲۷۶/۱۱±۵۶/۹۶ | ۳۰۴/۴۴±۶۱/۷۶ | ۲۹۰/۲۷±۶۰/۲۹ |
| ALT(U/L) ² | ۵/۷۶±۱۰/۷ | ۶/۳۶±۱/۱۵ | ۶/۰۶±۱/۱۴ |
| ALP(U/L) ³ | ۷۹/۶۱±۱۰/۵۰ | ۷۲/۶۶±۱۵/۵۶ | ۷۶/۱۳±۱۳/۵۴ |
| CK(U/L) ⁴ | ۱۹۷۴/۷۹±۶۳۸۱/۶۶ | ۲۱۸۴/۲۶±۷۰۸۸/۲۳ | ۶۷۲۴/۸۵±۲۰۷۹/۲۹ |
| LDH(U/L) ⁵ | ۲۱۱۴/۴۴±۵۳۹/۶۹ | ۲۰۳۲/۹۴±۴۵۹/۸۷ | ۲۰۸۳/۰۵±۴۹۵/۱۸ |
| ACP(U/L) ⁶ | ۱۶/۷۹±۲/۵۹ | ۱۶/۷۳±۲/۵۵ | ۱۶/۷۶±۲/۵۳ |

خون ماهی قره برون کمتر از CK سرم خون فیل ماهی است (۲). Sendnes و همکاران در سال ۱۹۸۸ نشان دادند که فعالیت آنزیم‌های سرم در سنین مختلف و در بین گونه‌های مختلف ماهیان فرق می‌کند (۱۲). Bentick و همکاران در سال ۱۹۸۷ مقادیر طبیعی برخی از آنزیم‌های سرم خون گربه ماهی روگاهی را اعلام نمودند (جدول ۲)، میزان ALP، AST و LDH سرم خون گربه ماهی کمتر از مقادیر سرم خون فیل ماهی و میزان ALP آن بیشتر از فیل ماهی است (۵). Casillas و همکاران در سال ۱۹۸۳ با بررسی آنزیم‌های ماهی حلوا انگلیسی که از ماهیان مناطق سرد است، نشان دادند که AST سرم خون حلوا انگلیسی کمتری از ALT آن بیشتر از مقادیر آنزیم‌های مذکور در سرم خون فیل ماهی می‌باشد (۶). Hine در سال ۱۹۸۷ و Stoskopf در سال ۱۹۹۳ مقادیر طبیعی آنزیم‌های سرم خون گونه‌های مختلف کوسه ماهی را اندازه‌گیری نمودند (جدول ۲)، مقادیر AST و LDH سرم خون تمام گونه‌های مورد بررسی کوسه ماهی کمتر از مقادیر این دو آنزیم در فیل ماهی است در حالی که مقادیر ALT سرم آنها متفاوت می‌باشد بدین ترتیب که در برخی گونه‌های کوسه ماهی میزان ALT سرم کمتر از و در برخی گونه‌ها بیشتر از میزان ALT سرم خون فیل ماهی است (۹، ۱۳). Stoskopf و همکاران در سال ۱۹۹۳ و Thrall در سال ۲۰۰۴ مقادیر دو آنزیم AST و ALT را در دو گونه از ماهیان دریایی گرانت فرانسوی (French grunt) و ماهی بلوتانگ (Blue tong) اندازه‌گیری نمودند و مشخص شد که میزان AST کمتر و میزان ALT مشابه مقدار آن در سرم خون فیل ماهی می‌باشد (۱۳، ۱۴).

بر اساس نتایج بدست آمده مشاهده می‌شود میزان هر آنزیم خاص در سرم خون یک گونه ماهی با گونه دیگر ماهی فرق می‌کند و این آنزیم‌ها سرمی تحت تاثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و محیطی زیادی نیز قرار می‌گیرند.

پیرسون (Pearson) استفاده شد. مقادیر $p < 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

نتایج

مقادیر میانگین به همراه انحراف معیار فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در سرم خون فیل ماهی در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج مقایسات آماری میزان فعالیت آنزیم اندازه‌گیری شده در دو جنس نر و ماده فیل ماهی اختلاف معنی داری نشان نمی‌دهند ($p > 0.05$). هم چنین بر اساس نتایج آزمون همبستگی پیرسون هیچ همبستگی بین آنزیم مورد بررسی در بین دو جنس نر و ماده فیل ماهی دیده نمی‌شود.

بحث

گزارش‌های مستند و کافی در مورد میزان طبیعی آنزیم‌های سرم در ماهیان خاویاری ارائه نگردیده و اغلب گزارش‌ها در مورد کپور ماهیان و آزاد ماهیان می‌باشد (۴، ۱۳). عوامل محیطی و فیزیولوژیک متعددی از قبیل (سن، شوری آب، فصل سال، وضعیت بلوغ، جنس، دمای محیط، نوع تغذیه...) در آنزیم‌های سرمی و فعالیت آنها موثرند (۸، ۱۳، ۱۸). Metallov و همکاران در سال ۱۹۹۷ تحقیقی بر روی آنزیم LDH کبد و عضلات سفید تاس ماهی روسی در دو سیکل زندگی در رودخانه و دریا در آستاراخان روسیه انجام دادند، دریافتند که در دو شرایط مختلف زندگی فعالیت این آنزیم در کبد و عضلات سفید همانند ماهیان استخوانی است (۱۰). Warner و همکاران در سال ۱۹۹۷ بر اساس مطالعه‌ای که بر روی آنزیم‌های سرم خون گربه ماهی روگاهی که در استخر و نه‌رها پرورش داده می‌شدند، دریافتند که مقادیر ALP سرم در گربه ماهیانی که در نه‌رها پرورش می‌یابند به طور قابل توجهی بالاتر است در حالی که مقادیر CK، AST و LDH هر دو ماهی مشابه می‌باشد (۱۵). Wieser و همکاران در سال ۱۹۸۰ در مطالعه‌ای که بر روی ماهی قزل آلا انجام دادند، بیان نمودند که مقدار AST و ALT سرم در زمان تخم‌ریزی ماهی افزایش می‌یابد (۱۷). قربانیانفر در سال ۱۳۸۲ بر روی آنزیم‌های سرم خون ماهی قره برون تحقیقی انجام داد و مقادیر طبیعی آنها را تعیین نمود که در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که CK سرم

جدول ۲ - میزان طبیعی برخی از آنزیم‌های سرم خون در گونه‌های مختلف ماهیان.

| نام ماهی | AST(U/L) | ALT(U/L) | LDH(U/L) | ALP(U/L) |
|--------------------|----------|----------|----------|----------|
| تاس ماهی ایرانی | ۲۹۴/۵۹ | ۵/۹۶ | ۲۰۱۸/۴۳ | ۷۴/۶۸ |
| بلوتانگ | ۱۹/۲ | ۵/۵ | - | - |
| قزل آلا رنگین کمان | ۱۵۸-۳۶۸ | ۷-۱۲ | ۲۵۰-۱۰۰۰ | ۵-۲۰۰ |
| گربه ماهی روگاهی | ۹۵ | ۱۷/۵ | ۱۷۲ | ۲۰ |
| حلوا انگلیسی | ۸۹ | ۲۹ | - | - |
| کوسه ماهی قهوه‌ای | ۲۲ | ۱۹ | ۱۰۰ | - |
| کوسه لیمویی | ۴ | ۱۵ | ۲۳۸ | - |
| کوسه ماهی پرستار | ۱۸/۵ | ۴/۴ | ۷۴ | - |
| کپور معمولی | ۵۳ | ۱۸ | ۱۱۲۵ | ۲۸۵ |
| کپور نقره‌ای | ۴۰ | ۱۴ | ۱۵۵۶ | ۱۲۶ |
| کپور علفخوار | ۳۴ | ۱۶ | ۱۵۴۰ | ۲۵۵ |
| گرانت فرانسوی | ۳۰ | ۲/۵ | - | - |



References

۱. پیغان، ر.، جلالی، م.، ر.، دستورنژاد، ف. (۱۳۸۲): بررسی فعالیت آنزیم‌های سرمی (AST, ALT, ALP, LDH) در سه گونه ماهی کپور معمولی، کپور علفخوار و کپور نقره‌ای. مجله پژوهش و سازندگی، ۵۸، صفحه: ۹۶-۹۱.
۲. قربانیانفر، س. (۱۳۸۲): تعیین مقادیر طبیعی برخی از آنزیم‌های سرم خون ماهی قره برون. پایان نامه دکتری عمومی. دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد. شماره ۱۳۸. صفحه: ۳۹-۳۳.
۳. مجابی، ع و همکاران. (۱۳۷۹): بیوشیمی درمانگاهی دامپزشکی. انتشارات نوربخش. صفحه: ۳۹۲-۳۸۵.
4. Alan G. H. (1987) Water pollution and fish physiology. By CRC. Inc: 31-46, 51- 57.
5. Bentick, J., Smith. K. (1987) Biochemical reference range for commercially reared channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Progressive Fish Culturist. 49:108-114.
6. Casillas E., Ames W. E., Sundquist J. (1983) Relation of serum chemistry values to liver and kidney histology in english sole (*Parophrys ventulus*) after acute exposure to carbon tetrachloride. Aquatic Toxicol. 3: 61-78.
7. Coles, E. (1985) Veterinary clinical pathology (4th Ed), W. B. Saunders Company, 294-298.
8. Hille, S. (1982) A literature review of the blood chemistry of Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish Biol. 20: 535-569.
9. Hine, P. M., Wain, J. M. (1987) The enzyme cytochemistry and composition of elasmobranch granulocytes. J. Fish Boil. 30: 465-475.
10. Metallov, G.F., Aksenov, V.P. (1997) Cytochrome oxidase and Lactate dehydrogenase activity in tissue sturgeon (*Acipenser guldenstaedti*) during marine and river life periods. Caspian Research Institute of Fish Industry, Astarakhan, Russian. 4: 131-136.
11. Miller, G., Aksenov, V.P. (1983) Normal range for diagnostically important haematological and blood chemistry characteristics of rainbow trout (*Salmogairdneri*). J. Fish. Aquatic. Sci. 40: 420-425.
12. Sandnes, K., Lie, O., Wagbo, R. (1988) Normal range of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). J. Fish. Biol. 32: 129-136.
13. Stoskopf, M. K. (1993) Fish Medicine. W. B. Saunders company: 48-56, 327-330, 450-453, 754-786.
14. Thrall, M.A. (2004) Veterinary hematology and clinical chemistry. Lippincott williams and wilkins philadelphia. 499-504.
15. Warner, M.C., Whitney, R. (1997) Comparison between serum value of pond and intensive race way cultured channel catfish (*Ictalurus punctatus*). University of North Alabama, USA. J. Fish. Dis. 9: 163-167.
16. Warner, M.C., Dieh, S. A. (1978) Dilution and temperature of analysis on blood serum values in rainbow trout (*Salmogairdneri*). J. Fish. Biol. 13: 315-319.
17. Wieser, W., Hinterleitner, S. (1980) Serum enzyme in rain bow trout as tool in the diagnosis of water quality., Bull, Environ. Contam. Toxicol. 25: 188-189.
18. Woo, P. T. K., Bruno, D. W. (1998) Fish disease and disorders. By CABI. 3: 427-429.



DETERMINATION OF CONCENTRATION OF SOME BLOOD SERUM ENZYMES OF *HUSO HUSO*

Shahsavani, D.^{1*}, Mohri, M.², Taghvaeimoghadam, E.³

¹Department of Clinical Science University, Mashhad- Iran, Faculty of Veterinary Medicine, Mashhad- Iran

²Department of Clinical Science University, Mashhad- Iran, Faculty of Veterinary Medicine, Mashhad- Iran

³Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Mashhad University, Mashhad- Iran.

(Received 21 June 2005 , Accepted 15 October 2006)

Abstract:

The aim of the present study was determination of reference values of blood serum enzymes of *Huso huso*. Descriptive study. 18 male and 18 female *Huso huso* was studied. Blood samples were obtained from caudal vein of 18 males and 18 females and the levels of enzymes were measured by an autoanalyzer. Parametric t-test and Pearson correlation test. Results of measurements for total samples are as follows: Aspartate amino transferase (AST)= $290/27 \pm 60/29$ IU/L, Alanine amino transferase (ALT)= $6/06 \pm 1/14$ IU/L, Alkanine phosphatase (ALP)= $76/13 \pm 13/54$ IU/L, Lactate dehydrogenase (LDH)= $2083/05 \pm 495/18$ IU/L, Creatine phosphokinase (CK)= $6724/85 \pm 2079/29$ IU/L, Acid phosphatase (ACP)= $16/76 \pm 2/53$ IU/L, Obtained results showed, based on t- student statistical method used for the 6 enzyme that there is not any significant difference among male and female fishes. Also in pearson correlation test, there could neither be found any correlation among the 6 enzymes which were studied, nor any correlation among the male and female fishes.

Key words: *Huso huso*, enzymes, serum, blood.

