مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۱، دوره ۶۷، شماره ۴، ۳۳۵-۳۳۱

# تغییرات بیوشیمیایی، آنزیمی و الکترولیتی ناشی از هیپوکلسمی تجربی در گوسفند

خداداد مستغنی [۱] مهسا فرزین پور [۱*] امیر سعید صمیمی [۱] علیرضا تقوی رضوی زاده [۲]

۱) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

۲) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه مشهد، مشهد - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۰ دی ماه ۱۳۹۰ ، پذیرش نهایی: ۱۱ اردیبهشت ماه ۱۳۹۱)

## چکیده

**زمینه مطالعه:** هیپوکلسمی، یکی از بیماری های مهم متابولیک می باشد که در گوسفند بیشتر در انتهای دوره آبستنی و همچنین شروع شیرواری رخ می دهد. **هدف:** هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر هیپوکلسمی تجربی بر عملکرد فیزیولوژیک بدن در ارتباط با تغییرات بیوشیمیایی، آنزیمی و الکترولیتی است. **روش کار:** محلول EDTA ۴/۶٪ به ۵ رأس گوسفند سالم (گروه آزمایش) به صورت انفیوژن وریدی تزریق گردید که موجب تظاهر علائم هیپوکلسیمی یا تغییر در ضربان قلب گردید. به ۵ رأس گوسفند گروه کنترل نیز با شرایط مشابه و به منظور کنترل، سرم فیزیولوژی انفیوز شد. در هر دو گروه، قبل و پس از تزریق در ساعات مختلف، خون گیری به عمل آمد و میزان فاکتورهای AST، ALT، گلوکز، ازت اوره خون، پروتئین تام، کلسیم و فسفر سرم اندازه گیری شدند. **نتایج:** نتایج نشان داد که میزان کلسیم در زمان های پس از تزریق نسبت به زمان قبل از تزریق حداکثر به میزان ۳۹/۲٪ (۴/۵۴ mg/dL) کاهش معنی داری را داشت ($p<0/05$). در طی ۴ ساعت بعد از تزریق EDTA مقادیر فسفر، نسبت به زمان قبل از تزریق، حداکثر به میزان ۵۷/۸٪ کاهش معنی داری را نشان داد ($p<0/05$). اما در بین ساعات ۵/۵ تا ۲۲ حداکثر به میزان ۹/۹٪ افزایش معنی دار یافت. میزان گلوکز در گروه آزمایش در ساعات ۱ تا ۳ نسبت به زمان قبل از تجویز EDTA، حداکثر به میزان ۶۰٪ (۳۸/۴۴ mg/dL) از افزایش معنی داری برخوردار بود ($p<0/05$). میزان ازت اوره خون در گروه آزمایش به صورت معنی داری پس از تزریق EDTA حداکثر به میزان ۵۱/۱٪ افزایش یافت. میزان پروتئین تام و تغییرات آنزیم AST و ALT در قبل و بعد از تزریق EDTA معنی دار نبودند. **نتیجه گیری نهایی:** هیپوکلسمی تجربی موجب کاهش سطح سرمی کلسیم، تغییرات غلظت وابسته به زمان فسفر و افزایش غلظت گلوکز و نیتروژن اوره خون می شود. فعالیت های AST و ALT و غلظت پروتئین تام تغییر معنی داری را نشان نداد.

**واژه های کلیدی:** هیپوکلسمی تجربی، گوسفند، فاکتورهای بیوشیمیایی.

## مقدمه

هیپوکلسمی، یکی از بیماریهای مهم متابولیک می باشد که در گوسفند بیشتر در انتهای دوره آبستنی و همچنین شروع شیرواری رخ می دهد. این بیماری در میش های خشک، قوچ و گوسفندان نر اخته شده نیز دیده می شود. بروز هیپوکلسمی با افزایش سن افزایش می یابد و عموماً با ضعف عضلانی، افزایش حساسیت و نقصان هوشیاری، کما و مرگ مشخص می گردد (۱،۱۶). علاوه بر این، بیماری با ضایعات ناشی از پنومونی استنشاقی، تورم پستان و صدمه به اندام های حرکتی به صورت ثانویه، خسارات سنگینی بر صنعت دامپروری وارد می نماید (۱۲،۱۶،۲۰). با توجه به موارد یاد شده و با توجه به این موضوع که تا به حال پژوهشی در مورد هیپوکلسمی تجربی در گوسفند انجام نشده، تحقیق کنونی به منظور بررسی اثر هیپوکلسمی تجربی بر عملکرد فیزیولوژیک بدن در ارتباط با تغییرات بیوشیمیایی، آنزیمی و الکترولیتی صورت پذیرفت تا بتوان شناخت صحیحی از ساز و کار هیپوکلسمی تجربی در گوسفند ارائه داد.

## مواد و روش کار

تعداد ۱۰ رأس گوسفند ماده غیر آبستن با وزن و سن تقریباً مشابه انتخاب شدند. محلول EDTA ۴/۶٪، با مخلوط کردن پودر آن با آب مقطر و رساندن pH آن به ۷/۴، با هیدروکسید سدیم ۴ نرمال، تهیه شده و به میزان ۱mL در دقیقه به ۵ رأس از گوسفندها (گروه آزمایش) به صورت وریدی تزریق گردید (۱۱). با مشاهده نشانه های بالینی هیپوکلسمی یا تغییر در ضربان قلب تزریق EDTA قطع شد. نشانه ها شامل ترشحات بینی، توقف حرکات شکمبه، حرکات لرزشی بود. به ۵ رأس گوسفند (گروه کنترل) نیز با شرایط مشابه و به منظور کنترل روند، سرم فیزیولوژی تزریق شد. در گوسفندان گروه آزمایش و کنترل، قبل (T0) و پس از تزریق محلول ها، در زمان های ۱، ۲، ۳، ۵، ۴، ۵، ۵، ۵، ۶، ۵ و ۲۲ ساعت (T1-T8) از راه ورید وداج، خون گیری به عمل آمد. نمونه ها با دور ۶۵۰۰ و مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و سرم ها جدا شدند. میزان فاکتورهای SGOT، SGPT (به روش سیگما)، گلوکز (روش ارتوتولوئیدین)، ازت اوره خون (روش دی استیل مونوکسیم)، پروتئین تام (روش بیوره)، کلسیم (روش تیتراسیون) و فسفر (روش سابارو) اندازه گیری و نتایج با استفاده از روش ANOVA Repeated measures مورد بررسی آماری قرار گرفت.

## نتایج

نتایج به دست آمده در این بررسی پس از تزریق EDTA و بعد از قطع آن

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۷۱۱-۲۲۸۶۹۵۰ نمابر: ۰۷۱۱-۲۲۸۶۹۴۰ Email: farzinpour88@gmail.com

جدول ۱- مقادیر میانگین و خطای استاندارد فاکتورهای بیوشیمیایی، آنزیمی و الکترولیتی خون در گوسفندان (n=5) مورد آزمایش در زمان‌های مختلف قبل و پس از تزریق EDTA. *نشانگر تفاوت معنی‌دار بین زمان‌های مختلف در هر ستون می‌باشد (p<۰/۰۵).

| Time(hour) | ALT (unit/L) | AST (unit/L) | TP (mg/dl) | BUN (mg/dl) | GLu (mg/dl) | P (mg/dl) | Ca (mg/dl) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (T۰)۰ | ۳۷±۲/۳۱ | ۶۴/۲۸±۲/۳۳ | ۵/۶۹±۰/۶۶ | ۱۱/۵۱±۰/۱۷ | ۶۵/۶۷±۱/۰۳ | ۴/۲۲±۰/۰۵ | ۱۱/۵۶±۰/۳۸ |
| (T۱)۱ | ۳۳±۲/۷۳ | ۶۷/۵۲±۶/۶۴ | ۵/۴۴±۰/۸۱ | ۱۱/۵۸±۰/۳۱ | *۸۲/۴۵±۳/۵۲ | *۱/۷۸±۰/۳۱ | *۸/۵۷±۰/۶۳ |
| (T۲)۲ | ۳۱/۴±۱/۲۱ | ۷۴/۴±۹/۲۵ | ۵/۰۹±۰/۳۸ | *۱۵/۵۸±۰/۹۱ | *۸۴/۱۲±۴/۶۱ | *۲/۲۹±۰/۲۹ | *۷/۰۲±۰/۵۹ |
| (T۳)۳ | ۳۱±۱/۱۸ | ۷۱/۲۵±۷/۹۴ | ۴/۷۹±۰/۱۸ | *۱۷/۴±۰/۶۲ | *۱۰۴/۱۱±۸/ | *۲/۱±۰/۳۵ | *۸/۷۸±۰/۵۵ |
| (T۴)۳/۵ | ۳۰±۲/۱۲ | ۷۵/۶۶±۱۰/۰۶ | ۴/۵۲±۰/۴۸ | *۱۶/۵۳±۰/۷۴ | ۷۶/۰۸±۵/۷۲ | *۲/۹۹±۰/۸۴ | *۸/۰۹±۰/۵ |
| (T۵)۴/۵ | ۳۶/۲±۳/۴۵ | ۷۰/۲±۸/۷۲ | ۴/۵۳±۰/۶۱ | ۱۳/۴۹±۰/۸۶ | ۶۹±۱۲/۸ | ۳/۵۸±۰/۳۵ | ۹/۱۹±۰/۵۳ |
| (T۶)۵/۵ | ۳۹±۴/۲ | ۶۵±۵/۵۲ | ۶/۲۲±۱/۱ | ۱۴±۱/۹۹ | ۷۴/۹±۶/۵ | ۳/۴۲±۰/۲۵ | ۱۷/۶۷±۰/۴۶ |
| (T۷)۶/۵ | ۳۳±۲/۲ | ۶۳±۷/۱ | ۵/۷۶±۰/۵۵ | ۱۳/۲۱±۱/۲۵ | ۶۷/۴۶±۸/۴ | ۴/۱۴±۰/۰۴ | ۱۹/۸۸±۰/۳۹ |
| (T۸)۲۲ | ۳۷±۳/۲۹ | ۹۵±۸/۵۵ | ۵/۴±۰/۳۹ | ۱۲/۳۴±۰/۷۶ | ۶۳/۴۴±۷/۲ | ۴/۶۴±۰/۲۳ | ۱۳/۶۶±۰/۴ |

جدول ۲- مقادیر میانگین و خطای استاندارد فاکتورهای بیوشیمیایی، آنزیمی و الکترولیتی خون در گوسفندان (n=5) مورد آزمایش در زمان‌های مختلف قبل و پس از تزریق سرم فیزیولوژی.

| Time(hour) | ALT (unit/L) | AST (unit/L) | TP (mg/dl) | BUN (mg/dl) | GLu (mg/dl) | P (mg/dl) | Ca (mg/dl) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (T۰)۰ | ۳۰±۲/۸ | ۶۴±۶/۵۵ | ۵/۶۷±۰/۸۸ | ۱۱±۰/۹۶ | ۶۳/۴۶±۸/۵ | ۵/۸±۰/۵۶ | ۱۲/۲۱±۰/۳۶ |
| (T۱)۱ | ۳۷±۲/۲ | ۶۰±۶/۲۹ | ۶/۷±۰/۶۷ | ۱۱/۲۸±۰/۴۸ | ۶۶/۵۵±۹/۶ | ۵/۲±۰/۳۴ | ۱۰/۸۱±۰/۶ |
| (T۲)۲ | ۳۴±۱/۹ | ۶۵±۸/۶۷ | ۵/۷۵±۰/۹۴ | ۱۱/۴۰±۰/۸۳ | ۶۰/۴۳±۵/۷ | ۵/۱۵±۰/۲۹ | ۱۱/۹۱±۰/۴۷ |
| (T۳)۳ | ۳۷±۳/۲ | ۶۸±۷/۹۲ | ۵/۵۸±۰/۵۵ | ۱۱/۸۴±۰/۶۲ | ۷۳/۶۱±۶/۸ | ۵/۳۲±۰/۶۵ | ۱۱/۹۶±۰/۳۴ |
| (T۴)۳/۵ | ۳۱±۲/۳ | ۶۲±۸/۶۴ | ۵/۵۲±۰/۸۱ | ۱۱/۵۶±۰/۳۸ | ۷۱/۷۵±۴/۳ | ۵/۵±۰/۸۷ | ۱۲/۰۳±۰/۵۱ |
| (T۵)۴/۵ | ۳۰±۲/۷ | ۷۰±۹/۲۳ | ۶/۲۴±۰/۷۳ | ۱۳/۵۲±۰/۷۴ | ۸۳/۸۷±۹/۸ | ۵/۹±۰/۷۲ | ۱۱/۷۹±۰/۶۳ |
| (T۶)۵/۵ | ۳۶±۲/۸ | ۷۵±۱۰/۶۶ | ۶±۰/۳۹ | ۱۲/۹۶±۰/۲۷ | ۴۹/۱۴±۶/۲ | ۵±۰/۳۳ | ۱۲/۰۳±۰/۴۷ |
| (T۷)۶/۵ | ۳۶±۲/۶ | ۹۵±۹/۴۵ | ۶/۹۰±۰/۶۶ | ۱۰/۷۶±۱/۳ | ۵۵/۳۰±۴/۴ | ۴/۹۶±۰/۶۲ | ۱۲/۲۸±۰/۷۲ |
| (T۸)۲۲ | ۳۲±۲/۷ | ۷۷±۹/۸۶ | ۶/۶۵±۰/۴۹ | ۱۰/۱۶±۰/۷۷ | ۶۸/۶۶±۸/۸ | ۵/۴۶±۰/۲۸ | ۱۲/۱۰±۰/۳۳ |

به صورت میانگین هر کدام از فاکتورهای بیوشیمیایی، آنزیمی و الکترولیتی ناشی از هیپوکلسمی اندازه‌گیری شده، به همراه خطای استاندارد در جدول ۱ نشان داده شده است. در این بررسی میزان کلسیم در زمان‌های T1-T4 به ترتیب به میزان ۸/۵۷ ± ۰/۶۴ mg، ۷/۰۲ ± ۰/۵۹، ۸/۷۸ ± ۰/۵۵، ۸/۰۹ ± ۰/۵ در ۱۰۰mL، نسبت به زمان قبل از تزریق به میزان ۱۱/۵۶ ± ۰/۳۶ mg در ۱۰۰mL، حداکثر به میزان ۳۹/۲٪ کاهش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵) (جدول ۱). مقادیر فسفر در زمان‌های T1-T4 به ترتیب به میزان ۱/۷۸ ± ۰/۳۱, ۲/۲۹ ± ۰/۲۹, ۲/۱ ± ۰/۳۵, ۲/۹۹ ± ۰/۸۴ mg در ۱۰۰mL نسبت به زمان قبل از تزریق EDTA به میزان (۴/۲۲ ± ۰/۰۵mg) در ۱۰۰mL، حداکثر به میزان ۵۷/۸٪ کاهش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵)، سپس در زمان‌های T5-T6 نسبت به زمان تزریق EDTA، حداکثر به میزان ۹/۹٪، افزایش معنی‌دار یافت. میزان گلوکز نیز، در گروه آزمایش (T1-T3) EDTA نسبت به زمان قبل از آن، حداکثر به میزان ۶۰٪، افزایش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵)، اما در زمان‌های T4-T7 تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. میزان ازت اوره خون نیز حداکثر به میزان ۵۱/۱٪، افزایش معنی‌داری را بعد از تزریق EDTA در زمان‌های T2-T4 نسبت به T0 نشان داد. میزان پروتئین تام سرم در زمان‌های T1-T5 نسبت به قبل از تزریق EDTA کاهش غیرمعنی‌داری را نشان داد. میزان تغییرات آنزیم‌های ترانس آمیناز نیز در قبل و بعد از تزریق EDTA معنی‌دار نبود. در گروه کنترل هیچ تغییر معنی‌داری در فاکتورهای اندازه‌گیری شده قبل و بعد از تجویز سرم فیزیولوژی مشاهده نشد (جدول ۲).

## بحث

در این بررسی با تزریق Na-EDTA در کاهش کلسیم در خون گوسفندان مورد آزمایش ایجاد شد که این نتیجه با نتایج مطالعه Desmecht و همکاران در سال ۱۹۹۵ در گوساله، همخوانی داشت. کاهش کلسیم باعث فعال شدن غدد پاراتیروئید و ترشح PTH شده و از سوی دیگر افزایش PTH موجب جذب کلسیم از روده و استخوان و افزایش جذب مجدد توبولی کلسیم در کلیه‌ها می‌شود (۱۲،۲۱). همزمان PTH موجب دفع سریع فسفات در ادرار شده که این اثر ناشی از کاهش جذب مجدد یون‌های فسفات در توبول‌های ابتدایی است (۴،۶،۷). همزمان با کاهش غلظت کلسیم خون و فعال شدن مکانیزم یاد شده، میزان فسفر خون کاهش معنی‌داری داشت. به نظر می‌رسد سازوکار پاراتیروئید در بازگرداندن غلظت یون کلسیم به حد طبیعی تأثیر گذار بوده است. در این مرحله دفع کلیوی فسفر کاهش یافته و در نتیجه میزان فسفر خون رو به افزایش می‌گذارد (۴،۶). نتایج بدست آمده در مورد تغییرات فسفر در زمان

ایجاد هیپوکلسمی با تحقیقات انجام شده به صورت تجربی و در حالت هیپوکلسمی طبیعی هماهنگی دارد (۱۷). بررسی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی به دنبال ایجاد هیپوکلسمی تجربی برروی گوساله با استفاده از EDTA که توسط Desmecht و همکاران در سال ۱۹۹۵ انجام شد، با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (۳). Mellau و همکاران نیز در سال ۲۰۰۱ به دنبال ایجاد هیپوکلسمی تجربی در گاو با استفاده از EDTA کاهش معنی‌داری را در غلظت کلسیم و فسفر خون یافتند که با نتایج تحقیق حاضر مشابهت دارد (۱۱). نتایج حاصل از این پژوهش، افزایش معنی‌دار گلوکز را در طول زمان هیپوکلسمی نشان داد. مطالعات نشان می‌دهد هر نوع استرسی اعم از فیزیکی و عصبی، موجب افزایش بارز در ترشح هورمون ACTH از هیپوفیز و به دنبال آن در مدت چند دقیقه افزایش ترشح کورتیزول از قشر غده فوق کلیه می‌گردد. آنچه با بروز هیپوکلسمی مشاهده می‌شود ضعف، لرزش و تتانی است که همگی دال بر بروز استرس در دام می‌باشد. که این مسئله در مقایسه با گروه کنترل مشهود بود. به دنبال افزایش ترشح کورتیزول تحریک عمل گلوکونئوژنز افزایش یافته و مصرف گلوکز توسط سلول‌ها نیز کاهش می‌یابد (۱۸). Schenck و Chew در سال ۲۰۰۵ افزایش میزان گلوکز در سگ‌های هیپوکلسمیک را نشان دادند که با نتایج حاصل از این تحقیق هم خوانی دارد (۱۸). از سوی دیگر، Schlumbohm و Harmeyer در سال ۲۰۰۳ گزارش نمودند که در گوسفندهای هیپرکتونمیک، هیپوکلسمی تجربی ایجاد شده با EDTA، میزان تولید گلوکز اندوژن را کاهش می‌دهد (۱۹). مقادیر ازت اوره خون در گوسفندان مورد آزمایش در مدت زمان تزریق EDTA افزایش معنی‌دار را نشان داد. قدرت انقباض عضله قلب به میزان زیادی به غلظت یون‌های کلسیم در مایعات خارج سلولی بستگی دارد (۵) و به نظر می‌رسد با تزریق EDTA و کاهش کلسیم خارج سلولی، قدرت انقباض قلب، میزان برون ده قلبی و میزان فشار خون کاهش می‌یابد (۲،۸). به این ترتیب میزان فیلتراسیون گلومرولی کاهش یافته و میزان ازت اوره خون افزایش می‌یابد. از طرفی در زمان وقوع هیپوکلسمی با ایجاد استرس و ترشح کورتیکوستروئیدها میزان کاتابولیزم پروتئین‌ها افزایش می‌یابد که این خود موجب افزایش میزان ازت اوره خون خواهد شد. Hunt و همکاران در سال ۱۹۷۰ در هیپوکلسمی ایجاد شده با علف کش افزایش معنی‌داری را در میزان ازت اوره خون گزارش کردند که این یافته با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (۹)، اما شواهد موجود در ارتباط با هیپوکلسمی سگ که توسط Schenck و Chew در سال ۲۰۰۵ بررسی شد، تغییر معنی‌داری را در این فاکتور نشان نداد (۱۸). نتایج به دست آمده در مورد تغییرات پروتئین تام، دلالت بر کاهش غیر معنی‌دار این فاکتور در زمان بروز هیپوکلسمی دارد. در این خصوص Jackso و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Ponti و همکاران در سال ۱۹۹۳، به کاهش فعالیت سیستم عضلانی دستگاه گوارش و در نتیجه تقلیل جذب در این ناحیه اشاره نموده اند (۱۰،۱۵). در مطالعه Norberg و همکاران در سال ۱۹۷۶، در هیپوکلسمی ایجاد شده با هیستامین در موش صحرایی میزان پروتئین تام خون تغییر معنی‌داری را نشان نداد (۱۳). نتایج حاصل از آزمایش‌های انجام شده تغییر معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم‌های SGOT و SGPT نشان نداد که این مطلب با یافته‌های Nosdol و Waage در سال ۱۹۸۱ مبنی بر افزایش معنی‌دار این دو فاکتور در موارد طبیعی هیپوکلسمی در گوسفندان، همخوانی ندارد (۱۴). این تفاوت احتمالاً به علت شرایط متفاوت در هیپوکلسیمی تجربی و طبیعی می‌باشد. با توجه به اینکه تا به حال هیچگونه گزارشی در خصوص هیپوکلسمی تجربی در گوسفند وجود ندارد، یافته‌های حاصل از تغییرات بیوشیمیایی، آنزیمی و الکترولیتی ناشی از هیپوکلسمی در این پژوهش، می‌تواند درک صحیح تری از سازوکارهای پاتوفیزیولوژیک در این مورد را فراهم سازد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز که هزینه این تحقیق را بر عهده داشت کمال تشکر را دارند.

## References

1. Aitken, I.D. (2007) Disease of sheep (4th ed.). Blackwell Science, Edinburgh, UK.
2. Barry, W.H., Bridge, J.H.B. (1993) Intracellular calcium homeostasis in cardiac myocytes. Circulation. 87: 1806-1815.
3. Desmecht, D.J., Linden, A.S., Godeau, J.M., Lekeux, P.M. (1995) Experimental production of hypocalcemia by EDTA infusion in calves: a critical appraisal assessed from the profile of blood chemicals and enzymes. Comp Biochem Physiol A comp Physiol. 110: 115-130.
4. Estepa, J.C., Aguilera-Tejero, E., Lopez, I., Almaden, Y., Rodriguez, M., Felsenfeld, A.J. (1999) Effect of phosphate on parathyroid hormone secretion in vivo. J. Bone Miner. Res. 14:1848-1854.
5. Gerstenblith, G. (2004) Derangements in cardiac metabolism in the ischemic state and consequences of reperfusion. Adv. Stud. Med. 4: 464-471.
6. Goff, J.P., Horst, R.L., Reinhardt, T.A. (1987) The

pathophysiology and prevention of milk fever. Vet. Med. 82: 943.

7. Green, H.B., Horst, R.L., Beitz, D.C., Littledike, E.T. (1981) Vitamin D metabolites in plasma of cow fed a prepartum low-calcium diet for prevention of parturient hypocalcemia. J. Dairy Sci. 64: 217-226.
8. Hasenfuss, G. (1998) Calcium Pump Overexpression and Myocardial Function. Circ. Res. 83: 966-968.
9. Hunt, L.M., Gilbert, B.N., Palmer, J.S. (1970) Effects of a herbicide, 2-ethyl hexyl ester of 2,4-D on magnesium: Calcium ratios and blood urea nitrogen levels in sheep and cattle. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 5: 54-60.
10. Jackso, M.W., Gordon, T.P., Waterman, S.A. (2004) Disruption of intestinal motility by a calcium channel-stimulating autoantibody in type 1 diabetes. Gastroenterology. 126: 819-828.
11. Mellau, L.S.B., Jorgensen, R.J., Enemark, J.M.D. (2001) Plasma Calcium, Inorganic Phosphate and Magnesium During Hypocalcaemia Induced by a Standardized EDTA Infusion in Cows. Acta. Vet. Scand. 42: 251-260.
12. Murray, R.D., Horsfield, J.E., McCormick, W.D., Williams, H.J., Ward, D. (2008) Historical and current perspectives on the treatment, control and pathogenesis of milk fever in dairy cattle. Vet. Rec. 163: 561-565.
13. Norberg, H.P., Schulak, J.A. , Atlas, B., Kaplan, E.L. (1976) Histamine-induced hypocalcemia in the rat. Metabolism. 25: 131-134.
14. Nosdol, G., Waage, S. (1981) Hypocalcaemia in the ewe. Nord. Vet. Med. 33: 310-326.
15. Ponti, F.D., Giaroni, C., Cosentino, M., Lecchini, S., Frigo, G. (1993) Calcium-channel blockers and gastrointestinal motility: Basic and clinical aspects. Pharmacol. Ther. 60: 121-148.
16. Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, R.D. (2007) Veterinary Medicine, A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats ($10^{th}$ ed). Saunders Elsevier Company, London, UK.
17. Riond, J.L., Liesegang, A., Wanner, M., Kaiser, C., Dobeli, M., Joller-Jemelka, H.I. (1999) Efects of EDTA-induced hypocalcaemia and stress on plasma TNF-a, IL-1-ra, G-CSF, GM-CSF and S-100 in dairy cows. Vet. Res. Commun. 23: 299-230.
18. Schenck, P., Chew, D. (2005) Prediction of serum ionized calcium concentration by use of serum total calcium concentration in dogs. Am. J. Vet. Res. 68: 1330-1336.
19. Schlumbohm, C., Harmeyer, J. (2003) Hypocalcaemia reduces endogenous glucose production in hyper-ketonemic sheep. J. Dairy Sci. 86: 1953-1956.
20. Shigeru, S., Isao, M. (2004) Latest information on hypocalcemia prevention. Generation conditions of milk fever and downer syndrome and the economic loss. J. Clin. Vet. Med. 22: 15-18.
21. Tereso, J.M., Van Puijenbroek, R., Van Vuuren, A.M., Van Laar, H., Den Hartog, L.A., Verstegen, M.W.A. (2010) Effect of feeding rumen protected rice bran on calcium homeostasis of non-lactating multiparous cows. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 94: 685-817.

*J.Vet.Res. 67,4:331-335,2012*

# Changes in biochemical, enzymatic, and electrolyte indices of sheep in experimental hypocalcemia

**Mostaghni, Kh.[1], Farzinpour, M.[1*], Samimi, A.S.[1], Taghavi-Razavizadeh, A.R.[2]**

[1]*Department of Clinical Studies, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.*

[2]*Department of Clinical Studies, School of Veterinary Medicine, Mashhad University, Mashhad-Iran.*

(Received 10 January 2012 , Accepted 30 April 2012)

***Abstract:***

**BACKGROUND:** Hypocalcaemia as one of the most important ovine metabolic diseases occurs during late gestation and early lactation. **OBJECTIVES:** The aim of this study was to investigate the physiological effects of experimentally induced hypocalcemia on serum biochemical, enzymatic and electrolyte changes. **METHODS:** Ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) solution (4.6 %) was intravenously infused to 5 healthy sheep (experimental group). Meanwhile, 5 healthy sheep received 0.9% saline solution (IV) and kept at similar condition as control group. In both groups serum was collected before and after EDTA infusion at different time points. Aspartate transaminase (AST), alanine transminase (ALT), glucose, blood urea nitrogen (BUN), total protein, calcium (Ca) and inorganic phosphorus (Pi) levels were measured. **RESULTS:** Clinical signs of hypocalcemia and/or changes in heart rate was caused by EDTA infusion. Serum calcium levels showed significant decrease (39.2% at its maximum state) following EDTA infusion ($p<0.05$), compared to the pre-infusion state. Pi levels showed significant decrease (57.8% at its maximum state) during 1 to 4 hours following EDTA infusion. Meanwhile, it was accompaning with an increase (9.9% at its maximum state) at 5.5 to 22 hours after EDTA infusion. Increase in serum glucose levels during 1 to 3 hours following EDTA infusion was determined as much as 60% (38.44 mg/dl) at its maximum state. An increase (51.1% at its maximum state) was shown in blood urea nitrogen levels after EDTA infusion in experimental group. Changes in total protein, ALT and AST were not significant before and after EDTA infusion. **CONCLUSIONS:** While, experimental hypocalcemia can be accompanied with a decrease in serum Ca level, time dependent alterations in Pi and an increase in glucose and BUN levels can be observed. However, AST, ALT and total protein values can be without any changes.

**Key words:** experimental hypocalcemia, sheep, biochemical indices.

***Figure Legends and Tabel Captions***

**Table 1.** Ca: calcium. P: Phosphorus, Glu: glucose, BUN: Blood urea nitrogen. TP: Total protein, AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase.

**Table 2.** Ca: calcium. P: Phosphorus, Glu: glucose, BUN: Blood urea nitrogen. TP: Total protein, AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase.

***Corresponding author's email: farzinpour88@gmail.com, Tel: 0711-2286950, Fax: 0711-2286940**