

بررسی تغییرات برخی از آنزیمهای سرم خون بزها در پولیوآنسفالومالاسی تجربی با سولفید

دکتر محمد کاظم کوهی^۱ دکتر ملیحه عباسعلی پورکبیره^۲ دکتر پروانه خضرائی نیا^۲ دکتر ایرج کریمی^۳ دکتر فرزاد اسدی^۲

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۴، شماره ۳، ۱۵ - ۱۱ (۱۳۷۸)

و به وسیله تعدادی از میکروارگانیزم‌های شکمبه از ترکیبات سولفور بلع شده تولید می‌شود. با توجه به اینکه علایم بالینی و ضایعات هیستولوژیک این بیماری با بیماریهای دیگر مشابهت داشته و از سوی دیگر گزارشات ادوین (Edwin) و همکاران، گونراتن (Gooneratne) و همکاران و لیزل (Lisle) و همکاران حاکی از افزایش آنزیمهای CPK و AST در مسمومیت تجربی بره‌ها با سولفید می‌باشد. چنین تغییرات ناشی از تخریب تیامین به وسیله سولفور و آسیب غشاءهای سلولی به ویژه غشاء مخاطی دستگاه گوارش بوده که به علت تشکیل اسید سولفور، اسید پنتاتیونیک (با خاصیت کراتولیتیک) و یون سولفید هیدروژن می‌باشد (۷ و ۶، ۴). نکرورز کانونی بطن‌های چپ و راست همراه با حضور سلولهای آماسی تکه هسته‌ای نیز از این مسمومیت گزارش شده است (۹). به علاوه این که سولفید هیدروژن روی سیستم‌های آنزیمی از جمله کاتالاز، پراکسیداز، سوکسینیک دهیدروژناز، کربنیک انیدراز و دی پپتیداز اثر مهاری داشته و همچنین قابلیت ترکیب شدن با سیتوکروم اکسیداز را نیز دارد (۷ و ۶).

بدین ترتیب تغییر پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در این دامها می‌تواند در کنار علایم و آزمایشات بالینی الگویی جهت تشخیص یا تایید تشخیص باشد، ضمن اینکه از مشکلات اجرایی آزمایشاتی از قبیل اندازه‌گیری ترانس کتولاز اریتروسیت‌ها و شکمبه، اندازه‌گیری تیامین پیروفسفات و اندازه‌گیری میزان اثر تیامین پیروفسفات برخوردار نمی‌باشد. لذا در این بررسی سعی شده پارامترهای بیوشیمیایی مرتبط با این مسمومیت در بز ارزیابی گشته تا بر این مبنا و همچنین یافته‌های بالینی و هیستوپاتولوژیک بتوان طرح‌های کنترلی و پیشگیری را برای حیوانات غیر مبتلای در معرض مسمومیت که از جیره مشابه با حیوانات مبتلا تغذیه می‌نمایند به مرحله اجرا در آورد.

مواد و روش کار

جهت ارزیابی تغییرات بیوشیمیایی در مسمومیت تجربی با سولفید، ترکیب سولفید هیدروژن سدیم مونوهیدرات ($\text{NaHS.H}_2\text{O}$) با وزن مولکولی ۷۴/۰۸، ساخت شرکت فلوکا مورد استفاده قرار گرفت. محلول ۹۴ درصد مولار از این کریستالها تهیه گشته و pH محلول حاصله به ۸/۲ رسانده شد. از محلول حاصله رفته‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ تهیه گردید و تا انجام تحقیق در مجاورت یخ نگهداری شد. هشت رأس بز به ظاهر سالم به مدت یک ماه تحت جیره غذایی مشخصی قرار گرفتند و تا آنجایی که تحقیق صورت گرفت درمان خاصی روی آنها انجام نگرفته بود. پنج رأس از این بزها به عنوان دامهای مورد آزمایش تحت تجویز دزهای اولیه $10^{-3} \times 2/3 \times 10^3 / 75 \text{ KgBW}$ قرار گرفته و جهت جلوگیری از مرگ ناگهانی دام، بسته به شدت علایم بالینی دزهای سوم به بعد از محلولهای با رقت کمتر انتخاب شدند. خوراندن محلول به هر بز، زمانی متوقف شد که حملات ناگهانی، کوری و گیجی نمایان گردید. همزمان ۳ رأس بز، دزهای معادلی از آب با pH=۸/۲ (گول دارو) دریافت نموده و همزمان با ذبح بزهای تحت آزمایش ذبح گردیدند. سرم خون کلیه بزها را قبل و بعد از دریافت محلول

کمبود تیامین در نشخوارکنندگان در حالات مختلفی اتفاق می‌افتد. بیماری پولیوآنسفالومالاسی در اغلب مواقع با کمبود تیامین همراه است. سولفور ماده غذایی اساسی برای نشخوارکنندگان تلقی شده و همچنین در درمان بیماریهای مختلف دامی مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این منابع آبی و غذایی نیز می‌توانند غنی از سولفور باشند که پس از احیاء در شکمبه تولید سولفید نموده که هر دو از عوامل بالقوه ایجاد کننده پولیوآنسفالومالاسی می‌باشند. در این بررسی ۸ رأس بز ماده ۲۰ - ۱۳ کیلوگرمی نژاد بومی به ظاهر سالم انتخاب شده و به مدت یک ماه تحت جیره معین غذایی قرار گرفتند. به ۵ رأس از آنها محلول ۹۴٪ مولار از $\text{NaHS.H}_2\text{O}$ با رفته‌های ۷۵، ۵۰ و ۲۵ با $\text{pH} = 8/2$ به طور خوراکی با دُز اولیه $10^{-3} \times 2/3 \times 10^3 / 75 \text{ KgBW}$ خورانده شد. همزمان به ۳ رأس بز به ظاهر سالم دیگر گول دارو خورانده شد. با ظهور علایم بالینی تمام بزها ذبح گردیدند. در بررسی میکروسکوپی ضایعات دستگاه عصبی مرکزی مشخص گردید. در بررسی سرمی میزان آنزیمهای LDH, ALP, ALT, AST, CPK با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون قبل و بعد از مسمومیت اندازه‌گیری گشته و نتایج با آزمون "Student's t" مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی به دنبال مسمومیت، سطح سرمی ALP, CPK, AST, ALT افزایش معنی داری داشت ($P < 0/05$). اما با وجود افزایش مقدار LDH تغییرات آن معنی دار نبود ($P < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: پولیوآنسفالومالاسی، آنزیم، سولفید

عقیده کلی بر این است که بیماری پولیو آنسفالومالاسی با کمبود تیامین همراه است ولی مکانیسم‌های احتمالی که این حالت به وسیله آنها ایجاد می‌شود هنوز ناشناخته است. کمبود تیامین در نشخوارکنندگان می‌تواند در حالات مختلفی از جمله عدم کفایت سنتز میکروبی در تغذیه حیوانات با کنسانتره یا عدم دریافت کافی علوفه خشبی، جذب ناقص یا اختلال در فسفریله شدن تیامین، مهار کننده‌های تیامین، فقدان آپوآنزیم مناسب، افزایش نیاز متابولیک به تیامین و عدم افزایش در عرضه آن، افزایش دفع تیامین و اتلاف آن و همچنین وجود تیامینازها اتفاق افتد (۱۰).

سولفور علاوه بر آنکه یک ماده غذایی اساسی برای نشخوارکنندگان و جمعیت میکروبی مقیم دستگاه گوارش آنها تلقی می‌شود (۱۰)، معمولاً به صورت مخلوط با روغن یا چربی به طور موضعی برای درمان عفونتهای قارچی و انگلی احشام مورد استفاده قرار گرفته و ترکیبات خوراکی آن به عنوان یک ماده مقوی برای دام محسوب می‌گردند. اشکالی که از آن برای درمان بیماریهای پوستی انسان و دام، عفونتهای قارچی و بیماریهای انگلی (۶) و نیز همراه با مکمل‌های کلسیم جهت جلوگیری از تشکیل سنگهای ادراری بز (۵) استفاده می‌شوند. سولفاتهای کلسیم و سدیم برای تنظیم اخذ مکمل‌های غذایی در دامها مورد استفاده می‌باشند و به علاوه اینکه منابع آب نواحی کویری غنی از سولفور می‌باشند که همگی این موارد از عوامل بالقوه ایجاد کننده پولیوآنسفالومالاسی مطرح می‌باشند (۷). سولفید شکل احیاء شده سولفور بوده

۱) گروه آموزشی فیزیولوژی، فارماکولوژی و سم‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۲) گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۳) گروه آموزشی پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

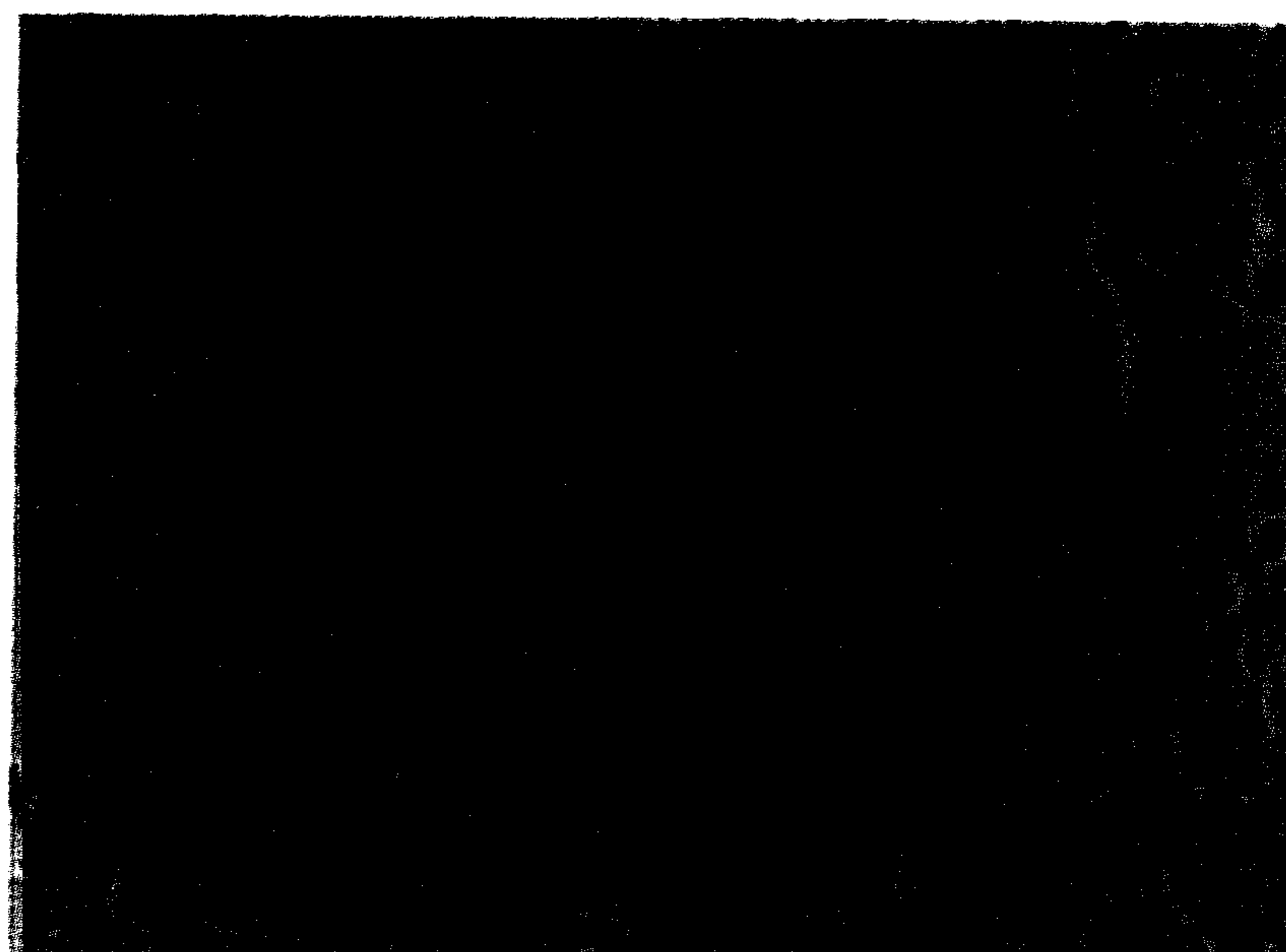
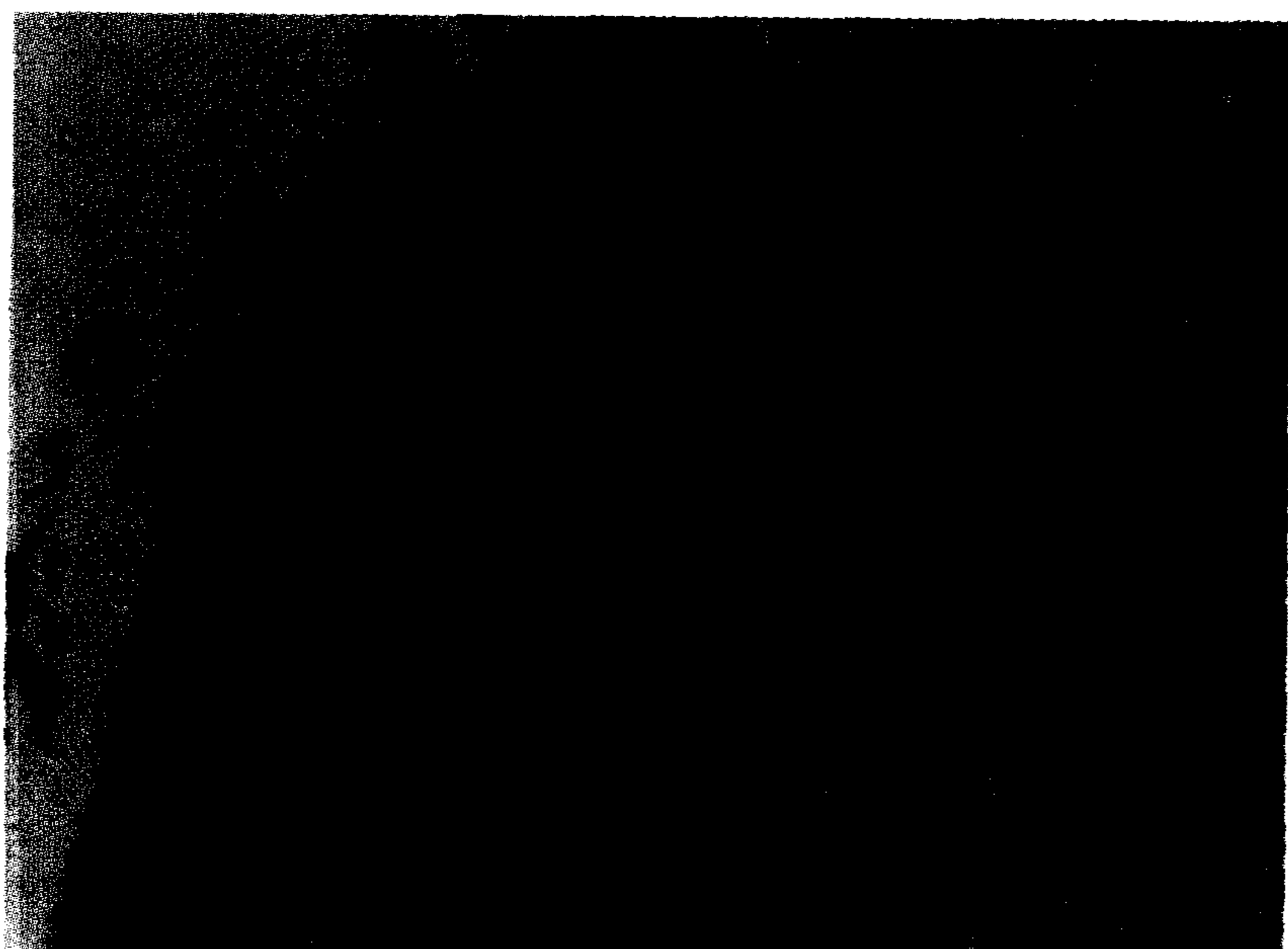


نتایج

در بررسی میکروسکوپی نکرور تورونها با ظاهر اتوزینوفیلیک و زاویه‌دار با فضایی روشن در اطراف (تصویر ۱)، و همچنین نکرور لایه‌ای نورونها در چین‌های مخ مشهود است (تصویر ۲).

تغییرات آنزیم‌های LDH, ALP, ALT, AST, CPK بزهای تحت آزمایش در نمودارهای زیر آمده است. تغییر قابل ملاحظه‌ای در مقادیر سرمی بزهای شاهد ملاحظه نشده است.

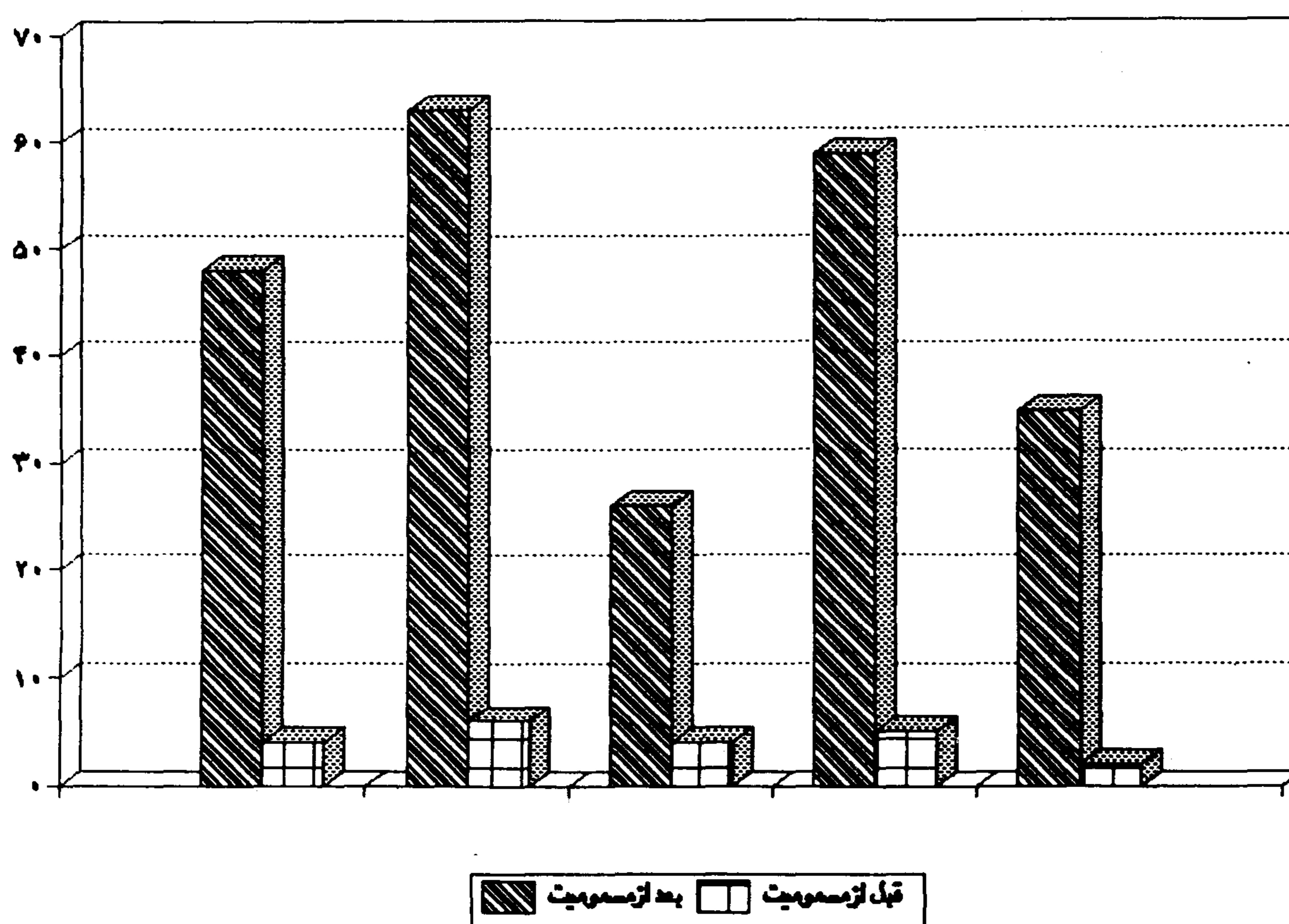
اخذ و در مجاورت یخ به بخش بیوشیمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ارسال گردید. همزمان مغز در محلول فرمالین و مایع مغزی نخاعی در مجاورت یخ به بخش پاتولوژی دانشکده ارسال گردیدند. مقاطع بافتی مغز با رنگ‌آمیزی H&E مورد مطالعه قرار گرفتند. تغییرات سرمی آنزیم‌های ALT, LDH, ALP, CPK, AST با استفاده از کیت‌های پارس آزمون و توسط دستگاه اتوانالایزر Eppendorf Epos 5060 بخش بیوشیمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران اندازه‌گیری گردیدند.



تصویر ۲- نکرور لایه‌ای نورونها در یکی از چین‌های مخ

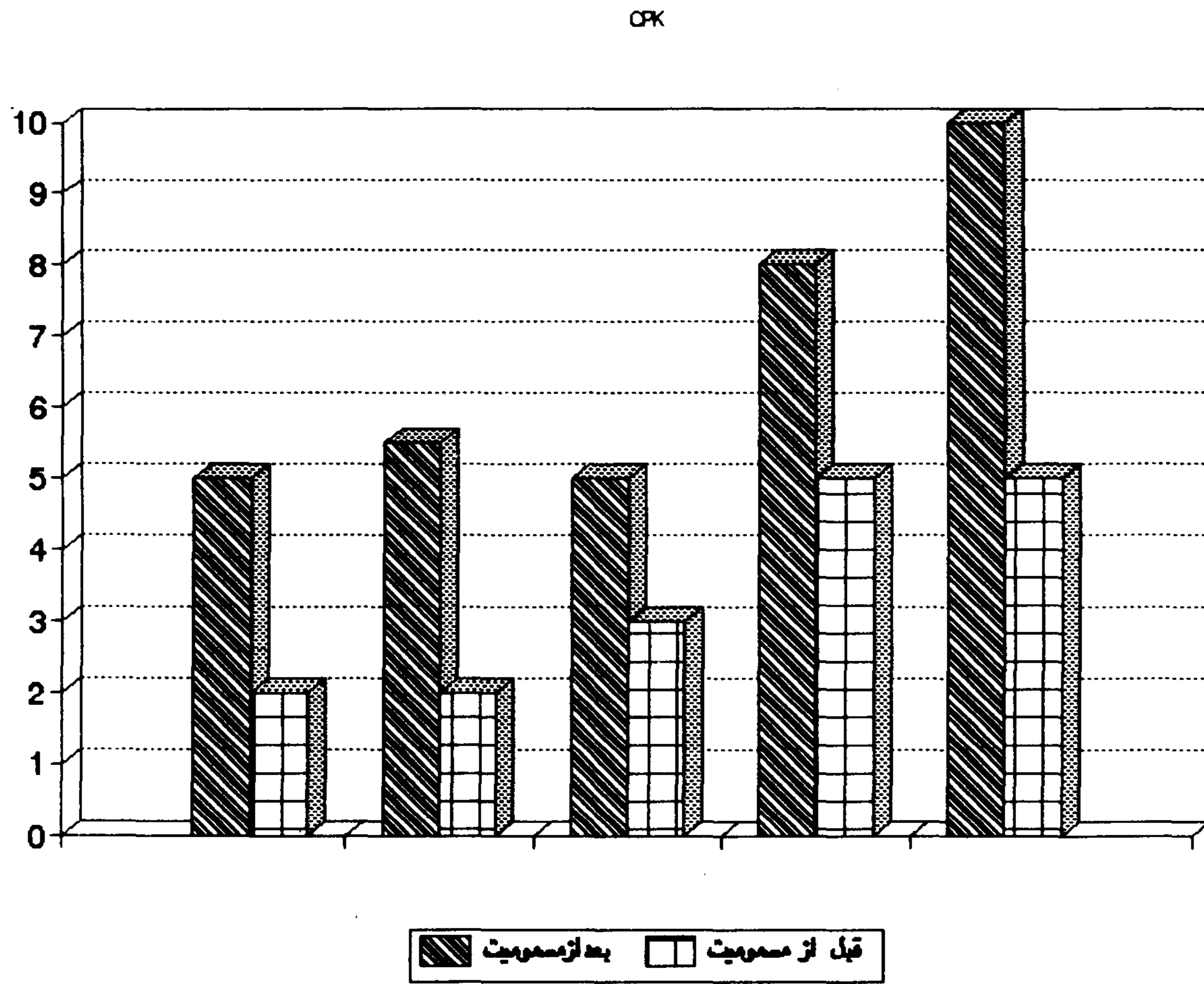
تصویر ۱- نکرور نورونها با ظاهر اتوزینوفیلی

AST

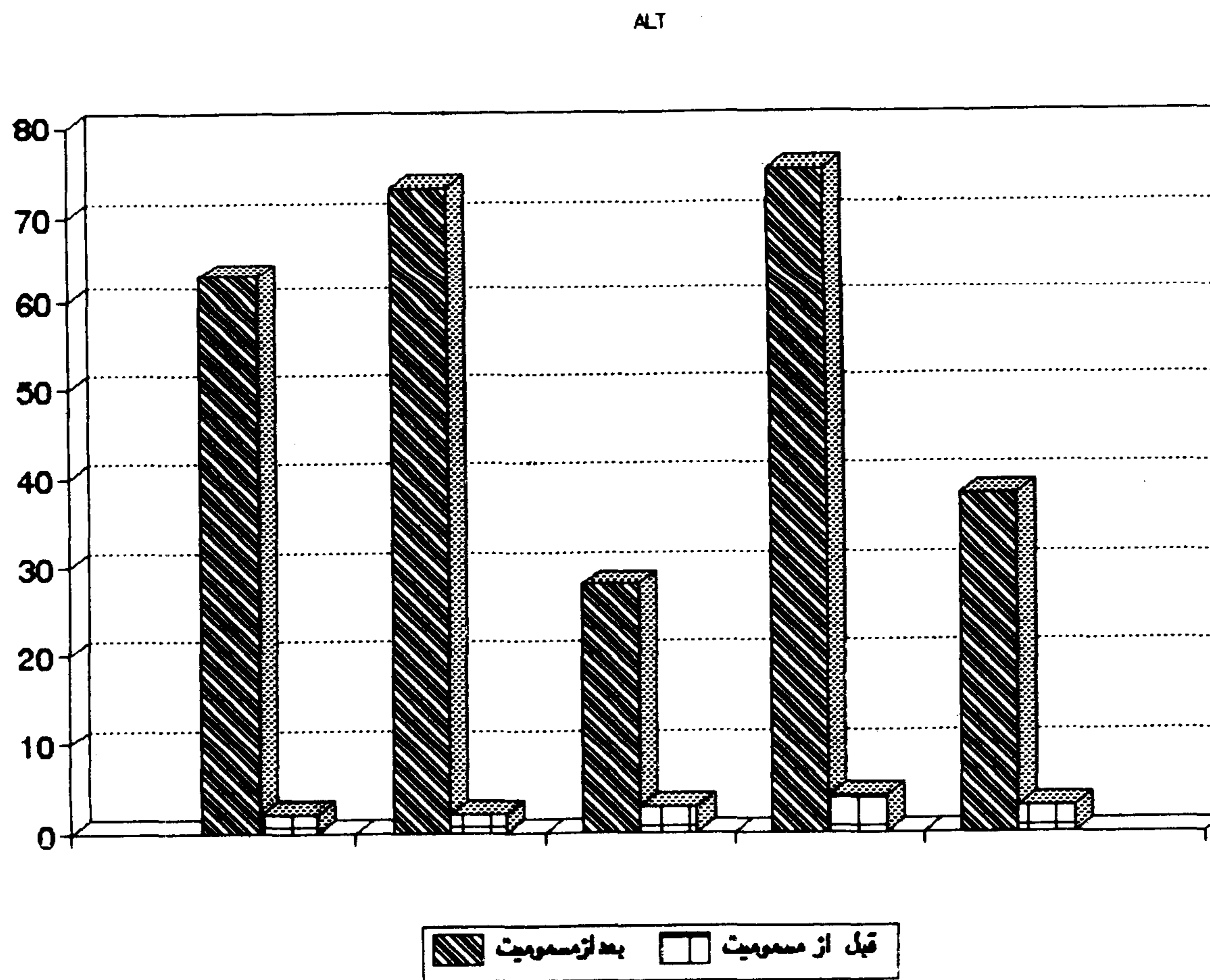


نمودار ۱- تغییرات سرمی AST خون بزها (U/Lit)



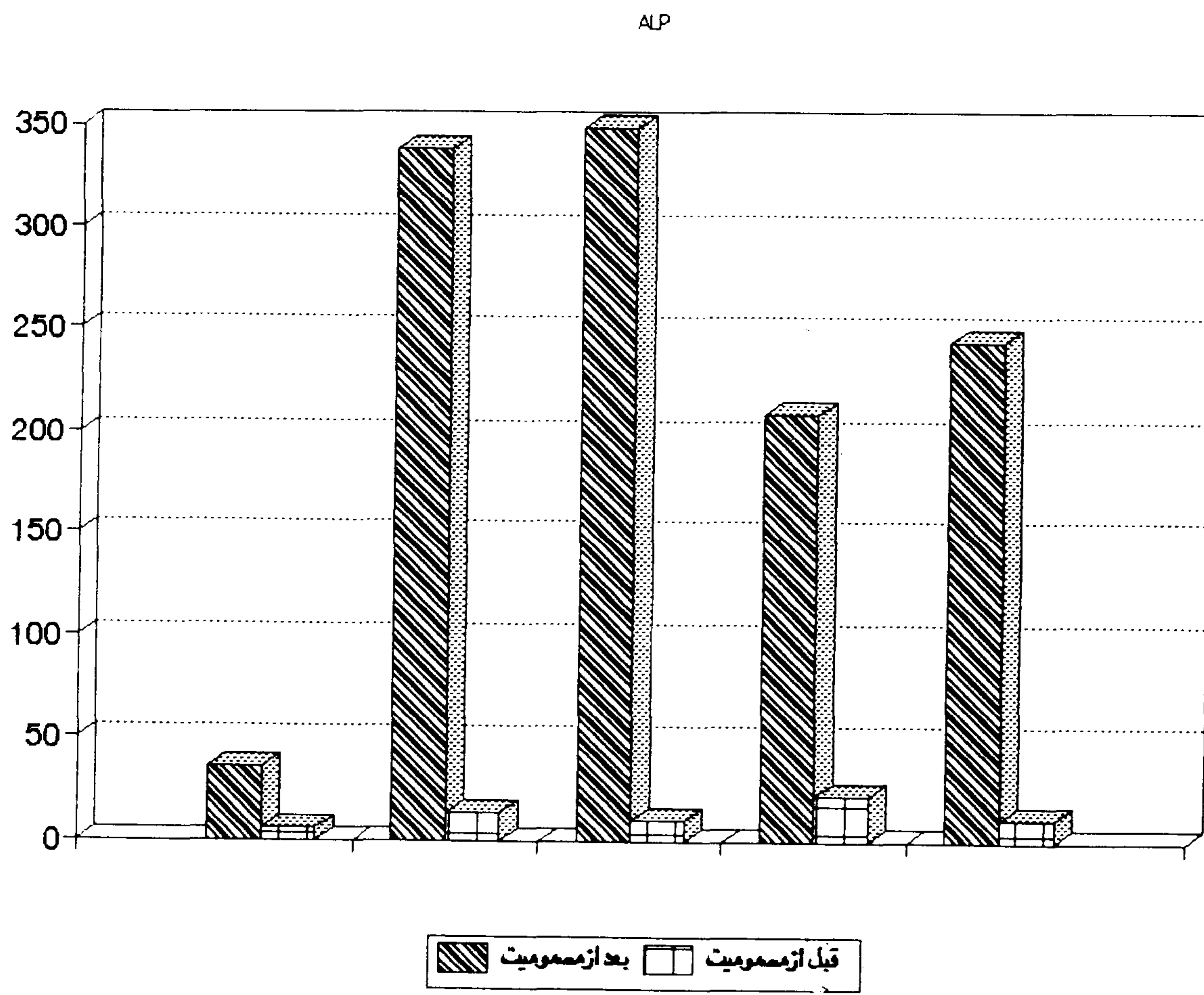


نمودار ۲- تغییرات سرمی CPK خون بزها (U/Lit)

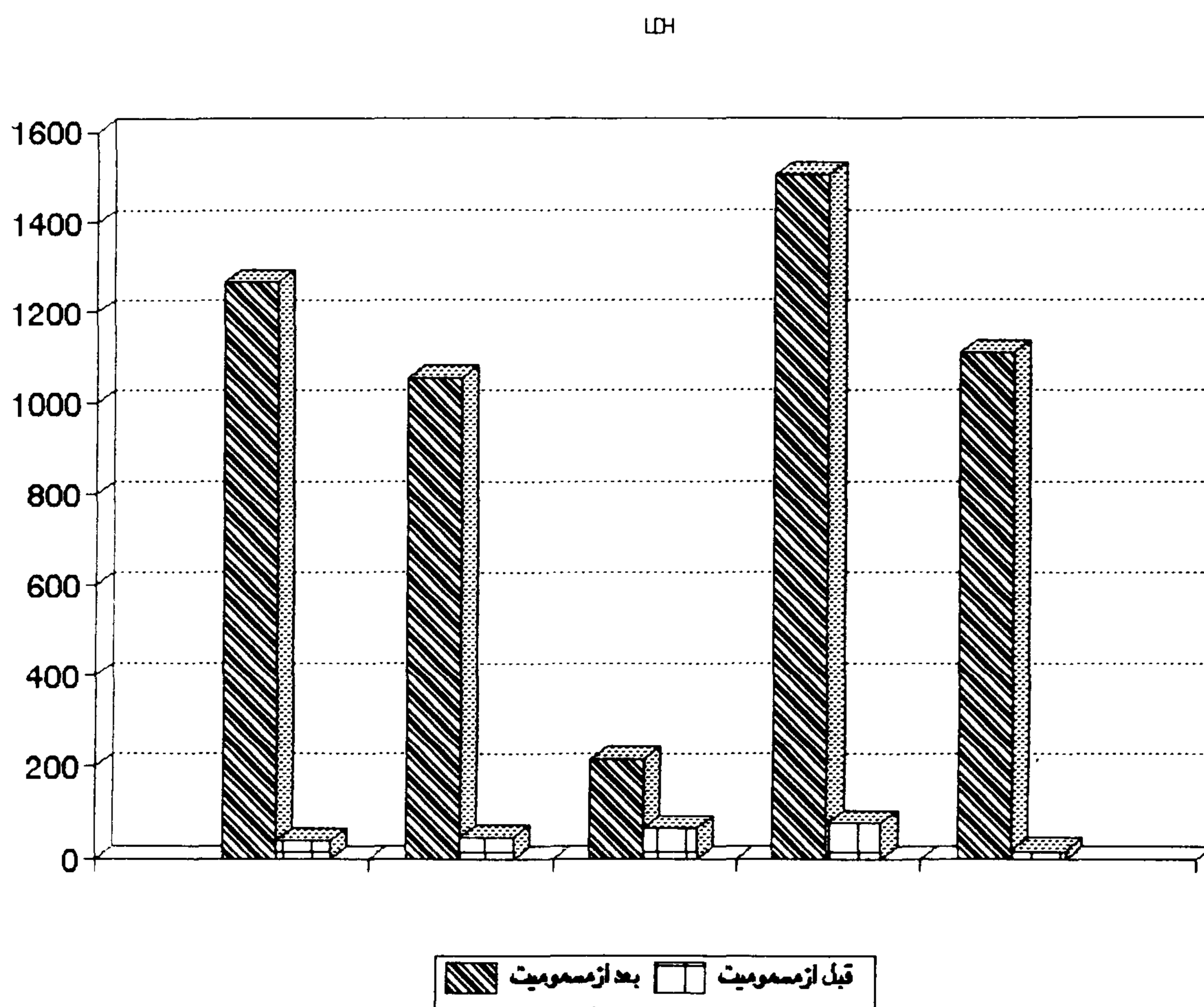


نمودار ۳- تغییرات سرمی ALT خون بزها (U/Lit)





نمودار ۴- تغییرات سرمی ALP خون بزها (U/Lit)



نمودار ۵- تغییرات سرمی LDH خون بزها (U/Lit)



بحث

بر طبق نظر مک‌گوریک (McGurik) یک آزمایش منفرد باید با سایر آزمایشها و علائم بالینی ارزیابی شود تا تشخیص پولیو آنسفالومالاسی به اثبات برسد. نتایج حاصل از بررسی رامل و هیل (Hill and Rammel) در سال ۱۹۹۸ حاکی از آن است که بز ممکن است نسبت به پولیو آنسفالومالاسی از گاو و گوسفند حساستر باشد.

در این تحقیق، بررسی میکروسکوپی حاکی از نکروز نورونها بوده است. نتایج تغییرات آنزیمی با آزمونهای "t" Student مورد ارزیابی قرار گرفت و افزایش معنی داری در عیار سرمی ALP, ALT, CPK, AST ملاحظه شده است ($P < 0.05$). با وجود افزایش سطح سرمی LDH در اکثر بزهای تحت آزمایش، از تغییرات معنی داری برخوردار نبود ($P < 0.05$). افزایش سطح سرمی CPK و AST می‌تواند ناشی از ضایعات عضله قلبی یا مغزی باشد که با یافته‌های مک دونالد (McDonald) و همکاران، گوانراتن (Gooneratne) و همکاران

و ادوین (Edwin) و همکاران در بره‌ها همخوانی دارد. به نظر می‌رسد افزایش عیار سرمی آنزیمی ALT و ALP به علت آسیب شدیدی باشد که به غشاء مخاطی دستگاه گوارش وارد می‌شود. LDH آنزیمی است که در ضایعات عضله قلبی افزایش می‌یابد و انتظار می‌رود با مزمن شدن بیماری عیار سرمی آن افزایش معنی داری بیابد.

بنابراین انجام اصلاحات مناسب در منابع غذایی و آب جهت کاهش دریافت سولفور به مقادیر بی‌خطر از قبیل حذف سنگ گچ و مکمل غذایی و تعویض مراتع در کنترل و پیشگیری بعضی شیوعها مناسب می‌باشد. لیزل (Lisle) و همکاران استفاده روزانه از مکمل تیامین به میزان ۶۰ - ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر بز را جهت پیشگیری از این مسمومیت توصیه نموده‌اند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از سرکارخانم دکتر اطمینانی جهت اندازه‌گیری منیزیم سپاسگزاری می‌نماید.

References

1. Anderson, J.W. Sulphur in biology, Baltimore, University park press, 29-35, (1978).
2. Edwin, E.E. and Jackman, R. Ruminant thiamine requirement in perspective. Vet. Res. Commun., 5(3): 237-50, (1982).
3. Gooneratne, S.R., Olkowski, A.A., Christensen, D.A. Sulfur Induced polioencephalomalacia in sheep: Some biochemical changes: Canadian Journal of Veterinary Research, 53(4): 462-467, (1989).
4. Gunnison, A.F., Sulphite toxicity. A critical review of in vitro and in vivo data, food cosmetic toxicology, 19, 667-672, (1981).
5. James, C.S., Chandran, K. A note on the beneficial role of sulphur in the prevention and resolution of urinary calculi in goats., Indian Veterinary Journal, 52: 52-54, (1975).
6. Julian, R.J. Harrison, K.B., sulphur poisoning in cattle, Canadian Veterinary Journal, 16(1): 28-29, (1975).
7. Kandyli, K. toxicology of sulphur in ruminants, Review., Journal of dairy science, 67, 2179-2187, (1984).
8. Lisle, W.G. Diseases of the nervous system. In: B.P., Smith, Large animal internal medicine, the C.V., Mosby company, St. Louis Missouri. 943-948, (1990).
9. Mcallister, M.M., Gould, D.H., Hamar, D.W., sulfide - Induced polioencephalomalacia in lambs, Journal of Comparative pathology, 106: 267-278, (1992).
10. Radostits, O.M., Blood, D.C., Gay, C.C. Veterinary medicine, A text book of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses, Eighth edition, Bailliere Tindall: 1966-1706, (1994).

Biochemical changes in some serum enzymes of goats with induced experimental sulfide polioencephalomalacia

Kohei, M.K.¹, Abbas Ali pourkabireh M.², Khazraeinia, P.², Karimi, I.³, Assadi, F.²

¹Department of Physiology, pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.

²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran. ³Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.

In ruminants thiamine deficiency occurs in various states and the polioencephalomalacia is concomitant with thiamine deficiency. Sulfur is not only an essential nutrition for ruminant, but also, has therapeutic effect on various diseases of animal. Water and feed sources are full of sulfur as well, so that, after entering in rumen would reduce to sulfide. These are polioencephalomalacia factors, because, sulfur destructs thiamine and also sulfide damages to various cell membrane. In this survey 5 apparently healthy female native Goats with 13-20 kg weights received the serial dilution 75, 50, 25 from NaHS. H₂O with pH = (8.2) (2.3 x 10⁻³ /0.75 kg BW) by intubation. In contrast, 3 goats received placebo. In the microscopic survey the damages of central nervous system were elucidated. In the analysis of the serum; CPK, AST, ALT, ALP and LDH were measured in healthy Goats and also after ingestion and occurrence of clinical signs of toxicity. The results evaluated by Student's "t" tests. In this survey serum levels of CPK, AST, ALT and ALP had increased significantly, but LDH hadn't.

Key words: Polioencephalomalacia, Enzyme, Sulfide.

