

بررسی تغییرات آنزیمی آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در گاوهای مبتلا به تیلریوزیس

حسین هاشم‌زاده فرهنگ^{۱*}، امیرعباسعلیزاده^۲، امیر پرویز رضایی صابر^۳،

بهرام عمواغلی^۴، پریسا شهبازی^۵

تاریخ پذیرش: ۹۰/۴/۱۴

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۱

چکیده

تیلریوز یک بیماری تک یاخته‌ای مهم در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است. عامل اصلی بیماری تیلریوز گاوی در ایران تیلریا آنولاتا می‌باشد که این انگل توسط کنه‌هایی از جنس هیالوما منتقل می‌شود. آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در بیماری‌های همراه با آسیب‌های کبدی میزان تولید آن‌ها دچار تغییر می‌گردد. در این مطالعه جهت بررسی تغییرات آنزیمی آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در گاوهای بیمار از ۵۰ راس گاو مبتلا به بیماری خونگیری بعمل آمد و با استفاده از کیت‌های تشخیص آزمایشگاهی، آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده نشانگر افزایش مقادیر دو آنزیم آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در گاوهای مبتلا به تیلریوز نسبت به مقادیر طبیعی آن‌ها در گاوهای سالم بود. بر اساس این نتایج میانگین مقدار آنزیم آلکالین فسفاتاز در گاوهای مبتلا به تیلریوز ۲۲۱/۷۷ واحد در لیتر بود که نسبت به مقدار میانگین آن در گاوهای سالم (۲۰۰ واحد در لیتر)، افزایش مختصری را نشان می‌دهد. در مورد مقدار آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز در گاوهای مبتلا به تیلریوز نیز میانگین ۴۰/۸۹ واحد در لیتر بدست آمد که نسبت به مقدار میانگین آن در گاوهای سالم افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. بر اساس یافته‌های این بررسی اندازه‌گیری آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در تشخیص بیماری تیلریوز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: تیلریوز، گاو، آلکالین فسفاتاز، گاماگلوتامیل ترانسفراز

مقدمه

تیلریوز یک بیماری مهم مناطق گرمسیری و نیمه

۱- استادیار، گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- دانش‌آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز

۳- استادیار، گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۴- استادیار، گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۵- استادیار، گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: h_hashemzadeh@iaut.ac.ir

گرمسیری است که در گاو و گوساله‌های ایران بوسیله تیلریا آنولاتا ایجاد می‌شود. انتقال بیماری بوسیله کنه‌ها انجام شده و تب شدید، پرخونی مخاطات، بی‌اشتهایی، بزرگ شدن عقده‌های لنفاوی، لاغری و زردی مخاطات را موجب می‌شود. اغلب دام‌ها پس از نمایان شدن نشانه‌های درمانگاهی در صورت عدم درمان بعد از یک دوره یک تا سه هفته تلف می‌شوند (۳ و ۷).

مشکوک طی سه ماه تابستان انجام گرفته و جمعا از ۵۰ راس گاو مشکوک به تیلبریوزیس نمونه برداری انجام گرفت، در ابتدا جهت انجام آزمون غربالگری اقدام به تهیه گسترش خونی مستقیم از عروق حاشیه ای گوش گاوهای مشکوک کرده و پس از رنگ آمیزی به روش گیمسا گسترش های خونی بطور مستقیم، بصورت میکروسکپی و با عدسی ۱۰۰ از نظر فرم اریتروسیستیک مورد مطالعه قرار گرفتند.

در برخی از موارد مشکوک از غدد لنفی پیش کتفی هم گسترش تهیه شد و بعد از رنگ آمیزی گیمسا، با میکروسکپ از نظر فرم شیزونت تحت بررسی قرار می گرفت.

از گاوهای مبتلا به تیلبریوز که گسترش خونی آنها از نظر ابتلا به بیماری مثبت بود، خونگیری از ورید وداج بعمل می آمد. مقدار ۱۰ سانتی متر مکعب خون از ورید وداج حیوان اخذ شد و سرم آنها جدا گردید، سپس با استفاده از کیت های تشخیص آنزیم های آلکالین فسفاتاز، گاماگلوتامیل ترانسفراز ساخت شرکت زیست شیمی اندازه گیری آنزیم های فوق در سرم گاوهای مبتلا انجام گرفت. لازم بذکر است در این بررسی فقط از دام های مبتلا به تیلبریوز که در آزمایش گسترش خونی مثبت بودند آزمایشات سرمی بعمل آمد.

نتایج

پس از اندازه گیری آنزیم های آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در سرم گاوهای آزمایش شده میانگین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز برابر ۲۲۱/۷۷ واحد در لیتر، (جدول ۱) و میانگین فعالیت آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز برابر ۴۰/۸۹ واحد در لیتر (جدول ۲) بدست آمد.

تیلبریوزیس تا پیش از ورود گاوهای اصیل به ایران مورد توجه زیادی نبوده اما با مشخص شدن حساسیت بالای گاوهای وارداتی بررسی در مورد شناسایی بیماری و روشهای مبارزه با آن ضروری تشخیص داده شد (۳).

روش های آزمایشگاهی تشخیص تیلبریوز عمدتا از طریق تهیه گسترش های خونی و مشاهده مستقیم انگل انجام میگردد و به همین جهت بررسی های مربوط به تغییرات بیوشیمیایی در تیلبریوز ناکافی بوده و اطلاعات محدودی در این رابطه وجود دارد (۱). در مطالعه قدردان و همکاران در ۱۳۸۵ افزایش معنی داری در میزان آنزیم های آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در مبتلایان به تیلبریوز ذکر شده است (۱) و در یک بررسی دیگر که توسط رضائی و همکاران در ۱۳۸۷ انجام گرفته است، در گاوهای مبتلا به تیلبریوز میزان فعالیت آنزیم های آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز واجد اختلاف معنی داری ذکر شده است (۸).

تحقیق حاضر با توجه به زیانهای اقتصادی ناشی از تیلبریوز و همچنین میزان شیوع بالای آن در کشور ایران انجام گرفت تا تابلوی بیوشیمیایی خون گاوهای مبتلای به تیلبریوز را از نظر میزان فعالیت آنزیم های آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز مورد مطالعه و بررسی قرار دهد.

مواد و روش کار

در این بررسی ابتدا گاوها از لحاظ درجه حرارت، تورم غدد لنفاوی همچنین از لحاظ معاینه مخاطات وجود پتشی و یا زردی و نیز وضعیت ظاهری حیوان (مثل حالت افسردگی) و سایر علایم تیلبریوز به دقت مورد معاینه قرار گرفتند و حیواناتی که تمام این علایم و یا تعدادی از آنها را نشان می دادند بعنوان حیوان مشکوک به بیماری تلقی شده و از آنها گسترش خونی تهیه می شد. تهیه گسترش های خونی از گاوهای

جدول ۱ - مقادیر فعالیت آلکالین فسفاتاز در گاوهای مبتلا به تیلریوزیس

| تعداد گاوهای آزمایش شده مبتلا به تیلریوزیس | | فعالیت آلکالین فسفاتاز (آلکالین فسفاتاز) ± انحراف معیار |
|--|----------------|---|
| جمع کل | میانگین | P value |
| ۱۱۰۸۸/۸۳ | ۲۲۱/۷۷ | P < ۰/۰۰۱ |
| ۵۰ رأس | ± انحراف معیار | |
| | ۲۱۹/۴ | |

همانگونه که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود. مقدار میانگین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در گاوهای مورد بررسی بر اساس محاسبات آماری برابر ۲۲۱/۷۷ واحد در لیتر محاسبه گردید.

مقدار سرمی آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز نیز در گاوهای مبتلا به بیماری تیلریوز اندازه‌گیری شد و در جدول شماره ۲ نتایج حاصله نشان داده شده است.

جدول ۲ - مقادیر فعالیت گاماگلوتامیل ترانسفراز در گاوهای مبتلا به تیلریوزیس

| تعداد گاوهای آزمایش شده مبتلا به تیلریوزیس | | فعالیت گاماگلوتامیل ترانسفراز (گاماگلوتامیل ترانسفراز) ± انحراف معیار |
|--|----------------|---|
| جمع کل | میانگین | P value |
| ۲۰۴۴/۶۳۶ | ۴۰/۸۹ | P < ۰/۰۰۱ |
| ۵۰ رأس | ± انحراف معیار | |
| | ۲۳/۳۸ | |

همانگونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود مقدار میانگین فعالیت آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز بر اساس محاسبات آماری انجام شده برابر ۴۰/۸۹ واحد در لیتر مشخص گردید.

بحث

در این بررسی با توجه به نتایج بدست آمده، میزان سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز در گاوهای مبتلا به تیلریوز اندازه‌گیری شد. کمترین و بیشترین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز به ترتیب ۶۸/۷۲ و ۹۶۵/۹۲

واحد در لیتر محاسبه شد. مقدار میانگین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در گاوهای مورد بررسی بر اساس محاسبات آماری برابر ۲۲۱/۷۷ واحد در لیتر محاسبه گردید. محدوده طبیعی آنزیم آلکالین فسفاتاز در گاوهای سالم ۰-۵۰۰ واحد در لیتر می‌باشد و مقدار میانگین این آنزیم در حیوانات سالم ۲۰۰ واحد در لیتر ذکر شده است و بدین ترتیب طبق نتایج این تحقیق افزایش مختصری در مقدار آنزیم آلکالین فسفاتاز در گاوهای مبتلا به بیماری تیلریوزیس مشاهده گردید.

مقدار سرمی آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز نیز در گاوهای مبتلا به بیماری تیلریوز اندازه‌گیری شد. کمترین و بیشترین مقدار فعالیت آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز در این گاوها به ترتیب ۹/۵۱ و ۱۱۸/۵ واحد در لیتر بود. مقدار فعالیت آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز بر اساس محاسبات آماری انجام شده برابر ۴۰/۸۹ واحد در لیتر می‌باشد. محدوده طبیعی آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز در گاوهای سالم ۳۹-۴/۹ واحد در لیتر می‌باشد که مقدار میانگین این آنزیم در گاوهای سالم حدود ۲۲ واحد در لیتر می‌باشد (۵). طبق نتایج این بررسی افزایش معنی‌داری در میزان آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز در گاوهای مبتلا به بیماری تیلریوزیس مشاهده شد که به مراتب بیشتر از افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز در گاوهای بیمار نسبت به گاوهای سالم بود.

در بیماری تیلریوزیس آنمی ناشی از همولیز خارج عروقی دیده می‌شود که در آن تولید بیلی‌روبین غیرکونژوگه محلول در آب افزایش یافته و در نتیجه میزان بیلی‌روبین کونژوگه نیز به نسبت بیلی‌روبین غیرکونژوگه افزایش می‌یابد. احتمالاً بیلی‌روبین کونژوگه در مسیر خود و در مجاری صفراوی و حتی کیسه صفرا تجمع یافته و همین امر می‌تواند باعث آسیب غشاء سلول‌های مجاری صفراوی گردد و در نتیجه، افزایش آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز را سبب می‌گردد.

در تحقیقی که توسط Gautman, dhar در ۱۹۸۳

در این رابطه قابل ذکر میباشد که به آنها اشاره می‌شود: (۱) هم در بررسی قدرت‌دان و همکاران و هم در نتایج مطالعه حاضر متوسط میانگین ارقام بدست آمده برای آنزیم های آلكالين فسفاتاز و گاماگلوتاميل ترانسفراز در محدوده طبیعی و به بیانی در محدوده نوسانات طبیعی این آنزیم ها در بدن گاو ها میباشد و در منابع متعدد و معتبری که در این رابطه وجود دارد (۷ و ۱۱) محدوده طبیعی برای آنزیم های آلكالين فسفاتاز و گاماگلوتاميل ترانسفراز به ترتیب ۵۰-۰ و ۴۰-۵ واحد در لیتر ذکر شده است، لازم به ذکر است آنزیم آلكالين فسفاتاز یک آنزیم غیر اختصاصی و دارای ایزو آنزیم های مختلفی میباشد که در سلول های اپیتلیوم مجاری صفراوی، روده، کلیه و جفت فعالیت می کنند و کبد نیز همانگونه که در فوق ذکر شد دارای مقادیر متفاوتی از این آنزیم بوده و در نشخوارکنندگان دارای نوسانات زیادی می باشد (۷ و ۱۱) و همچنین آنزیم گاماگلوتاميل ترانسفراز در بیشتر سلول های بدن از جمله سلول های پوششی لوله های پیچیده کلیوی، سطح کانالیکولی سلول های کبدی و بافت پوششی مجاری صفراوی دارای فعالیت زیادی بوده و محدوده آن در نشخوار کنندگان دارای نوسانات زیادی میباشد (۷ و ۱۱).

(۲) در نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر و مطالعه قدرت‌دان و همکاران میانگین اندازه آنزیم های آلكالين فسفاتاز و گاماگلوتاميل ترانسفراز در گاوهای بیمار و سالم نسبت به همدیگر واجد اختلاف معنی‌دار بوده‌اند، اما بیشتر از محدوده نوسانات طبیعی این آنزیم‌ها در بدن نشخوارکنندگان نبوده اند و لذا می توان نتیجه گرفت که در گاوهای مبتلا به تیلریوز آسیب ها و اختلالاتی در کبد بوجود می‌آید که سبب افزایش میزان مقادیر آنزیم‌های آلكالين فسفاتاز و گاماگلوتاميل ترانسفراز نسبت به گاوهای سالم می‌گردد ولی این افزایش نمی‌تواند به عنوان دلیل حتمی وجود بیماری تیلریوزیس در گاوها مبنای تشخیصی باشد و فقط یافته

بر روی تیلریوزیس حاره‌ای گاوها در کشور هندوستان انجام یافته، افزایش آنزیم‌های آلكالين فسفاتاز و گاماگلوتاميل ترانسفراز مشاهده شده است (۵) و نیز در تحقیق دیگر که توسط Polyakot و همکاران در ۱۹۹۷ بر روی جنبه‌های بیوشیمیایی پاتوژنز تیلریوزیس گاوی در کشور شوروی سابق صورت گرفته افزایش آنزیم‌های آلكالين فسفاتاز و گاماگلوتاميل ترانسفراز گزارش شده است (۶).

در بررسی Col, oslo در ۲۰۰۷ انجام گرفته است افزایش میزان فعالیت آنزیم های آلكالين فسفاتاز و گاماگلوتاميل ترانسفراز در گاوهای مبتلا به تیلریا آنولاتا مورد تاکید قرار گرفته است که با نتایج بررسی حاضر همخوانی دارد (۴).

Sharma و همکاران در ۱۹۸۷ در هندوستان در بررسی تغییرات هماتولوژیکی و بیوشیمیایی خون در عفونت تجربی به تیلریا آنولاتا در گوساله‌ها، افزایش آنزیم‌های آلكالين فسفاتاز و گاماگلوتاميل ترانسفراز را گزارش کرده‌اند (۱۰ و ۱۱) و همچنین در تحقیقی مشابه که توسط Sanhu و همکاران در ۱۹۹۸ در کشور هندوستان صورت پذیرفت، افزایش آنزیم‌های فوق مورد تأیید قرار گرفته است (۹) و در بررسی دیگری هم که توسط رضائی و همکاران در ۱۳۸۷ انجام گرفته است، در گاوهای مبتلا به تیلریوز میزان فعالیت آنزیم های آلكالين فسفاتاز و گاماگلوتاميل ترانسفراز نسبت به گاوهای سالم واجد اختلاف معنی داری ذکر شده است (۸).

در ایران یک مطالعه توسط قدرت‌دان و همکاران در ۱۳۸۵ انجام گرفته است که افزایش معنی داری در میزان آنزیم های آلكالين فسفاتاز و گاماگلوتاميل ترانسفراز در مبتلایان به تیلریوز نسبت به گاوهای سالم ذکر شده است و میزان افزایش آنزیم های فوق در گاوهای مبتلا به تیلریوز به ترتیب ۹۶/۳ و ۲۵ واحد بین المللی ذکر شده است که بطور کلی با نتایج بدست آمده در بررسی حاضر همخوانی دارد اما چند نکته بسیار مهم

در ایران. انتشارات موسسه رازی. چاپ اول،
صفحه ۳.

- 4- Col, R., U. Uslu., (2007): Changes in selected serum components in cattle naturally infected with *Theileria annulata*. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 51: 15-18.
- 5- Gautman, O.P., Dhar, S., (1983): Bovine tropical theileriosis, a review, Prevalence, Transmission and symptoms. *Trop. Vet. Ani. Sci. res.* 53 (6): 654-658.
- 6- Polyakof, V.F., Gevorkyan, N.A., (1977): Biochemical aspects of the pathogenesis of theileriosis in cattle. *Arakhozy protozoinye bolezni.* pp: 224-230.
- 7- Radostis, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C., Hinchcliff, K.W., (2000): *Veterinary Medicine*. 9th ed. Saunders, London. (2) pp: 1324-1329.
- 8- Rezaee, S.A., Khorrami, M., Nouri, M., (2008): Evaluation of Haematochemical Parameters in Crossbred Cattle Naturally Infected with *Theileria annulata* in Iran. *Int J. Dai. Sci.* 3(4):205-209.
- 9- Sandhu, G.S., Grewal, A.S., Singh, A., Kondal, J.K., Singh, J., Brar, R.S., (1998): Haematological and Biochemical studies on experimental theileria *annulata* infection in crossbred calves. *Vet. Res. commun.* 22(5): 347-354.
- 10- Sharma, L.D., Sharma, N.N., Sabir, M., Bhattacharyya, N.K., (1987): Clinico-haematological and biochemical changes in experimental theileria *annulata* infection in crossbred cow calves. *Indian J. vet. med.* 7(2): 154-156.
- 11- Yadav, C.L., Sharma, N.N., (1986): Changes in blood components during experimentally induced theileria *annulata* infections in cattle. *Vet. Parasitol.* 21(2): 91-98.

های فوق دال بر آسیب های کبدی در گاوهای مبتلا به تیلریوزیس میباشد که در هنگام درمان و تجویز دارو باید مورد توجه قرار بگیرد.

۳) با عنایت به آنکه در مطالعه حاضر و بررسی قدردان و همکاران میانگین اندازه آنزیم های آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در گاوهای بیمار و سالم نسبت به همدیگر واجد اختلاف معنی دار بوده اند، تفاوت های بدست آمده در این دو مطالعه را می توان به عوامل متعددی از جمله اختلاف شرایط آزمایش و تفاوت کیت های مورد استفاده و همچنین مربوط به اختلاف حساسیت های نژادی و منطقه ای گاوهای مورد بررسی در این دو تحقیق ذکر کرد.

با توجه به یافته های گزارش شده و مقالات و منابع معتبر علمی، نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج سایر محققین همخوانی دارد و لذا افزایش آنزیم های آنزیم های آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در بیماران مبتلا به عنوان یک شاخص تشخیصی کمکی می تواند مورد استفاده قرار گیرد و از لحاظ پاتولوژیکی نیز آسیب های کبدی و عوارض بعدی ناشی از آن در پاتورن تیلریوزیس مورد توجه قرار گیرد.

منابع

- ۱- قدردان مشهدی، ع. راضی جلالی، م. کاوند، م. (۱۳۸۵): بررسی تغییرات آلکالین فسفاتاز، اسپاراتات ترانس آمیناز، گاما گلوتامیل ترانسفراز و بیلروبین سرم در گاوهای مبتلا به تیلریوزیس. مجله دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره اول. صفحه ۲۴-۲۸.
- ۲- نورمحمدزاده، ف. (۱۳۷۶): بیماریهای گاو با اطلس رنگی. انتشارات نوربخش. صفحه ۴۷.
- ۳- هاشمی فشارکی، ر. (۱۳۶۵): تیلریوزیس گاوی

