

اندازه‌گیری میزان سرولوپلاسمین و مس سرم، کبد و کلیه گوسفندان و بررسی همبستگی فراسنجه‌های یاد شده در کشتارگاه هر کرد

• مهرداد پورجعفر

گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد

• سید سیاوش ساعی دهکردی

دانشجوی دکترای تخصصی گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: فروردین ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: مهر ماه ۱۳۸۵

Email: dmp4m@yahoo.com

چکیده

به منظور تعیین وضعیت مس در گوسفندان، مطالعه‌ای با هدف اندازه‌گیری میزان سرولوپلاسمین سرم و مس سرم، کبد و کلیه گوسفندان کشتارگاه شهرکرد و بررسی ارتباط بین فراسنجه‌های مذکور در گوسفندان انجام شد. بدین منظور از ۱۰۴ رأس گوسفند، نمونه‌های خون، کبد و کلیه به شکل تصادفی اخذ گردید. میزان سرولوپلاسمین و مس سرم، کبد و کلیه با استفاده از روش اسپکترو فوتومتری (ساندرمن و نوموتو) و دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری گردید. حداقل و حداکثر میزان‌های سرولوپلاسمین ۱۴ تا ۲۹۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر (میانگین $4/17 \pm 20/92$)، مس سرم $2/2 تا 6/6$ میکروگرم در میلی‌لیتر (میانگین $1/3 \pm 0/39$)، مس کبد ۸۷ تا ۵۷۰ ppm (میانگین $139/74 \pm 343/15$) و مس کلیه ۱۰ تا ۳۶ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک (میانگین $4/64 \pm 19/79$) تعیین گردید. همچنین ضرایب همبستگی بین سرولوپلاسمین و مس سرم، سرولوپلاسمین و مس کبد، مس سرم و مس کبد، سرولوپلاسمین و مس کلیه، مس سرم و مس کلیه و مس کبد با مس کلیه به ترتیب $0/941$ ، $0/572$ ، $0/533$ ، $0/488$ ، $0/426$ و $0/288$ تعیین گردید. نتایج بررسی نشان می‌دهد میزان سرولوپلاسمین سرم و مس سرم، کبد و کلیه گوسفندان دارای محدوده طبیعی و خطر کمبود مس در گوسفندان منطقه پایین است.

کلمات کلیدی: گوسفند، مس، سرولوپلاسمین، سرم، کبد، کلیه

Pajouhesh & Sazandegi No:76 pp: 185-188

Measurement of ceruloplasmin and copper of Serum, Liver and kidney of sheep in Shahrekord slaughterhouse

By: M. Pourjafar, Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Charmahal & Bakhtiari Province, Shahrekord-Iran., and S.S. Saei Dehkordi., PhD Student of Food Hygiene, College of Veterinary Medicine, Urmia University, Azarbayjane-Gharbi Province, Urmia-Iran.,

In order to determine the copper status, current study was carried out to measurement the amounts of ceruloplasmin and copper of serum, liver and kidney of sheep in Shahrekord slaughterhouse and to consider the correlation between the mentioned factors in sheep. To do this, in slaughtered sheep were measured and the correlation between the ceruloplasmin and copper of serum and between the copper of serum and copper of liver and kidney were determined. The sample collections were carried out from November to December 2003 in Shahrekord slaughterhouse. The amounts of ceruloplasmin and copper of serum, liver and kidney were measured, using Sunderman and Nomoto method and atomic absorption spectrophotometer, respectively. The minimum and maximum amounts of ceruloplasmin were 4 and 29 mg/dl respectively (20.92 ± 4.17). The corresponding values for the copper of serum were 0.6 and 2.2 respectively (1.3 ± 0.39). The corresponding values for the copper of liver were 87 ppm and 570 ppm (343.61 ± 139.74) and the minimum and maximum amounts of kidney copper were 10 mg / kg DM and 36 mg / kg DM (19.79 ± 4.26). There was a significant correlation ($p < 0.01$) between ceruloplasmin and copper of serum ($r = 0.941$). There was also significant correlation ($p < 0.01$) between ceruloplasmin and copper of liver ($r = 0.572$), copper of serum and copper of liver ($r = 0.533$), ceruloplasmin and copper of kidney ($r = 0.488$), copper of serum and copper of kidney ($r = 0.426$) and copper of liver and copper of kidney ($r = 0.283$), respectively. In conclusion the determined amounts of copper of serum, liver and kidney and the amount of ceruloplasmin were within the normal range. Finally, it can be concluded that the risk of copper deficiency is low in sheep in this area.

Key words: Sheep, Copper, Ceruloplasmin, Serum, Liver, Kidney

مقدمه

کمبود تجربی مس باعث آسیب قابل برگشت در کارکرد دستگاه تناسلی قوچ‌ها می‌گردد (۱۵). در مطالعه‌ای بر روی کبدهای ۱۳ گوزن سیکا بوسیله میکروسکوپ الکترونی^۷، میتوکندری‌های غول آسا^۸ با اشکال نامنظم به دلیل بروز اختلال در آنزیم‌های حاوی مس شامل سیتوکروم اکسیداز^۹، مونو آمین اکسیداز^۱ و سرولوپلاسمین^{۱۱}، مشاهده شده است (۱۱). در یک بررسی اثر کمبود مس و به دنبال آن کاهش مقاومت رت‌ها در برابر انگل *Trypanosoma lewisi* و افزایش تعداد انگل در دوره عفونت به اثبات رسیده است (۷). با توجه به اینکه وجود اطلاعات جامع در این زمینه در مناطق مختلف ایران، بازتابی از کمبود یا طبیعی بودن وضعیت مس در گوسفندان هر منطقه تلقی شده و عطف به زیان‌های اقتصادی ناشی از کاهش تولید به دنبال کمبود این عنصر، تحقیق حاضر برای تامین اهداف مذکور و به وسیله جمع‌آوری و بررسی نمونه‌های مربوط به گوسفندان کشتارگاه شهرکرد صورت گرفته است.

مس یکی از عناصر کمیاب و ضروری بدن دام‌ها و گیاهان است (۳). بخش عمده مس را می‌توان در کبد، استخوان‌ها، ماهیچه‌ها و پوست یافت، مقدار مس موجود در کبد از سایر اعضا بیشتر است (۱). کمبود مس عمدتاً در نوزاد نشخوارکنندگان و با علائم بالینی نظیر رشد کم، لنگش، آتاکسی^۱ تظاهر می‌یابد (۵). کمبود مس یکی از مهمترین کمبودهای معدنی در دام تلقی شده و به دو فرم اولیه و ثانویه است (۲، ۴). از عوارض کمبود مس، لاغری زیاد، کم خونی، استئوپروز^۲، استحاله عضله قلبی، از بین رفتن میلین^۳، نقص در دستگاه تولید مثل و... را می‌توان نام برد. همچنین در کمبود مس ممکن است اختلالاتی در تداوم فعالیت ترومبوسیت‌ها و تنظیم مکانیسم انعقاد خون رخ دهد (۱۰، ۱۲). در غرضروف مفصلی گوزن قرمز چار کمبود مس، استئوکندروز^۴ ناشی از رشد ناقص الاستین و کلاژن^۵ گزارش شده است (۱۳). شمارش کلی لکوسیت‌ها^۶ در گوساله‌های دچار کمبود مس و نیز گوسفند‌های دارای کمبود در اثر القای مولیبدنوم افزایش می‌یابد (۸). در تحقیقی بر روی انسان مشخص شده، مقدار مس در نوزادان نارس، کمتر از نوزادان طبیعی می‌باشد (۶).

روش انجام

خشک می‌باشند. همچنین ضرایب همبستگی بین سرولوپلاسمین، مس سرم، مس کبد و مس کلیه نشان می‌دهد. بیشترین ضریب همبستگی بین سرولوپلاسمین سرم و مس سرم ($r=0/941$) دیده شده و کمترین ضریب همبستگی بین مس کبد و مس کلیه مشاهده گردید ($r=0/283$).

بحث

تشخیص آزمایشگاهی کمبود مس در گاو و گوسفند بر اساس تعیین مس سرم یا پلاسما^۲ و مس کبد، استوار است. به هر حال امروزه مشخص شده که سطوح مس سرم به تنهایی به عنوان شاخص‌هایی قابل اطمینان از وضعیت مس نیستند (۱۰). در تمام گونه‌ها، مقادیر مس سرم یا پلاسما به واسطه عواملی مثل سن، نوع نمونه، آبستنی و بیماری دچار تغییر می‌شوند (۱۴). مقدار طبیعی مس سرم $0/7-1/2$ میکروگرم در میلی لیتر و مقادیر $0/7-0/4$ میکروگرم در میلی لیتر مرزی می‌باشند و این تفسیر را مشکل می‌نماید. هرگاه غلظت مس سرم یا پلاسما از $0/4$ میکروگرم در هر میلی لیتر کمتر باشد، کمبود مس به شکل جدی به وجود خواهد آمد. عده‌ای از محققین اعتقاد دارند که اندازه‌گیری همزمان مس کبد و خون، اندیس مناسبی جهت آگاهی از وضعیت مس در حیوانات یک منطقه به دست می‌دهد. عده‌ای دیگر از محققین نظری متفاوت داشته و اشکالاتی را بر استفاده از میزان مس کبد و خون در ارزشیابی از وضعیت مس حیوان ابراز می‌دارند، چرا که دیده شده است در پاره‌ای از موارد، مقدار مس خون و کبد در حیوانات به ظاهر سالم به مراتب کمتر از حد طبیعی است (۵). مس کبد بیشتر شاخصی از مراحل کاهش و تخلیه است تا این که نمایانگر کمبود آن باشد. مس در درجه اول در کبد و آنگاه در مغز استخوان و به مقدار کمتر در بافت‌های دیگر گوسفند ذخیره می‌شود. میزان مس موجود در قشر کلیه ارزش تشخیصی بسشتتری نسبت به مس کبد دارد، چرا که محدوده تغییرات آن بسیار کم و مقدار مس کلیه معادل $12/7-19$ میلی گرم در کیلوگرم از ماده خشک گزارش شده است. بنابراین اگر میزان مس کلیه کمتر از $12/7$ باشد در مقایسه با مس کبد شاخصی قابل اعتماد برای حضور کمبود مس در بدن حیوان می‌باشد (۱۰). در ایران تحقیقات متعددی بر روی مس صورت گرفته که از آن جمله می‌توان به تحقیق نوری (۱۳۷۷) تحت عنوان بررسی احتمال وقوع کمبود مس در گوسفندان اطراف مشهد اشاره کرد. در این تحقیق به منظور آگاهی از میزان مس، مولیبدنوم و گوگرد خاک و علوفه مرتعی در برخی مناطق اطراف مشهد و همچنین مس خون و کبد گوسفندان در حال چرا در این مناطق کارهایی صورت گرفته و امکان وجود آتاکسی انزووتیک^{۲۱} مورد توجه خاص قرار گرفت (۵). در مطالعه دیگری که علیدادی و همکاران برای

در مدت سه هفته از تعداد ۱۰۴ رأس گوسفند که در کشتارگاه شهرکرد، ذبح شدند نمونه‌گیری شامل خون، کبد و کلیه، انجام گرفت. نمونه‌گیری خون از ورید و داج گوسفندان^{۱۲}، قبل از ذبح و توسط و نوجکت^{۱۳} خلأدار صورت گرفت. پس از کشتار، نمونه‌های ۱۰ گرمی از کبد و کلیه جدا گردید و نمونه‌ها در فریزر منجمد شد. سپس در آزمایشگاه، سرم با استفاده از سانتریفوژ^{۱۴} و با دور ۱۵۰۰ در ۱۰ دقیقه از نمونه‌های خون جدا گردید. پس از خارج کردن نمونه‌ها از انجماد عمل هضم و جدا کردن پروتئین‌های بافت‌ها صورت گرفت. بدین منظور $0/5$ گرم از بافت کبد و کلیه توزین و سپس با ۱ میلی لیتر از ترکیب اسید پر کلریک^{۱۵} و اسید نیتریک^{۱۶} (نسبت ۳ به ۷) در لوله آزمایش مخلوط گردید. نمونه‌ها به مدت ۸ ساعت در دو روز متوالی (در کل ۱۶ ساعت) در حمام آب ۱۰۰ درجه قرار گرفتند. سپس حجم نمونه‌ها با استفاده از آب مقطر (فاقد یون) ثابت شده و سانتریفوژ گردید. با استفاده از دستگاه جذب اتمی^{۱۷} (9670 Shimadzu-Aa) در طول موج $324/8$ نانومتر و با استفاده از محلول‌های استاندارد مس، مقدار مس نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید. اندازه‌گیری مقدار مس سرم نیز به روش فوق انجام گرفت با این تفاوت که $0/5$ میلی لیتر سرم با مقدار $0/5$ میلی لیتر اسید پر کلریک و اسید نیتریک مخلوط شد. میزان سرولوپلاسمین سرم با روش اسپکتروفوتو متری^{۱۸} (ساندرمن و نو موتو^{۱۹}) اندازه‌گیری شد. به منظور بررسی روابط بین پارامترهای اندازه‌گیری شده، از آزمون همبستگی و روش کای ۲ استفاده گردید.

نتایج

جدول ۱، مقادیر سرولوپلاسمین و مس سرم، کبد و کلیه را نشان می‌دهد. $4/8$ درصد از نمونه‌های سرمی اخذ شده دارای میزان مس سرمی کمتر از $0/7$ میکروگرم در میلی لیتر، $47/1$ درصد از این نمونه‌ها دارای میزان مس سرمی $0/7-1/2$ میکروگرم در میلی لیتر و $48/1$ درصد از این نمونه‌ها دارای میزان مس سرمی بالاتر از $1/2$ میکروگرم در میلی لیتر می‌باشند. در گروه مورد بررسی $21/2$ درصد دارای سطح مس کبدی $200-800$ ppm و $78/8$ درصد دارای سطوح مس کبدی بالاتر از 200 ppm هستند و با توجه به اینکه مقادیر کمتر از 35 ppm را به عنوان کمبود در نظر می‌گیرند، می‌توان نتیجه گرفت که یک ذخیره کبدی مطمئن از مس وجود دارد. $12/5$ درصد از گروه مورد بررسی دارای سطح مس کلیوی پایین تر از $12/7$ ، $29/8$ درصد دارای سطح مس کلیوی $19-12/7$ و $57/7$ درصد دارای سطح مس کلیوی بالاتر از 19 میلی گرم در کیلوگرم ماده

جدول ۱- مقادیر سرولوپلاسمین مس سرم، کبد، کلیه گوسفندان ایرانی کشتار شده در کشتارگاه شهرکرد (n=104)

سرولوپلاسمین ۱	مس سرم ۲	مس کبد ۳	مس کلیه ۴	
۲۰/۹۲	۱/۳	۳۴۳/۶	۱۹/۷۹	میانگین
۴/۱۷۹	۰/۳۹۴۸	۱۳۹/۷	۴/۶۴	انحراف معیار
۲۰/۹۲ ± ۴/۱۷۹	۱/۳ ± ۰/۳۹۴۸	۳۴۳/۶ ± ۱۳۹/۷	۱۹/۷۹ ± ۴/۶۴	انحراف معیار ± میانگین

۱- مقادیر طبیعی سرولوپلاسمین سرم ۱۰-۴/۵ میلی گرم در دسی لیتر ۲- مقادیر طبیعی مس سرم $0/7-1/2$ میکروگرم در میلی لیتر

۳- مقادیر طبیعی مس کبد ۲۰۰-۸۰۰ ppm و ۴- مقادیر طبیعی مس کلیه ۱۹-۱۲/۷ میلی گرم در کیلو گرم ماده خشک.

21-Enzootic ataxia
22- Najdi

منابع مورد استفاده

- ۱ - امیر رسولی، ه. ۱۳۷۰؛ بیوشیمی بالینی، چاپ اول، انتشارات جعفری، تهران.
- ۲ - علی‌دای، ن. ۱۳۸۰؛ بررسی وقوع کمبود مس در گوسفندان چراگاه‌های ارومیه، پژوهش و سازندگی، شماره ۵۱، صفحه ۴۸-۵۰.
- ۳ - مستغنی، خ. ۱۳۷۸؛ بیماری‌های متابولیک و تغذیه دام، چاپ اول، مرکز نشر دانشگاه شیراز، شیراز.
- ۴ - موزانی اصل، م. ۱۳۸۰؛ بررسی میزان مس سرم و کبد گوسفندان و مس مولیبدنوم و سولفور خاک و گیاه در شهرستان دشت آزادگان، پایان نامه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، شماره ۱۰۳.
- ۵ - نوری، م. ۱۳۷۷؛ بررسی احتمال وقوع کمبود مس در گوسفندان اطراف مشهد، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۳ و ۴، صفحه ۵۱-۵۴.
- 6-Alebic, J.A., Frokovic, A. and Orlic, Z.U., 1999; Umbilical cord blood copper content in newborns from the Northern. *Freseinus Environmental Bulletin*. 8(1):53-58.
- 7-Crocker, A., Lee, C. and Aboko, G., 1992; Interaction of nutrition and infection: Effect of copper deficiency on resistance to *Trypanosoma lewisi*. *Journal of Nutritional Medical Association*. 84(8):697-706.
- 8-Gengebach, G.P., Ward, J.D. and Spears, J.W., 1997; Effect of copper deficiency and copper deficiency coupled with dietary iron or molybdenum on phagocytic function and response of calves, a respiratory disease challenge. *Journal of animal science*. 75:1112-1118.
- 9-Haroun, E.M., Farah, M.O., Ibrahim, I. And Mahmoud., 1992; Copper deficiency in Najdi sheep in central Saudi Arabia. *Veterinary Journal*. 69(9):782-785.
- 10-Radostits, O. M. Gay, C. C., Blood, D. C. and Hinchcliff, K. W., 2000; *Veterinary medicine, a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*, 9th ed., Bailliere Tindall, London, pp: 1487-1502.
- 11-Seo, H., 1996; Ultrastructure of hepatocyte in copper deficient Sika deer. *Journal of Comparative Pathology*. 114(3):283-290.
- 12-Smith, B.P. 1996; *Large Animal Internal Medicine*, 2nd Ed. New York, Mosby. PP: 1232-1233.
- 13-Thompson, K.G., Audige, L., Arthur, D.G., Juhan, A.F., Orr, M.B., McSporan, K.D. and Wilson, P.R., 1994, Osteochondrosis associated with copper deficiency in young farmed red deer and Wapiti X hybrids. *New Zealand Veterinary Journal*. 42:137-143.
- 14-Underwood, E. J., 1999; *The mineral nutrition of livestock*. 3rd ed., CABI Publishing, London, pp:283-326.
- 15-Van Neikerk, F.E. and Van Neikerk, C.H., 1989; The influence of experimentally induced copper deficiency on fertility of rams. *Journal of South African Veterinary Association*. 60(1): 32-35.

بررسی وقوع کمبود مس در گوسفندان چراگاه‌های ارومیه انجام دادند، در مجموع بر حضور کمبود تحت بالینی مس در گوسفندان مطالعه شده، تأکید شد (۲). Haroun و همکاران در یک بررسی در عربستان سعودی، برهم کنش بین سطوح مس و مولیبدنوم را در گوسفندان نجدی^{۲۲} اثبات کرده‌اند (۹). در مطالعه موجود، به منظور بررسی وضعیت مس از اطلاعات حاصل شده در ارتباط با سرولوپلاسمین، مس سرم، مس کبد و مس کلیه، همزمان استفاده شد. بر اساس نتایج حاصله، ۴/۸ درصد جمعیت مورد مطالعه در محدوده پایین‌تر از ۰/۷ و بین ۰/۶ تا ۰/۷ میکروگرم در میلی لیتر بوده‌اند که نشان دهنده وضعیت مرزی است، ۲۱/۲ درصد جمعیت مورد بررسی مس کبدی ppm ۲۰۰-۸۰ و ۷۸/۸ درصد، مس کبدی بالای ppm ۲۰۰ دارند که ذخیره مطمئن را در کبد نشان می‌دهد. بروز حالت مرزی در سرم به احتمال زیاد ثانویه است و می‌تواند به علت وضعیت خاک و گیاه و عوامل مداخله کننده باشد. در این مطالعه ۱۲/۵ درصد از جمعیت مربوطه دارای سطح مس کلیوی پایین‌تر از ۱۲/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک می‌باشند. در این بررسی قوی‌ترین همبستگی بین سرولوپلاسمین و مس سرم وجود دارد. در منابع این ضریب در گوسفند ۰/۹۲ ذکر شده است که با نتایج تحقیق تشابه نزدیکی دارد (۱۰). ضریب همبستگی بین مس کبد و مس سرم در مقایسه با ضریب همبستگی بین سرولوپلاسمین و مس سرم کمتر است. ضریب همبستگی بین مس کبد و مس کلیه ضعیف می‌باشد. با توجه به مقادیر مس موجود در سرم، کبد و کلیه و نیز میزان سرولوپلاسمین سرم می‌توان به این نتیجه رسید که گوسفندان کشتار شده از کمبود مس رنج نمی‌برند و هر چند وجود احتمالی کمبود به طور کلی مرتفع نمی‌باشد، ولی خطر چنین کمبودی در منطقه پایین است.

پاورقی‌ها

- 1-Ataxia
- 2-Osteoprosis
- 3-Demyelination
- 4-Osteochondrosis
- 5-Elastin & Collagen
- 6-Total leukocyte count
- 7-E.M
- 8-Giant mitochondria
- 9-Cytochromoxidase
- 10-Monoaminoxidase
- 11-Ceruloplasmin
- 12-Jagular vein
- 13- Venoject
- 14- Centrifuge
- 15-Perchloric acid
- 16- Nitric acid
- 17-Atomic absorbtion
- 18- Spectrophotometry
- 19-Sunderman & Nomoto
- 20-Plasma