



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

اثر پرتو گاما بر آنزیم‌های کبدی اسب

*سید کمال شفائی^۱، عباس زارع^۱، فرحناز معتمدی سده^۱، ابولفضل اکبری^۱، داریوش فخاری^۱

۱. پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای

۲. مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی

چکیده: منظور از کاهش سمیت در سم مار کبرا رفع مشکلات در حیوانات پس از تزریق سم می باشد که از پرتو دهی استفاده گردید، و در نهایت منجر به افزایش طول عمر حیوان، کاهش ضایعات، افزایش تولید و رفع نواقص می گردد. سم مار کبرا با دز ۵ و ۱۰ کیلو گری پرتو تابانی شده و سپس همراه با سم پرتو ندیده به اسبها تزریق گردید. و یک گروه نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در این آزمایش از هر اسب مورد آزمایش ۱۰ میلی لیتر خون بدون مواد ضد انعقاد گرفته شد. نمونه های خون پس از آزمایش و آنالیز آنزیم های کبدی توسط آزمایشگاه، بر اساس روش آماری و نرم افزاری SPSS از طریق تجزیه و تحلیل به روش دانکن مورد بررسی قرار گرفتند. فعالیت و ترشح آنزیم S.G.O.T در مورد تیمار سم پرتو دیده نسبت به تیمار سم پرتو ندیده تغییرات محسوسی دیده شد که در سطح ۰/۰۵ معنی دار بود و همچنین تیمار سم پرتو ندیده موجب افزایش فعالیت و عملکرد آنزیمی بیشتری نسبت به سایر تیمار ها گردید که در سطح ۰/۰۵ معنی دار بود. در مورد تیمارهای پرتو دیده با دزهای ۵ و ۱۰ کیلو گری نسبت به هم دیگر تفاوت معنی داری مشاهده نشد و همچنین نسبت به تیمار شاهد (بدون تزریق سم) این اختلاف معنی دار نبود.

واژگان کلیدی: سم مار کبری، پرتو دهی، آنزیم‌های کبدی

Effect of gamma radiation on liver enzymes of horse

S.K.Shafaie¹, A. Zare², F. Motamedi sedeh¹, A. Akbari², D. Fakhari¹

1. Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI)

2. Vaccine and Serum Research Institute of Razi

Abstract: In order to reduce the toxicity of the venom of cobra venom is injected problems in animals after the irradiation was used, and ultimately the survival of animals, waste reduction, and elimination of defects is increasing production Cobra venom doses of 5 and 10 kg Gray-irradiated and non-irradiated horses were injected with poison. And one group was considered as the control group. In this test every horse tested 10 ml blood was collected without anticoagulant. Blood samples after testing and laboratory analysis of liver enzymes, based on statistical analysis using SPSS software through Duncan studied. S.G.O.T activity and enzyme secretion in the irradiated venom treatment compared to non-irradiated venom was seen marked changes were found in the 0/05 and also increases the activity of the enzyme-treated irradiated venom than other treatments that were significant at 0/05. Treatments irradiated with doses of 5 and 10 kg Grey significant differences were observed with respect to each other and relative to the control (no toxin), this difference was not significant.

Keywords: Cobra venom, irradiation, liver enzymes.

مقدمه



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی (۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

کبد یا جگر، یکی از غدد مهم در بدن است که در فعالیت‌های سوخت‌وساز بدن مانند گوارش غذاها نقش دارد. تمام خون دستگاه گوارش توسط سیاهرگی به نام ورید باب جمع‌آوری شده و وارد کبد می‌شود و تمام مواد جذب شده از لوله گوارشی از کبد عبور می‌کنند. وظیفه کبد به دام انداختن سموم بدن و تصفیه آن‌ها با تبدیل کردنشان به مواد بی‌ضرر است. همچنین کبد متابولیسم داروها و سموم بدن را بر عهده دارد [۱]. شرکت در خون‌سازی و مقاومت در برابر عفونت‌ها، فراهم‌سازی سریع انرژی در هنگام ضرورت، ذخیره آهن و... از دیگر فعالیت‌های کبد است. حساسترین و پر مصرف‌ترین آنزیم‌های کبدی آمینوترانسفرازها هستند. آن‌ها آسپارات آمینوترانسفراز SGOT یا AST و آلانین آمینوترانسفراز SGPT یا ALT هستند. AST به طور طبیعی در انواع مختلف بافت‌ها از قبیل کبد، قلب، ماهیچه و مغز قرار دارد. این آنزیم در زمان آسیب به هر کدام از این بافت‌ها وارد خون می‌شوند. به عنوان مثال میزان غلظت سرمی آن در هنگام حمله‌های قلبی و مشکلات ماهیچه‌ای افزایش می‌یابد. قسمت عمده ALT برعکس AST در کبد یافت می‌شود و کبد جایی است که در برگیرنده بیشترین غلظت این آنزیم است. این آنزیم در نتیجه آسیب کبدی وارد خون می‌گردد. این آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز در سیتوپلاسم و میتوکندری سلول‌های بافت‌های قلب، کبد و عضلات وجود دارد. در صورتی که این بافت‌ها دچار ضایعه شوند میزان AST سرم افزایش می‌یابد. در ضایعات مزمن سلول‌های کبدی این آنزیم AST که در سیتوپلاسم و میتوکندری وجود دارند در پلاسما افزایش می‌یابند (سیروز کبدی). آنزیم AST در اکثر بافت‌های پراکنده است ولی میزان این آنزیم به مراتب از AST کمتر است. این آنزیم در تشخیص بیماری‌های کبدی بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. در ارزیابی نحوه عملکرد سلول‌های کبدی آنزیم ALT اختصاصی‌تر و حساس‌تر از AST است و میزان افزایش آن در ابتدای ضایعات بیشتر از AST است [۲]. بالا رفتن سطح آنزیم‌های کبدی در خون نشانه آسیب کبدی می‌باشد. سطح غیر طبیعی آنزیم‌ها می‌تواند یکی از نشانه‌های سرطان کبد باشد. معمولاً سرم درمانی با پاد زهرهای هتولوگ (نا متجانس) از پلاسمای حیوان گرفته می‌شود. سرم‌های درمانی هتولوگ حاصل از پلاسمای اسب دارای اثرات جانبی زیادی می‌باشند که می‌توان به تب، کهیر، خارش، شوک آنافیلاکسی و یا در نهایت به بیماری سرم (یک واکنش آلرژیک تاخیری که بر اثر تزریق یک آنتی سرم حاصل از واکنش آنتی بادی در مقابل یک آنتی ژن در سرم فرد گیرنده ایجاد می‌شود) اشاره کرد [۳]. این سرم‌ها معمولاً از اسب-هائی که سیستم ایمنی آن‌ها توسط تزریق سم تحریک شده‌اند، تولید می‌شوند. این نوع حساسیت‌ها احتمالاً به دلیل مولکول‌های دو ظرفیتی تیترا IggT در اسب‌هایی که ایمنی آن‌ها تحریک شده باشد اتفاق می‌افتد [۴]. تولید پلاسما با ایمنی بالا بستگی به توانایی سم در تحریک یک سیستم ایمنی دارد که این خود به متغیر بودن وزن مولکولی آنتی ژنی بستگی دارد [۵]. سم‌هایی که از سمیت بالایی برخوردارند، توانایی تولید آنتی بادی کمتری نسبت به سم‌هایی که دارای سمیت کمتری هستند می‌باشند [۶]. سم‌ها از پروتئین‌ها و ترکیبات غیر پروتئین بسیاری تشکیل شده‌اند. این ترکیبات مختلف مانع از این می‌گردد که غلظت مناسبی از سم به منظور ایجاد پاسخ ایمنی کافی و مناسب که برای تولید آنتی سم بدون ضعیف شدن حیوان تولید کننده پلاسما انجام گیرد [۷]. سمیت زدائی آنتی ژن یا تولید محصولات سمی نیاز دارد که سمیت زهر کاهش پیدا کند، به طوری که توانایی تحریک سیستم ایمنی را نیز داشته باشد [۸]. سازو کار اثر پرتو بر روی مواد سمی مانند زهر مار نشان داد که پرتو دهی، ترکیبات سم و هم چنین مولکول‌های کوچک و بزرگ را از هم می‌شکند. با پرتو دهی زهر مار سمیت



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

زدائی شده و فسفولیپاز غیر فعال می‌گردد و آنزیم کراتین کیناز (CK) Creatine kinase نمی‌تواند وارد بافت ماهیچه‌ای شود و در عین حال سم می‌تواند از آنتی ژنیسیته بالائی برخوردار بوده و قادر است آنتی بادی تولید نماید [۹]. آنزیم‌های پروتئولیتیک این سم‌ها تخریب سلول‌های ماهیچه‌ای را افزایش می‌دهند و از رساندن خون به سلول‌ها جلوگیری می‌کنند و احتمالاً هیستامین را آزاد می‌نمایند. فسفاتازها نقش بسیار مهمی در مسمومیت‌ها دارند و باعث همولیز خون و ناراحتی‌های قلبی می‌شوند. همولیزی که در اثر سم ظاهر می‌شود به علت تبدیل شدن لیستین به لیزوستین است که روی ماهیچه‌های قلب و عمل فیبرین سازی اثر دارد و با ایجاد نقصان در پتاسیم و آب بدن و همچنین مورد حمله قرار دادن سلول‌های اندوتلیوم باعث خونریزی شش‌ها می‌گردد. چنانچه سم مار کبرا رقیق باشد این عمل ساده تر انجام می‌گیرد. از نظر بالینی سم‌های منعقد کننده خون اگر به مقدار زیاد و به تدریج و آهسته وارد جریان خون شوند خاصیت انعقاد خون را از بین می‌برند یعنی خون را دفیبرینه نموده باعث عدم انعقاد خون می‌گردند. اگر مقدار این سم زیاد باشد و به سرعت وارد جریان خون گردد باعث انعقاد خون در عروق شده و سرانجام مرگ فرا می‌رسد. این آزمایش با هدف کاهش سمیت در زهر مارو با استفاده از روش پرتو دهی برای تولید پاد زهر که می‌تواند در افزایش تولید، کیفیت تولید و کیفیت حیوانات مورد استفاده قرار گیرد.

روش کار

سم مار کبرا با دز ۵ و ۱۰ کیلو گری پرتو تابی شده و سپس همراه با سم پرتو ندیده به اسبها تزریق گردید. و یک گروه نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. از هر اسب مورد آزمایش ۱۰ میلی لیتر خون بدون مواد ضد انعقاد گرفته شد. نمونه‌های خون در لوله‌های آزمایشی جمع آوری و سپس توسط فلاکس یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند تا افزایش و یا کم شدن آنزیم‌های کبدی بررسی بعمل آید. نمونه‌های خون پس از آزمایش و آنالیز آنزیم‌های کبدی توسط آزمایشگاه، بر اساس روش آماری و نرم افزاری SPSS از طریق تجزیه و تحلیل به روش دانکن مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

بررسی نتایج تجزیه و تحلیل آماری در مورد عملکرد آنزیم‌های کبدی نشان داد که فعالیت و تشریح آنزیم S.G.O.T در مورد تیمار سم پرتو دیده نسبت به تیمار سم پرتو ندیده تغییرات محسوسی دیده شد که در سطح ۰/۰۵ معنی دار بود و همچنین تیمار سم پرتو ندیده موجب افزایش فعالیت و عملکرد آنزیمی بیشتری نسبت به سایر تیمارها گردید که در سطح ۰/۰۵ معنی دار بود. در مورد تیمارهای پرتو دیده با دزهای ۵ و ۱۰ کیلو گری نسبت به همدیگر تفاوت معنی داری مشاهده نشد و همچنین نسبت به تیمار شاهد (بدون تزریق سم) این اختلاف معنی دار نبود.



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

جدول ۲- تاثیر سم پرتو تابی شده در مقایسه با گروه شاهد بر آنزیم های کبدی اسب های آزمایشی

Gama.gt U/L	ALKP U/L	Billi.d Mg/dl	Billi.t Mg/dl	S.G.P.T IU/I	S.G.O.T IU/I	میزان دز kGy
^b ۱۲±۲/۰۱	^b ۶۰۹±۲۹/۵۱	^{ab} ۰/۳۱±۰/۱۵	^{ab} ۰/۷۱±۰/۱۹	^{ab} ۸/۷۱±۳/۵۱	^b ۲۴۵±۱۴/۵۱	۵
^a ۱۷/۳۱±۲/۰۱	^c ۴۸۵±۱۵/۵۱	^b ۰/۲۸±۰/۱۵	^b ۰/۴۵±۰/۲۱	^b ۶±۲	^b ۲۲۰/۳۱±۳۴/۷۱	۱۰
^b ۱۱/۷۱±۰/۵۷	^d ۳۰۸±۳/۰۵	^a ۰/۳۳±۰/۲۵	^a ۰/۸۴±۰/۳۲	^a ۱۱/۷۱±۰/۵۷	^a ۳۲۰±۲	تزریق سم بدون پرتو تابی
^b ۱۰/۳۱±۰/۵۸	^a ۶۴۴±۳/۶۱	^{ab} ۰/۳۱±۰/۱۵	^a ۰/۹۲±۰/۲۱	^{ab} ۸/۳۱±۱/۱۵	^b ۲۳۸/۶۱±۷/۷۱	شاهد اسب بدون تزریق سم

در مورد فعالیت آنزیم S.G.P.T تزریق سم بدون پرتو دهی موجب افزایش فعالیت آنزیم نسبت به سم های پرتو دیده با دز های مختلف گردید که این افزایش فعالیت در مورد دز پرتو دهی ۱۰ کیلو گری دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ بود ولی نسبت به دز پرتو دیده ۵ کیلو گری با توجه به افزایش عددی سم بدون پرتو دهی تفاوت معنی دار دیده نشد. در مقایسه دو تیمار پرتو دیده ۵ و ۱۰ کیلو گری نسبت به همدیگر نیز تفاوت آماری معنی داری دیده نشد، و همچنین بین تیمارهای پرتو دیده و تیمار شاهد نیز تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد.

در مورد عملکرد و میزان فعالیت آنزیم Billi.t مشاهده گردید که سم بدون پرتو دهی منجر به افزایش عملکرد و میزان فعالیت آنزیم نسبت به سایر تیمارها گردید که این افزایش نسبت به تیمار پرتو دیده ۱۰ کیلو گری بیشتر بود و دارای تفاوت معنی داری در سطح ۰/۰۵ گردید، ولی نسبت به تیمار پرتو دیده با دز ۵ کیلو گری با وجود افزایش عددی تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد. همچنین تیمارهای پرتو دیده نیز نسبت به تیمار شاهد تنها دز ۵ کیلو گری دارای افزایش غلظت و عملکرد آنزیمی نسبت به تیمار شاهد بود و دز ۱۰ کیلو گری تفاوت آماری معنی داری نسبت به تیمار شاهد نشان نداد، همچنین در مقایسه دو تیمار پرتو دیده اختلاف آماری در سطح معنی دار دیده نشد.

غلظت آنزیم Billi.d تحت تاثیر سم بدون پرتو افزایش پیدا کرد که این افزایش نسبت به تیمار پرتو دیده با دز ۱۰ کیلو گری دارای تفاوت آماری معنی داری در سطح ۰/۰۵ بود، اما نسبت به تیمار پرتو دیده با دز ۵ کیلو گری و تیمار شاهد با وجود اینکه از لحاظ عددی افزایش غلظت و فعالیت بیشتری را نشان می‌داد، این افزایش معنی دار نبود. مقایسه تیمارهای پرتو دیده با دز های ۵ و ۱۰ کیلو گری نسبت به هم نیز تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد و همچنین در مورد تیمارهای پرتو دیده نسبت به تیمار شاهد نیز تفاوت آماری معنی داری دیده نشد و آنزیم تغییرات محسوسی از لحاظ میزان غلظت نداشت.



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی (۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

در مورد فعالیت آنزیم A.L.K.P نیز تیمارهای پرتو دیده دارای اثر معنی داری نسبت به تیمار بدون پرتو و تیمار شاهد در سطح آماری ۰/۰۵ داشتند. همچنین مقایسه آماری بین دو دز پرتو دیده ۵ و ۱۰ کیلو گری نشان دهنده تفاوت آماری معنی داری در سطح ۰/۰۵ بود به طوری که تیمار پرتو دیده با دز ۵ کیلو گری موجب افزایش میزان غلظت و فعالیت آنزیمی بیشتری نسبت به دز ۱۰ کیلو گری مشاهده گردید. در مورد غلظت و فعالیت‌های آنزیم Gama.gt نسبت به تیمارهای مختلف چنین مشاهده شد که تیمار سم بدون پرتو دهی منجر به کاهش فعالیت آنزیم نسبت به تیمارهای پرتو دهی شده گردید که این تفاوت نسبت به تیمار پرتو دهی شده با دز ۱۰ کیلو گری در سطح ۰/۰۵ معنی دار بود اما تفاوت معنی داری نسبت به تیمار پرتو دهی با دز ۵ کیلو گری مشاهده نشد. همچنین بین تیمارهای سم (پرتو دهی و پرتو ندیده) نسبت به تیمار شاهد تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد.

بحث

اولین گام در تشخیص آسیب کبدی انجام آزمایش ساده خون است که حضور آنزیم‌های خاص را نشان می‌دهد. تحت شرایط عادی، این آنزیم‌ها درون سلول‌های کبدی وجود دارند اما زمانی که کبدی آسیب می‌بیند این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند. مقایسه دو تیمار پرتو دیده نشان داد که دز ۱۰ کیلو گری دارای افزایش غلظت و عملکرد بیشتری نسبت به دز ۵ کیلو گری داشته و افزایش در سطح ۰/۰۵ معنی دار بود. افزایش یافتن آنزیم‌های کبدی ممکن است ناشی از التهاب یا آسیب سلول‌های کبدی باشد. سلول‌های کبدی ملتهب یا آسیب دیده ممکن است برخی مواد شیمیایی خاص از جمله آنزیم‌های کبدی را بیش‌تر از حد معمول به جریان خون ترشح کنند و در نتیجه باعث افزایش آنزیم‌های کبدی در خون می‌شوند. با توجه به آزمایش فعالیت آنزیم‌های کبدی چنین نتیجه‌گیری می‌گردد که پرتو دهی سم اثر مثبتی بر روی آنزیم‌های کبدی اسب دارد. با توجه به مطالعات بالا دز ۱۰ کیلو گری نتایج بهتری نسبت به دز ۵ کیلو گری داشته است در صورتی که دز ۵ کیلو گری نیز نسبت به تیمار شاهد در بیشتر آنزیم‌های مورد بررسی دارای تفاوت آماری معنی داری نبود.

نتیجه گیری کلی

نتایج این آزمایش و منابع موجود نشان می‌دهند که دو آنزیم اصلی S.G.P.T و S.G.O.T کبدی اسب با سم پرتوتابی شده در مقایسه با سم پرتو ندیده، افزایش آنزیمی مشاهده نگردید و از نظر آماری در سطح ۰/۰۵ معنی دار بود که این نشانگر اثر پرتو بر روی سم بوده و در فعل و انفعالات بیولوژیکی بر روی کبد اسب توانسته است از افزایش آنزیم‌ها و وارد شدن آن‌ها در خون و در نتیجه از بروز بیماری‌های مختلف از جمله سیروز کبدی جلوگیری کند که منجر به کاهش تلفات و افزایش طول عمر حیوانات آزمایشگاهی و کاهش تأثیرات منفی بر روی حیوانات در زمان آزمایش و بهبود و افزایش تولید راندمان آنتی بادی گردد.

منابع

1. www.hidoctor.ir
2. www.pezeshk.us/p=15637
3. H. Karlson- stiber.c.person, Antivenom treatment in vipera berus envenomin- report of 30 cases.j. Inter. Med, 235,52, 1994.



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

4. EK, N. Serum levels of the immunoglobulins IgG (T) in horses. *Avta vet. scand* 15, 19-609, 1974.
5. B. Soerensen, Producao de soros anti-peçonhentos e características imunológicas de cada soro. *Anavenenos In: Animal peçonhentos*. Rio de Janeiro: Atheneu. 91-107. 1990.
6. WHA.Schoetter, Antigen-antibody relations in the present antivenin production of Brazil. *Am.j.trop.med.* 31, 500-9, 1951.
7. Y.Muraxa, et al. Analise cromatografica por exclusao em amostras de veneno de cascavel irradiadas com Co 60. *Inst.pesq.Energ.nucl.* 154, 1-7, 1988.
8. Khanzh, et al. preparation of toxoids from the venoms of Pakistan species of snakes (*Naja naja*, *vipera russelii* and *echis carinatus*). *Jpn.J. Med.sci.Biol.* 30, 19-23, 1977.
9. JR.Rogero, et al. Atenuacao da toxicidade de venenos ofidicos por meio da radiacao ionizante. *Biotechnol.cien. Desen volv*, 1, 24-6, 1997.