Archive of SID

رابطه بین پلی‌مورفیسم ریبونوکلئاز قلیائی و ترکیبات حاصل از تجزیهٔ اسیدهای نیوکلئیک در گاو

سید سجاد ادریس موسوی[1]

آنزیم ریبونوکلئاز قلیائی[2] یکی از آنزیمهای مهمی است که در واکنش‌های بیوشیمیائی داخل سلولی نقش مهمی می‌دارد. این آنزیم حالت چند شکلی[3] دارد و به وسیلهٔ دو آلل با غالبیت نسبی[4] کنترل می‌شود و در نتیجه سه ژنوتیپ BB,AA و AB در آن وجود دارد.

در این تحقیق پلی مرفیسم ریبونوکلئاز قلیائی و فعالیت آن در گلوبولهای سفید و همچنین ترکیبات نهایی حاصل از تجزیه اسیدهای توکلئیک: آلانتوئین و اسید اوریک و همچنین درصد پروتئین و درصد فسفر در سرم خون ۴۸ رأس گاوهای بالغ نژاد فریزیان تعیین شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که اختلاف معنی داری ($P<0.05$) بین ژنوتیپهای مختلف ریبونوکلئاز قلیائی نسبت به فعالیت آن آنزیم در گلوبولهای سفید خون گاو وجود دارد.

بالاترین فعالیت آنزیم در ژنوتیپ BB پائین‌ترین فعالیت آن در ژنوتیپ AA می‌باشد، در صورتی که ژنوتیپ AB حالت متوسط را نشان داد. همچنین رابطه معنی داری ($P<0.05$) بین سطح فعالیت آنزیم و نتایج نهائی ناشی از تجزیه اسیدهای نوکلئک که به صورت آلانتوئین[5] و اسید اوریک[6] می‌باشد مشاهده گردید. بالاترین میزان این ترکیبات در ژنوتیپ BB است.

واژه‌های کلیدی: ریبونوکلئار قلیائی - پلی‌مرفیسم - آلانتوئین - اسیداوریک.

۱-استادیار گروه علوم دامی مجتمع عالی آموزش و پژوهشی کشاورزی رامین، دانشگاه شهید چمران اهواز

2- Alkalin Ribonuclase

3-Polymorphism

4-Codominant

5-Allantoin

6- Uric aicd

دریافت: ۷۸/۴/۱۵

پذیرش : ۷۹/۸/۲

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

تحقیقات انجام شده توسط یوکوزو[1] و همکاران (۶۳) و همچنین‌کرایما و آسکیدا[2] (۲۸) بر روی موشها ثابت کردند که هیپوکزانتین[3] اینوزین[4]،گوانوزین[5]،و گوانین[6] بطور کامل به اسیداوریک تبدیل میشود. نتایج حاصل از تحقیقات می و تسال[7] (۳۴) بر روی موشها نشان داده است که با افزایش میزان RNA در غذا، میزان اسیداوریک در سرم خون و ادرار حیوان به ترتیب به ۰/۵۲ و ۱/۶۶ میلی گرم در میلی متر و میزان آلانتوئین در سرم خون و ادرار به ترتیب ۰/۵۲ و ۳۰/۵۴ میلی‌گرم در میلی لیتر رسید. نتایج حاصل از تحقیقات انتونیوفیچ[8](۲) که روی گوسفند انجام گرفت نشان داد که آلانتوئین در ادرار حیوان به طور کامل از تجزیه اسیدهای نوکلئک میکروارگانیسم‌های شکمبه به وجود می‌آید. تجزیه اسیدهای نوکلئک درحضور آنزیمهای کاتالیزور هیدرولیز کننده پیوند دو استراسید فسفریک انجام می‌گیرد. یکی از این آنزیمها ریبونکلئاز است که روی RNA عمل می‌کند، در حالی که دز اکسی رایبونوکلئاز با DNAارتباط دارد، اما آنزیمهای دیگر از نوع نوکلئاز می‌تواند بر روی هر دوم اسیدهای نوکلئک اثر داشته باشند (۶، ۱۱، ۱۸ و ۲۳).

نقش و دامنهٔ فعالیت این آنزیمها در سیستم متابولیسم موجودات زنده توجه دانشمندان و محققان به خود جلب کرده است (۱۰،۲۱،۲۲،۳۶،۳۷،۳۸،۳۹،۴۰،۵۱،۵۲،۵۳). بنابراین تحقیقات و سایر مطالعات نشان می‌دهد که هیدرولیز اسیدهای نوکلئیک در بیشتر موجودات زنده مشخص شده است و به این علت تلاش محققان دیگر به جنبه‌های دیگری نظیر ترکیب و فعالیت آنزیم‌های فعال در این زمینه جلب شده است (۱،۳،۷،۱۹،۳۰،۴۷،۴۸،۴۹،۵۰،۵۴). ترکیب و خصوصیات رایبونوکلئاز کاملاً مشخص شده است (۵،۲۵،۲۷،۴۵،۴۶). در سال

1-Yokozowa
2- Kriyama and Askida
3-Hipoksantine
4-Inosine
5-Guanosine
6-Guanine
7-Mei and Tsal
8-Antoniowicz

www.SID.ir

Archive of SID

۱۹۷۶ محققان آلمانی به نامهای ثانس ،گولدرمن و ونس[1] (۵۵) دو نوع پروتئین را به وسیله الکتروفوریز در گلوبولهای سفیدگاو کشف کردند که در آن زمان ماهیت این پروتئین‌ها مشخص نبود. سپس در سال ۱۹۸۰ توسط والاوسکی و پروشینوفسکا[2] (۵۹) از طریق تست آنزیمی، یکی از این پروتئین‌های ریبونوکلئاز قلیائی شناخته شده و مشخص گردید که این آنزیم در میدان الکتروفوریز به سه فرم ظاهر می‌شود و از لحاظ ژنتیکی توسط دو آلل با غالبیت نسبی کنترل می‌شود. با توجه به اهمیت آنزیم فوق در زندگی و فعالیت گلوبولهای سفید خون حیوان به خصوص در رابطه با تجزیه شدن اسیدهای نوکلئک، این تحقیق بر روی ۴۸ گاون بالغ انجام گردید. فاکتورهای مورد مطالعه شامل: ژنوتیپ حیوان [3] فعالیت آنزیم[4]، میزان کل پروتئین در سرم[5]، مقدار کل فسفر در سرم [6] مقدار آلانتوئین در سرم [7] و همچنین مطالعه فاکتورهای فیزیولوژی حیوان از جمله: سن، فصل زایش و ماه شیرواری بوده است.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۴۸ رأس گاو ماده بالغ نژاد فریزیان (سیاه سفید) استفاده شده است. دامها بر اساس ژنوتیپ آنزیم ریبونوکلئاز به سه گروه ژنوتیپی تقسیم شده بودند. برای تعیین پلی مورفسیم ریبوکلئاز قلیائی در گلوبولهای سفید [8] و فعالیت آن در سرم، میزان پروتئین، فسفر، الانتوئین و اسیداوریک در سرم خون گاوهای مذکور، نمونه‌گیری خون سه بار و هر نوبت به فاصله ده روز انجام گرفت. ابتدا پلی مرفیسم آنزیم ریبونوکلئاز (RNA-ase) در گلوبولهای سفید به وسیله الکتروفورز در نشاسته [9] و طبق روش ثاینس[10] و همکاران (۵۵) تعدیل یافته

1-Thinnes, Goldermann and Wans

2- Walawski and Prusinowska

3- Animal Genotype

4- Anzyme Activity

5- Protein Content

6- Phosfor Content

7- Uric acid Content

8- Leucocytes

9- Starch Gel Electrophoresis

10-Thinnes

www.SID.ir

Archive of SID

توسط والاوسکی و پروشینوفسکا[1](۵۹) مشخص شد. خلاصه این روش به شرح زیر است:

- گلوبولهای به وسیله سانتریفوژ (۳۰۰۰ دوره در دقیقه) از سرم جدا گردید و توسط محلول ۸۵٪ درصد NH_4Cl که برای شستشو شدند.

- به گلبولهای سفید ۴ تا ۵ قطره آب مقطر اضافه و به طور کامل با یکدیگر مخلوط گردید. در ادامه، با استفاده از سانتریفوژ سوبسترات مذکور در سوراخهای از ژل و در موقعیتی مناسب قرار داده شده و قالب به مدت ۱/۵ تا ۲ ساعت به دستگاه الکتروفورز وصل گردید.

- برای رنگ کردن بندهای آنزیم در قالب ژل، از محلول ۰/۱ درصد Black amid استفاده شد.

فعالیت آنزیم RNasa نیز در سرم خون طبق روش انفسن[2] و همکارن، تعدیل شده توسط شناید[3](۵۴) مشخص گردید.

در این روش ابتدا ۱۵۰ میلی گرم RNA (تولید BDH Chemical, England) در ۱۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ نرمال Briton Robinson (pH=۸/۴) حل می‌گردید و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد. سپس به هر یک از نمونه‌ها مورد آزمایش ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول فوق اضافه می‌گردید و نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه (۴۰۰۰ دوره در دقیقه) سانتریفوژ می‌شدند و از قسمت فوقانی مایع سانتریفوژ شده مقدار ۰/۵ میلی لیتر نمونه استخراج می‌گردید. در پایان، فعالیت عظیم در نمونه مذکور توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل VSU2 - P, Carl Zeisa Jens DDR و با طول موج ۲۶۰ nm اندازه‌گیری می‌شد.

آلانتوئین طبق روش کرسمن[4] و همکاران(۱۴) و به شرح زیر مشخص شد:

۲/۵ میلی لیتر محلول مایه خمیر به ۲/۵ میلی لیتر سرم اضافه و برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای معمولی آزمایشگاه نگهداری شد.

۲/۵ میلی لیتر آب مقطر، ۳ میلی لیتر محلول ۱ درصد ولفرامین سود و ۳ میلی لیتر محلول

1-Walawski and Prusinowska 2-Anfinsen

3-Sznajd 4-Chrisman

www.SID.ir

Archive of SID

۲/۳ نرمال H_2SO_4 به نمونه‌های مورد آزمایش اضافه شد و با استفاده از فیلتر کاغذی مایع صاف گردید.

- به ۵ میلی لیتر از محلول زیر صافی ۱ میلی لیتر محلول ۰/۵ نرمال NaOH اضافه شد و بعد از به هم خوردن آن بلافاصله به حمام آبی ۱۰۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۷ دقیقه منتقل گردید.

- بعد از مرور ۷ دقیقه، نمونه به حمام آبی ۱۸ درجه سانتیگراد منتقل و به مدت ۳ دقیقه در این دما نگهداری شد.

- ۱/۲ میلی لیتر محلول ۰/۵ نرمال HCL و ۱ میلی لیتر محلول ۰/۳۲ درصد مثیل هیدرازین به هر یک از نمونه(۵) اضافه شد و بلافاصله نمونه‌ها به حمام آبی ۱۰۰ درجه سانتیگراد منتقل شدند.

- بعد از گذشت ۲ دقیقه برای کاهش درجه حرارت، نمونه‌ها به حمام یخ منتقل گردیدند.

- در این میان نمونه شاهد (بدون سرم)نیز به همین روال تهیه شد.

- غلظت آلانتوئین در نمونه‌های مورد آزمایش به وسیله دستگاه سپکتروفوتومتر با طول موج ۵۲۰ nm و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

که: $K=L/C$

K: ضریب (ثابت) نمونه شاهد مقدار آن در این آزمایش برابر با ۰/۰۱۴۹

L: ۲- لوگارتم نتیجه/ سپکترفوتومتر.

C:مقدار آلانتوئین (میکروگرم در ۵ میلی لیتر).

کل پروتئین در سرم بر اساس روش ویشلبرم[1] (۶۲) اندازه‌گیری شد. همچنین فسفر غیر آلی طبق روش فسک - سباروف[2] (۴۲) و اسیداوریک بر اساس روش هومولک[3](۲۴) مشخص شدند.

1-Wejschelbarm 2-Fisk - Subbarow

3-Homolk

www.SID.ir

Archive of SID

داده‌های به دست آمده به وسیله آنالیزی واریانس و آزمون دانکن و طبق مدل زیر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

$$Y_{ijk}=m+\alpha_i+\beta_j+(\alpha\beta_{ij})+e_{ijk}$$

که:

Y_{ijk}: مقدار هر مشاهده

m: میانگین صفت در جمعیت (ثابت مدل)

α_i: اثر I امین ژنوتیپ (I = ۱، ۲، ۳)

β_j: اثر j امین سری رکوردگیری (j=۱،۲)

$(\alpha\beta_{ij})$: اثر متقابل ژنوتیپ × سری رکوردگیی

e_{ijk}: خط آزمایشی

نتایج و بحث

مشخصات فیزیولوژیکی دامها، ژنوتیپ حیوان، میزان ترکیبات بیوشیمیایی، فعالیت آنزیم ریبونوکلئاز و میزان ترکیبات نهائی حاصل از تجزیه اسیدهای نوکلئک در جدول (۱) ارائه شده است. شایان ذکر است که انتخاب دامها برای آزمایش به طور تصادفی انجام گرفته بود، اما تقسیم بندی آنها در سه گروه بر اساس ژنوتیپ ریبونوکلئاز انجام گرفت. میانگین سطح پروتئین و فسفر در سرم خون گاوهای مورد آزمایش به ترتیب ۸/۸۸ و ۵/۵۱ میلی گرم / میلی لیتر بود. همچنین فعالیت آنزیم ریبونوکلئاز در سرم گاوهای مذکور ۳۳/۰۲ میکروگرم/ میلی لیترمشخص گردید که با نتایج به دست آمده توسط بیالویچ[1] (۹)مطابقت داشت. سطح ترکیبات تجزیه اسیدهای نوکلئک (آلانتوئین و اسید اوریک) با نتایج حاصل توسط سایر محققان نزدیک بود (۸،۱۴ و۵۸)، اما ضریب تنوع ترکیبات شیمیایی در کل ماده مورد بررسی متفاوت بوده و پایینترین ضریب متعلق به پروتئین و فعالیت آنزیم بود.

1-Bialowicz

www.SID.ir

Archive of SID

جدول(۱)مشخصات کلی دامها از لحاظ سن، حالت فیزیولوژی و نتایج پلی مورفیسم RNA-ase

ردیف	ژنوتیپ	سن سال	ماه آبستنی	ماه شیردهی	کل پروتئین میلی گرم/میلی لیتر	فسفر غیرآلی میلی گرم/میلی لیتر	فعالیت RNA-ase میکروگرم/میلی لیتر	نتایج نهایی انهدام اسیدهای نوکلئیک میلی گرم ٪ آلانتوئین	اسید اوریک	کل
۱	AB	۶	۳	۷	۹/۶۳	۶/۰۷	۳۵/۴۸	۳/۴۴	۱/۳۶	۴/۸۰
۲	BB	۶	۳	۷	۸/۷۴	۶/۵۲	۳۳/۰۹	۳/۰۶	۱/۳۵	۴/۴۱
۳	AB	۶	۱	۱	۱۱/۲۶	۵/۴۲	۳۴/۳۹	۲/۱۰	۱/۸۰	۳/۹۰
۴	AA	۶	۵	۱۰	۸/۰۶	۵/۸۳	۳۰/۰۷	۲/۸۷	۱/۴۸	۴/۳۵
۵	AA	۶	۸	۱۰	۹/۱۰	۵/۶۴	۳۱/۴۷	۳/۱۳	۱/۶۷	۴/۸۰
۶	AA	۷	۴	۱۰	۸/۴۳	۶/۰۹	۳۴/۱۸	۳۳/۵۸	۱/۴۵	۵/۰۳
۷	PP	۶	۶	۷	۸/۰۰	۶/۸۰	۳۶/۱۹	۳/۷۵	۱/۴۵	۵/۲۰
۸	AB	۷	۴	۵	۸/۴۳	۵/۵۸	۳۰/۹۹	۲/۶۸	۱/۲۳	۳/۹۱
۹	AB	۶	۶	۱۰	۸/۶۰	۵/۳۶	۳/۵۶	۲/۸۸	۱/۸۰	۴/۶۸
۱۰	AB	۶	۷	۹	۹/۰۴	۶/۱۹	۳۲/۱۷	۲۳/۸۰	۱/۷۳	۴/۵۳
۱۱	BB	۶	۶	۸	۸/۹۳	۵/۶۶	۳۲/۶۸	۲/۸۰	۱/۵۴	۴/۶۴
۱۲	AB	۷	۲	۴	۱۰/۷۰	۵/۳۸	۳۱/۷۷	۲/۷۳	۱/۷۷	۴/۵۰
۱۳	AB	۶	۱	۱	۸/۵۳	۵/۵۰	۳۱/۶۸	۳/۵۹	۱/۳۸	۴/۹۷
۱۴	AA	۶	۸	۱۰	۸/۴۳	۵/۸۵	۳۰/۹۶	۳/۴۰	۱/۶۰	۵/۰۰
۱۵	AA	۶	۸	۱۰	۸/۵۰	۶/۰۶	۳۱/۳۸	۳/۷۸	۱/۰۶	۵/۴۱
۱۶	AA	۶	۴	۹	۸/۵۰	۶/۱۵	۲۸/۳۷	۲/۶۹	۱/۲۰	۳/۸۹
۱۷	AA	۶	۴	۷	۸/۳۰	۶/۶۵	۳۵/۹۹	۳/۳۳	۱/۰۹	۴/۴۲
۱۸	AB	۶	۳	۶	۸/۴۶	۵/۵۰	۲۹/۷۷	۲/۶۱	۱/۵۸	۴/۱۹
۱۹	AA	۶	۴	۶	۸/۳۴۰	۶/۴۱	۳۱/۵۷	۴/۰۳	۱/۳۹	۵/۴۲
۲۰	BB	۶	۶	۱۰	۹/۴۰	۵/۸۵	۳۳/۱۷	۳/۱۱	۱/۶۹	۴/۸۰
۲۱	BB	۶	۶	۹	۷/۲۶	۵/۶۹	۴۴/۲۱	۳/۰۸	۱/۳۳	۴/۴۱
۲۲	BB	۶	۵	۹	۸/۹۶	۵/۳۷	۳۴/۵۹	۴/۱۶	۱/۹۵	۶/۱۱
۲۳	BB	۶	۶	۱۰	۸/۹۴	۶/۲۰	۳۲/۷۹	۲/۵۱	۱/۲۵	۳/۷۶
۲۴	AA	۶	۱	۴	۱	۸/۸۳	۵/۴۳	۲۸/۰۷	۲/۵۸	۱/۵۵
۲۵	AA	۶	۱	۱	۱					

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول (۱)

ردیف	ژنوتیپ	تیپ رسیدگی	تعداد پنجه بارور	تعداد پنجه نابارور	کلروفیل	تعداد غلاف	RNA	پروتئین	آلانین	اسید اوریک	تیل
۱	AA	۶	۱	۱	۸/۸۴	۵/۴۴	۲۸/۵۷	۱/۵۸	۲/۵۸	۱/۵۵	۴/۱۲
۲	BB	۶	۱۰	۱۰	۸/۴۹	۵/۵۴	۲۱/۷۷	۲/۰۴	۲/۴۸	۱/۰۴	۵/۰۴
۳	BB	۶	۷	۷	۹/۲۶	۴/۱۹	۴۴/۴۴	۲/۰۱	۳/۰۱	۱/۴۵	۴/۷۶
۴	AB	۶	۱۰	۱۰	۸/۸۷	۶/۰۷	۴۶/۴۹	۲/۰۸	۳/۰۸	۱/۴۵	۴/۶۴
۵	AB	۶	۶	۶	۸/۳۶	۵/۴۵	۴۹/۰۶	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۴۶	۴/۱۸
۶	AA	۶	۶	۶	۸/۷۱	۴/۴۴	۴۳/۴۷	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۸۲	۴/۴۴
۷	AA	۶	۶	۶	۸/۴۸	۴/۲۴	۴۴/۹۸	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۴۷	۴/۶۴
۸	AB	۶	۶	۶	۸/۵۴	۴/۲۹	۴۴/۵۶	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۴۸	۵/۶۴
۹	AB	۶	۶	۶	۸/۴۵۰	۴/۶۴	۴۶/۹۰	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۱۰	۴/۹۵
۱۰	AA	۶	۶	۶	۸/۴۴۰	۵/۶۴	۴۱/۹۷	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۰۴	۴/۴۷
۱۱	BB	۶	۶	۶	۹/۷۱	۴/۷۵	۴۱/۶۷	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۰۱	۴/۹۷
۱۲	BB	۶	۶	۶	۸/۳۵	۵/۸۳	۴۲/۴۹	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۰۴	۵/۸۲
۱۳	BB	۶	۶	۶	۸/۳۸	۴/۶۸	۴۲/۰۸	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۰۴	۴/۴۷
۱۴	AB	۶	۶	۶	۹/۴۵	۴/۵۸	۴۲/۷۹	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۰۴	۴/۸۵
۱۵	AA	۶	۶	۶	۹/۴۸	۴/۴۸	۴۲/۰۸	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۰۴	۴/۵۵
۱۶	AB	۶	۶	۶	۹/۴۸	۴/۴۸	۴۲/۰۸	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۰۴	۴/۵۵
۱۷	AA	۶	۶	۶	۹/۴۸	۴/۴۸	۴۲/۰۸	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۰۴	۴/۵۵
۱۸	AB	۶	۶	۶	۹/۴۸	۴/۴۸	۴۲/۰۸	۲/۰۴	۳/۰۴	۱/۰۴	۴/۵۵
میانگین			۶/۱۱	۶/۱۱	۸/۸۸	۵/۱۱	۳۲/۵۱	۲/۴۵	۳/۵۷	۱/۴۱	۴/۷۶
انحراف استاندارد			۱۱/۷	۸/۷۶	۸/۷۳	۵/۴۵	۱۱/۲۹	۰/۵۷	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۶۱
ضریب تنوع			۱۸۴/۷	۱۴۳/۷	۸/۴	۱۰۸/۵	۳۴/۷	۱۷/۵۷	۱۲/۱۳	۳۰/۸	۱۳/۸

www.SID.ir

Archive of SID

اسیداوریک یکی از فاکتورهای تشخیصی حالتهای پاتولوژیک در حیوان و انسان می باشد. طبق تحقیقات بنتن[1] ((۸)) دامنهٔ تغییرات مقادیر آن ترکیب در ۳۹۲ گاو بین ۰/۱۱۳ تا ۱۱/۳۳ میلی گرم درصد بوده است. در ۲۰۹ حیوان که از لحاظ کلینکی سالم بودند میانگین سطح ترکیبات بین ۰/۱۱۸ ± ۰/۶۳۲ میلی گرم درصد اما در ۳۸۳ حیوان دیگر که بیمار بودند میزان اسیداوریک در سرم آنها ۰/۳۳۳ ± ۰/۷۰۰ میلی گرم درصد ازائه شده بود. در تحقیقات ابالدی و سیبلد[2] ((۵۸)) روی دامهای سالم و بیمار ثابت شده که سطح اسیداوریک به ترتیب ۰/۱۱۲ ± ۰/۸۰۰ و ۰/۱۱۰۵ ± ۳/۶۳۳ میلی گرم درصد بود.

در باره آلانتوئین تحقیقات گوناگون انجام شده است ((۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۶، ۳۱، ۳۲ و ۵۷)) اما میزان این ترکیب در گاو فقط در بعضی از تحقیقات مشخص شده بود ((۸، ۵۸)).

رابطه بین ترکیبات نیتروژنی اندام با زمانهای پورین و همچنین بین ترکیبات بیوشیمیائی دیگر خون در جدول ((۲)) ازائه شده است.

جدول ((۲)): ضریب همبستگی بین صفات مورد آزمایش

صفات	RNA-ase فعالیت	اسیداوریک	آلانتوئین	فسفر	کل پروتئین
فعالیت RNA-ase		-۰/۱۸۷	***-۰/۲۸۶	-۰/۰۲۸	-۰/۱۱۲
اسیداوریک			***-۰/۳۵۰	-۰/۰۸۹	-۰/۲۰۱
آلانتوئین				-۰/۱۸۸	-۰/۱۸۹
فسفر					-۰/۲۰۵
کل پروتئین					

* همبستگی در سطح (P<0.05) معنی داری می باشد.

** همبستگی در سطح (P<0.01) معنی داری می باشد.

1-Benthin 2-Ubaldi and Cerbella

www.SID.ir

Archive of SID

بین آلانتوئین و اسیداوریک همبستگی منفی و معنی داری وجود دارد (r=-۰/۴۵۰).

همچنین بین میزان آلانتوئین و فعالیت آنزیم RNA-ase همبستگی معنی‌دار ($P<0.05$) دیده می‌شود.

تأثیر پلی مورفیسم RNA-ase در گلبولهای سفید روی میزان ترکیبات تجزیه اسیدهای نوکلئیک و همچنین میزان پروتئین و فعالیت آنزیم در سرم در دو نوبت آزمایش در جدول (۳) ارائه شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که تأثیر پلی مورفیسم RNA-ase روی میزان آلانتوئین، کل ترکیبات نهائی حاصل از تجزیه اسیدهای نوکلئیک و نیز فعالیت آنزیم معنی داری بود ($P<0.05$). به علاوه، حالت فیزیولوژیکی حیوان روی آلانتوئین، اسید اوریک و میزان فسفر اثر معنی داری داشت ($P<0.01$) که بین نوبت اول و نوبت دوم مشاهده گردید.

نتایجی که در جدول (۴) ارائه شده است اثرات محیطی را به طور مجزاء روی ترکیبات بیوشیمیایی خون نشان می‌دهد. شرایط محیط روی سطح آلانتوئین و فسفر اثر قابل توجهی می‌گذارد. بالا بودن میزان آلانتوئین در نوبت II با پایین رفتن میزان اسید اوریک ظاهر می‌شود در حالی که در نوبت I عکس این حالت به وجود آید. تحقیقاتی که دربارهٔ اثرات پلی مورفیسم RNA-ase روی تعدای از فاکتورهای فیزیولوژیکی گوساله‌ها در سن ۱۵ ماهگی انجام شده است نشان می‌دهند که درصد فسفر در ژنوتیپ BB،AB و AA به ترتیب ۷/۶، ۶/۸۸ و ۵/۹۹ میلی گرم درصد بوده است (۴۳). در تحقیقات دیگر (۴۴) ثابت شد که پلی مورفیسم RNA-ase اثر معنی‌داری روی میزان فسفر غیر آلی دارد. بالاتر سطح آن عنصر در ژنوتیپ هموزیگوت BB ۶/۶ میلی گرم درصد و پایینترین آن در افراد هموزیگوت (AA) ۵۱/۸ میلی گرم درصد بوده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: نتایج آنالیز واریانس تأثیر ژنوتیپ RNA-ase بر روی فاکتورهای مورد آزمایش

منبع تغییرات	درجه آزادی	کل پروتئین	فسفر	آلانتوئین	اسید اوریک	آلانتوئین+ اسیداوریک	فعالیت RNA-ase
ژنوتیپRNA-ase	۲	۱/۴۵	۱/۱۶	۳/۲۲**	۰/۳۴*	۴/۳۶	۴/۶۱*نن
سری آزمایش	۱	۱/۸۵	۳۹/۶۰**	۱۹/۶۶**	۲۴/۱۵**	۳/۴۸	۰/۰۱
ژنوتیپ*سری	۲	۱/۰۹	۰/۷۰	۰/۲۵	۱/۱۳	۱/۰۳	۰/۷۱
خطا	۴۲	-	-	-	-	-	-

*: تأثیر در سطح ($P<0.05$) معنی داری می‌باشد.

**: تأثیر در سطح ($P<0.01$) معنی داری می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول (۴): متوسط سطح ترکیبات بیوشیمی خون گاوها در نوبت اول

نوبت آبآبیر	تعداد حیوان	کل پروتئین میلی گرم/میلی لیتر	آلبومین میلی گرم/میلی لیتر	ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی میلی گرم/میلی لیتر	نیتروژن اوره ای خون میلی گرم/ ۱۰۰ میلی لیتر	فعالیت RNA-ase میلی لیتر
				آلانتوئین	اسید اوریک	
I	۳۰	۸/۷۷	۴/۱۲[a]	۱/۵۳[a]	۴/۶۶	۳۲/۹۹
II	۱۸	۹/۰۷	۴/۷۴[b]	۱/۱۸[b]	۴/۹۲	۳۳/۰۸
میانگین	۴۸	۸/۸۸	۴/۴۵	۱/۴۱	۴/۷۶	۳۳/۵۲
			۰/۸۸[a]			
			۴/۸۹[b]			
			۰/۶۱			

* نتایج در ستونهائی که با حروف مغایر مشخص شده‌اند با هم ($P \leq 0.05$) تفاوت معنی داری دارند

www.SID.ir

Archive of SID

در بیوپسیهای که توسط کاچمارچک[1] و همکار ((۲۶)) روی پلی مرفیسم RNA-ase و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیائی[2] و فسفاتاز اسیدی[3] تثبیت شده است که فعالیت هر دو نوع فسفاتاز در افراد هموزیگوت در مقایسه با افراد هتروزیگوت بالاتر بوده است. همچنین تحقیقاتی که توسط بیالویتیچ[4] ((۹)) روی گلوسالهها انجام شده است نشان داد که فعالیت آنزیم RNA-ase در افراد هموزیگوت BB بالاتر بوده ((۳۳۰/۳۳۰) میکروگرم//میلی گرم پروتئین)) و ((۲۲۲/۷۰۰) میکروگرم آنزیم //میلی لیتر سرم) و در افراد هموزیگوت AA پایینتر بوده ((۲۲/۵۵۵) میکروگرم //میلی گرم پروتئین و ((۲۳۶/۵۷۷) میکروگرم//میلی لیتر سرم) در حالی که افراد هتروزیگوت حالت وسطی را ((۳۲/۸۱۱) میکروگرم //میلی گرم پروتئین و ((۲۹۹/۵۳۳) میکروگرم //میلی لیتر سرم از خود نشان دادهاند.

متوسط شاخصهای بیوشیمی خون در گروههای ژنوتیپی RNA-ase تکلوها در جدول ((۵)) نشان داده شده است. نتایج به دست آمده در رابطه با فعالیت آنزیم در مقایسه با نتایج بیالویتیچ ((۹)) مطابقت داشته است. در این تحقیق بالاترین فعالیت آنزیم در ژنوتیپ BB ((۳۳۰/۶۰۰ میکروگرم//میلی لیتر)) و پایینترین فعالیت آن در افراد هموزیگوت AA ((۲۳۱/۷۷۷ میکروگرم/میلی لیتر)) وجود داشته است، در حالی که افرادی با ژنوتیپ هموزیگوت AB حالت متوسط ((۲۳۳/۷۰۰ میکروگرم//میلی لیتر)) نشان دادهاند. اگرچه تفاوت معنی داری در میزان پروتئین در سرم در گروههای ژنوتیپی وجود نداشت ولی با توجه به اهمیت بیولوژیکی آن ترکیب میتوان گفت که بین گروههای هموزیگوت AA و BB از یک سو و گروه هتروزیگوت AB تفاوت قابل توجه وجود دارد.

در این تحقیق رابطهٔ بین پلی مورفیسم RNA-ase و میزان ترکیبات نیتروژنی حاصل از التهاب

1-Kaczmarczyk
2- Alkaline Phosphatase
3- Acidic phosphatase
4-Bialowicz

www.SID.ir

Archive of SID

جدول (۵) میانگین سطح ترکیبات در خون در گروه ژنوتیپی RNA-ase *

ژنوتیپ آنالیز	تعداد حیوان	کل پروتئین میلی‌گرم/میلی‌لیتر	فسفر میلی‌گرم/میلی‌لیتر	ترکیبات نهائی انهدام اسیدهای نیوکلئیک میلی‌گرم ٪			فعالیت RNA-ase μ/میلی‌لیتر
				آلانتوئین	اسیداوریک کل		
AA	۱۶	۸/۶۹	۵/۴۷	۳/۳۴	۱/۳۹	۴/۷۳	۳۱/۷۷[a]
AB	۱۶	۹/۱۲	۵/۳۸	۳/۱۴[a]	۱/۳۸	۴/۵۲[a]	۳۲/۷۰[b]
BB	۱۶	۸/۸۴	۵/۶۶	۳/۵۶[b]	۱/۴۵	۵/۰۱[b]	۳۴/۶۰[ab]
	۱۸						
میانگین	۴۸	۸/۸۸	۵/۵۱	۳/۳۵	۱/۴۱	۴/۷۶	۳۳/۰۲

*: نتایج در ستونهائی که با حروف مغایر مشخص شده‌اند با هم تفاوت معنی‌داری داشتند ($P<0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID

بازهای پورین برای اولین بار ارائه شده است. میزان آلانتوئین در گروه‌های ژنوتیپی RNA-ase روند خطی دارد که بالاترین میزان آن در گروه هموزیگوت BB۳/۵۶ میلی گرم درصد، پایینتر در گروه هموزیگوت AA۳/۳۴ میلی گرم درصد بوده، در حالی که گروه هتروزیگوت AB پایین‌ترین سطح را، (۳/۱۴ میلی گرم درصد)، نشان داده است. تفاوت قابل توجه بین گروهای ژنوتیپی در میزان اسید اوریک مشاهده نشد (از ۱/۴۵ میلی گرم درصد در BB تا ۱/۳۸ میلی گرم درصد در هتروزیگوت AB).

در بررسیهای مربوط به نقش انتخاب طبیعی روی فراوانی ژنها و ژنوتیپهای RNA-ase در جمعیتهای بزرگ گاوهای سیاه - سفید اروپائی ثابت شد که فراوانی ژن A دو برابر فراوانی ژن B بوده (۶۰، ۶۱) و فراوانی ژنوتیپ BB حدود ۱۰٪ پایینتر از فراوانی ژنوتیپ AA بود. اگر چه در فراوانی ژن در دو جنس (نرها ومادها) تفاوت قابل توجه وجود نداشت لیکن تفاوت در سطح ژنوتیپهابالا بود.

www.SID.ir

Archive of SID

References :: منابع

1- AMIRELLAN, E.; HOLLANDER, V. P. 1966. A simplified assay for RNA- ase activity in crude tissue extracts. Analytical Biochemistry. 77:474-484.

2- ANTONEWICZ A., 1981. Czynniki wpływające na wydzielanie albuminy w moczu owiec. Rozprawy habilitacyjne. Instytut zootechniki/Balice-Krakow/. (phD abstract))

3- ATWAL. O.S., ENGRIGHT, J.B. AND FRYE, F. L. 1964. Acid ribonuclease activity in peripheral leucocytes of mices: A new cytochemical technique..... Proceeding society experimental biology medicine 1(15): 744-246

4- ATWAL. O.S. 1967. Ribonuclease activity in leucocytes of hyperimmunised rabbits. Experiments. 23: 185-186.

5- BARNARD, E. A. 1969. Biological function of pancreatic ribonuclease. Nature 221:340-344.

6- BARNARD, E. A. 1969. Ribonucleases. Annual Review of Biochemistry. 38:706-732.

7- BARTHOLEYNS, T. and BAUCHUN, P. 1977. Purification of rat liver neutral ribonuclease and comparision properites with pancreas and serum ribonucleases. Journal of Biochemesty. 163: 675-683.

www.SID.ir

Archive of SID

8- BENTHEIN, U. 1970. Untersuchungen über den Harnsauregehalt im Blutserum von gesunden und Kranken Rindern. Inaugular Dissertation, Hannover. ((phD abstract))

9- BIALOWICZ, E. 1984. Związek między polimorfizmem i aktywnosii alkalicznej rybonukleazy w krow. Praca doktorska, ART Olsztyn. ((phD. thesis pp.120))

10- BIEWAS, S. and HINDECHA, P. Serum alkaline ribonuclease activity during pregnancy. Clinical Chemistry Acta, 51: 285-289.

11- BLACKBURN, P. and WALKHANI, B. E. 1978. Ribonuclease inhibitor from Human placents interaction with derivatives of, Ribonuclease. Journal of Biological Chemistry. 245(24):: 1243-1249.

12- BLAXTER, K. 1966. Przemiany energetyczne u przeżuwaczy. PWRiL. Warszawa. pp:320.

13- CHISHOLM, G. and COOPER, T. G. 1982. Isolation and characterization of mutants that produce the allantoin-degrading enzymes constitutively in saccharomyces cerevisiae. Molecular cell Biology. 2(9):: 1088-1095.

14- CHRISTMAN, p., FOSTER, W. and EASTER, M. R. 1944. The allantoin content of blood. Journal of Biology Chemistry. 155: 161-171

www.SID.ir

Archive of SID

15- CELEMAN, D., AND ASHWORTH, M. E. 1959. Incorporation of glicinso into nucleic acid proteins of mice with hereditary dystrophy. Austrian Journal of Physiology. 197: 839- 841.

16- COORER T. G., 1982. The regulation of yest gene expression by multiple control elements. Basic Life Science. 19: 143-161.

17- CZORKAWSKI, J. W. 1979. Chemical composition of microbial matter in the rumen. Journal of Science Food Agriculture. 27: 621-632.

18- DAVIDSON, J. N.; 1972. Biochemia kwasow nukleinowych. PWRiL, Warszawa. PP:250

19- Francesoni, M. s., Meryn, S., Moser, kand Bauer, K 1981. Evidance of agodependent activity increase of poly/C/acid serum ribonuclease in man. Journal of Clinicy. 19: 17-20.

20- GLESECKS, A. 1982. Purin avaliability and metabolism dage fed single cell protein or RNA. Journal of. Nutrition. 112(10): 1822-1826.

21- GRELF, A. A., NOFER, E and NOLNAR, S. 1981. Proteinwert alimontorerHefe-Ribonukleinsaure in Varauchen in Varauchen an Wachsenden Raten. Arch.Tierennlchrune. 31(11/12): 853-861.

22- GABAA., 1977: Prurification and mode of action of exoribonukeaee from bovine brain. Journal of Biology Chemistry.

www.SID.ir

Archive of SID

252(18): 6416-6420.

23- HALEON,. P.C., ROSO, G. A, SULEAIMAN, S. 1982. Urate does not influence the formation of calcium oxalate orystale in whole humen urine at PH 5,3. Clinical Science. 62(4): 421-425.

24- HOMOLKA, J. 1971. Biochemika klinica. PZWL, Warszawa. PP: 430

25- ISSACS, P., 1981. Non specifitiy of elevatate serum ribonulase as a pancreatic tumor marker. Digestion. 22: 101-107.

26- KACZMARCZYK, E., WALAWSKL, K. 1985 Fosfatazy leukocytow a polimofizm alkalicznej rybonkleazy. Acta Academy of Agriculture and Technology. 2:120-129

27- KRUK, Z., PRUSZINOWSKA, I. and PASZKOWSKA, P. 1985. Aktymnosc muramidasy osoccżu Krwi u Krow o roznych genetypach alkalicznej RNA-azy. Acta Academy of Agriculture and Technology. OLSZTYN. 12: 40-48.

28- KIRIYAMA S. and ASKIDA, K. 1964. Effect of the quality of dietary protein on nitrogen compounds in the urine of rats. Journal of Nurtition. 82: 127.

29- LESLI., 1955. The nucleic acid content of tissues and cells; The nucleic acids. Ed. E. CHargaff, J.N. Davidsen; Acedemic Press. New York.PP: 310

www.SID.ir

Archive of SID

30- LIU, D.K. and MATRISIEN, P.E. 1977. Regional differences in ribonuclease content of rat and mouse kidney. Journal of Biochemistry. 164: 371-377.

31- MAFUNGWANA, S. M. and DAVIES, D. R. 1982. The effect of fructose on pyruvate kinase activity in isolated hepatocytes inhibition by allantoin and allantoine. Journal of Biochemestry. 208(1): 171-178.

32- MARGRET A., COOK, J., ADKINSON, T.,Laster, W. R. and Gottschalk, C. W. 1975. Uric acid excretion by the rat kidney. American Journal of Physiology. 229(3):586-591.

33- McALLAN, A. B., 1980. The degradation of nucleic acids and the removal of breakdown products from the small intestines of steers. British Journal of Nutrition. 44: 99-111.

34- MELY., and FANUT., 1978. Uric acid metabolism in homozygous and heterozygous muscular dystrophic mice. American Physiological Society (E):421-425.

35- MORGAN, E. H., and HANSON, A. 1964. Serum and urine allantoin in pregnancy and lactation of the Rat. Acta Physiology of Scandenavia. 60: 164-170.

36- MUNRO, J., and KNOWLER, J. T. 1982. Change levels of ribonuclease and ribonuclease inhibitor in the of the developing

www.SID.ir

Archive of SID

rat. Journal of Biochemestry. 16: 263-265.

37- MERRANY, A. W. 1971. The biological significance of purine salvage. American Review of Biochemestry. 40: 811-826.

38- NASKALSKI, J.; SZNJD, J. 1965. Aktywnosc nukleolityczna wsnrowicy i moczu w białaczkach. Polonina Archiwum Medicina wewneczna. 35:497-502.

39- NASKALSKI, J. 1972. Charakterystyka własnosci ryonukleaza wyosobnionych z moczu chorych na białaczke granulocytowa przewlekla. Przegland Lekarski. 29:295-301.

40- PAK, N., DONCESO, G. and TAGLE, M. A. 1973. Allantion excretion in the rat. British Journal of Nutrition. 30: 107-112.

41- PINKIEWICZ, E. 1971. Podstawowe badania laboratoryjne w chorobach zwierzat. PWRiL. Warszawa. PP: 305

42- PRUSINOWSKA, I. 1980. Wpływ genetycznie uwarunkowanego polimorfizmu alkalicznej rybonukleazy w leukocytach bydlecych na poziom wybranych wskaznikow fizjologicznych. Praca doktorska, ART. Olsztyn.(phD. thesis) pp: 150

43- PRUSINOWSKA, I. 1985. Metaboliczna skutki polimorfizmu alkalicznej rybonukleazy leukocytow mlodego bydla rasy czarno - białej. Zeszyty Naukowe ART. Olsztyn. 25: 47-54.

44- PRUSINOWSKA, I., KRUK, A and RYZOWSKA, E. 1984.

www.SID.ir

Archive of SID

Cznnoiciowe akutki poliformizmu alkalicznej rybonukleazy leukocytow krwi u bydla. Genetica Polonina. 13: 58-65.

45- PRUSINOWSKA, I. KRUK, Z and GLOGOWSKA, B. 1985. Lokalizacja polimorficznej rybonuklease w roznych typach lomorek krwi oraz grusicy i szpiku u budla. przzeglad Material Zooticnicnego. 3: 17-25.

46- RICHARD, G., TIGERSTROM, V and MUNCHAK, J.M. 1979, Isolation and. Biochemestry and Biophysics Acta. 418: 184-194.

47- SARZENOV, A.S and ALAGUZOWA, L.M. 1978. Tissue and age spicifity of ribonuclease activity in sheep of varied pure breedings, Trudy Inst. Eksperemental.Biology. AKademy Nauk kaz SSr. 13: 125-129.

48- SHAPIRA, P. 1962. Aspectrophotmetric method for the measurment of ribonucleases activity. Analytical Biochemestry. 3: 302-320.

49- SHLISKOHORENKO. V.A. NEGRE, J.G.Z., GLINSKI, J.GV., IVANOVA, A.B and ZYL, N.J. 1982. Molkuliarnaia getorogennest I komplekso obraznushaia aposobnost ribonukleaz plazmy krovi prileokoze. Voper Medika Klinica 28(2): 58-63.

50- SMITH R.H. 1969. Nitrogen metabolism in the rumen. Journal of Dairy Research. 36:313-331.

www.SID.ir

Archive of SID

51- SMITH, R.H and MCALLAN, A.B. 1971. Nucleic acids metabolism in the rumenant. 3. Amount of nucleic and total ammonia nitrogen in digests from the rumen, duodenum and ilem of calyes. British Journal of Nutrtion. 25: 181-189.

52- STARK, A.J. ROWLADS, G.J.NASTON, R. and MCCLINTOCK, A.N. 1978. The blood composition of Frisian bulls; Variations with age and relatioship with results of progfeny tests. Journal of. Agriculture Sciene. 91: 579-585.

53- SZNAJD, J., and NASKALSKI,J. 1965. Zmiany aktywniose nucleotycznej surowicy imoczu w szebiegu leukocytozy bialaczkowej. Polonica Archoiwum Medica Wenetrzna. 35: 503-509.

54- SZNAJD, T.,1972. Izolacja I charakterystyka wiasciwosci wyizolowanych rybonukleas surowicy krwi osob zdrowvchi chorvch i chorych na bialaloczke granulocytowa przewlekla. Polonica Medica Cracow. Xiv (3): 297-333.

55- THINNES, H., GELDERMAN, H., and WENS, U. 1976, New Protein polimorphism in cattle. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics. 7: 73-89.

56- TOOPS, T.H and ELLIOTT, R.C. 1965. Relatioship between concentration of ruminal nucleic acids and excretion of purine

www.SID.ir

Archive of SID

derivatives by sheep. Nature. 205: 498-499.

57-TUROSCY, V. and COOPER,TG. 1982. pleiotrpic control of five eucaryotic genes by multiple regulatory elements. Journal of Bacterialogy. 151(3): 1237-1246.

58- UBALDI, A. and CORBELA, E.1976. Determinaziona enzimatica dell' uricemia in medicina bovina. La Clinica Veterinaria 100 (3):117-123.

59- WALAWSKI, K. and PRUSINOWSKA, I.1981. Idetyfikacja Polimorfcznego bialka "Leu-1" w leukocytach bydliecych jako rybonukleazy zasadowej. Zeszety Naukowe ART Olsztyn. 21: 147-153.

60- WALAWSKI, K. KACZMARCZYKE, E., Dorochwicz, E and Zyczko, G. 1982. Analiza stanu rownowagi genetucznej ukladu polimorficzngo alkalicznej rybonukleazy w leuckocytach krwi buhajow, krow i cielat rasy nizinnej czarno-bialej. Zeszety Problemate. PWR. 2: 85-95.

61- WALAWSKI, K. GLOKOWSKA, B and KAZMIR, Z. 1984. Anormal segregation of alkaline ribonuclease genes in cattle. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics. 15: 85-88.

62- WEJSCHELBARMM T.R. 1946. An accurate and rapid method for the delermination of protein in small amounts of blood serum

www.SID.ir

Archive of SID

and plasma. American Journal Pathology- Tachn. Sekt. 40-42.

63- YOKOSOWA, T., DURA, H. and OKUDA, T. 1982, Metabolic effects of dietery purine in rate. Jouranl of Nutrition Sciences. 5: 519-526.

www.SID.ir