مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۷، دوره ۶۳، شماره ۱، ۳۹-۳۳

www.SID.ir

مطالعه تجربی ارتباط بین هیپوفسفاتمی تغذیه ای و هموگلوبینوری در بره

تقی تقی پور بازرگانی[۱] ناصر علیدادی[۱]* محسن قهار[۲] پروانه خضرایی نیا[۱] زهره خاکی[۱] علیرضا باهنر[۳] سعید ستاری[۲] پرستو یوسفی[۴]

۱) گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران،
۲) دانش آموخته دوره دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران.
۳) گروه همه گیری شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران.
۴) آزمایشگاه مرکزی تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. تهران-ایران.

(دریافت مقاله: ۱ خرداد ماه ۱۳۸۴، پذیرش نهایی: ۱ آذر ماه ۱۳۸۵)

چکیده

این مطالعه تجربی با هدف ایجاد هیپوفسفاتمی تغذیه‌ای و بررسی امکان حدوث همولیز درون عروقی بر روی دوگروه هفت رأسی (شاهد) و هشت رأسی (آزمون) بره صورت پذیرفت. فسفر جیره گروه‌های آزمون و شاهد به ترتیب برابر ۰/۰۶۵ درصد و ۰/۳۴ درصد ماده خشک تنظیم گردید. خون‌گیری از سیاهرگ وداج جهت سنجش فسفر معدنی، فسفاتاز قلیایی، بیلی روبین تام سرم، هماتوکریت و اجسام هاینز هر هفته انجام گرفت. داده‌ها با آزمون تی مستقل و آزمون تجزیه واریانس از نوع سنجشهای مکرر پردازش آماری شدند. کاهش معنی‌دار ($p<0/01$) فسفر معدنی سرم و افزایش فسفاتاز قلیایی سرم ($p=0/001$) در گروه آزمون پدیدار شد. حضور اجسام هاینز در یاخته‌های قرمز خون و نیز کاهش بسیار معنی‌دار هماتوکریت ($p<0/0005$). در هر دوگروه خود را نشان داد. اگرچه هموگلوبینوری مرئی ملاحظه نگردید. نتایج، حساسیت بالقوه گوسفند را به همولیز تغذیه‌ای روشن می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: بره، هیپوفسفاتمی تغذیه‌ای، همولیز، هموگلوبینوری.

مقدمه

به عنوان یک اصل، کمبود تغذیه‌ای فسفر و کمبود ویتامین دی در نهایت در گوسفند کاهش عیار فسفر خون را به دنبال خواهد داشت(۲). اما آنچه مهم است مقداری از فسفر در جیره غذایی است که باعث هیپوفسفاتمی در گوسفند می‌گردد. در این رابطه Beeson و همکاران در سال ۱۹۴۴ در یک کار تجربی نشان دادندکه کاهش مقدار فسفر از ۰/۱۷ درصد به ۰/۱۰ درصد ماده خشک جیره گوسفند جوان را به طور مشخص به هیپوفسفاتمی تغذیه‌ای دچار می‌کند(۵). سه سال بعد Michell در سال ۱۹۴۷ نیز با کار مستقل خود بر روی گوسفند، به همان نتایج بیسون دست یافت(۱۱). پس از گذشت چهار دهه، مرکز ملی تحقیقات آمریکا (National Research Council) در رابطه با نیازمندی‌های تغذیه‌ای گوسفند در سال ۱۹۸۵ اعلام کرد که در شرایط طبیعی، حداقل فسفر لازم در جیره این گونه دامی مقداری بسیار نزدیک به گاو یعنی ۰/۱۷ درصد ماده خشک است. باید توجه داشت که شکل مزمن کمبود تغذیه‌ای فسفر در گونه گوسفند به صورت کاهش رشد و تولید و نیز استئودیستروفی تظاهر پیدا می‌کند. البته در گاو به عنوان دامی‌که به دلیل نشخوارکننده بودن بیشترین شباهت فیزیولوژیک را با گوسفند دارد، بروز همولیز درون عروقی و هموگلوبینوری بالینی به دنبال هیپوفسفاتمی تغذیه‌ای طولانی مدت هیپوفسفاتمی متابولیک کوتاه مدت امری کاملا اثبات شده است(۱۳). در این راستا شایان ذکر است که در یک بره مبتلا به هموگلوبینوری بالینی، مقدار فسفر معدنی خون به نحو برجسته‌ای با توجه سن پایین دام، خود را نشان داد و هموگلبینوری به نحو موفقیت‌آمیزی با تزریق فسفر قطع شد (علیدادی و تقی پور بازرگانی در سال ۱۳۷۳). به علاوه شریفی و همکاران در سال ۱۳۸۳ نیز رخداد هموگلوبینوری همراه با هیپوفسفاتمی را که باعث تلفات در بره‌های شیر خوار بالاتر از یک ماه شده بود، گزارش کرده‌اند(۱۸). البته، باید تاکید کرد تاکنون تغییرات احتمالی عیار فسفر خون در اثر افزایش سن در گونه گوسفند به طور دقیق و مشخص تعیین نشده است(۹،۱۰). بنابراین برای پاسخ به این پرسش که آیا هیپوفسفاتمی تغذیه‌ای در گوسفند نیز می‌تواند همولیز و هموگلوبینوری را به همراه داشته باشد، طرحی پژوهشی به اجرا گذاشته شد و حاصل آن موضوع این مقاله است.

مواد و روش کار

تعداد ۱۵ رأس برهٔ نر ۳ ماهه با میانگین وزن ۲۴/۵ کیلوگرم از نژاد شال قزوین از مؤسسهٔ تحقیقاتی امین آباد دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه تهران به کار گرفته شد. این تعداد به دو گروه هفت رأسی (پلاک نارنجی) به عنوان گروه شاهد و هشت رأسی (پلاک آبی) به عنوان گروه آزمون تقسیم شدند. شمارهٔ گوش گوسفندان پلاک نارنجی به ترتیب از ۱۰۲ تا ۱۰۸ و گوسفندان پلاک آبی به ترتیب از ۲۰۹ تا ۲۱۶ انتخاب گردید. میانگین افزایش وزن روزانه بره‌ها از روز تولد تا شروع مطالعه برای گروه شاهد ۲۴۲ گرم و گروه آزمون ۲۲۸ گرم بود. در اواخر بهار مطالعه به مدت ۱۵ هفته شروع و در تابستان به پایان رسید. قبل از انتقال بره‌ها به محل انجام بررسی دو جایگاه مجزای سیمانی که در زیر ساختمان سرپوشیدهٔ گاوداری بیمارستان قرار داشتند، طی سه مرحله، ابتدا با برس شستشو، سپس شعله افکنی و سرانجام توسط محلول‌های شیمیایی تجارتی، ضدعفونی گردید. پس از انتقال بره‌ها به جایگاه‌های خاص، مایه کوبی‌های ضروری انجام گردید. پس از طی دورهٔ

Archive of SID

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۱۱۱۷۰۰۰-۰۲۱ نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱ Email:nalidadi@ut.ac.ir

Archive of SID

جدول۱- مواد، درصد و ترکیبات موجود در جیرهٔ پایه (ماده خشک).

مواد غذایی تشکیل دهنده جیره	سهم در جیره (درصد)	فسفر ماده غذایی (درصد)	سهم در فسفر کل جیره (درصد)	انرژی قابل متابولیسم، مگاکالری در کیلوگرم ماده غذایی	سهم در انرژی کل جیره	پروتئین خام ماده غذایی (درصد)	سهم در پروتئین کل جیره (درصد)
تفالهٔ چغندر	۷۱	۰/۰۶۷	۰/۰۴۸	۲/۴۳	۱/۸	۹/۷	۶/۹
کاه جو	۲۶/۵	۰/۰۶۴	۰/۰۱۷	۱/۷۴	۰/۴	۳/۴	۱/۱
اوره	۱	-	-	-	-	۲۸۰	۲/۸
نمک یدار	۱/۵	-	-	-	-	-	-
جمع	۱۰۰	-	۰/۰۶۵	-	۲/۲	-	۱۰/۸

آمادگی و گذر از مرحلهٔ خطر یعنی حدود ۱۰ روز پس از انتقال، بره‌ها جیرهٔ کامل طرح را دریافت نمودند. این جیره در مورد گروه آزمون شامل کاه، تفالهٔ چغندر، نمک یددار و اوره (جیرهٔ پایه) بود که فسفر آن تقریباً ۰/۰۶۵ درصد بر آورد گردید (جدول ۱). جیرهٔ گروه شاهد به جز فسفر آن که با افزودن ۱/۵ درصد مکمل سدیم منوفسفات حاوی ۱۸/۶۲ درصد فسفر به ۰/۳۴ درصد رسید، از دیگر جهات با جیره گروه آزمون یکسان بود. با توجه به نقش اساسی فسفر جیره غذایی در این طرح، میزان فسفر تفاله چغندر و کاه به روش جذب اتمی در آزمایشگاه تجزیه مواد غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران اندازه‌گیری شد. گوسفندان هریک از دو گروه، سه نوبت در روز مجموعاً ۱/۳۳ کیلوگرم برای هر رأس از جیرهٔ غذایی مربوطه تغذیه می‌شدند، به گونه‌ای که غذا اضافه می‌ماند. جهت جلوگیری از ورود اجرام بیماری‌زا، ظرف محتوی مادهٔ ضدعفونی کننده در جلوی در ورودی هر جایگاه قرار داده شده بود. خون‌گیری از سیاهرگ وداج توسط دو سرنگ ۱۰ و ۲ میلی لیتری جهت آزمایش‌های بیوشیمی و خون شناسی روز سه شنبه هر هفته صورت می‌پذیرفت. برای سهولت در امر خونگیری در آغاز انجام طرح، دو طرف گردن تراشیده شد. جهت به حداقل رساندن امکان همولیز ناخواسته، پیستون سرنگ حاوی نمونه خون به آرامی تا انتها کشیده شده و سپس سر سرنگ در تماس با سطح داخلی لوله به صورت مایل قرار می‌گرفت. آنگاه، باقیماندهٔ پیستون از سرنگ جدا می‌شد تا خون، تحت نیروی جاذبه زمین به داخل لولهٔ آزمایش تخلیه شود. پس از اتمام خونگیری از هر دو گروه، لوله‌ها با دقت برای جلوگیری از ایجاد حرکات اضافی به آزمایشگاه خون شناسی بیمارستان برای جداسازی سرم منتقل می‌شد تا سپس در جوار یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشکده برده شود. همچنین، از دو میلی لیتر خون حاوی ماده ضد انعقاد نمونه برداری لازم جهت سنجش هماتوکریت، شمارش یاخته‌های قرمز خون (RBC) و اجسام هاینز انجام می‌شد. جهت مشاهدهٔ اجسام هاینز، تعداد ۱۰۰۰ گلبول قرمز در گسترش خون رنگ‌آمیزی شده به روش کرزیل آبی درخشان (Brilliant Cresyl Blue) بررسی و نتایج بر حسب درصد اعلام می‌شد. نمونه‌های سرم توسط دستگاه Auto analyzer با مدل Eppendorf EPOS 5060, Germany در آزمایشگاه مرکزی دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه تهران، برای اندازه‌گیری فسفات معدنی، فسفاتاز قلیایی، بیلی روبین (تام) سرم مورد آزمایش قرار می‌گرفت. اندازه‌گیری

جدول۲- مقایسه میانگین و انحراف معیار وزن (کیلوگرم) بره‌های مورد مطالعه.

مراحل	شاهد		آزمون		* سطح p <
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	
شروع طرح	۲۵/۱	۷/۶	۲۴/۰	۲/۹	غیرمعنی‌دار
ماه اول	۲۵/۵	۷/۵	۲۲/۴	۳/۲	معنی‌دار
ماه دوم	۲۷/۲	۶/۹	۲۳/۵	۳/۴	معنی‌دار
ماه سوم	۲۹/۱	۶/۶	۲۳/۴	۳/۱e	۰/۰۵

نمونه‌ها با استفاده از کیت‌های مخصوص و راهنمای شرکت سازنده (شرکت پارس آزمون) انجام می‌گرفت. بدین ترتیب که فسفر معدنی با مولیبدات در محیط اسیدی یک ترکیب رنگی ایجاد می‌کند. شدت رنگ ایجاد شده نمایانگر مقدار فسفر معدنی سرم در نمونه است. داده‌های این مطالعه توسط نرم افزار آماری SPSS و با هر دو روش‌های آزمون تی مستقل (groups Between) و تجزیه واریانس از نوع سنجش‌های مکرر (measures Repeated) در درون هر کدام از دو گروه (Within groups) مورد پردازش قرار گرفت.

نتایج

جدول‌های ۲ تا ۴ و تصویرهای ۱تا ۳، یافته‌های حاصل از این مطالعه را ارایه می‌کنند. همچنین شایان ذکر است که همه بره‌های گروه آزمون علامت بالینی را به شکل جویده شدن اجسام غیر مغذی از خود نشان دادند و در شکمیه همه آنها که در پایان مطالعه کشتار شدند توپی‌های گوارشی کم یا زیاد وجود داشت.

بحث و نتیجه‌گیری

شایان ذکر است با توجه بدین نکته که میانگین افزایش وزن روزانه بره‌ها از روز تولد تا شروع مطالعه برای گروه شاهد ۲۴۲ گرم و گروه آزمون ۲۲۸ گرم بود در صورت حفظ همین آهنگ رشد می‌بایستی در انتهای طرح هر کدام از بره‌های گروه شاهد به طور متوسط حدود ۱۲/۵ و گروه آزمون ۱۰/۳ کیلوگرم نسبت به شروع مطالعه افزایش وزن پیدا می‌کردند. در حالی که جدول ۲ نشان می‌دهد گروه شاهد به طور معنی‌دار افت رشد و بره‌های گروه آزمون حتی کاهش وزن اولیه خود را نشان می‌دهند ($p<0/003$ و $p<0/0005$). نتایج این بخش از مطالعه تقریباً با یافته‌های موجود مشابه می‌باشد (۷). تردیدی نیست که هر افزایش رشدی نیازمند انرژی، پروتئین و فسفر کافی است. به ویژه آن‌که فسفر در همه گونه‌های جانوری در ساختار اسیدهای هسته‌ای، ذخیره سازی و جابه جایی آزادسازی انرژی، تعادل اسید و باز، جذب و انتقال عده‌ای از متابولیت‌ها، و نیز تکثیر میکرو فلور شکمبه نشخوارکنندگان نقشی بی‌بدیل دارد (۳،۵،۷،۱۷). از طرف دیگر نمی‌توان انکار کرد که جیره غذایی به دلیل مقتضیات مطالعه جیره‌ای متنوع از نظر مواد مغذی نبود و این مطلب نیز می‌توان در رابطه با کاهش در آهنگ رشد مد نظر قرار گیرد. بنابراین با توجه بدین نکات می‌توان دریافت که به چه دلیل گروه آزمون دچار کاهش

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳- مقایسه میانگین و انحراف معیار مقادیر مورد مطالعه در دو گروه شاهد و آزمون برای شاخصهای فسفر (میلی گرم/صدمیلی لیتر)، فسفاتاز قلیایی (واحد بین المللی/لیتر)، هماتوکریت (درصد)، بیلی روبین (میلی گرم/صدمیلی لیتر)، اجسام هاینز (درصد حضور در یاخته‌های قرمز خون)**

هفته	شاخص	گروه شاهد		گروه آزمون		* سطح p<
		میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	
صفر	فسفر	۶/۴۴	۰/۷۱۳	۶/۳۴	۰/۹۸۵	-
	فسفاتاز قلیایی	۳۳۵/۴	۱۶۲/۵	۳۶۴/۸	۸۵/۰	غیر معنی دار
	هماتوکریت	۳۴/۷۱	۲/۴۳	۳۴/۲۵	۱/۶۷	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۲۸	۰/۰۵	۰/۳	۰/۲۸	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	-	-	-	-	-
اول	فسفر	۶/۴۱	۰/۶۵۸	۴/۸۳	۱/۰۶۴	۰/۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۳۲۲/۰	۱۰۳/۸	۳۱۲/۳	۴۲/۷	غیر معنی دار
	هماتوکریت	۳۴/۷۱	۲/۴۳	۳۲/۳۸	۱/۸۵	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۲۵	۰/۰۲	۰/۲۶	۰/۰۷	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	-	-	-	-	-
دوم	فسفر	۹/۳۸	۲/۱۶۸	۴/۰۱	۱/۱۸۱	۰/۰۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۳۲۳/۵	۱۳۸/۶	۳۰۲/۰	۴۷/۸	غیر معنی دار
	هماتوکریت	۳۴/۹۲	۳/۱۵	۳۳/۱۳	۱/۸۹	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۹۲	۰/۰۳	۰/۲۹	۰/۰۶	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	-	-	-	-	-
سوم	فسفر	۹/۹۰	۱/۲۳۵	۳/۰	۰/۷۲۹	۰/۰۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۳۱۱/۵	۱۰۵/۳	۳۹۱/۵	۸۱/۱	غیر معنی دار
	هماتوکریت	۲۹/۰	۳/۰۶	۳۰/۵	۱/۶	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۳۸	۰/۰۲	۰/۴۱	۰/۰۳	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	-	-	-	-	-
چهارم	فسفر	۹/۷۶	۰/۹۱۲	۳/۱۲۵	۰/۵۱۴	۰/۰۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۲۷۹/۰	۹۰/۷	۴۷۹/۸	۱۳۹/۰	۰/۰۰۶
	هماتوکریت	۲۹/۶۸	۲/۴۱	۳۰/۶۳	۱/۰۶	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۴۱	۰/۱۵	۰/۴۸	۰/۰۹	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	-	-	-	-	-
پنجم	فسفر	۱۰/۶۴	۰/۷۸۰	۳/۱۶	۰/۵۳۴	۰/۰۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۲۷۶/۲	۸۲/۰	۵۲۲/۷	۹۹/۸	۰/۰۰۱
	هماتوکریت	۸۲	۲/۳۱	۲۹/۷۵ ژ	۱/۶	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۴۴	۰/۱۴	۰/۴۷	۰/۱۴	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	-	-	-	-	-
ششم	فسفر	۱۱/۴۵	۱/۴۹	۵/۸۵	۲/۱۲۸	۰/۰۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۳۴۷/۲	۹۵/۴	۶۲۲/۱	۱۲۲/۸	۰/۰۰۱
	هماتوکریت	۲۷/۳۴	۲/۷۶	۲۹/۶۳	۱/۹	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۵۲	۰/۲	۰/۳۵	۰/۱۸	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	۰/۹۰	۰/۱	۰/۰۵	۰/۰۵	غیر معنی دار
هفتم	فسفر	۱۱/۵۴	۱/۴۰	۳/۷۷	۰/۵۰۹	۰/۰۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۳۰۷/۰	۷۸/۱	۷۰۷/۳	۲۲۷/۳	۰/۰۰۱
	هماتوکریت	۲۸/۶۸	۱/۶۸	۲۹/۷۵	۱/۷۵	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۵	۰/۰۵	۰/۴۸	۰/۱۴	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	۰/۰۳	۰/۰۶	۰۰	۰۰	غیر معنی دار
هشتم	فسفر	۱۱/۵۷	۱/۶۲	۴/۹۱	۱/۵۴	۰/۰۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۲۸۴/۴	۹۷/۳	۶۷۵/۶	۲۳۸/۹	۰/۰۰۱
	هماتوکریت	۲۹/۳۴	۱/۵۱	۲۸/۸۸	۱/۵۵	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۵۷	۰/۰۳	۰/۵۲	۰/۱۷	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	۰/۱۰	۰/۰۳	۰	۰	غیر معنی دار
نهم	فسفر	۱۲/۱۸	۳/۵۵	۲/۸۲	۰/۹۵۵	۰/۰۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۴۲۹/۲	۲۶۳/۶	۸۴۳/۱	۴۲۵/۹	۰/۰۵
	هماتوکریت	۲۹/۴	۲/۶۷	۳۰/۵	۱/۷۵	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۸۵	۰/۰۵	۰/۳۵ f	۰/۱۶	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	۰/۴	۰/۷	۰/۰۲	۰/۰۶	غیر معنی دار
دهم	فسفر	۱۱/۵۵	۱/۱۳	۴/۱۶	۰/۹۳۰	۰/۰۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۳۴۳/۱	۷۸/۸	۷۳۱/۱	۲۶۰/۴	۰/۰۰۲
	هماتوکریت	۳۰/۷۱	۲/۸۷	۳۰/۱۳	۲/۴۷	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۵۹	۰/۰۹	۰/۶۶	۰/۰۵	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	۰/۳	۰/۷	۰/۳	۰/۰۶	غیر معنی دار
یازدهم	فسفر	۹/۶۳	۱/۲۷	۴/۰۰	۱/۸۲	۰/۰۰۱
	فسفاتاز قلیایی	۲۹۷/۲	۷۵/۶	۶۷۹/۶	۲۳۴/۸	۰/۰۰۱
	هماتوکریت	۲۸/۵۷	۲/۰۷	۲۸/۶۳	۲/۲۶	غیر معنی دار
	بیلی روبین	۰/۶۳	۰/۱۳	۰/۷۲	۰/۰۳	غیر معنی دار
	اجسام هاینز	۰/۶	۰/۹	۰/۰۱	۰/۰۳	غیر معنی دار

www.SID.ir

www.SID.ir

تصویر ۳- توپی های اخذ شده از شکمبه پس از کشتار بره‌ها.

فسفر به طور اولیه یا ثانویه باشد افزایش عیار فسفاتاز قلیایی به عنوان یک معیار تلقی شده است(۶،۹،۱۴،۲۰). بدون تردید افزایش عیار این آنزیم بازتابی از فعالیت استئوبلاست‌ها است که به دو علت تبدیل نشدن استئوئید به استخوان در رابطه با فقر مواد معدنی یا به دلیل تبدیل شدن استخوان به استئوئید در اثر فعالیت استئوکلاست‌ها است (۳،۶،۱۱،۱۲،۱۴،۱۵،۲۰). البته به لحاظ بالینی به طور مشهود علامتی مشخص و قابل تکیه از ضایعات استئودیستروفیک در بره‌ها به نظر نرسید که این امر می‌تواند از تفاوت گونه‌ای ناشی شده باشد.

از طرف دیگر در نوع نشخوارکننده در تنظیم عیار فسفر نقش ویتامین دی فعال (۱- ۲۵ دی هیدروکسی کله کلسیفرول) بسیار برجسته است(۴). برای شکل‌گیری متابولیت فعال ویتامین دی، این ویتامین چه با منشأ خارجی و چه ساخت بدن باید دو بار هیدروکسیله شود. اولین هیدروکسیله شدن این ویتامین در کبد (۲۵-هیدروکسی کله کلسیفرول) و دومین هیدروکسیله شدن آن در کلیه به انجام می‌رسد. هیدروکسیله شدن کلیوی ویتامین دی بدون پادرمیانی پاراتورمون امکان پذیر نخواهد بود. شکی نیست که حاصل عمل پاراتورمون از یکطرف فعال شدن ویتامین دی و از طرف دیگر تخریب استخوان توسط استئوکلاست‌هاست که در این رابطه افزایش عیار فسفاتاز قلیایی غیر قابل اجتناب می‌باشد(۳،۶،۱۴،۱۶). بنابراین، با توجه به آنچه آمد افزایش عیار فسفاتاز قلیایی در بره‌های گروه آزمون کاملاً قابل انتظار بوده است. یادآوری می‌گردد که عیار فسفر معدنی سرم در گروه شاهد از هفته دوم مطالعه روند صعودی معنی‌داری داشت و تا هفته دوازدهم نزدیک به دو برابر هفته صفر افزایش یافت و از آن پس در حالت نوسان بود. ولی هیچ گاه به عیار هفته صفر برنگشت. عیار فسفاتاز قلیایی در این گروه از هفته ششم صعودی معنی‌دار را پیدا کرد و تا هفته چهاردهم کم و بیش این وضعیت را حفظ کرد (جدول ۳). آنچه که در رابطه با عیار فسفر خون مسلم است وجود تفاوت سنی در دامنه طبیعی فسفات معدنی سرم خون نشخوارکنندگان است(۱۴، ۱۷، ۱۸). به طوری که آنچه به عنوان دامنه طبیعی فسفات معدنی سرم خون (۴ تا ۷ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر) بیان می‌شود مربوط به نشخوارکنندگان بالغ است و این دامنه در رابطه با سنین پایین به میزان ۷ تا ۹ میلی‌گرم در صد میلی لیتر مطرح شده است که با آهنگی تدریجی به دامنه طبیعی بالغین نزدیک می‌شود(۶). در مطالعه‌ای نیز که اخیراً منتشر شده است عیار فسفر خون در بره‌های شیرخوار به میزان ۲/۴۴±۷/۸۴ میلی گرم در صد میلی لیتر دست آمده است (۱۹). نگاهی به عیار فسفر خون در جدول ۳ در بره‌هایی که دارای فسفر تأمین شده بدن بر حسب تجزیه آزمایشگاهی بودند نشان می‌دهد که این عیار کاملاً با دو این منبع به ترتیب جهانی و ایرانی هم خوانی دارد. عیار کلسیم در این مطالعه با توجه به هدف از انجام آن که بررسی ارتباط هیپوفسفاتمی و هموگلوبینوری بود، اندازه‌گیری نشد. گرچه، از دیدگاه بالینی هیچ‌گونه ناشی از ضعف عضلانی، یبوست، از پا افتادگی ملاحظه نگردید. قابل توجه اینکه در گزارش علیدادی و تقی پوربازرگانی در سال ۱۳۷۳ عیار فسفات معدنی سرم خون بره شیرخوار دچار هموگلوبینوری قبل، ۱۵ ساعت (زمان قطع هموگلوبینوری) و سه ماه (زمان سلامت کامل بره) پس از یک بار تزریق ترکیب فسفات دار به ترتیب ۷/۱، ۴/۷ و ۹/۶ میلی گرم در صد میلی لیتر خون اندازه‌گیری شد. این در حالی بود که میزان کلسیم سرم خون در ۱۵ ساعت و سه ماه پس از تزریق فسفات به ترتیب ۱۰/۲ و ۱۱/۲ میلی گرم در صد میلی لیتر خون بود و در محدوده عادی خود قرار داشت.

از دیگر سوی، مقایسه ظهور اجسام هاینز درون یاخته‌های قرمز خون که با بروز کم خونی ارتباطی تنگاتنگ دارد از هفتهٔ ششم تا چهاردهم خود نمایی کرد و میزان این اجسام در گروه شاهد به طور معنی داری بیشتر از گروه آزمون می‌باشد ($p<0/05$). با توجه به اینکه میزان فسفر جیره گروه شاهد(۰/۳۴ درصد) نزدیک به پنج برابر گروه آزمون و دو برابر حداقل میزان فسفر مورد نیاز گوسفند(۰/۱۷ درصد جیره) و نزدیک به حداکثر قابل قبول فسفر در جیره این گونهٔ دامی(۰/۴ درصد) می‌باشد (۱۲،۱۷) پر واضح است که در این مطالعه حضور اجسام هاینز به میزان فسفر جیره و فسفر معدنی سرم ربطی نداشته است. در صورتی که زمان پیدایش، تداوم و شدت شکل‌گیری اجسام هاینز در هر یک از دو گروه شاهد و آزمون (جداول ۳و۶) دنبال شود چنین استنباط می‌گردد که این وضعیت ظاهراً به وزن و سرعت رشد دام مربوط است. به طوری‌که دام شماره ۱۰۲ از گروه شاهد که کمترین وزن را در این گروه و نیز در بین کل ۱۵ راس بره‌دار است تا انتهای طرح هیچ‌گاه یاخته قرمز حاوی اجسام هاینز نداشت و دام‌های ۱۰۶، ۱۰۷ و ۱۰۸ که به طور نسبی یا مطلق بالاترین وزن‌ها را هم در گروه خود و هم در بین ۱۵ راس بره تحت این مطالعه داشتند(جدول ۶)، بیشترین میزان اجسام هاینز را در یاخته‌های قرمز نشان دادند.

این اطلاعات حاکی از این است که سرعت رشد بیشتر، باروندهای تولید و مصرف انرژی و نیز ساخت مواد ضروری برای هیپرتروفی و تکثیر ملازمه دارد. بنابراین در چنین جریانی افزایش واکنش‌های اکسیداتیو یک ضرورت محسوب می‌شود. قابل ذکر آنکه اجسام هاینز، حاصل استرس اکسیداتیو درون یاخته‌های قرمز خون و نیز دخالت برخی از عوامل تغذیه‌ای نظیر عوامل موجود در خاکهای مناطق چرخشی بیشتر MET در رشد مقاومت کرده دو گروه تشکیل می‌داد. در چنین شرایطی هموگلوبین با حالت طبیعی خود

Archive of SID

www.SID.ir

تصویر ۳- توپی های اخذ شده از شکمبه پس از کشتار بره‌ها.

فسفر به طور اولیه یا ثانویه باشد افزایش عیار فسفاتاز قلیایی به عنوان یک معیار تلقی شده است(۶،۹،۱۴،۲۰). بدون تردید افزایش عیار این آنزیم بازتابی از فعالیت استئوبلاست ها است که به دو علت تبدیل نشدن استئوئید به استخوان در رابطه با فقر مواد معدنی یا به دلیل تبدیل شدن استخوان به استئوئید در اثر فعالیت استئوکلاست ها است (۳،۶،۱۱،۱۲،۱۴،۱۵،۲۰). البته به لحاظ بالینی به طور مشهود علامتی مشخص و قابل تکیه از ضایعات استئودیستروفیک در بره‌ها به نظر نرسید که این امر می تواند از تفاوت گونه‌ای ناشی شده باشد.

از طرف دیگر در نوع نشخوارکننده در تنظیم عیار فسفر نقش ویتامین دی فعال (۱- ۲۵ دی هیدروکسی کله کلسیفرول) بسیار برجسته است(۴). برای شکل‌گیری متابولیت فعال ویتامین دی، این ویتامین چه با منشأ خارجی و چه ساخت بدن باید دو بار هیدروکسیله شود. اولین هیدروکسیله شدن این ویتامین در کبد (۲۵-هیدروکسی کله کلسیفرول) و دومین هیدروکسیله شدن آن در کلیه به انجام می رسد. هیدروکسیله شدن کلیوی ویتامین دی بدون پا در میانی پاراتورمون امکان پذیر نخواهد بود. شکی نیست که حاصل عمل پاراتورمون از یکطرف فعال شدن ویتامین دی و از طرف دیگر تخریب استخوان توسط استئوکلاست هاست که در این رابطه افزایش عیار فسفاتاز قلیایی غیر قابل اجتناب می باشد(۳،۶،۱۴،۱۶). بنابراین، با توجه به آنچه آمد افزایش عیار فسفاتاز قلیایی در بره‌های گروه آزمون کاملاً قابل انتظار بوده است. یادآوری می گردد که عیار فسفر معدنی سرم در گروه شاهد از هفته دوم مطالعه روند صعودی معنی داری داشت و تا هفته دوازدهم نزدیک به دو برابر هفته صفر افزایش یافت و از آن پس در حالت نوسان بود. ولی هیچ گاه به عیار هفته صفر برنگشت. عیار فسفاتاز قلیایی در این گروه از هفته ششم صعودی معنی دار را پیدا کرد و تا هفته چهاردهم کم و بیش این وضعیت را حفظ کرد (جدول ۳). آنچه که در رابطه با عیار فسفر خون مسلم است وجود تفاوت سنی در دامنه طبیعی فسفات معدنی سرم خون نشخوارکنندگان است(۱۴، ۶،۹،۱۰). به طوری که آنچه به عنوان دامنه طبیعی فسفات معدنی در سرم خون (۴ تا ۷ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر) بیان می‌شود مربوط به نشخوارکنندگان بالغ است و این دامنه در رابطه با سنین پایین به میزان ۷ تا ۹ میلی‌گرم در صد میلی لیتر مطرح شده است که با آهنگی تدریجی به دامنه طبیعی بالغین نزدیک می شود(۶). در مطالعه‌ای نیز که اخیراً منتشر شده است عیار فسفر خون در بره‌های شیرخوار به میزان ۲/۴۴±۷/۸۴ میلی گرم در صد میلی لیتر دست آمده است (۱۹). نگاهی به عیار فسفر خون در جدول ۳ در بره‌هایی که دارای فسفر تأمین شده بدن بر حسب تجزیه آزمایشگاهی بودند نشان می دهد که این عیار کاملاً با دو این منبع به ترتیب جهانی و ایرانی هم خوانی دارد. عیار کلسیم در این مطالعه با توجه به هدف از انجام آن که بررسی ارتباط هیپوفسفاتمی و هموگلوبینوری بود، اندازه‌گیری نشد. گرچه، از دیدگاه بالینی هیچ‌گونه ناشی از ضعف عضلانی، یبوست، از پا افتادگی ملاحظه نگردید. قابل توجه اینکه در گزارش علیدادی و تقی پوربازرگانی در سال ۱۳۷۳ عیار فسفات معدنی سرم خون بره شیرخوار دچار هموگلوبینوری قبل، ۱۵ ساعت (زمان قطع هموگلوبینوری) و سه ماه (زمان سلامت کامل بره) پس از یک بار تزریق ترکیب فسفات دار به ترتیب ۷/۱، ۴/۷ و ۹/۶ میلی گرم در صد میلی لیتر خون اندازه‌گیری شد. این در حالی بود که میزان کلسیم سرم خون در ۱۵ ساعت و سه ماه پس از تزریق فسفات به ترتیب ۱۰/۲ و ۱۱/۲ میلی گرم در صد میلی لیتر خون بود و در محدوده عادی خود قرار داشت.

از دیگر سوی، مقایسه ظهور اجسام هاینز درون یاخته‌های قرمز خون که با بروز کم خونی ارتباطی تنگاتنگ دارد از هفتهٔ ششم تا چهاردهم خود نمایی کرد و میزان این اجسام در گروه شاهد به طور معنی داری بیشتر از گروه آزمون می‌باشد ($p<0/05$). با توجه به اینکه میزان فسفر جیره گروه شاهد(۰/۳۴ درصد) نزدیک به پنج برابر گروه آزمون و دو برابر حداقل میزان فسفر مورد نیاز گوسفند (۰/۱۷ درصد جیره) و نزدیک به حداکثر قابل قبول فسفر در جیره این گونهٔ دامی (۰/۴ درصد) می‌باشد (۱۲،۱۷) پر واضح است که در این مطالعه حضور اجسام هاینز به میزان فسفر جیره و فسفر معدنی سرم ربطی نداشته است. در صورتی که زمان پیدایش، تداوم و شدت شکل‌گیری اجسام هاینز در هر یک از دو گروه شاهد و آزمون (جداول ۳و۶) دنبال شود چنین استنباط می‌گردد که این وضعیت ظاهراً به وزن و سرعت رشد دام مربوط است. به طوری‌که دام شماره ۱۰۲ از گروه شاهد که کمترین وزن را در این گروه و نیز در بین کل ۱۵ راس بره‌داراست تا انتهای طرح هیچ‌گاه یاخته قرمز حاوی اجسام هاینز نداشت و دام‌های ۱۰۶، ۱۰۷ و ۱۰۸ که به طور نسبی یا مطلق بالاترین وزن‌ها را هم در گروه خود و هم در بین ۱۵ راس بره تحت این مطالعه داشتند(جدول ۶)، بیشترین میزان اجسام هاینز را در یاخته‌های قرمز نشان دادند.

این اطلاعات حاکی از این است که سرعت رشد بیشتر، با روندهای تولید و مصرف انرژی و نیز ساخت مواد ضروری برای هیپرتروفی و تکثیر ملازمه دارد. بنابراین در چنین جریانی افزایش واکنش های اکسیداتیو یک ضرورت محسوب می‌شود. قابل ذکر آنکه اجسام هاینز، حاصل استرس اکسیداتیو درون یاخته های قرمز خون و نیز دخالت برخی از عوامل تغذیه‌ای نظیر عوامل موجود در غذاهایی مانند تفاله چغندر است که ۷۱ درصد ماده خشک را در هر دو گروه تشکیل می داد. در چنین شرایطی هموگلوبین از حالت طبیعی خود

Archive of SID

Archive of SID

خارج شده و پس از متراکم شدن در جدار داخلی غشای یاخته قرمز ترسیب پیدا می‌کند. در شرایط کاملا طبیعی نیز در داخل یاخته قرمز به علت جابجایی اکسیژن، اکسیداسیون ملایم منجر به تولید پراکسیدها می‌گردد. ولی در این شرایط سیستم احیا کنندگی درون گویچه‌ای به نحوی عمل می‌کند که پراکسیدها فرصت ایجاد ریشه‌های آزاد اکسیژن را پیدا نمی‌کنند. به عبارت دیگر در شرایط طبیعی بین واکنش‌های اکسید و احیا داخل یاخته قرمز تعادل برقرار است (۴،۱۶).

براساس آنچه که در بالا آمد شکی نیست که در شرایط انجام این تجربه، سیستم احیا کنندگی درون یاخته قرمز نتوانسته است به وظایف خویش در حد برقراری تعادل عمل نماید و این ناتوانی به خصوص در گروه شاهد که از اجزای جیره متنوع تری بهره می‌گرفت و سرعت رشد بیشتری داشت، بیشتر خودنمایی کرده است. فعال‌ترین عضو احیا کنندگی پراکسیدهای داخل گلبول قرمز گلوتاتیون پراکسیداز وابسته به سلنیم می‌باشد. کمبود سلنیم به صورت بالینی و تحت بالینی در بره‌های در حال رشد کاملاً شناخته شده است (۷،۱۴،۲۰). با توجه به اینکه سلنیم تزریق شده برای درمان این کمبود حداکثر تا یکماه در بدن ماندگاری موثر دارد (۳،۴) می‌توان نتیجه گرفت که در شرایط طبیعی نیز چنانچه جیره دارای کفایت لازم از نظر تامین سلنیم دام‌ها نباشد، پس از گذشت یک ماه از مصرف چنین جیره‌ای وقوع کمبود سلنیم از احتمال بالا برخوردار خواهد بود. در مورد جیره مصرفی در این مطالعه برای اندازه‌گیری میزان سلنیم آزمایشی صورت نگرفته است. ولی با توجه به نوع اجزاء (تفاله و کاه جو) به نظر نمی‌رسد توانسته باشد سلنیم مورد نیاز را تامین کند (۱۲).

قابل ذکر آنکه در بره‌های مورد این مطالعه از هفته ششم (۱/۵ ماه بعد از شروع آزمایش) مشاهدهٔ اجسام هاینز ممکن بوده است. مضافاً از آنجایی که کاه و ریشهٔ گیاهان (چغندر و تفاله آن) فقیر از ویتامین E می‌باشند (۳،۱۲)، جیره غذایی مورد استفاده در این مطالعه نمی‌توانست ویتامین E (آنتی اکسیدان) را در حدی که نیازمندی تغذیه‌ای بره‌ها را برآورده سازد تأمین نماید. همچنین، می‌بایستی نقش دستگاه ایمنی بدن را در حذف یاخته‌های آلوده به اجسام بیگانه هاینز در یاخته‌های قرمز خون خصوصاً توسط طحال مورد توجه قرار داد.

اما آنچه که ذکر آن از اهمیت فراوان برخوردار می‌باشد این است که با وجود افت معنی‌دار و برجسته فسفر خون از هفتهٔ نخست طرح و اوج این کاهش در هفته دوازدهم (۲/۵۱ میلی‌گرم درصد)، در هیچ زمانی در طی مرحله اول طرح همولیز بالینی رخ نداد. این در حالی است که بره‌ها در هر دو گروه به نحو بسیار معنی‌داری در پایان مطالعه دچار کم خونی شدند ($p<0/0005$). قابل ذکر آنکه منهای دو گزارش از وقوع هموگلوبینوری همراه با هیپوفسفاتمی تغذیه‌ای (۱،۱۸)، در هیچ یک از منابع قابل دسترس جهانی از وقوع چنین حالتی در بره و حتی از بروز هیپوفسفاتمی متابولیک همراه هموگلوبینوری در نوع گوسفند مطلبی آورده نشده است (۶،۷،۸،۱۱،۱۴،۱۷). این واقعه با نتیجه تجربه‌ای که در پاسخ به این سوال که آیا هیپوفسفاتمی تغذیه‌ای گاو به تنهایی می‌تواند باعث همولیز بالینی گردد، کاملا همخوانی دارد (۱۴) چراکه گاو تحت این تجربه در حدود ۳۶ ماه بدون بحران همولیز درون عروقی، جیره فقیر از فسفر را تحمل کرد هرچند که ۱۸ ماه قبل از آن که دچار هموگلوبینوری گردد به پیکا مبتلا شده بود و نیز آنکه بالاخره هیپوفسفاتمی متابولیک با همولیز بالینی همراه شد. ضمناً بحران همولیز داخل رگی در نوع گاو همراه با کمبود مس نیز رخ می‌دهد (۴،۱۲،۱۵). این امکان هم وجود دارد که در صورت امکان ادامه مطالعه و تشدید هیپوفسفاتمی و خصوصاً فرارسیدن فصل سرما نتایج می‌توانست به گونه‌ای دیگر رقم بخورد. از طرف دیگر، موضوع پیدایش اجسام هاینز می‌تواند از وجود حساسیت بالقوه یاخته‌های قرمز خون گوسفند به وقوع همولیزهای با منشأ غیرعفونی از جمله عوامل گوناگون تغذیه‌ای حکایت کند. در هر حال باید توجه داشت که همولیز درون رگی یکی از نشانگان‌های بالینی است و عوامل و شرایط مختلف می‌توانند باعث بروز آن گردند (۴،۱۳،۱۴،۱۶،۲۰).

تشکر و قدردانی

بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه خود را از سرکار خانم دکتر آملی، جناب آقای سیداحمد موسوی، بهمن جوادی، محمود اسد، سخاوت امیرزاده، علیرضا قاسم زاده، معراج پیری، سیاوش نوشهری، خانم اصفهانی، علی کوهزادی، محمد یعقوبی، محمود سلطانی، دکتر ناصر علی، مرحوم محمدعلی تقی وند، مهندس طاهری، ابوالفضل سرزعیم، محمود قاسمی پور، هادی ربانی، قاسم یزدانی، کریم باقری، و بخشعلی عطایی ابراز می‌داریم.

References

1. Alidadi, N., Bazargani, T. T. (1994) Report of nutritional hemoglobinuria due to hypophosphatemia in a one-month-old lamb. Proceeding of 2nd Convention of Iranian Veterinary Clinicians. November, Laleh Hotel, Tehran.
2. Alonso, A.J., De Teresa, R., Garcia, M. (1997) The effect of age and reproductive stratus on serum and blood parameters in Merino breed sheep. J. Vet. Med. Series A, 44: 223-231.
3. Bazargani, T. T. (2005) Lectures on deficiencies of Calcium, P and Vitamin D, Selenium and/or Vitamin E. Faculty of Veterinary Medicine. University of Tehran, Tehran,Iran.
4. Bazargani, T. T. (2006) Lectures on PPH. Faculty of Veterinary Medicine. University of Tehran, Tehran,Iran.
5. Beeson, W.M., Johnson, R.F., Bolin, D.W., Hickman,

www.SID.ir

Archive of SID

C.W. (1944) The Phosphorous requirement for fattening lambs. J. Anim. Sci. 3: 63-70.

6. Carlson, G.P. (2002) Clinical chemistry tests. In Large Animal Internal Medicine. Edited by BP Smith. 3rd ed. The Mosby Company, Philadelphia, USA, pp. 392,400.
7. Hosseiniun, M., Nadalian, M.Gh., Hejazi, M. (1995) Diseases of Sheep. Chehr Publications. pp. 332-333.
8. Jubb, T.F. (1990) Heamoglobinuria and hypophosphataemia in postparturient dairy cows without dietary deficiency of phosphorus. Aust. Vet. J. 67: 86-89.
9. Mojabi, A., Nazifi Habibabady, S., Safi, Sh. (2000) Veterinary Clinical Biochemistry. 2nd Ed. Noorbakhsh Publications. pp. 429-436.
10. Mojabi, A. (2000) Clinical Biochemistry. Noorbach Publications. pp. 420-440.
11. Michell, H.H. (1947) The mineral requirement of farm animals. J. Anim. Sci. 6: 365-377.
12. NRC (1985) Nutrient requirements of sheep. 5th Ed. National Academy of Science, Wasington, D.C., USA, pp. 170, 176.
13. Ogava, E., Kobayashi, K., Nobuyyki, Y. (1988) Postparturient hemoglobinuria: hypophosphatemia and metolbolic disorder in red blood cells. Am. J. Vet. Res. 48: 1303.
14. Radostits, O.M., C.C. Gay, Blood, D.C., Hinchcliff, K.W. (2000) Veterinary Medicine. 9th Ed. W.B.Saunders Company, London. UK.
15. Rajaratne, A.A.J., Scott, D., Buchan, W. (1994) Effects of a change in phosphorous requirement on Phosphorous kinetics in the sheep. Res. Vet. Sci., 56: 262-4.
16. Reinhardt, T.A., Horst, R.L., Goff, J.P. (1988) Calcium, phosphorous and magnesium homeostasis in ruminant. In Vet. Clin. N. Am.-Food A. Edited by TH Herdt. 4th Ed., WB Saunders, Philadelphia.
17. Saadat Noori, M., Saiah Mansoor, S. (2003) Priciples of Sheep Production. Ashrfi Publications. pp. 200,201.
18. Sharifi, K., Mohri, M. *et al.* (2002) Probable role of hypophosphatemia in the outbreak of hemoglobinuria and losses in sukling lambs. 3rd Convention of Iranian Veterinary Clinicains. November, Mashhad, Iran.
19. Sharifi, K., Mohri, M., Abedi, V., Shahinfar, R., Farzaneh, M., Shalchi, H. (2005) Serum and whole blood onorganoc phosphorus in lambs from birth to 400th day of life: effect of weaning as a cutoff point between neonatal and adult levels. Comp. Clin. Pathol.14: 160-167.
20. Tasker, J.B. (1980) Fluids, electolytes and acid-base balance. In Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Edited by JJ Kaneko. 3rd Ed. Academic Press, New York, USA.
21. Wasserman, R.H. (1975) Metabolism, function and clinical aspects of vitamin D. Cornell Vet. 65:3.

www.SID.ir