



## ارزیابی وضعیت اکسیداتیو نمونه‌های خون اخذ شده از وریدهای وداج، شیری و زیر دم در گاوهای شیری

مهسا مشرف<sup>۱\*</sup>، محمدرضا اصلانی<sup>۲</sup>، عبدالناصر محبی<sup>۳</sup>، افشین جعفری دهکردی<sup>۳</sup>

۱. دانش‌آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد-ایران.  
 ۲. استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد-ایران.  
 ۳. استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد-ایران.

پذیرش: ۲۲ مرداد ماه ۹۴

دریافت: ۱۸ آبان ماه ۹۳

### چکیده

استرس اکسیداتیو پیروزی رادیکال‌های آزاد بر دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن است. در حالت عادی بین تولید رادیکال‌های آزاد در بدن و اجزای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی توازن برقرار است. در صورت برهم خوردن این توازن، مولکول‌های زیستی از جمله اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌های ساختمانی دچار آسیب می‌شوند. هدف از این مطالعه، بررسی وضعیت اکسیداتیو نمونه‌های خون گرفته شده از وریدهای وداج، شیری و زیر دم در گاوهای شیری و ارزیابی برخی از شاخص‌های مهم زیستی مانند استرس اکسیداتیو در سرم است. برای انجام این پژوهش ۱۱ رأس گاو یک شکم زایش بدون سابقه بیماری و با شرایط مدیریتی و تغذیه‌ای مشابه، انتخاب شد و با ونوجکت از وریدهای وداج، شیری و زیر دم خون‌گیری به عمل آمد و غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA)، فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز در سرم بررسی شد. میزان فعالیت TBARS در نمونه‌های سرم وداج و زیر دم به‌طور معنی‌داری از میزان آن در ورید شیری بالاتر بود ( $P < 0/001$ ). ورید زیر دم بیشترین فعالیت و ورید شیری کمترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را نشان دادند و هر ۳ ورید اختلاف معنی‌دار نسبت به هم داشتند ( $P < 0/001$ ). همچنین اختلاف معنی‌داری بین این سه ورید در مورد فعالیت آنزیم کاتالاز دیده نشد ( $P < 0/288$ ). با توجه به این نتایج ورید زیر دم ورید مناسب‌تری برای بررسی وضعیت اکسیداتیو خون است. **واژه‌های کلیدی:** گاو شیری، وضعیت اکسیداتیو، ورید وداج، ورید شیری، ورید زیر دم.

### مقدمه

است. با این حال به علت اینکه ورید و سرخرگ زیر دمی در مجاور هم قرار دارند اخذ خون وریدی خالص گاهی مشکل است؛ هرچند خون سرخرگی و سیاهرگی از نظر رنگ متفاوت هستند (۲). وریدهای شیری در گاوهای بالغ شیروار بزرگ بوده و اساساً اندازه آن‌ها وابسته به میزان شیردهی دام است. سطحی بودن این وریدها خون‌گیری از آن‌ها را آسان می‌کند؛ لیکن مقید کردن دام به‌ویژه کنترل پاهای خلفی لازم است. همچنین این عروق به نفوذ آلودگی مستعدند و هنگام اخذ خون باید احتیاط لازم باید به عمل آید. اندازه‌گیری پارامترهای خون مانند الکترولیت‌ها،

ورید وداج به دلیل در دسترس بودن و سهولت در اخذ خون (با مقید کردن سر حیوان) از رایج‌ترین وریدها برای نمونه‌گیری به شمار می‌رود؛ همچنین اگر مقدار زیادی خون نیاز باشد و یا نیاز به انفوزیون وسیع وریدی باشد، این ورید انتخاب می‌شود (۶). ورید زیر دم نیز در مواردی که مقدار خون مورد نیاز کم باشد و یا هنگامی که مقید کردن سر گاو به‌ویژه گاو نر سخت باشد سخت باشد؛ برای نمونه‌گیری استفاده می‌شود. خون‌گیری از این رگ آسان‌تر، ساده‌تر و با اندکی مقید کردن دام امکان‌پذیر





لیپیدها اندازه‌گیری شد. اساس این سنجش واکنش MDA موجود در سرم با اسید تیوباربیتوریک است که منجر به ایجاد رنگ صورتی در محیط می‌شود و با سنجش شدت رنگ ایجاد شده در طول موج ۵۲۰ نانومتر محاسبه می‌گردد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش نیتروبلوترازولوم (NBT) به انجام رسید. در این روش رادیکال‌های سوپراکسید موجب تبدیل NBT به NBTH<sub>2</sub> آبی‌رنگ می‌شوند. با افزودن سرم به محیط آزمایش، تولید رنگ آبی به وسیله سوپراکسید دیسموتاز مهار می‌شود. با سنجش تغییر رنگ ایجاد شده در طول موج ۵۶۰ نانومتر، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر حسب درصد مهار تولید NBTH<sub>2</sub> گزارش شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز با ارزیابی میزان رنگ زرد ایجاد شده در واکنش مولیبدات آمونیوم با پراکسید هیدروژن در حضور نمونه سرم انجام و شدت رنگ در طول موج ۴۲۵ نانومتر خوانده شد. مقایسه آماری یافته‌های به دست آمده از سنجش‌های بیوشیمیایی مربوط به سرم با استفاده از نرم‌افزار Sigma plot و آزمون آنالیز واریانس طرفه به انجام رسید. مقدار  $p < 0/05$  به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### نتایج

جدول ۱ میزان TBARS و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در نمونه خون اخذ شده از ورید شیری و وداج و زیر دم را نشان می‌دهد. میزان فعالیت TBARS در نمونه‌های سرم وداج و زیر دم به طور معنی‌داری از میزان آن در ورید شیری بالاتر بود ( $p < 0/01$ ). ورید زیر دم بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و ورید شیری کمترین فعالیت را داشتند. بر اساس جدول ۱ فعالیت این آنزیم در هر ۳ ورید اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نشان دادند ( $p < 0/001$ ). یادآور می‌شود با توجه به این نتایج، اختلاف معنی‌داری بین این سه ورید در مورد فعالیت آنزیم کاتالاز وجود ندارد ( $p < 0/288$ ).

پارامترهای اسید و باز و کراتینین در نمونه‌های اخذ شده از عروق مختلف برخی دام‌ها، تفاوت‌هایی را در برخی از آن‌ها نشان داده است (۱، ۸ و ۱۲).

رادیکال‌های آزاد مواد شیمیایی درون سلولی‌اند که در روند طبیعی متابولیسم سلول تولید می‌شوند. این ترکیبات یک الکترون منفرد در خارجی‌ترین مدار اتمی خود دارند. وجود این الکترون در ساختار رادیکال‌های آزاد، آن‌ها را ناپایدار و بسیار واکنش‌پذیر می‌سازد. این ترکیبات ناپایدار در برخورد با مولکول‌های دیگر، الکترون‌های آن‌ها را می‌گیرند تا خود پایدار شوند. در صورت تجمع و خنثی نشدن این ترکیبات به وسیله سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن، زنجیره دومینوای از واکنش‌های اکسیداتیو رخ می‌دهد و مولکول‌های بی‌ثبات‌تری ایجاد می‌شوند که آسیب‌های جدی را به دنبال خواهند داشت (۵). رادیکال‌های آزاد موجب پراکسیداسیون چربی‌های غیراشباع در غشاهای سلولی، افزایش نفوذپذیری عروق ریز و ایجاد ادم، اختلال در عملکرد میتوکندری و سایر اندامک‌ها می‌شوند (۱۱). با توجه به اهمیت استرس اکسیداتیو در روند بسیاری از بیماری‌ها، در این پژوهش برخی پارامترهای آن در خون سیاهرگ‌های مختلف گاوهای شیری اندازه‌گیری و باهم مقایسه شده است.

### مواد و روش کار

در پژوهش پیش رو ۱۱ رأس گاو شیری یک شکم زایش سالم و پرتولید برای نمونه‌گیری انتخاب شدند. این گاوها در تاریخچه خود سابقه‌ای از بیماری و درمان، جفت ماندگی و سقط و بیماری‌های حوالی زایمان نداشتند. نمونه‌های خون از وریدهای وداج، شیری و زیر دم قبل از شیردوشی اخذ و پس از انعقاد، بلافاصله سرم جدا شد. نمونه‌های سرم تا زمان انجام آزمایش‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

با استفاده از روش TBARS، غلظت مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون



جدول ۱- میانگین  $\pm$  SEM مقدار TBARS و فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در نمونه خون اخذ شده از ورید شیری، وداج و زیر دم

نمونه خون	TBARS nm/ml	SOD (%Inhibition)	آنزیم کاتالاز (U/L)
ورید شیری	۵/۲۶±۰/۱۶ <sup>a</sup>	۱۵/۳۴۷±۰/۳۶۳ <sup>a</sup>	۱۲/۱۵۹±۰/۲۲۲
ورید وداج	۳/۷۹±۰/۲۸ <sup>b</sup>	۱۶/۸۴۲±۰/۲۱۵ <sup>b</sup>	۱۱/۵۹۴±۰/۲۶۴
ورید زیر دم	۵/۰۹±۰/۱۸ <sup>a</sup>	۱۸/۰۶۰±۰/۲۶۱ <sup>c</sup>	۱۱/۹۵۷±۰/۲۶۵

a, b و c بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین ارقام ( $p < 0.001$ ) است.

در نتیجه آن بروز بیماری های اطراف زایمان از جمله اورام پستان شود (۱۳)؛ همچنین در بسیاری از موارد دوره شیردهی میزان دریافت ریزمغذی ها معمولاً کمتر از نیاز بدن است و این موجب افزایش متابولیت های اکسیژن می شود که در نتیجه آن افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش تولید اکسیدان ها و نیز نبود کفایت سیستم آنتی اکسیدانی بدن می شود (۱۴). Castillo و همکاران در سال ۲۰۰۱ میزان آنتی اکسیدان تام و هیدروپروکسیدهای لیپیدی را در پلاسما ۲۲ رأس گاو شیری بررسی کردند و نشان دادند که هیدروپروکسیدهای لیپیدی در اوج شیرواری بالاتر است؛ اما این افزایش با بیشتر شدن دفاع آنتی اکسیدانی همراه نیست (۳). Kolb و Seehawer در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند که با افزایش شیردهی مصرف اکسیژن هم افزایش می یابد؛ بنابراین به تبع آن تولید متابولیت های اکسیژنی هم افزایش می یابد و البته مصرف آنتی اکسیدان ها هم زیاد خواهد شد (۷) که این مورد می تواند نتایج یافته های حاضر را تأیید کند؛ به این صورت که در پستان متابولیسم سلول ها به منظور تولید شیر زیاد می شود؛ بنابراین بالا بودن میزان TBARS در ورید شیری و نیز در ورید زیر دم که در طی گردش خون میزان ترکیبات TBARS آن برابندی از کل بدن بوده، قابل توجیه خواهد بود. همچنین سوپراکسید دیسموتاز یک متالوپروتئین است که شکل خارج سلولی آن حاوی عناصر مس و روی در ساختمان خود است. Rainer در سال ۱۹۹۷ در گزارشی در مورد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در سیستم عصبی نشان داد که این آنزیم در

## بحث

در مطالعه حاضر میزان پراکسیداسیون لیپیدها (شاخص TBARS) در ورید شیری و ورید زیر دم نسبت به ورید وداج بالاتر بود ( $p < 0.001$ ). مالون دی آلدئید یکی از چندین محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع است و به آسانی با اسید تیوباریتوریک واکنش نشان می دهد و رنگ قرمزی ایجاد می کند که قابل اندازه گیری است (۴). بالا بودن سطح TBARS در ورید شیری شاید به دلیل متابولیسم بالای بافت پستان در دوره شیرواری و بالطبع افزایش تولید اکسیدان ها است. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز در ورید شیری نسبت به دو ورید دیگر پایین تر است. این احتمال وجود دارد که متابولیسم بالا و به دنبال آن افزایش تولید اکسیدان ها و از سوی دیگر نبود کفایت سیستم آنتی اکسیدانی و شاید کم بودن حضور و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز دلیلی بر بالا بودن TBARS در پستان باشد. Werts و همکاران در سال ۱۹۸۶ میزان حضور سوپراکسید دیسموتاز در پستان و استعداد سرطان پستان در رت را بررسی کردند. آن ها بیان داشتند که بین این دو، رابطه عکس وجود دارد (۱۵). شاید بتوان احتمال داد که فعالیت این آنزیم در پستان گاوها نیز پایین است و به دلیل متابولیسم بالا و تولید رادیکال های آزاد، استعداد این بافت به بیماری بیشتر است. نبود تعادل بین افزایش تولیدات اکسیدان ها و کاهش توان آنتی اکسیدانی بدن در حوالی زایمان می تواند باعث افزایش استرس اکسیداتیو و





بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد به خاطر تأمین هزینه این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

#### منابع

- 1- Bajcsy, A.C; Bartyik, J; Szenci, O; Comparison of blood ionized calcium and acid base variables in samples obtained from different sampling sites in dairy cows. *J. Vet. Med. A*; 1999; 46: 255 - 259.
- 2- Brown, C.M; Procedure for collecting blood samples from the tail of a cow. *Vet. Med. Small Anim. Clin*; 1983; 78: 589 - 592.
- 3- Castillo, C; Hernandez, J; Lopez-Alonso, M; Miranda, M; Benedito, J. L; Values of plasma lipid hydroperoxides and total antioxidant status in healthy dairy cows: preliminary observations. *Arch Tierzucht Dummerstorf*; 2003; 46: 227-233.
- 4- Celi, P; The role of oxidative stress in small ruminant health and production. *Rev Bras. Zootec*. 2010; 39: 348-363.
- 5- De Diego-Otero, Y; Romero-Zerbo, Y; el Bekay, R; Decara, J; Sanchez, L; Rodriguez-de Fonseca, F; del Arco-Herrera, I; Alpha tocopherol protects against Oxidative stress in the fragile X knockout mouse: An experimental therapeutic approach for the Fmrl deficiency. *Neuropsychopharmacol*; 2009;

مغز فعالیت زیادی دارد تا بتواند رادیکال‌های سوپراکسید تولیدی را خنثی کند و مغز را از آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت کند (۹). نتایج مطالعه حاضر مبنی بر بالا بودن این آنزیم در ورید وداج نسبت به دو ورید دیگر با یافته یادشده هم‌خوانی دارد. Rukmini و همکاران در سال ۲۰۰۴ در بررسی خود بیان کردند که در طی آسیب‌های مغزی فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد. راه‌های زیادی برای افزایش رادیکال‌های آزاد در مغز وجود دارد که یکی از آن‌ها متابولیسم کاتیکول‌آمین‌ها از جمله دوپامین و نوراپی‌نفرین است که با افزایش متابولیسم آن‌ها، رادیکال آزاد بیشتری تولید می‌شود. وی اظهار کرد که مغز و سیستم عصبی نسبت به سایر بافت‌های بدن پتانسیل بالایی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد (۱۰)؛ بنابراین میزان کمتر TBARS در ورید وداج نسبت به دو ورید دیگر قابل انتظار خواهد بود. به دلیل گردش خون محدود و اندک ناحیه دم، می‌توان گفت ترکیبات اکسیدان و آنتی‌اکسیدان ورید زیر دم مشابه سرخرگ زیر دم خواهد بود. سرخرگ زیر دم هم انشعابی از آئورت محسوب می‌شود و نیز طبق سیستم گردش خون آئورت بیانگر نتیجه نهایی مواجهه و خنثی‌سازی اکسیدان‌ها به‌وسیله سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن (بدون در نظر گرفتن بافت خاصی) است. پس انتظار می‌رود که ورید زیر دم برآیند دو ورید شیری و وداج است که مقادیر اندازه‌گیری شده در آن بسته به بالا بودن اکسیدان‌ها و یا قوی بودن آنتی‌اکسیدان‌ها متفاوت خواهد بود. با توجه به تفاوت در میزان پارامترهای استرس اکسیداتیو اندازه‌گیری شده در این مطالعه، پیشنهاد می‌شود برای امور پژوهشی در این زمینه استانداردسازی برای تعیین بهترین محل خون‌گیری که نمایانگر تمامی بافت‌های بدن باشد، صورت گیرد و از سویی دیگر به نظر می‌رسد که بهتر است برای کارهای پژوهشی و مطالعاتی همه نمونه‌ها از یک موضع اخذ شوند.

قدردانی و تشکر

- dairy cows. *Am. J. Vet. Res*; 2010; 71: 1074 - 1080.
- 13- Waller, K.P; Mammary gland immunology around parturition, Influence of stress, nutrition and genetics. *Adv. Exp. Med. Biol*; 2000; 480: 231 - 245.
- 14- Weiss, W.P; Hogan, J.S; Todhunter, D.A; Smith, K.L; Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. *J. Dairy Sci*; 1997; 80: 1728 - 1737.
- 15- Werts, E.D; Gould, M.N; Relationship between cellular superoxide dismutase and susceptibility to chemically induced cancer in the rat mammary gland. *Carcinogenesis*; 1986; 7: 1197 - 1201.
- 34: 1011 - 1026.
- 6- Haskins, S.C; Sampling and storage of blood for PH and blood gas analysis. *J. Am. Vet. Med. Asso*; 1977; 170: 423 - 428.
- 7- Kolb, E; Seehawer, J; Effect of stress on cortisol secretion and vitamin metabolism in cattle. *Praktischer Tierarzt*; 2000; 81: 1037 - 1046.
- 8- Najarnezhad Mashhadi, V; Mishmast, Z; Mohri, M; Seifi H.A; Variation of serum calcium, phosphorus and magnesium concentrations due to venipuncture site in Holstein dairy cows. *Comp Clin Pathol*; 2009; 18: 149 - 152.
- 9- Rainer, F; Superoxide dismutase activity in the nervous system. *J Neurosci Key-carch*; 1979; 4: 435 - 441.
- 10- Rukmini, M.S; Benedicta D.S; Vivian, D.S; Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malondialdehyde in schizophrenic patients. *In. J. Clin. Biochem*; 2004;19: 114 - 118.
- 11- Traystman; R.J; Kirsch, R.C; Koehler, R.C; Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. *J. Appl. Physiol*; 1991; 71: 1185 - 1195.
- 12- Wagner, S.A; Schimek, D.E; Evaluation of the effect of bolus administration of 50% dextrose on measures of electrolyte and energy balance in postpartum



## Evaluation of oxidative status of blood taken from jugular, mammary and coccygeal veins in dairy cattle

Mosharraf, M.<sup>1\*</sup>; Aslani, M.R.<sup>2</sup>, Mohebi, A.N.<sup>3</sup>, Jafari, A.<sup>3</sup>

1. DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord-Iran.

2. Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord-Iran.

3. Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord-Iran.

*Received:* 8 November 2014 *Accepted:* 12 August 2015

### Summary

---

Oxidative stress is win of free radical on the antioxidant defense system. In the body , there is a balance between production of free radicals and the components of the antioxidant defense system. When the production of oxidant exceeds the capacity of antioxidant defense , a condition of oxidative stress is developed resulting in oxidative damage of vital molecules such as DNA , lipids , proteins and carbohydrates. The aim of this study was comparison of oxidative status of blood collected from jugular , mammary and coccygeal veins in dairy cattle. eleven dairy cattle with similar history , management and nutritional condition were used and blood sample were collected from jugular , mammary and coccygeal vein. Biomarkers of oxidative stress including SOD , MDA , Catalase were measured. The MDA level of milk vein was significantly higher than jugular and coccygeal vein. SOD activity in coccygeal vein was significantly higher than 2 other veins. Activity of this enzyme was also significantly higher in milk vein than jugular ones. These finding , indicate that collecting blood samples from coccygeal vein is the best way for measurement of oxidative status of blood.

**Keywords:** Dairy cattle, Oxidative status, Jugular vein, Milk vein, Coccygeal vein.

---

\* Corresponding Author email: [mahsa.mosharraf@yahoo.com](mailto:mahsa.mosharraf@yahoo.com)

