



بررسی فعالیت آنزیم آدنوزین دامیناز در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و ارتباط آن با کیفیت شیر

مینا فرزانه^۱، مسعود حق خواه^۲، سعید نظیفی^{۳*}، مریم انصاری لاری^۴، مهدی محبی فانی^۵

۱. دانش‌آموخته دکترای عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۲. دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۳. استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۴. استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۵. استاد، گروه مدیریت بهداشت دام، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.

پذیرش: ۲۳ مرداد ماه ۹۶

دریافت: ۳۰ آذر ماه ۹۵

چکیده

ورم پستان تحت بالینی سبب خسارت‌های اقتصادی فراوان در صنعت گاو‌داری می‌شود، بنابراین دستیابی به روش‌هایی که بتوانند در راستای پیشگیری، کنترل و کاهش موارد ورم پستان، به‌خصوص شکل‌های تحت بالینی آن، عمل کنند، اهمیت و ارزش بالایی دارد. به‌منظور کمک به تشخیص ورم پستان تحت بالینی، تغییرات فعالیت آدنوزین دامیناز در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بررسی گردید. نمونه‌های شیر به روش استریل از ۴۶ راس گاو مبتلا به ورم پستان تحت بالینی که آزمایش ورم پستان کالیفرنایی آن‌ها مثبت بود اما هیچ نشانه‌ی ظاهری مینی بر بیماری نداشتند (به‌عنوان گروه بیمار) و ۱۰ راس گاو سالم که نتیجه‌ی آزمون ورم پستان کالیفرنایی آن‌ها منفی بود و هیچ نشانه‌ی ورم پستان نداشتند (به‌عنوان گروه کنترل منفی) تهیه شد. اندازه‌گیری چربی، پروتئین و شمارش سلول‌های سوماتیک روی نمونه‌های شیر انجام شد و فعالیت آدنوزین دامیناز نیز در تمام نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید. مقایسه‌ی چربی و پروتئین شیر که بین دو گروه بیمار و کنترل انجام شد، نشان داد که هیچ‌کدام اختلاف آماری معنی دار ندارند. تعداد سلول‌های سوماتیک در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود. فعالیت آنزیم آدنوزین دامیناز در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی به طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای سالم بود. آنزیم آدنوزین دامیناز می‌تواند به‌عنوان یک شاخص برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آدنوزین دامیناز، ورم پستان تحت بالینی، شیر، گاو.

مقدمه

اقتصادی ناشی از بیماری‌ها در گاو‌داری‌ها می‌تواند در ارتباط مستقیم با ورم پستان باشد (۷). این بیماری با کاهش فراوانی در تولید شیر همراه است. بیشترین خسارت ورم پستان مربوط به کاهش تولید شیر است که بیشتر ناشی از شکل تحت بالینی بیماری است. ورم پستان تحت بالینی شیوع بیشتری نسبت به ورم پستان بالینی دارد اما از راه مشاهده‌ی شیر و پستان مبتلا به طور مستقیم قابل تشخیص و ارزیابی نیست؛ زیرا در این نوع

ورم پستان به التهاب غده‌ی پستانی بدون توجه به علت آن، گفته می‌شود. درجه‌ی التهاب پستان بسته به اینکه شدت واکنش پستان به منبع تحریک چگونه باشد، بسیار متفاوت است و ممکن است بیماری از شکل تحت بالینی تا بالینی دیده شود. در آمریکا هزینه‌ی سالانه‌ی این بیماری به ازای هر گاو حدود ۱۸۵ دلار است. بررسی‌ها نشان می‌دهد که بیش از ۲۵ درصد از کل زیان‌های





کاتالیز می‌کند. افزایش آنزیم آدنوزین دامیناز در تعدادی از بیماری‌های وابسته به ایمنی از جمله آرتریت روماتوئید گزارش شده است. این آنزیم در تکثیر و تمایز لنفوسیت‌های T نقش دارد. این آنزیم ابتدا در سرم خون شناسایی شد و در حیوانات اهلی در همه‌ی بافت‌های بدن وجود دارد، گرچه بیشترین فعالیت آن در بافت‌های لنفوئیدی است. فعالیت آدنوزین دامیناز و ایزوآنزیم‌هایش در طحال، عقده‌های لنفی و تیموس در سطح بالایی است، ولی در مغز و غده‌ی آدرنال، عضله، کلیه و کبد فعالیت پایینی دارد. فعالیت این آنزیم در خون، سرم و پلاسما گزارش شده است. فعالیت بیولوژیکی این آنزیم در محافظت از لنفوسیت‌ها در برابر اثرات سمی داکسی آدنوزین، داکسی آدنوزین تری فسفات و داکسی آدنوزین دی فسفات- که فعالیت سیستم ایمنی را کاهش می‌دهند- است (۶).

تاکنون آدنوزین دامیناز در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان اندازه‌گیری نشده است. در مطالعه‌ی ارتباط میان ورم پستان تحت بالینی و غلظت آرژیناز شیر ارزیابی شد و نشان داده شده که غلظت آرژیناز در شیر حیوانات مبتلا به ورم پستان تحت بالینی در مقایسه با حیوانات سالم به طور قابل توجهی افزایش یافته است در نتیجه از روش اندازه‌گیری آرژیناز به‌عنوان یک روش کمکی در تشخیص ورم پستان تحت بالینی می‌توان استفاده کرد (۱۶)، در مطالعه‌ی دیگر تغییرات سطح مالون دی آلدئید (MDA) و فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز (LDH)، فسفاتاز قلیایی (ALP)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی ارزیابی گردید و مشاهده شد میانگین سطح MDA و فعالیت لاکتات دهیدروژناز (LDH) و فسفاتاز قلیایی (ALP) در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی به طور قابل توجهی بالاتر از شیر گاوهای سالم و طبیعی است، در حالیکه فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) به

ورم پستان، شیر و پستان ظاهری طبیعی دارند؛ با این وجود می‌توان این نوع ورم پستان را با آزمایش‌های مختلفی که برای پی بردن به حضور میکروارگانیسم‌ها انجام می‌شود، (مانند کشت شیر) یا با اندازه‌گیری تعداد سلول‌های سوماتیک شیر تشخیص داد؛ همچنین می‌توان از آزمون ورم پستان کالیفرنایی استفاده کرد که نیاز به آزمایش‌های تکمیلی دارد. از روش‌های دیگر مانند آزمایش هدایت الکتریکی شیر و اندازه‌گیری آنزیم‌های داخل شیر نیز می‌توان استفاده کرد. این بیماری موجب خسارت‌های فراوانی می‌شود؛ بنابراین دستیابی به روش‌هایی که بتوانند در راستای پیشگیری، کنترل و کاهش موارد ورم پستان به‌خصوص اشکال تحت بالینی آن عمل کنند اهمیت و ارزش بالایی دارد. در یک بررسی در سال ۲۰۰۴ روی ۱۸۲ راس گاو شیری، ۹۰/۳ درصد از گاوهای شیری مطالعه شده مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بوده‌اند (۱۸).

در سال‌های گذشته پژوهش‌هایی روی آنزیم‌هایی از شیر انجام شده و بیان شده که اندازه‌گیری این آنزیم‌ها می‌تواند شاخص‌های خوبی برای تعیین تورم پستان باشد. آدنوزین دامیناز آنزیمی است که سبب دامینه شدن آدنوزین و تبدیل آن به اینوزین و داکسی اینوزین می‌شود. آنزیم یاد شده در بیماران مبتلا به نقص ایمنی شدید وجود ندارد. آدنوزین اضافی از مسیرهای دیگری به محصولات مختلفی تبدیل می‌شود که تجمع این محصولات در سلول‌های مختلف موجب بروز مشکلاتی می‌شود. آدنوزین در این سلول‌ها به dATP، داکسی آدنوزین و S- آدنوزیل هموسیستین تبدیل می‌شود و در نتیجه مقدار این متابولیت‌ها در پلاسما افزایش می‌یابد. به‌صورت آلوستریک عمل آنزیم ریبونوکلوئتید ردوکتاز را متوقف می‌کند. در اثر توقف عمل این آنزیم میزان مولکول‌های پیش ساز لازم برای سنتز DNA در سلول کاهش می‌یابد و سنتز DNA متوقف می‌شود (۵). آنزیم آدنوزین دامیناز تبدیل شدن آدنوزین به اینوزین را



استافیلوکوک کوآگولاز منفی بیشتر از گوسفندان سالم بود. در این مطالعه، غلظت پلاسمینوژن و پلاسمین در غدد پستانی آلوده به طور قابل توجهی کمتر بود لیکن غلظت کلسیم تغییری نکرده است (۱۹). در هنگام عفونت پستان فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) افزایش می‌یابد (۱۰). میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی کمتر از گاوهای سالم است (۱۴).

با توجه به نقش آنزیم آدنوزین دامیناز در ایمنی و التهاب به‌ویژه نقش آن در تکثیر و تمایز لنفوسیت‌های T و فعالیت آن در بافت‌های لنفوئیدی بدن، تصمیم گرفته شد تا تغییرات فعالیت این آنزیم در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان بررسی شود، از این رو هدف از پژوهش حاضر بررسی فعالیت آنزیم آدنوزین دامیناز در شیر مبتلایان به ورم پستان تحت بالینی و ارتباط آن با تعداد سلول‌های سوماتیک شیر است.

مواد و روش کار

این مطالعه صرفاً روی یک گله انجام شد و گاوهای در حال مطالعه از نظر مدیریتی و تغذیه شرایط یکسانی داشتند تا عوامل مداخله‌گر، حتی‌المقدور حذف گردند. (۱) گروه کنترل: از ۱۰ رأس گاو سالم هولشتاین ایرانی که هیچ‌گونه نشانه‌ی ظاهری بیماری نداشتند و نتیجه‌ی CMT آن‌ها منفی بود نمونه‌های شیر گرفته شده و کلیه‌ی فاکتورهای اندازه‌گیری شده در این گروه به‌عنوان نمونه‌های شاهد در نظر گرفته شد. (۲) گروه بیمار: از ۴۶ رأس گاو هولشتاین ایرانی که هیچ‌گونه نشانه‌ی ظاهری بیماری نداشتند لیکن نتیجه CMT آن‌ها مثبت بود، نمونه شیر گرفته شد. نخست آزمایش CMT روی ۴ کارتیبه‌ی گاو انجام شد. برای این کار چند دوشش اولیه‌ی هر کارتیبه دور ریخته شد و سپس ظرف CMT در زیر هر کارتیبه قرار

طور قابل توجهی در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی پایین‌تر از شیر گاوهای سالم و طبیعی بوده است، در ضمن هیچ تفاوتی میان سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در شیر طبیعی و شیر ورم پستان تحت بالینی مشاهده نشد؛ بنابراین به نظر می‌رسد اندازه‌گیری سطح MDA شیر و فعالیت LDH و GPX و ALP روش‌های تشخیصی مناسبی برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی باشند (۲۵).

در مطالعه‌ی دیگری که به‌منظور تعیین ارزش تشخیصی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز (LDH) و فسفاتاز قلیایی (ALP) برای ورم پستان تحت بالینی انجام گرفته است، نشان داده شده که اندازه‌گیری آنزیم‌های LDH و ALP در نمونه‌های شیر می‌تواند به‌عنوان روشی قابل اعتماد برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی در گاو به شمار آید (۱۵). مطالعه‌ی دیگری به‌منظور بررسی ارتباط سطح آنزیم LDH و ورم پستان تحت بالینی انجام شده است. سطح LDH به طور معنی‌داری در شیر مبتلایان به ورم پستان تحت بالینی بالاتر از شیر طبیعی بوده اما تفاوت معنی‌داری در سطح سرمی LDH گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان تحت بالینی مشاهده نشده است. اندازه‌گیری این پارامتر در شیر می‌تواند شاخصی برای تشخیص زودرس ورم پستان تحت بالینی گاو باشد (۲۵). در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی نسبت به گاوهای سالم فعالیت فسفاتاز قلیایی (ALP) افزایش یافته است (۲۰).

مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی رابطه‌ی میان تعداد سلول‌های سوماتیک و pH شیر و آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در بز صورت گرفت نشان داد که تعداد سلول‌های سوماتیک و pH شیر و آنزیم AST در مبتلایان به ورم پستان افزایش یافته است (۱۷). در مطالعه‌ی تعداد سلول‌های سوماتیک و میزان N-acetyl B-glucoaminidase در گوسفندان مبتلا به





می‌دهد و quinine dye را تولید می‌کند. تمام این واکنش‌ها در روش کینتیک و در طول موج ۵۵۶ نانومتر رخ می‌دهد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. آمارهای توصیفی برای متغیرهای کمی شامل آدنوزین دامیناز، چربی، پروتئین و تعداد سلول‌های سوماتیک به صورت میانگین و خطای معیار ارائه شدند. مقایسه‌ی متغیرهای کمی در گروه‌های مورد مطالعه (آزمون CMT مثبت و منفی) با آزمون‌های تی و آنالیز واریانس یک طرفه و یا با توجه به عدم توزیع نرمال برخی از متغیرها با استفاده از معادل‌های ناپارامتری آن‌ها (به ترتیب آزمون من-ویتنی و کروسکال-والیس) انجام شد. در همه موارد مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر در جدول‌های ۱ تا ۴ و نمودارهای ۱ و ۲ ارائه شده است. مقایسه‌ی ADA و SCC بین دو گروه CMT مثبت و منفی نشان داد که بین هر دو متغیر اختلاف معنی‌داری بین گروه مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و گروه سالم وجود دارد (به ترتیب $p = 0.033$ و $p < 0.001$). جداول ۱ و ۲ و نمودار ۱).

ورم پستان در گروه بیمار با درجه‌ی CMT، ۲ و ۳ با گروه سالم مقایسه شد که نتایج نشان‌گر آن بود که SCC گروه سالم با گروه بیمار با درجه‌ی CMT، ۲ و ۳ هر دو اختلاف معنی‌دار داشت (کمتر از $p = 0.001$)، اما ADA فقط بین گروه سالم و گروه بیمار با CMT درجه ۳ معنی‌دار بود ($p = 0.013$) و بین گروه سالم و گروه بیمار با CMT درجه ۲ و بین گروه‌های با درجه‌ی CMT، ۲ و ۳ اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۱ و ۲).

مقایسه‌ی چربی و پروتئین شیر بین گروه‌های CMT مثبت و CMT منفی اختلاف معنی‌داری نداشت

داده شد. چند دوشش شیر از هر کارتیبه داخل هر گوده ظرف ریخته شد. با کج کردن ظرف شیرهای اضافی گوده‌ها دور ریخته شد و سپس مقدار تقریباً مساوی مایع معرف (یک دترجنت با یک شناساگر pH مانند بروموکرزول پرپل) به گوده‌ها اضافه شد. با حرکت دورانی ظرف، شیر و مایع مخلوط و واکنش مشاهده شد و کارتیبه‌های منفی به‌عنوان کنترل (صرفاً گاوهایی که در هر چهار کارتیبه منفی بودند) و کارتیبه‌های دو مثبت و بالاتر بدون نشانه‌های ظاهری بیماری به‌عنوان گروه تحت بالینی ثبت گردید؛ همچنین شمارش تعداد سلول‌های سوماتیک و اندازه‌گیری چربی و پروتئین در شیر تمام گاوهایی که از آن‌ها نمونه برداری شد، انجام شد.

شمارش سلول‌های سوماتیک نمونه‌های شیر با دستگاه Fossomatic (FOSS) ساخت کشور دانمارک در آزمایشگاه آنالیز شیر اتحادیه‌ی دامداران فارس انجام شد.

اندازه‌گیری چربی و پروتئین با دستگاه Lactostar (Funke-GERBER) ساخت کشور آلمان در آزمایشگاه بخش بهداشت دانشکده دامپزشکی شیراز انجام شد.

ملاک اصلی برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی شمارش سلول‌های سوماتیک شیر بود، پس از تأیید ورم پستان تحت بالینی بر اساس شمارش سلول‌های سوماتیک، در تمام نمونه‌های شیر، آنزیم آدنوزین دامیناز اندازه‌گیری شد.

آنزیم آدنوزین دامیناز با روش آنزیمی-کالری متریک با کیت شرکت Diazyme Administration ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری آدنوزین دامیناز مبنایی برای اندازه‌گیری واکنش تبدیل آدنوزین به اینوزین است. اینوزین به وسیله‌ی PNP به هیپوگزانتین تبدیل می‌شود، سپس هیپوگزانتین به وسیله‌ی XOD به اوریک اسید و هیدروژن پراکسید تبدیل می‌شود. هیدروژن پراکسید با EHSPT و 4-AA در حضور POD واکنش



چربی و بین چربی و پروتئین رابطه‌ی معنی‌دار وجود دارد. ADA با هیچ فاکتوری همبستگی نداشت (جدول ۳ و ۴).

آزمون آماری ROC به‌منظور استفاده از آدنوزین دامیناز، برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی معنی‌دار بود (نمودار ۲، سطح زیرمنحنی ۰/۷۲ و $p = ۰/۰۳۳$).

(به‌ترتیب $p = ۰/۶۵$ و $p = ۰/۶۴$). مقایسه‌ی چربی و پروتئین بین نتایج مختلف CMT (منفی، درجه ۲ و درجه ۳) هم اختلاف معنی‌داری نداشت (به‌ترتیب $p = ۰/۱۷$ و $p = ۰/۸۳$ ، $p = ۰/۱۶$). همبستگی اسپیرمن بین فاکتورها به‌صورت کلی (هردو گروه سالم و بیمار با هم) نشان داد که بین SCC و

جدول ۱- میانگین و خطای معیار فاکتورهای آدنوزین دامیناز، تعداد سلول‌های سوماتیک، پروتئین و چربی در شیر گاوها با درجات مختلف CMT

چربی (گرم)	پروتئین (گرم)	SCC (10^3 cells/ml)	ADA (U/L)	تعداد	درجه CMT
$۱/۶۷ \pm ۰/۲۲$	$۳/۰۵ \pm ۰/۰۳۳$	$۴۵/۷۰ \pm ۲۰/۷۲$	$۰/۶۵ \pm ۰/۱۷$	۱۰	۰ (منفی)
$۱/۷۲ \pm ۰/۱۸۹$	$۳/۰۱ \pm ۰/۰۵۸$	$۸۶/۲۲۶ \pm ۱۶/۱۸$	$۱/۲ \pm ۰/۳۳$	۱۵	۲
$۱/۸ \pm ۰/۱۲$	$۳/۱۳ \pm ۰/۰۳۷$	$۴۶۳/۲۹ \pm ۱۵۱/۷۵$	$۱/۶۸ \pm ۰/۲۷$	۳۱	۳
$۱/۷۸ \pm ۰/۱$	$۳/۰۹ \pm ۰/۰۳۲$	$۳۵۳/۲۰۲ \pm ۱۰۵/۴۶۲$	$۱/۵۲ \pm ۰/۲۱۷$	۴۶	مثبت‌ها (۲ و ۳)

جدول ۲- مقایسه‌ی تعداد سلول‌های سوماتیک و میزان آدنوزین دامیناز در شیر گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان تحت بالینی با درجات مختلف CMT (مقادیر نشان دهنده‌ی p-value است).

SCC	ADA	نتایج CMT
کمتر از ۰/۰۰۱	۰/۰۳۳	مثبت
۰/۰۰۸	۰/۱۷	منفی
۰/۰۰۱	۰/۴	درجه ۲
۰/۰۰۱	۰/۳	درجه ۳
۰/۰۱	۰/۱۳	منفی
		درجه ۲
		منفی
		درجه ۳

جدول ۳- ضریب همبستگی بین فاکتورهای مختلف اندازه‌گیری شده در شیر گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان تحت بالینی

ADA	چربی	پروتئین	SCC	
۰/۱۹	۰/۲۸	۰/۳۳	SCC
۰/۰۳	۰/۲۷	۰/۳۳	پروتئین
۰/۲۲	۰/۲۷	۰/۲۸	چربی
.....	۰/۲۲	۰/۰۳	۰/۱۹	ADA





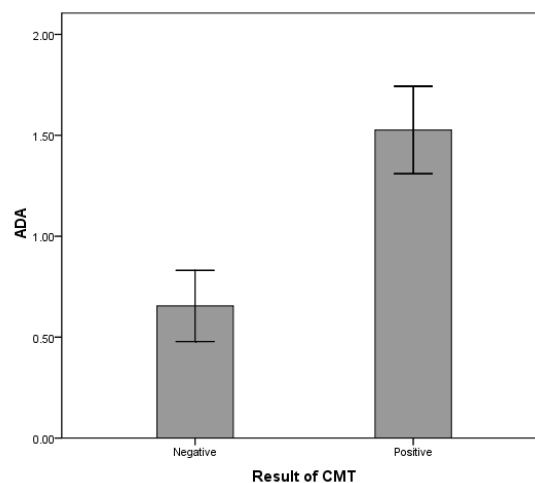
جدول ۴- p-value بین فاکتورهای مختلف اندازه‌گیری شده در شیر گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان تحت بالینی

ADA	چربی	پروتئین	SCC	
۰/۱۴	۰/۰۳۶	۰/۱۳	SCC
۰/۷۸	۰/۰۴	۰/۳۳	پروتئین
۰/۱	۰/۰۴۴	۰/۰۳۶	چربی
.....	۰/۱	۰/۷۸	۰/۱۴	ADA

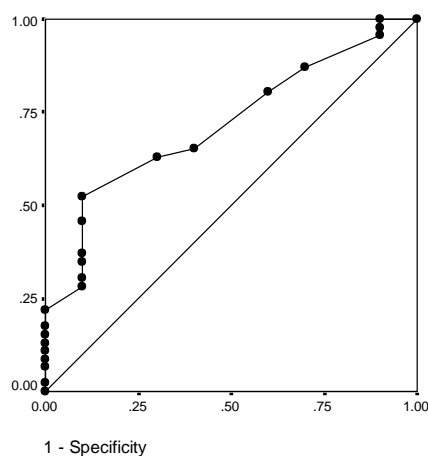
شیر است. همه‌ی نمونه‌های شیر حاوی سلول‌های سوماتیک هستند، لیکن تعداد این سلول‌ها در عفونت‌های پستان و آسیب‌های ضربه‌ای بالا می‌روند. ورم پستان تحت بالینی، تعداد سلول‌های سوماتیک شیرمخزن را به بیش از ۲۰۰۰۰۰ در میلی‌لیتر می‌رساند. تعداد سلول‌های سوماتیک چه در گاوهای آلوده و چه در گاوهای سالم بسیار متغیر است و تحت تأثیر سن، مرحله‌ی شیردهی، فصل و شدت واکنش گاو در برابر عفونت تغییر می‌کند. به غیر از ورم پستان، عواملی مانند سن و مرحله‌ی شیردهی نمی‌توانند تعداد سلول‌های سوماتیک شیر را به بیش از ۲۵۰۰۰۰ در میلی‌لیتر برسانند (۲). در مطالعه‌ی حاضر میانگین تعداد سلول‌های سوماتیک شیر، ۳۵۳۲۰۲ در میلی‌لیتر است که با این مطالب مطابقت دارد، همچنین در این مطالعه همبستگی معنی‌داری میان میزان چربی و پروتئین شیر در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و گاوهای سالم مشاهده نشد.

در مطالعه‌ی میان چربی شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و گاوهای سالم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده ولی پروتئین شیر به طور معنی‌داری در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی کمتر بوده است (۱۲).

در سال‌های گذشته پژوهش‌هایی روی آنزیم‌هایی از شیر انجام شده و بیان شده که اندازه‌گیری این آنزیم‌ها می‌تواند شاخص‌های خوبی برای تعیین ورم پستان باشند. تاکنون، در مورد فعالیت آنزیم آدنوزین دامیناز، در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی، تحقیقی صورت نگرفته است. آدنوزین دامیناز یک آنزیم سیتوپلاسمی



نمودار ۱- آنزیم آدنوزین دامیناز در گاوهای سالم و گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بر اساس آزمون ورم پستان کالیفرنایی ($p = 0/033$)



نمودار ۲- آزمون آماری ROC برای استفاده از آدنوزین دامیناز برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی (سطح زیرمنحنی ۰/۷۲ و $p = 0/033$)

بحث

تعداد سلول‌های سوماتیک شیر مخزن به‌ویژه در گاوداری‌ها، شاخص خوبی از بهداشت پستان و کیفیت



پستان است (۲۶). در مطالعه‌ای گزارش شده است که همه‌ی ایزوآنزیم‌های آدنوزین دامیناز به‌خصوص ایزوآنزیم ADA-2 در مرحله‌ی عود کننده‌ی لوپوس اریتماتوس سیستمیک افزایش می‌یابد؛ زیرا ماکروفاژها منبع اصلی این ایزوآنزیم هستند و این سلول‌ها در این بیماری افزایش می‌یابند. علاوه بر این کاهش میزان آدنوزین دامیناز در یک‌چهارم افراد آلوده به HIV مشاهده شده است (۲۳).

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان داشت فعالیت آنزیم آدنوزین دامیناز در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی به طور معنی‌داری بالاتر از گاوهای سالم است و این آنزیم می‌تواند به‌عنوان یک شاخص برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات و همکاری آزمایشگاه آنالیز شیر اتحادیه‌ی دامداران فارس، پرسنل شریف و زحمتکش گاوداری استخری و معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز صمیمانه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

- ۱- خسروی بختیاری، مهسا؛ بررسی ارتباط آدنوزین دامیناز با برخی از میانجی‌های التهابی سرم خون در گاوهای مبتلا به تیلریوز. پایان‌نامه شماره ۱۴۰۰ دکترای عمومی دامپزشکی شیراز؛ ۱۳۹۲؛ صفحات ۷۵، ۷۶ و ۷۷.
- ۲- محبی، مهدی؛ پیوند بهداشت و مدیریت گله گاوهای شیری. انتشارات دانشگاه شیراز؛ شیراز؛ ۱۳۹۰؛ صفحات ۱۶۱، ۱۶۲، ۱۶۹، ۱۷۰، ۱۷۳ و ۱۷۴.
- ۳- هاشمی، مجید؛ بررسی میزان شیوع و خسارت ناشی از ورم پستان باکتریایی در گاوداری‌های

است که برای تولید و تکثیر لنفوسیت‌های ضروری است (۸). این آنزیم به‌خصوص در سیستم لنفاوی مانند طحال و تیموس یافت می‌شود (۹). آدنوزین دامیناز در بافت‌های بدن توزیع زیادی دارد از سلول‌های T تمایز یافته نیز آزاد می‌شود، اما بیشترین مکان فعالیتش در گرانولوسیت‌های خون محیطی و بافت‌های لنفوئیدی است (۲۱).

آنزیم آدنوزین دامیناز آنزیمی است که سبب دامینه شدن آدنوزین و تبدیل آن به اینوزین و داکسی اینوزین می‌شود (۸). در این مطالعه فعالیت آنزیم آدنوزین دامیناز در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی به طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای سالم بود که می‌تواند نشانه افزایش آدنوزین دامیناز در اثر التهاب و واکنش‌های ایمنی گاوهای مبتلا به ورم پستان و اهمیت این آنزیم در این فرایند التهابی باشد.

میزان بالای آدنوزین دامیناز نشانه‌ی تولید و فعالیت لنفوسیت‌های T و نیز نشانه‌ی پاسخ ایمنی در برابر برخی بیماری‌های انسانی مانند آرتریت روماتوئید، سارکوسیتوز و سل است (۳ و ۲۴). آنزیم آدنوزین دامیناز در بیماران مبتلا به نقص ایمنی شدید وجود ندارد (۸). گزارش شده است که در سرم حیوانات اهلی در اثر بیماری‌هایی مانند کم خونی گاوها، هیپاتوپاتی سگ‌ها و دیستروفی عضلانی بره‌ها میزان آدنوزین دامیناز افزایش می‌یابد (۴). در مطالعه‌ای نشان داده شده که میزان آدنوزین دامیناز در گاوهای آلوده به تیلریوز ناشی از *تیلریا آنولاتا* در مقایسه با گاوهای سالم افزایش یافته است (۱). فعالیت آدنوزین دامیناز در چسبندگی صفاق و جنب در گربه و دیستروفی عضلانی بره‌ها افزایش می‌یابد (۴ و ۵). در سل احشایی و مننژیت سلی آدنوزین دامیناز در مایع محوطه شکمی و مایع مغزی نخاعی افزایش می‌یابد (۱۳ و ۲۲). در پسونریزس افزایش فعالیت آدنوزین دامیناز سرم گزارش شده است (۱۱). پژوهش‌ها نشان می‌دهند که ایزوآنزیم ADA-2 در علم پزشکی یک شاخص بیولوژیک مخصوص برای تشخیص بیماری ایدز، سل و سرطان‌های





- patients with adenosine deaminase deficient sever combined immunodeficiency. *J Clin Immunol*; 2012; 32: 449-453.
- 9- Cristalli, G; Costanzi, S; Lambertucci, C; Lupidi, G; Vittori, S; Volpini, R. and Camaioni, E; Adenosine deaminase: functional implications and different classes of inhibitors. *Med Res Rev*; 2001; 21: 105-128.
- 10- Dalir, B.N; Asri-Rezaei, S. and Alidady, N; Measure of association between selenium status and sepsis in cattle. *Comp Clin Pathol*; 2006; 15: 149-153.
- 11- Hashemi, M; Mehrabifar, H; Daliri, M. and Ghavami, S; Adenosine deaminase activity, trypsin inhibitory capacity and total antioxidant capacity in psoriasis; *J European Acad Dermatol Venereol*; 2010; 24: 329-334.
- 12- Hassan, H.J; Variation in milk composition of some farm animals resulted by subclinical mastitis in Al-Diwania province. *Basrah J Vet Res*; 2013; 12(2): 18-20.
- 13- Hirovani, M; Yabe, I; Hamada, S; Tsuji, S; Kikuchi, S. and Sasaki, H. Abnormal brain MRI signals in the splenium of the corpus callosum, basal ganglia and internal capsule in
- شیری استان فارس. سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی فارس- مدیریت آموزش و پژوهش گروه کارشناسی: کشاورزی و امور آب؛ ۱۳۸۵؛ ۷، ۸ و ۵۴.
- 4- Altug, N. and Agaoglu, Z.T; Investigation on the relationship between lymphocyte subsets, immunoglobulin levels and adenosine deaminase activities in immunosuppressive dose methylprednisolone treated dogs. *Bull. Vet Instit Pulawy*; 2007; 51: 109-115.
- 5- Altug, N; Yuksek, N; Agaoglu, Z.T. and Ozkan, C; Decreased serum adenosine deaminase activities in van cats with feline retrovirus infections. *Med Wetery*; 2007; 63: 184-186.
- 6- Altug, N; Yuksek, N; Agaoglu, Z.T. and Keles, E; Serum adenosine deaminase activity in domestic animals: Reference values. *Turk J Vet Anim Sci*; 2009; 33: 137-141.
- 7- Blowey, R. and Edmondson, P; The milking routine and its effect on mastitis. In: *Mastitis control in dairy herds*, Chapter 6, Farming Press Books, Ipswich. United Kingdom; 1995; pp. 83-86.
- 8- Booth, C; Algar, V.E; Xu-Bayford, J; Fairbanks, L; Owens, C. and Gaspar, H.B; Non infectious lung disease in





- A. and Silanikove, N; Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. *J Dairy Sci*; 2004; 87: 46-52.
- 20- Matei, S.T; Groza, I; Andrei, S; Bogdan, L; Ciupe, S. and Petrean, A; Serum metabolic parameters in healthy and subclinical mastitis cows. *Bull Univ Agric Sci Vet Med*; 2010; 67: 110-114.
- 21- Moriwaki, Y; Yamamoto, T. and Higashino, K. Enzymes involved in purine metabolism a review of histochemical localization and functional implications. *Histol Histopathol*; 1999; 14: 1321-1340.
- 22- Ozseker, B; Ozseker, H.S; Kav, T; Shorbagi, A; Karakoc, D. and Bayraktar, Y. Abdominal tuberculosis leading to portal vein thrombosis, mimicking peritoneal carcinomatosis and liver cirrhosis. *Acta. Clinica Belgica*; 2012; 67: 137-139.
- 23- Ribera, E; Jose, M; Martinez-Vasquez, J.M; Inma, Ocana, Rosa, M; Segura, R.M. and Pascual, C; Activity of adenosine deaminase in cerebrospinal fluid for the diagnosis and follow-up of tuberculous meningitis in adults. *J Infec Dis*; 1987; 155: 603-607.
- 24- Sun, Y.C; Yao, W.Z. and Shen, N. a suspected case with tuberculous meningitis. *J Inter Med*; 2007; 46: 505-509.
- 14- Holbrook, J. and Hicks, C.L; Variation of superoxide dismutase in bovine milk. *J Dairy Sci*; 1978; 61: 1072-1077.
- 15- Kalantari, A; Safi, S. and Foroushani, A.R; Milk lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase as biomarkers in detection of bovine subclinical mastitis. *Annal Biol Res*; 2013; 4: 302-307.
- 16- Kandemir, F.M; Yuksel, M; Ozdemir, N. and Deveci, H; A different approach to diagnosis of subclinical mastitis: Milk arginase activity. *Vet Arhiv*; 2013; 83: 603-610.
- 17- Khodke, M.V; Bonde, S.W; and Ambade, R.B; Alteration of enzyme aspartate transaminase in goat milk related to udder health status. *Vet World*; 2009; 2: 24-26.
- 18- Kivaria, F.M; Noordhuizen, J.P.T.M. and Kapaga, A.M; Risk indicators associated with subclinical mastitis in smallholder dairy cows in Tanzania. *Trop Anim Health Prod*; 2004; 36: 581-592.
- 19- Leitner, G; Chaffer, M; Shamay, A; Shapiro, F; Merin, U; Ezra, E; Saran,





- Pleural sarcoidosis: report of cases and review of the literature. Chin J Tuber Resp Dis; 2006; 29: 243-246.
- 25- Yang, F.L; Li, X.S; He, B.X.L; Li, G.H; Liu, P; Huang, Q.H; Pan, X.M. and Li, J; Malondialdehyde level and some enzymatic activities in subclinical mastitis milk. Afri J Biotechnol; 2011; 10: 5534-5538.
- 26- Zavialov, A.V; Gracia, E; Glaichenhaus, N; Franco, R; Zavialov, A.V. and Lauvau, G. Human adenosine deaminase 2 induces differentiation of monocytes into macrophages and stimulates proliferation of T helper cells and macrophages. J Leuko Biol; 2010; 88: 279-290.





Evaluation of milk adenosine deaminase activities in dairy cattle with subclinical mastitis and their correlation with milk quality

Farzaneh, M.¹; Haghkhah, M.²; Nazifi, S.^{3*}; Ansari Lari M.⁴; Mohebbi Fani, M.⁵

1. DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.
2. Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.
3. Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.
4. Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.
5. Professor, Department of Animal Health management, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.

Received: 21 December 2016

Accepted: 14 August 2017

Summary

The subclinical mastitis can cause economical loss, therefore, access to the methods of prevention, control and reduction of mastitis, especially subclinical form, is so important and valuable. The aim of this study was to investigate the changes of adenosine deaminase enzyme activity in the cow milk with subclinical mastitis. Forty-six cows with subclinical mastitis that have taken positive results in the California mastitis test (CMT), without signs of illness, were considered as the treatment group. Ten cows that have taken negative results in the CMT, were considered as milk samples control group. Fat and protein levels of milk were measured as well as somatic cells count. Adenosines deaminases enzyme activities were also measured. The comparison of fat and protein in milk samples demonstrated no significant difference between healthy group, and the one with subclinical mastitis. The number of somatic cells in the cows with subclinical mastitis was significantly more than the control group. In the cows with subclinical mastitis, adenosine deaminase enzyme activity was significantly higher than the healthy cows. In general, adenosine deaminase enzyme activity can be used as a marker in diagnosis of subclinical mastitis.

Keywords: Adenosine deaminase, Subclinical Mastitis, Milk, Cow.

* Corresponding Author E-mail: nazifi@shirazu.ac.ir

