

مقایسه ظرفیت اکسیدانی شیر در نمونه های سالم و نمونه های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی

نیلوفر تشکری^۱، دکتر بابک خرمیان طوسی^۱، دکتر مهران فرهودی^۲، دکتر نیما فرزانه^۱،

دکتر محمد حیدرپور^۱، دکتر کامیل مشایخی^۱

۱- دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج دانشکده دامپزشکی

۳- دامپزشک بخش خصوصی

چکیده

کیفیت شیر تحت تاثیر عواملی از قبیل سلامت دام، فواصل شیرواری و زمان نگهداری شیر و دمای آن قرار دارد. یکی از عوامل مهم و موثر در این زمینه ورم پستان است که حتی فرم تحت بالینی آن نیز می تواند بشدت کمیت و کیفیت شیر را تحت تاثیر قرار دهد. ورم پستان در گاو همراه با افزایش مقادیر رادیکال ها و اکسیدان هایی از قبیل نیتریک اکساید خواهد بود. در مطالعه حاضر تعداد ۱۵۰ نمونه شیر از گاوهای شیری نژاد هولشتاین در یکی از گاوداری های صنعتی اطراف مشهد جمع آوری گردید. نمونه گیری مطابق توصیه شورای ملی ورم پستان ایالات متحده (National Mastitis Council) انجام گردید. هر دام از لحاظ روزهای شیرواری، تعداد زایش، تعداد سلولهای سوماتیک، آزمایش ورم پستان کالیفرنایی (CMT) و میزان تولید شیر بصورت کامل ثبت گردید. تبدیل 5-thio-2-nitrobenzoic acid (TNB) به 5-dithiobis-2-nitrobenzoate (DTNB) جهت اندازه گیری تشکیل رادیکال های مهمی نظیر نیتریک دی اکساید مورد سنجش قرار گرفت. از مجموع ۱۵۰ نمونه شیر مورد آزمایش قرار گرفته ۱۱۳ مورد سالم و ۳۷ مورد مبتلا به ورم پستان بودند. تست آماری T-Test اختلاف معنی داری بین TNB در دو گروه سالم و ورم پستان نشان نداد ($P < 0.05$). همچنین اختلاف معنی داری بین میزان SCC و TNB نیز مشاهده نگردید ($P > 0.05$).

واژه های کلیدی: ورم پستان- رادیکال آزاد- اکسیدان- سلول سوماتیک

مقدمه

کیفیت شیر تحت تاثیر عواملی از قبیل سلامت دام، فواصل شیرواری و زمان و دمای نگهداری شیر قرار دارد. یکی از عوامل مهم و موثر ورم پستان است که حتی فرم تحت بالینی آن نیز می تواند بشدت کمیت و کیفیت شیر را تحت تاثیر قرار دهد (1). ورم پستان در گاو همراه با افزایش مقادیر رادیکال های آزاد و اکسیدان هایی از قبیل نیتریک اکساید خواهد بود. این اکسیدان ها جزئی از سیستم ایمنی ذاتی پستان بوده اند و در دفاع علیه پاتوژن های مهاجم مفید خواهند بود. اما تولید بیش از حد اکسیدان ها به گونه ای که فراتر از توانایی آنتی اکسیدانی شیر باشد منجر به رخداد استرس اکسیداتیو خواهد شد. از جمله آسیب های اکسیداتیو ناشی از افزایش بیش از حد اکسیدان ها می توان به پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش حساسیت پروتئین های شیر به پروتئولیز اشاره نمود و بدین ترتیب کیفیت شیر دستخوش تغییر خواهد شد. در مطالعات متعددی، رخداد آسیب اکسیداتیو و تغییر کیفیت شیر در دام های مبتلا به ورم پستان گزارش شده است. (2,3) یکی از روش های سنجش میزان تولید رادیکال های آزاد و اکسیدان ها در شیر، تبدیل 5-thio-2-nitrobenzoic acid (TNB) به 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoate (DTNB) می باشد که میزان تشکیل DTNB به عنوان شاخصی از مقدار تشکیل رادیکال های آزاد و اکسیدان ها خواهد بود. (2)

اهداف

هدف از این مطالعه امکان بکارگیری ظرفیت تام اکسیدانی به عنوان فاکتور نشان دهنده سلامت بافت پستان و کیفیت شیر است.

روش کار

یک گله شیری صنعتی بزرگ از نژاد هلشتاین با ۷۵۰ رأس گاو شیری مولد در استان خراسان رضوی در نظر گرفته شده است. نمونه شیر کارتی‌ها به صورت آسپتیک قبل از شیردوشی اخذ می‌شود. مطابق توصیه شورای ملی ورم پستان ایالات متحده (National Mastitis Council) قبل از نمونه‌گیری ابتدا سر پستان‌های کارتی‌های مورد نظر با آب گرم شسته می‌شود و سپس با محلول Predip ضدعفونی می‌شوند و بعد از ۳۰ ثانیه انتظار با دستمال کاغذی جداگانه خشک می‌شوند و در مرحله بعد نوک سر پستان با دستمال آغشته به الکل ۷۰٪ مالش داده می‌شود و بعد از ۳۰ ثانیه، سه دوشش اولیه تخلیه و ۱۵ میلی‌لیتر شیر از کارتی‌ها در ظرف استریل برای کشت باکتریولوژیک اخذ می‌شود. علاوه بر این اطلاعات هر دام از لحاظ روزهای شیرواری، تعداد زایمان، تعداد سلولهای سوماتیک، آزمایش ورم پستان کالیفرنایی (CMT) و میزان تولید شیر بصورت کامل ثبت گردید. تبدیل DTNB به TNB به عنوان ابزاری برای تشکیل رادیکال‌های قوی مثل نیتریک دی اکسید استفاده می‌شود. TNB توسط احیای ۱ میلی مولار DTNB در ۱۰۰ میلی لیتر بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی مولاری (pH 7.4) به همراه ۴ میکرولیتر از ۲-مرکاپتواتانول آماده می‌شود. نمونه آزمایش در یک کووت که حاوی ۴۰ میکرومولار TNB در ۱٫۸ ملی لیتر از بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی مولاری با pH 7.4 است، قرار می‌گیرد. واکنش توسط افزودن ۰٫۲ میلی لیتر از نمونه شروع می‌شود. کاهش در میزان جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر که در طی ۱۰ ثانیه اندازه‌گیری می‌شود، برای محاسبه میزان اکسیداسیون TNB به DTNB استفاده می‌شود. مقایسه TNB بین دو گروه مبتلا به ورم پستان و گروه سالم از طریق Independent Samples Test انجام گرفت و اختلاف معنی داری مشاهده نشد. بررسی ارتباط بین TNB و SCC از طریق Pearson Correlation انجام گرفت و اختلاف معنی داری مشاهده نشد. معناداری اختلاف داده‌ها در سطح $p < 0,05$ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

از مجموع ۱۵۰ نمونه شیر مورد آزمایش قرار گرفته ۱۱۳ مورد سالم و ۳۷ مورد مبتلا به ورم پستان بودند. از این تعداد ۱۳ مورد میکروارگانیزم‌های گرم منفی و ۲۴ مورد میکروارگانیزم‌های گرم مثبت جدا گردید. تست آماری T-Test اختلاف معنی داری بین TNB در دو گروه سالم و ورم پستان نشان نداد ($P < 0,05$). همچنین اختلاف معنی داری بین میزان SCC و TNB نیز مشاهده نگردید ($P > 0,05$). نتایج کامل دو گروه در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول شماره ۱: مقایسه اطلاعات در دو گروه گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان						
تعداد	میانگین TNB	میانگین سلولهای سوماتیک	مجموع اسکور کارتی‌ها	میزان تولید	تعداد زایمان	میانگین روزهای شیرواری
۱۱۳	۴/۶۶	۱۲۴۰۰۰	۳/۵	۱۱۵۴۹	۲/۲	۳۵۷
۳۷	۳/۶۷	۳۱۴۰۰۰	۴/۳	۱۱۰۱۸	۲/۴	۳۴۲

هدف از این مطالعه امکان بکارگیری ظرفیت تام اکسیدانی به عنوان فاکتور نشان دهنده سلامت بافت پستان و کیفیت شیر بود. نتایج این مطالعه نتوانست اختلاف معنی داری بین TNB و کشت شیر و همچنین میزان سلولهای سوماتیک بدست آورد. Silanikove و همکاران در سال ۲۰۱۴ با بررسی ۱۵ بز با یک کارتی‌ه سالم و یک کارتی‌ه عفونی، رخداد چرخه NO در شیر بز به صورت کامل تایید شد. (۲)



واضح است که گونه های راکتیو اکسیژن دلیل اصلی گروهی از شرایط پاتولوژیکال از جمله التهاب هستند. زمانی که رشد متابولیت های مولکول اکسیژن به سطح غیر قابل کنترلی برسد، احتمال دارد که آنها باعث آسیب اکسیداتیو تمامی اجزای سازنده سلول شوند. افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیداتیو، پاسخ طبیعی ارگانسیم در برابر استرس اکسیداتیو است. (۴)

منابع

- 1- Leitner G, Silanikove N, Merin U. Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small Ruminant Research*. 2008 Jan 31;74(1):221-5.
- 2- Silanikove N, Merin U, Shapiro F, Leitner G. Subclinical mastitis in goats is associated with upregulation of nitric oxide-derived oxidative stress that causes reduction of milk antioxidative properties and impairment of its quality. *Journal of dairy science*. 2014 Jun 30;97(6):3449-55.
- 3- Silanikove N, Rauch-Cohen A, Shapiro F, Arieli A, Merin U, Leitner G. Lipopolysaccharide challenge of the mammary gland in cows induces nitrosative stress that impairs milk oxidative stability. *Animal*. 2012 Sep 1;6(09):1451-9.
- 1- 4-SZCZUBIAŁ M, Kankofer M, DĄBROWSKI R. ANTIOXIDATIVE-RELATED ACTIVITIES OF LACTOFERRIN AND LACTOPEROXIDASE IN MILK FROM COWS WITH DIFFERENT FORMS OF MASTITIS. *Bull Vet Inst Pulawy*. 2011;55:77-81.

