

## بررسی اثرات دگزامتازون و فنیل بوتازون بر تغییرات پروتئین‌های فاز حاد (هاپتوگلوبین و فیبرینوژن و آلبومین) در گوساله‌های مبتلا به پنومونی گوساله گاو شیری

مسلم صادقی<sup>۱</sup>، غلامرضا محمدی<sup>۲</sup>، مهرداد مهری<sup>۲</sup>، امیر افخمی گلی<sup>۳</sup>

۱- دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۲- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۳- دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

### چکیده

بیماری‌های دستگاه تنفسی از مهمترین بیماری‌های منجر به بروز خسارت اقتصادی در صنعت دامپروری می‌باشند. در پژوهش حاضر تغییرات پروتئین‌های فاز حاد به دنبال تجویز داروهای ضدالتهاب دگزامتازون و فنیل بوتازون در گوساله‌های مبتلا به پنومونی گوساله گاو شیری مورد مطالعه قرار گرفته است. این پژوهش بر روی ۳۰ رأس گوساله زیر شش ماه مبتلا به پنومونی گوساله گاو شیری در گاوداری‌های اطراف مشهد انجام شده است. معیار انتخاب گوساله‌های بیمار، بر مبنای سیستم ارائه شده توسط دانشگاه ویسکانسین بوده است. در این سیستم گوساله‌ها بر اساس فاکتورهایی چون ترشحات بینی، درجه حرارت رکتوم، سرفه، وضعیت چشم‌ها و گوش‌ها امتیازبندی می‌شوند. در ضمن شرط اساسی ورود گوساله‌ها به این پژوهش، عدم وجود ابتلا به بیماری‌های قبلی و همزمان بوده است. این گوساله‌ها در سه گروه درمانی قرار گرفتند. هر سه گروه با آنتی‌بیوتیک فلورفنیکل درمان شدند. همچنین بعنوان درمان کمکی در گروه اول دگزامتازون، گروه دوم فنیل بوتازون و گروه سوم هم آب مقطر مورد استفاده قرار گرفته است. نتایج واکاوی آماری نشان می‌دهد که در تمام گوساله‌های مورد مطالعه ما در طی دو زمان نمونه‌گیری تنها تغییرات فیبرینوژن معنی‌دار بوده است ( $P < 0/05$ ) ولی بین گروه‌های درمانی مختلف در هیچ کدام از فاکتورهای اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

**واژه‌های کلیدی:** دگزامتازون- فنیل بوتازون- ضدالتهاب- پنومونی گوساله گاو شیری- هاپتوگلوبین

### مقدمه

بیماری‌های دستگاه تنفس از مهمترین بیماری‌های منجر به بروز خسارت اقتصادی در صنعت دامپروری می‌باشند. پنومونی و درگیری سیستم تنفس به عنوان دومین عامل مهم مرگ‌ومیر و حذف گوساله‌های جوان به شمار می‌رود (۸). پنومونی گوساله گاو شیری یک بیماری مولتی-فاکتوریال می‌باشد. ترکیبی از عوامل عفونی (ویروس، باکتری، مایکوپلاسما)، اختلال در سیستم دفاعی میزبان و شرایط محیطی در بروز بیماری ایفای نقش می‌کنند (۸). به طور کلی درمان دام‌های مبتلا به پنومونی با سه هدف صورت می‌گیرد (۱) از بین بردن باکتری‌های بیماری‌زای مهاجم (۲) محدود ساختن واکنش‌آماسی (۳) درمان حمایتی و مراقبت و پرستاری از دام بیمار است. داروی فلور فنیکل به عنوان یکی از داروهای وسیع طیف آنتی میکروبیال در درمان مبتلایان به پنومونی گوساله گاو شیری استفاده می‌شود. همچنین به عنوان درمان کمکی در کنار ترکیبات آنتی میکروبیال از داروهای ضدالتهاب استروئیدی و غیر استروئیدی مانند دگزامتازون، فنیل



بوتازون استفاده می‌شود. دگزامتازون یک داروی ضد التهاب استروئیدی است که داروهای این دسته کاربردها و مزایای متعددی در طب نشخوارکنندگان دارند. خواص ضدالتهابی و اثرات سرکوب‌گری سیستم ایمنی در درمان بیماری‌های متعددی در این حیوانات حائز اهمیت است (۲). در کنار این اثرات مفید، مصرف دوز بالا یا طولانی مدت این داروها می‌تواند اثرات سوء و عوارض جانبی زیادی به همراه داشته باشد. یکی از مشکلاتی که بر سر استفاده از داروهای ضدالتهاب استروئیدی وجود دارد، سرکوب‌گری غیر انتخابی آنهاست. به طوری که آن بخش از التهاب و پاسخ ایمنی (مثل انفیلتراسیون ماکروفاژها) را که دخیل در کنترل بیماری یا حذف اجزای مولد عفونت می‌باشند نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند. فنیل بوتازون جزء دسته داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی (NSAID) می‌باشد. ضدالتهاب‌های غیراستروئیدی داروهایی هستند که حداقل یکی از مسیرهای متابولیکی آراشیدونیک اسید را مهار می‌کنند (برخلاف کورتیکواستروئیدها که مسیرهای متعددی را مهار می‌کنند) (۲). پاسخ فاز حاد (Acute Phase Response) مدت کوتاهی پس از آسیب بافتی به وقوع می‌پیوندد و یک پاسخ غیراختصاصی است که توسط عوامل طبیعی رخ می‌دهد. منشأ این آسیب عوامل عفونی، ایمونولوژیک، نئوپلاستیک، تروماتیک، انگلی و غیره می‌تواند باشد (۷). هدف از APR جلوگیری از آسیب بیشتر به یک عضو می‌باشد همچنین جداسازی و از بین بردن عامل عفونی به منظور دفع ضایعات و فرآورده‌های مضر عوامل عفونی، فعال کردن فرایندهای ترمیمی جهت برگرداندن ارگان آسیب‌دیده به فعالیت طبیعی از اهداف دیگر هستند. APR یک پیشامد و رخداد آغازین است که در نهایت با تولید پروتئین‌های فاز حاد (Acute Phase Protein) از جمله فیبرینوژن و هاپتوگلوبین (Hp) و آلبومین باعث بقاء و حفظ سیستم‌های فیزیولوژیک هموستاز در طول دوره بعد از آسیب می‌شود (۷). آلمسجست و همکاران در سال ۱۹۹۴، اختلاف معنی داری در سطوح Hp در بین حیوانات سالم و بیمار که درگیر با التهاب بودند پیدا کردند (۱) قودسان و همکاران در سال ۱۹۹۶ دریافتند که Hp یک وسیله و کمک تشخیصی با ارزش در بیماری‌های تنفسی گاوی است (۵). پاسخ Hp گاوی در شرایط آزمایشگاهی نیز بررسی و مطالعه شده است. سلول‌های پارانشیمی کبد گوساله بعد از درمان با دگزامتازون باعث افزایش مقادیر Hp می‌شوند (۶). پروتئین‌های پلاسما سطوح پایه‌ای پایینی دارند و پاسخ سریع و افزایش مقادیر آنها و کلیرانس سریع آنها جهت استفاده تشخیصی بسیار مناسب است. غلظت APP با درجه آسیب بافتی و با بهبودی بعد از درمان همبستگی خوبی دارد. مشخص‌ترین و بارزترین شاخصه در استفاده از APP، تشخیص‌های کلینیکی است. APP همچنین در پیگیری درمان دارویی نیز به کار می‌رود که با تشخیص‌های متوالی و پشت سرهم APP اطلاعات دقیقی از روند بیماری فراهم می‌کند. با بزرگتر شدن واحدهای پرورش گاوهای شیری زمان کمتری جهت معاینه بالینی گاوها به صورت تکی مصرف می‌شود و این امر نقش مهم تست‌های تشخیصی APP را در معاینه، تشخیص و درمان حیوانات بطور انفرادی بیان می‌کند.

## اهداف

تأثیر دو داروی ضدالتهاب استروئیدی و غیراستروئیدی بر روی تغییرات پروتئین‌های فاز حاد در گوساله‌های مبتلا به پنومونی گوساله گاو شیری مورد بررسی قرار گرفت.

## روش کار

پژوهش حاضر بر روی ۳۰ رأس گوساله مبتلا به بیماری پنومونی گوساله گاو شیری انجام شده است. همه‌ی گوساله‌ها بین ۳ تا ۶ ماه سن داشتند. شرط اساسی ورود گوساله‌ها به این مطالعه عدم وجود ابتلا به بیماری قبلی (حتی بیماری‌های غیر از تنفسی همچون اسهال) بود. همچنین در انتخاب و گروه‌بندی تیماران مشابهت سنی و جنسی و شدت ابتلا به بیماری لحاظ می‌گردید. گوساله‌ها بر اساس سابقه



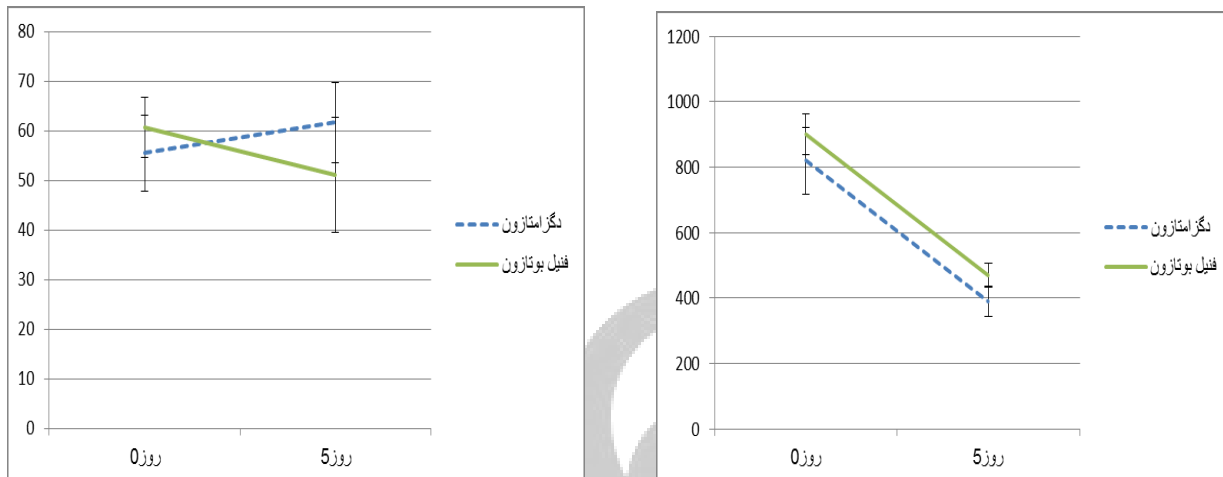
بیماری، مشاهده، انجام معاینات بالینی و اطمینان از عدم وجود اختلال در سایر دستگاه‌های بدن انتخاب می‌شدند. پس از انجام معاینه بالینی و اخذ علائم حیاتی (TPR) اقدام به دادن درجه بندی (اسکور) بر اساس شاخص‌های ارزیابی شده، گردید. سیستم امتیاز بندی، بر مبنای سیستم معرفی شده توسط دانشگاه ویسکانسین که برای شناسایی و تفکیک گوساله‌های مبتلا به بیماری تنفسی از گوساله‌های سالم طراحی شده است قرار گرفت. معیار این درجه بندی بر اساس شاخص‌هایی همچون دما، سرفه، ترشحات بینی، ترشحات چشم و وضعیت قرار گرفتن گوش‌ها می‌باشد. با توجه به این معیارها شدت بیماری گوساله‌ها نمره‌دهی شدند (۹). پس از انجام معاینه و دادن نمره، اقدام به اخذ نمونه‌های خون توسط سرنگ ۱۰cc از ورید و داج می‌گردید. برای درمان گوساله‌ها در این مطالعه آنتی‌بیوتیک فلورفینیکل به صورت زیرجلدی تجویز شد. همچنین به عنوان درمان کمکی ضدالتهاب‌های دگزامتازون، فنیل بوتازون و آب مقطر بشرح ذیل به گوساله‌های بیمار سه گروه درمانی تزریق گردید.

گروه A، ۱۰ رأس با داروی فلورفینیکل با دوز ۴۰mg/kg، زیر پوست ناحیه گردن + داروی دگزامتازون با دوز ۰/۲mg/kg، به صورت عضلانی، گروه B، ۱۰ رأس با داروی فلورفینیکل با دوز ۴۰mg/kg، زیر پوست ناحیه گردن + داروی فنیل بوتازون ۵mg/kg، به صورت داخل وریدی، و گروه C، ۱۰ رأس با داروی فلورفینیکل با دوز ۴۰mg/kg، زیر پوست ناحیه گردن + آب مقطر به صورت وریدی درمان شدند. بعد از ۵ روز، گوساله‌ها معاینه بالینی و نمره‌دهی می‌شدند. سپس اقدام به خونگیری از ورید و داج می‌گردیدند و همانند نمونه‌گیری بار اول، خون گرفته شده در دو لوله (حاوی ماده ضدانعقاد و بدون ماده ضدانعقاد) در کنار یخ خشک به آزمایشگاه ارسال می‌شد. اندازه‌گیری هاپتوگلوبین با کیت سنجش هاپتوگلوبین ساخته شده توسط شرکت Shanghai crystal Day Biotech انجام شد. همچنین اندازه‌گیری آلبومین نیز با استفاده از دستگاه اتوآنالیز Nikon Koden مدل Cell TakαMEK6450K ساخت Tokyo Japan و به روش BCG یا بروموکرزول گرین و با کیت ساخته شده توسط شرکت پارس آزمون انجام گرفت. فیبرینوژن نیز به صورت دستی اندازه‌گیری شد.

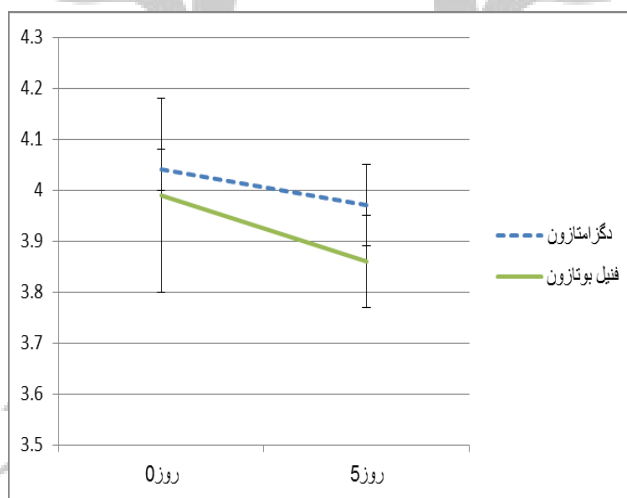
نتایج حاصل از این مطالعه ابتدا وارد نرم افزار ذخیره اطلاعات اکسل (Excel) گردید. پس از کنترل صحت ورود اطلاعات با استفاده از نرم افزار SPSS 20 مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت. ابتدا داده‌ها از نظر توزیع نرمال بررسی شدند. بررسی توزیع داده‌ها بر اساس منحنی ترسیم شده و دو معیار Kurtosis و Skewness انجام گرفت. با توجه به اینکه پارامتر اندازه‌گیری شده از سه گروه مختلف گوساله بدست آمده بود. برای واکاوی آماری از آزمون Repeated measures و Paired T test استفاده شد. سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. همچنین با آزمون مربع کای اثر مخدوش گری جنس مورد بررسی قرار گرفت. در ضمن بررسی متغیرهای که توزیع نرمال نداشتند با آزمون ویلکاکسون تجزیه تحلیل شد.

## نتایج و بحث

نتایج واکاوی آماری نشان می‌دهد که فاکتور سن و جنس روی تغییرات در زمان اثر معنی‌داری نداشته است ( $P > 0/05$ ). نمره‌دهی گوساله‌ها بر اساس شاخص‌های تعریف شده در سیستم دانشگاه ویسکانسین انجام گرفته است. گوساله‌های بیمار نمره ۰ تا ۳ را دریافت می‌کردند. در واکاوی آماری مشخص گردید تمامی گوساله‌ها بین نمره قبل و بعد درمان، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ). نمره تمام گوساله‌ها تنزل یافته بود، ولی در بین گروه‌های درمانی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). همچنین نتایج واکاوی آماری نشان داد که از بین سه پروتئین اندازه‌گیری شده در این مطالعه در طول زمان دو نمونه‌گیری فقط تغییرات فیبرینوژن است که معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ) ولی در بین گروه‌های مورد مطالعه بسته به درمان انجام شده در هیچ کدام از سه پروتئین اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0/05$ ).



نمودار ۱- مقایسه تغییرات هاپتوگلوبین بین گروه‌های مورد مطالعه نمودار ۲- مقایسه تغییرات فیبرینوژن بین گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۳- مقایسه تغییرات آلبومین بین گروه‌های مورد مطالعه

فیبرینوژن یکی از پروتئین‌های فاز حاد است که تحت تأثیر روندهای التهابی در بدن تولید می‌شود و به عنوان یک شاخص معتبر در ارزیابی پاسخ‌های التهابی مورد توجه است بالا بودن غلظت فیبرینوژن در گوساله‌های بیمار، نشان‌دهنده حضور یک روند التهابی می‌باشد. در این مطالعه در هر سه گروه مقدار فیبرینوژن پس از درمان کاهش معنی‌دار داشت ولی تفاوتی بین گروه‌ها مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). تغییرات مربوط به آلبومین هم در هیچ کدام از گروه‌ها معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). هاپتوگلوبولین، پروتئین فاز حاد دیگری است که در این پژوهش اندازه‌گیری شده است. و در نهایت مشخص شد که در گروه دگزامتازون در نمونه بعد از درمان افزایش و در

سه گروه دیگر کاهش یافته است ولی این افزایش و کاهش معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). با مروری بر نتایج یکی از پژوهش‌هایی که در این زمینه صورت گرفته است مطالعه‌ای است که Claire Crews و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام دادند. آن‌ها ۱۹۲ گوساله نر را در دو گروه قرار دادند گروه یک، که داروی فلوروفنیکل با دوز ۶ml/۴۵/kg4 دریافت کردند و گروه دو که داروی فلوروفنیکل با همان دوز و نیز ایزوفلوپردون استات با دوز ۵ml/۴۵/kg4 دریافت کردند. آن‌ها وزن بدن گوساله‌ها را در روزهای ۰ و ۱۴ و ۲۸ و ۴۵ و ۴۶ ثبت کردند. نتایج نشان داد استفاده از ایزوفلوپردون به عنوان درمان کمکی اثر مثبت چشمگیری روی روند درمان یا هزینه‌ها ندارد (۳). مطالعه‌ای دیگر Firton و همکاران در سال ۲۰۰۵ در روی ۲۰۰ گاو با علائم پنومونی گاوان (BRD) در یک کارآزمایی بالینی آنها گاوها را به دو گروه صدتایی تقسیم کردند و به همه آنها اکسی‌تتراسایکلین به صورت زیرجلدی تزریق کردند در یک گروه از ملوکسی کام و در گروه دیگر از سالین ایزوتونیک استفاده کردند. در نهایت مشخص شد که میانگین افزایش وزن روزانه و همچنین وزن لاشه در گروه تحت درمان با ملوکسی کام به طور قابل توجهی بیشتر بوده است. همچنین از نظر ضایعات ریوی هم در گروه تحت درمان با ملوکسی کام ریه کمتر تحت تأثیر قرار گرفته بود (۴). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از یک ضدالتهاب در کنار آنتی‌بیوتیک نمی‌تواند تأثیر قابل توجهی در روند بهبودی گوساله‌های مبتلا به پنومونی داشته باشد و شواهدی که بتوان به کمک آن تأیید کرد که آیا استفاده از یک ضدالتهاب می‌تواند در کنار آنتی‌بیوتیک در بهبود بیماران مبتلا به پنومونی مؤثر باشد در این مطالعه مشخص نگردید. و به نظر می‌رسد که در درمان پنومونی گوساله گاوشیری استفاده از آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیفی همچون فلوروفنیکل مؤثر باشد و درمان‌های کمکی همچون استفاده از ضدالتهاب باعث به وجود آمدن هزینه‌های اضافی می‌شود. فقط باید به این نکته توجه اساسی شود که موفقیت در امر درمان بستگی به آغاز درمان در مراحل اولیه پنومونی و ثابت نگه داشتن غلظت درمانی داروی ضد میکروبی مؤثر در سرم برای مدت کافی دارد و متداول‌ترین علت شکست‌های درمانی به ترتیب اهمیت شامل آغاز درمان در مراحل پیشرفته بیماری، مقدار ناکافی و دوره درمانی کم و مقاومت باکتری‌ها بر علیه داروهای ضد میکروبی می‌باشد.

## منابع

- 1- Alsemgeest S, Kalsbeek H, Wensing T, Koeman J, Van Ederen A, Gruys E. Concentrations of serum Amyloid-a (SAA) and haptoglobin (HP) as parameters of inflammatory diseases in cattle. *Veterinary Quarterly*. 1994;16(1):21-3.
- 2- Bednarek, D., Zdzisinska, B., Kondracki, M., and Kanderfer-Szerszen, M. (2003) Effect of steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs in combination with long-acting oxytetracycline on non-specific immunity of calves suffering from enzootic bronchopneumonia. *Vet. Microbiol.* 96:53-57.
- 3- Crews CE. (2014) Isoflupredone acetate as ancillary therapy for bovine respiratory disease in high-risk stocker calves. *Animal Science Undergraduate Honors thesis*. 5.
- 4- Friton G, Cajal C, Ramirez-Romero R. (2005) Long-term effects of meloxicam in the treatment of respiratory disease in fattening cattle. *The Veterinary Record*. 156(25):809-11.
- 5- Godson DL, Campos M, Attah-Poku SK, Redmond MJ, Cordeiro DM, Sethi MS, et al. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1996;51(3-4):277-92.
- 6- Higuchi H, Katoh N, Miyamoto T, Uchida E, Yuasa A, Takahashi K. Dexamethasone-induced haptoglobin release by calf liver parenchymal cells. *American journal of veterinary research*. 1994;55(8):1080-5.
- 7- Koj A. Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 1996;1317(2):84-94.
- 8- Mohammadi GR, Sharifi K, editors. Comparison of the therapeutic effects of florfenicol and tilmicosin in Enzootic Calf Bronchopneumonia. 9th international congress of the european Association for veterinary pharmacology and toxicology; 2003.
- 9- Poulsen KP, McGuirk SM. (2009) Respiratory disease of the bovine neonate. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 25(1):121-37.