

بررسی فعالیت طبیعی آنزیمهای سرمی (LDH و ALP, ALT, AST) در سه‌گونه ماهی کپور معمولی، کپور علفخوار و کپور نقره‌ای

• رحیم پیغان و • محمد راضی جلالی، اعضا هیات علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و • فیروزه دستورنژاد، دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: اسفند ماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: تیر ماه ۱۳۸۲

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 58 PP: 90-93

Study of normal serum enzymes (ALT, AST, ALP, LDH) levels in common carp, grass carp and silver carp

By: R. Peyghan, Department of Clinical Sciences, Veterinary Faculty, Shahid Chamran University. Mohammad Razi Jalaly. Department of Clinical Sciences, Veterinary Faculty, Shahid Chamran University. Firozah Dastournejad. Graduated from Veterinary Faculty, Shahid Chamran University.

In this study, the serum enzymes (ALT, AST, ALP, LDH) were determined in three carp species: Grass carp, silver carp, and common carp. For this purpose 50 blood samples were taken from each species. The fishes were apparently normal. The averages of LDH, ALP, ALP, AST, ALT values in common carp were 1125, 285, 53 and 18 unit respectively. These averages in grass carp were 1540, 255, 34 and 16 unit, and in silver carp were 1556, 126, 40 and 14 respectively. The range of LDH activity in grass carp was between 1484 and 1595. This range for silver carp was between 1462 and 1650 and 1000 and 1250 in common carp. For ALP this range in grass carp was between 196 and 314, in silver carp between 97 and 156 and in common carp between 234 and 337. The range of AST activity in grass carp was between 26 and 44 in silver carp 33-34 and 43-63 common carp. The ALT activity was 13-18 in grass carp 11-16 in silver carp and 11-16 in silver carp and 15-21 in common carp. The range of LDH enzyme activity in common carp was significantly higher than two other species ($p < 0.05$). ALP level in silver carp was significantly lower than in the other species ($p < 0.05$). The average of AST activity in common carp was significantly higher than grass carp ($p < 0.05$). There wasn't any significant difference between these three fish species in the ALT levels.

Keywords: Carp, Serum enzymes, ALT, AST, ALP, LDH.

چکیده

در این مطالعه آنزیمهای سرمی آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین ترانس آمیناز (ALT)، آسپارتیت ترانس آمیناز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) در سه‌گونه ماهی کپور معمولی، کپور علفخوار و کپور نقره‌ای استان خوزستان مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار از ۱۵۰ قطعه ماهی به ظاهر طبیعی خونگیری به عمل آمد (از هر گونه ۵۰ قطعه). در ماهی کپور معمولی متوسط آنزیمهای AST، ALP، LDH و ALT به ترتیب ۱۸، ۵۳، ۲۸۵ و ۱۱۲۵ واحد بین‌المللی بوده است. در ماهی کپور علفخوار متوسط این آنزیمهای به ترتیب ۱۶، ۴۰، ۱۲۶، ۱۴ و در ماهی کپور نقره‌ای به ترتیب ۳۴، ۲۵۵ واحد بین‌المللی بوده است. محدوده فعالیت آنزیم ALT در ماهی کپور علفخوار ۱۸-۱۳ به دست آمده است. این محدوده در ماهی کپور معمولی ۱۱-۱۶ و در ماهی کپور نقره‌ای ۱۱-۱۶ واحد بین‌المللی بوده است. محدوده فعالیت آنزیم LDH در ماهی کپور علفخوار ۱۵۵۶ به دست آمده است. این محدوده در ماهی کپور نقره‌ای ۱۴۸۴-۱۵۹۵ واحد بین‌المللی بوده است. محدوده فعالیت آنزیم ALP در ماهی کپور علفخوار ۱۴۶۱-۱۶۵۰ به دست آمده است. این محدوده در ماهی کپور نقره‌ای ۱۲۵۰-۱۰۰۰ بوده است. محدوده فعالیت آنزیم AST در ماهی کپور علفخوار ۱۹۷-۳۱۴ به دست آمده است، این محدوده در ماهی کپور نقره‌ای ۹۷-۱۵۶ و در ماهی کپور معمولی ۲۳۴-۳۳۷ بوده است. محدوده فعالیت آنزیم ALP در ماهی کپور علفخوار ۲۶-۴۲ به دست آمده است، این محدوده در ماهی کپور معمولی ۳۲-۴۶ و در ماهی کپور نقره‌ای ۴۳-۶۳ بوده است. متوسط آنزیم LDH در سه‌گونه ماهی کپور نقره‌ای ۲۶-۴۲ به دست آمده است. این محدوده در ماهی کپور معمولی ۳۲-۴۶ و در ماهی کپور نقره‌ای ۹۷-۱۵۶ به دست آمده است. این آنزیم در سه‌گونه ماهی کپور نقره‌ای به طور معنی‌داری داشته است ($p < 0.05$). این آنزیم در ماهی کپور نقره‌ای به طور معنی‌داری داشته است ($p < 0.05$). متوسط آنزیم AST در ماهی کپور نقره‌ای به طور معنی‌داری داری داشته است ($p < 0.05$). در مقایسه آنزیم ALT تفاوت معنی‌داری بین سه‌گونه ماهی مشاهده نشد ($p > 0.05$).

کلمات کلیدی: کپور، آنزیمهای سرمی، آلکالین فسفاتاز، الانین ترانس آمیناز، آسپارتیت ترانس آمیناز و لاکتات دهیدروژناز

کپور معمولی

در این بررسی در ماهی کپور معمولی متوسط آنزیم ALP، AIT، AST، LDH و محدوده فعالیت آنزیم LDH (۱۲۵-۱۱۸)، ALT (۴۳-۶۲)، AST (۲۲۴۰-۳۳۷) به دست آمده است.

کپور علفخوار

در ماهی کپور علفخوار متوسط آنزیم ALP، AST، LDH به ترتیب (۱۶، ۳۴، ۲۵۵) و محدوده فعالیت آنزیم LDH (۱۹۷-۳۱۴)، ALT (۱۳-۱۸) به دست آمده است.

کپور نقره‌ای

در ماهی کپور نقره‌ای متوسط آنزیم AST، LDH به ترتیب (۱۵۵۶، ۲۸۵)، ALT (۱۱۸، ۴۰) و محدوده فعالیت آنزیم LDH (۱۴۶۱-۱۶۵۰)، ALT (۳۳-۴۶) به دست آمده است.

مقایسه بین سه گونه ماهی مورد مطالعه

میزان آنزیم LDH در سه گونه ماهی مورد مطالعه اختلاف معنی داری داشته است ($p < 0.05$). به نحوی که میزان این آنزیم در ماهی کپور معمولی بدطور معنی دار از دو ماهی دیگر کمتر بوده است. در مقایسه آنزیم ALP در سه ماهی مذکور نیز اختلاف معنی دار مشاهده شده ($p < 0.05$). این آنزیم در ماهی کپور نقره‌ای به طور معنی داری از دو ماهی دیگر کمتر بوده است. متوسط آنزیم AST در کپور معمولی به طور معنی داری از کپور علفخوار پیشتر بوده است ($p < 0.05$) در مقایسه ALT، تفاوت معنی داری بین سه گونه ماهی مشاهده نشد ($p > 0.05$).

بحث

در این تحقیق فعالیت برخی آنزیمهای سرمی (LDH، ALP، AST، ALT) در سه گونه ماهی کپور معمولی، کپور علفخوار و کپور نقره‌ای استان خوزستان اندازه گیری شد. تاکنون گزارشی در مورد میزان آنزیمهای سرمی در کپور ماهیان پرورشی وجود ندارد. اغلب مطالعات انجام شده بر آنژیمها سرمی دیگر ماهیان بررسی این تغییرات در حالت پاتولوژیک بوده است و محدوده فعالیت این آنزیمهها کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. کیفیت و کمیت توزیع هفت آنزیم در اندامهای مختلف ماهی قرل آلای رنگین کمان بررسی شده است (۱۱).

در این تحقیق با استفاده از کیت‌های اختصاص ریست شیمی فعالیت چهار آنزیم LDH، ALP، ALT و AST اندازه گیری گردید. با توجه به اینکه این کیت‌ها فعالیت آنزیمهای را اندازه گیری می‌کنند، و سوبستران آنزیم یعنی اسیدهای آmine در دامهای مختلف یکسان هستند بنابراین این کیت‌ها استفاده ای از این کیت‌ها را می‌توانند بازیابی کنند. این کیت‌ها می‌توانند آنژیمها را در سه گونه ماهی می‌توانند نمود. بنابراین سنجش فعالیت آنزیمهای مایعات بیولوژیکی می‌تواند نحوه کارکرد و آسیب‌های احتمالی بافتها و اعضای مختلف را به ما نشان دهد. امروزه اندازه گیری این آنزیمهها در پلاسمای خون انسان و دام، در تشخیص بافت‌های آسیب دیده داخلی کاربرد فراوانی دارد. همچنین افزایش غلط از سرمی آنزیم ممکن است ناشی از افزایش تولید آنزیم و ورود به داخل خون (مانند افزایش آکالین فسفاتاز در مورد انسداد مجاري صفراوي) باشد، یا کاهش مقدار آنزیم ناشی از کاهش تولید و سنتز کدی (مانند آنزیم کولین استراز) باشد. البته ذکر این نکته ضروری است که علاوه بر عوامل بیماری (باکتریها، ویروسها، فارچها و مسمومیت‌ها) آنزیمهای سرمی تحت تأثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و محیطی نیز قرار می‌گیرند، برای مثال نوع جریه غذایی، دمای محیط، سن ماهی و شوری در میزان آنزیمهای سرمی و فعالیت آنها مؤثر است (۸).

علفخوار و کپور نقره‌ای پرورشی (از هر کدام ۵۰ قطعه) با استفاده از تور پره صنید گردید. ماهیهای صید شده در محدوده وزنی ۴۰۰ تا ۹۵۰ گرم بوده‌اند و فاقد آلدگی انگلی و علائم بیماری بودند. بلافاصله بعد از صید از استخر، ماهیها را با وارد کردن ضربه به سرخاخی کرده و از ساقه دمی آنها به میزان تقریباً ۲ میلی لیتر خون (بدون ماده ضد انعقاد) گرفته شد. خون گرفته شده در لوله آزمایش ریخته شده و پس از انعقاد سرم آن جدا گردید.

مقدمه

آنژیمهای سرمی در حالت طبیعی در غشاء سلولی، میتوکندریها و سیتوپلاسم سلولهای بافت‌های مختلف بدن فعالیت می‌کنند و در سرم خون به میزان ناجیزی وجود دارند. هنگامی که سلول چهار آشفتگی شود، آنزیمهای مایعات بین بافتی و از آنچه به سرم خون و مایع مغزی نخاعی وارد می‌شوند و باعث افزایش فعالیت این آنزیمهای مایعات بیولوژیکی می‌تواند نحوه کارکرد و آسیب‌های احتمالی بافتها و اعضای مختلف را به ما نشان دهد. امروزه اندازه گیری این آنزیمهها در پلاسمای خون انسان و دام، در تشخیص بافت‌های آسیب دیده داخلی کاربرد فراوانی دارد. همچنین افزایش غلط از سرمی آنزیم ممکن است ناشی از افزایش تولید آنزیم و ورود به داخل خون (مانند افزایش آکالین فسفاتاز در مورد انسداد مجاري صفراوي) باشد، یا کاهش مقدار آنزیم ناشی از کاهش تولید و سنتز کدی (مانند آنزیم کولین استراز) باشد. البته ذکر این نکته ضروری است که علاوه بر عوامل بیماری (باکتریها، ویروسها، فارچها و مسمومیت‌ها) آنزیمهای سرمی تحت تأثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و محیطی نیز قرار می‌گیرند، برای مثال نوع جریه غذایی، دمای محیط، سن ماهی و شوری در میزان آنزیمهای سرمی و فعالیت آنها مؤثر است (۸).

تعییرات آنزیمهای سرمی ماهی در سیاری از بیماریها غافونی (بیماریهای ویروسی، باکتریایی، قارچی و انگلی گزارش شده است (۲، ۴، ۱۰). اخیراً تلاشهایی برای استفاده از آنزیمهای سرمی به عنوان ابزاری در تشخیص مسمومیت‌های ماهی مثل مسمومیت با آمونیاک نیز صورت گرفته است (۹، ۶، ۳). هرچند الگوی توزیع آنزیمهای دام در پلاسمای اندامهای مختلف برخی ماهیها از جمله ماهی قزل آلای رنگین کمان بررسی گردیده است (۷، ۵). اما فعالیت این آنزیمهای ماهی در ماهیها و شرایط مختلف، متفاوت می‌باشد. آنزیم آمینوترافسفارازها (AST و ALT) به طور وسیع در بافت‌های حیوانی توزیع گردیده‌اند و به طور فراوانی در سرم و همچنین صفا و مایع مغزی - نخاعی وجود دارند. حضور این آنزیمهای میتوکندری و سیتوپلاسم اغلب سلولهای پلاسمای از اختصاصی بودن آنها می‌گاهد ولی به همراه دیگر آنزیمهای معیار خوبی برای تشخیص تخریب سلولهای کبدی یا عضلانی می‌باشند (۱). ALT و AST در بافت‌های مختلف بدن ماهی شبیه بقیه مهره‌داران می‌باشند.

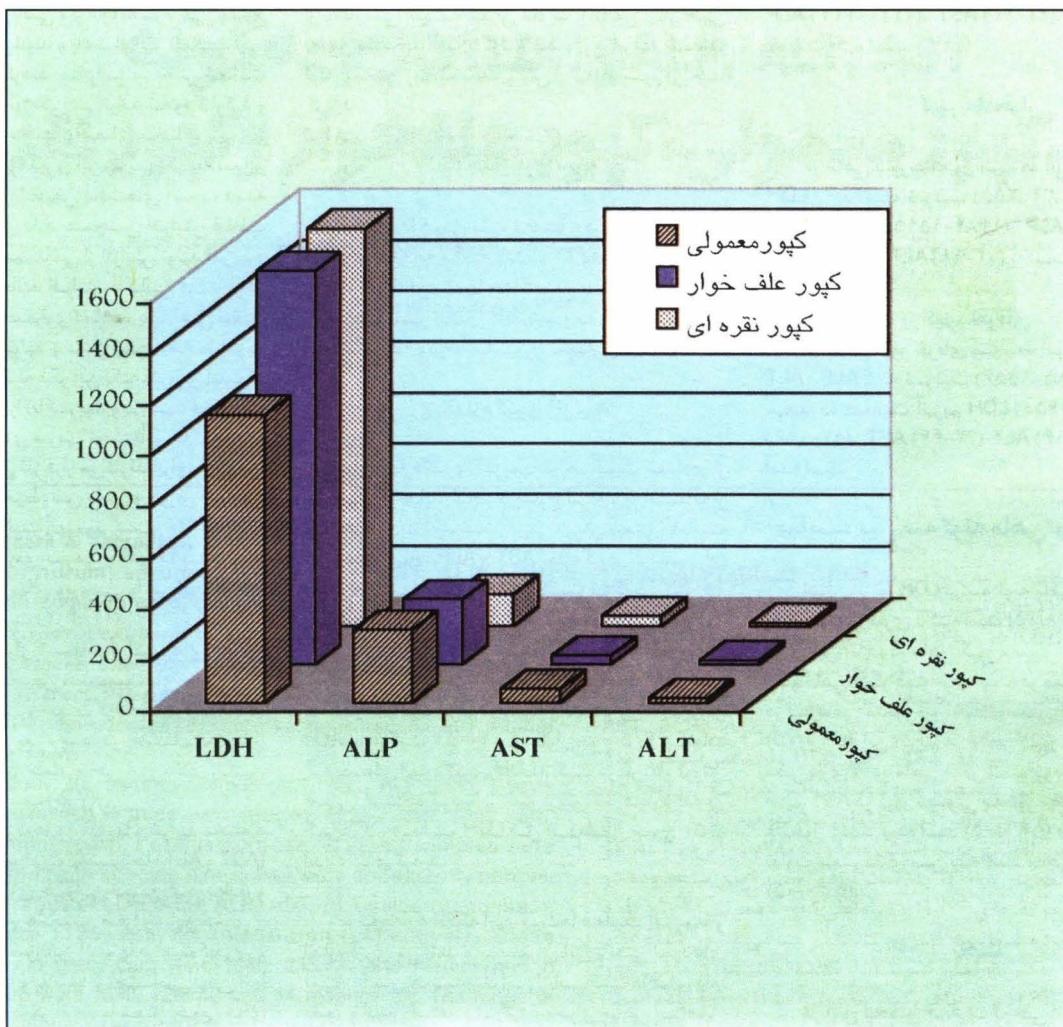
با توجه به اینکه در ارتباط با مقادیر طبیعی آنزیمهای سرمی کپور ماهیان گزارشی وجود ندارد این تحقیق با هدف بررسی فعالیت برخی آنزیمهای سرمی (LDH، ALP، AST، ALT) در سه گونه ماهی کپور علفخوار، کپور نقره‌ای، کپور معمولی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید. در این آزمون میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار مینی تب ۱۰/۵ (Mini tabver.10.5) (Mini tabver.10.5) مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

مقادیر آنزیمهای سرم در ماهیان مورد مطالعه، در جدول و شکل ۱ نشان داده شده است. جزئیات نتایج نیز براساس نوع ماهی و مقایسه بین آنها در ذیل آورده شده است.

روش کار الف: نمونه گیری

تعداد ۱۵۰ قطعه ماهی کپور معمولی، کپور



انتقال صید در گربه ماهی روگاهی باعث افزایش LDT می شود. وجود همولیز در پلاسمانیز می تواند میزان LDH سرم را افزایش دهد که در مورد نمونه های گرفته شده در این تحقیق با توجه به اینکه همولیز بودند این موضوع نمی تواند تاثیرگزار باشد.

آنژیم لاکتانات دهیدروژناز در همه بافت های بدن مهره داران موجود است و دارای ایزو آنزیمهای مختلف می باشد و اختصاص به بافت خاصی ندارد. میزان ایزو آنزیمهای LDH تحت کنترل ژنتیکی می باشد ولی از عوامل محیطی هم تأثیر می بذیرد. همچنین گفته شده وقتی خون از رگ دمی گرفته می شود افزایش زیادی در

اختلاف معنی داری داشته است به نحوی که میزان این آنزیم در ماهی کپور معمولی به طور معنی داری از دو ماهی دیگر کمتر بوده است. در ارتباط با میزان طبیعی این آنزیم در کپور ماهیان گزارشی وجود ندارد. برای توجیه این تفاوت دلایل مختلفی ممکن است وجود داشته باشد. یکی از دلایل آن ممکن است اختلاف گونه ای باشد. همچنین ماهی کپور، ماهی مقاومی است و شرایط سخت را بیشتر تحمل می کند و نقل و انتقال هنگام صید و استرس ممکن است با ضایعات کمتر و در نتیجه تعییرات کمتری در آنزیم LDT همراه باشد. در حالی که تأثیر استرس و ضایعات بافتی هنگام نقل و

عوامل محیطی و فیزیولوژیک متعددی از قبیل (سن، شوری آب، فصل سال، وضعیت بلوغ، جنس، دمای محیط، نوع تغذیه) در میزان آنزیمهای سرمی و فعالیت آنها مؤثرند (۸). از آنجا که ماهیان مورد مطالعه همه پرورشی هستند و پرورش این سه گونه به صورت توانم بوده است، پس شرایطی مانند شوری آب، درجه حرارت و pH برای هر سه گونه آنزیم یکسان بوده است. همچنین فصل نمونه گیری پاییز (فصل صید) انجام شده است و شرایط نگهداری سرمها کاملاً مشابه بوده است. سن تمام ماهیها نیز یکسان بوده است.

میزان آنزیم LDH در سه گونه ماهی مورد مطالعه

- 5- Gaudet, M.; Racicot, J.G. and Leray, C. 1975. Enzyme activities of plasma and selected tissues in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of Fish Biology. 7: 505-512.
- 6- Jeney, G; Nemcsok, J; Jeney, Z and Olah, G. 1992. Acute effect of sublethal ammonia concentrations on common carp (*Cyprinus Carpio*) 2- effect of ammonia on blood plasma transaminases (GOT, GPT), LDH enzyme activity, and ALP value. Aquaculture. 104:149-156.
- 7- Keller, P; Schulze, J. 1987. Organ and plasma distribution pattern of enzyme in rainbow trout. Animal physiology pathology and clinical veterinary medicine. 34: 5.393-400.
- 8- Meese. J. 1990. Studies on the biological variability of enzyme activities in blood plasma of carp (*Cyprinus carpio*) as a basis for reference data determination. Fortschr. Fisch. Wiss. 9. PP: 69-91.
- 9- Peyghan, R. Azary Takami, G. 2001. Serum enzyme, cholesterol and urea changes in acute toxicity of ammonia in common carp *Cyprinus carpio* and using natural zeolit for prevention. Aquaculture Europe 2001. Trondheim - Norway.
- 10- Scheinert, P; Hoffman, R. 1986. Enzyme serological examination of *Salvelinus alpinus* infected with triaenophorus nodulosus in lake konigssee. berliner und munchener trieraztliche wochenschrift. 99: 11. 383-386.
- 11- Scheinert, P; Hoffman, R. 1987. Qualitative and quantitative distribution of seven enzymes in organs of rainbow trout and carp. Animal physiology pathology and clinical veterinary medicine. 34: 5. 339-343.

جدول ۱: مقادیر متوسط ± انحراف معیار آنزیم های مورد مطالعه در سه ماهی کپور معمولی، علفخوار و نقره ای

آنزیم ماهی	LDH (IU/L)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	ALP (IU/L)
کپور معمولی	۱۱۲۰±۶۲	۱۸±۲	۵۲±۵	۲۸۵±۲۵
کپور نقره ای	۱۵۵۶±۴۷	۱۴±۱	۴۰±۲	۱۲۶±۱۵
کپور علفخوار	۱۵۴۰±۲۸	۱۶±۱	۲۴±۴	۲۵۰±۲۹

این آنزیم نیز در کپور ماهیان گزارشی وجود ندارد. از میزان فعالیت آنزیم ALT، در سگ و گربه برای تشخیص بیماریهای کبدی استفاده می شود. در پرندگان برحسب گونه آنها و در بافت های گوناگون فعالیت متفاوتی دارد. ALT شاخص خوبی برای ضایعات کبدی در ماهی می باشد. ولی در کلیه، آبسش، عضله و قلب نیز فعالیت بالاتر دارد.

به طور کلی در این بررسی به دلیل حذف عواملی از قبیل تفاوت در دمای آنالیز سرم ها، دمای نگهداری سرم ها (برای همه سرم های بکسان بوده) و عدم وجود همولیز، احتمالاً تفاوت حاصله نشانگر یک تفاوت گونه ای بین ماهیها است. ولی با توجه به اینکه در این رابطه اطلاعات پایه ای بسیار محدود است، بنابراین ضروری است تحقیقات تکمیلی دیگر در مورد مقادیر طبیعی این آنزیم ها در شرایط مختلف صورت گیرد. تا در نهایت بتوان محدوده طبیعی این آنزیمه را بدست آورده و از آنها به عنوان مقابسه با حالات غیرطبیعی و تشخیص بیماریها استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

- 1- Coles, E.H. 1986. Veterinary clinical pathology. Saunuders company. 4 th edition, PP: 294-296.
- 2- Duran, A., Rodriguez; Apricio. L.B; Reglero, A; Perez and Diaz, J. 1987. Changes in serum enzymes of saprolegnia infected brown trout, *Salmo trutta* l. Journal of fish diseases. 10: 6. 505-507.
- 3- Franzbuche, R and Hofer, R. 1990. Effect of domestic wastewater on serum enzyme activities of brown trout (*Salmo trutta*). Institute fur zoologie, university of insbruck, vol. 97c, no. 2, PP: 381-385.
- 4- Grizzle, J.M; Kiry, R. 1993. Histopathology of gill, liver and pancreas and serum enzyme levels of channel catfish infected with *Aeromonas hydrophila* complex. Journal of Aquatic Animal Health. 5: 1. 36-50.

فعالیت آنزیمهای پلاسمای خصوصاً LDH مشاهده می شود که منشاء آن عضلات اطراف عروق می باشند در مورد LDH لگنده شده که دما با مدت زمان ذخیره سرم تغییر مهیم در فعالیت LDH ندارد(۵). در مقایسه آنزیم ALP در سه ماهی مذکور نیز اختلاف معنی دار مشاهده شد، این آنزیم در ماهی کپور نقاهه ای به طور معنی داری از دو ماهی دیگر کمتر بوده است. در ارتباط با میزان طبیعی این آنزیم نیز در کپور ماهیان گزارشی وجود ندارد. آنزیم آکالینی فسفاتاز سرم از گروهی ایزو آنزیم تشکیل شده که در تعداد زیادی از سلولها وجود دارد ولی فقط فعالیت تعداد کمی از آنها در حدی است که از اهمیت بالینی برخوردار باشد. احتمالاً استخوان بیش از هر بافت دیگر حاوی فسفاتاز کلیایی است این موضوع به ویژه در حیوانات جوان و در حال رشد صادق بوده و فعالیت آنزیم در استخوانهای این دامها بیشتر از دامهای بالغ است. وجود همولیز در نمونه خون گرفته شده باعث افزایش ALP می شود گفته شده به طور عمومی میزان این آنزیم در انسان در مردان بیش از زنان است که ممکن است مربوط به اختلاف وزن استخوان بندی باشد (۱). بنابراین جنسیت نیز در میزان آنزیمهای سرمی موثر است. ولی با توجه به اینکه در این بررسی از هر دو جنس نر و ماده نمونه گیری شده و نتایج حاصل از بررسی نشان داده که تأثیر جنسیت برای گونه های ماهی مورد مطالعه بکسان بوده است. احتمالاً تفاوت گونه ای ایجاد کننده این تغییرات می باشد.

در مقایسه آنزیم AST در سه ماهی مذکور مشاهده شد که کپور علفخوار و کپور معمولی با هم تفاوت دارند، که در کپور علفخوار کمتر از دو ماهی دیگر و در کپور معمولی میزان گزارشی فعالیت آنزیم بیشتر از دو ماهی دیگر است. در ارتباط با میزان طبیعی این آنزیم در کپور ماهیان گزارشی وجود ندارد. همولیز خون سبب افزایش فعالیت آنزیم در سرم خون می شود. سرم اسب به طور معمول بالاتر از دیگر حیوانات بوده است. سرم خون گوسفند اگر در یخچال نگهداری شود یا يخ زده شود یک افزایش عمده در میزان AST اتفاق می افتد میزان AST سرم همه حیوانات در حرارت آزمایشگاه ۲۵±۵ درجه سانتیگراد (کمی افزایش می یابد (۱).

در مقایسه آنزیم ALT تفاوت معنی داری بین سه گونه ماهی مشاهده نشد. در ارتباط با میزان طبیعی