ระดับของไวตามิน อี ในพลาสมาและเฮโมไลซีส ในลูกกระบือ

PLASMA VITAMIN E AND HEMOLYSIS IN BUFFALO'S CALVES

บุญพร้อม อิงคเวชชากุล[1] Boonprom Enkvetchakul

มนวิภา จารุตามระ[2] Monvibha Charutamra

รังสรรค์ ตั้งตรงจิตร[3] Rungsunn Tungtrongchitr

อัจฉรา ธวัชสิน[4] Achara Tawatsin

1. กำลังศึกษาต่อที่ประเทศสหรัฐอเมริกา

Studying in the U.S.A.

2. กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กรุงเทพ 10400

Feed Quality Control Division, Dept. of Livestock Development

Bangkok, 10400

3. ภาควิชาโภชนศาสตร์เขตร้อนและวิทยาศาสตร์อาหาร คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล กท. 10400

Dept. of Tropical Nutrition and Food Science, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok 10400

4. ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ 10500

Dept. of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10500

ABSTRACT

The relationship between vitamin E level in plasma of buffalo calves and hemolysis was studied. It was found that the average vitamin E level of group with hemolysis was significantly lower than the normal's (0.878 ± 0.099 μg/ml vs 1.405 ± 0.222 μg/ml) ($p<0.001$). The data also showed that the group with hemolysis had the level of vitamin E in plasma which was lower than the critical level(1.0 μg/ml), suggested by Mc Murray (1980). This indicated that vitamin E deficiency in buffalo calves could lead to cause fragility of red blood cell.

คำนำ

ไวตามินอี (α-tocopherol) เป็นไวตามินที่มีความสำคัญต่อร่างกายของคนและสัตว์ ในปี 1950 Rose และ Gyorgy พบว่าไวตามินอี สามารถป้องกันการแตกของเม็ดเลือดแดงที่เป็นผลมาจากการ Oxidation และในปัจจุบันก็เป็นที่ยอมรับทั่วไปว่า การขาดไวตามินอีที่เกิดขึ้นทั้งในคนและสัตว์นั้น เป็นผลให้เม็ดเลือดแดงแตกง่ายและมีอายุสั้น (Brownlee และคณะ 1977, Leonard และ Losowsky 1971,Oski และBarness 1967, Kameda และคณะ 1985)

การศึกษาครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อตรวจหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับไวตามินอีในพลาสมากับการแตกของเม็ดเลือดแดงในลูกกระบือออายุต่ำกว่า 6 เดือน

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

การศึกษาครั้งนี้ใช้ลูกกระบือ 2 เพศ อายุต่ำกว่า 6 เดือน จำนวน 20 ตัว เจาะเลือดจากลูกกระบือที่บริเวณ jugular vein โดยใช้ heparin เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (ลูกกระบือได้รับการถ่ายพยาธิด้วย Nemafax เป็นเวลา 1 เดือนก่อนการเจาะเลือด)

เลือดที่ได้แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ส่วนที่นำไปตรวจหาระดับของ hemoglobin โดยใช้ Spectrophotometer เทียบสี Cyamet

hylmoglobin ส่วนที่ 2 นำไปแยกพลาสมา แล้วนำไปตรวจหาปริมาณไวตามินอี โดยใช้ Spectrofluorometer ตามวิธีของ Meshali และ Nightingale (1974) เลือดส่วนที่ 3 นำไปแช่ตู้เย็นทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วนำมาปั่นแยกพลาสมาและนำมาเทียบกับพลาสมาที่ได้จากส่วนที่ 2

การตรวจผลทางสถิติใช้ Student t-test

ผลการทดลอง

ผลของการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าลูกกระบือที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง มีค่าเฉลี่ยของระดับไวตามินอีในพลาสมา เท่ากับ 0.879±0.099 µg/ml ส่วนกลุ่มปกตินั้นมีค่าเฉลี่ยของระดับของไวตามินอี เท่ากับ 1.405 ±0.222 µg/ml ค่าเฉลี่ยของทั้ง 2 กลุ่ม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) ส่วนค่าเฉลี่ยของระดับของ hemoglobin ของลูกกระบือทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของระดับไวตามินอี ใน plasma(µg/ml) และ hemoglobin(mg %) ของลูกกระบือ

	กลุ่มปกติ $\bar{X}$±SD จำนวน 10 ตัว	กลุ่มที่พบการแตกของเม็ดเลือดแดง $\bar{X}$±SD จำนวน 10 ตัว
ไวตามิน อี ในพลาสมา	1.405±0.222 (1.16-1.89)	0.879±0.099 (0.68-0.99)
hemoglobin	14.64±1.78 (11.50-17.40)	14.39±1.90 (11.00-17.00)

วิจารณ์

การขาดไวตามินอี เป็นผลให้เม็ดเลือดแดงแตกง่าย และเชื่อกันว่าไวตามินอี มีส่วนในการทำหน้าที่เป็น antioxidant ป้องกันการเกิด lipid peroxide ของผนังเซล (Brownlee และคณะ, 1977, Leonard และ Losowsky, 1971, Oski และ Barness, 1967, Kameda และคณะ 1985) จากการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของระดับไวตามินอีของกลุ่มที่พบการแตกของเม็ดเลือดแดงมีค่าต่ำกว่า 1 μg/ml ซึ่งเป็นระดับที่ Mc Murray (1980) ถือว่าเป็น critical level แสดงการขาดไวตามินอีในลูกโค ดังนั้นจึงอาจจะเชื่อได้ว่าระดับนี้น่าจะใช้บ่งชี้การขาดไวตามินอีในลูกกระบือได้

สรุป

การทดลองครั้งนี้มีจะมุ่งหมายเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับไวตามินอีในพลาสมากับการ hemolysis ในลูกกระบือ ผลการทดลองพบว่า ระดับของไวตามินอีของลูกกระบือกลุ่มที่มีการ hemolysis มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.878 ± 0.099 μg/ml ส่วนกลุ่มปกติมีค่าเท่ากับ 1.405 ± 0.222 μg/ml ค่าเฉลี่ยทั้งสองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.001$ นอกจากนั้นยังพบว่า กลุ่มที่มี hemolysis มีระดับไวตามินอี ในพลาสมาต่ำกว่า critical level ที่ใช้บอกการขาดไวตามินอีในลูกโค (Mc Murray, 1980) ซึ่งพอจะสรุปได้ว่าการขาดไวตามินอีในลูกกระบือมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงแตกง่าย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ ผู้ใหญ่บ้านและกำนันตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ ที่อำนวยความสะดวกและช่วยบังคับสัตว์

เอกสารอ้างอิง

Brownlee, N.R., Huttner,J.J., Panganamala, R.V. and Cornwell, D.G. 1977. Role of vitamin E in glutathione-induced oxidant stress: methemoglobin, lipid peroxidation and hemolysis. J. Lipid Res., 18 : 635-644.

Kameda, K., Imai, M. and Senjo, M. 1985. The effect of vitamin E deficiency on some erythrocyte membrane properties. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 31 : 481-490.

Leonard, P.J. and Losowsky, M.S. 1971. Effect of alpha-tocopherol administration on red cell survival in vitamin E deficient human subjects. Am.J.Clin.Nutr., 24 : 388-393.

Mc Murray, C.H. 1980. Nutritional supplies, requirements and effects of deficiencies of vitamin E and selenium. Proceeding of the Roche Symposium, London, October 23, 1-43.

Meshali, M.M. and Nightingale, C.H. 1974. Improved method for micro-determination of plasma vitamin E in laboratory rats. J. Pharm. Sci., 63 : 1084-1086

Oski, F.A. and Barness, L.A. 1967. Vitamin E deficiency: a previously unrecognized cause of hemolytic anemia in the premature infant. J. Pediatr., 70 : 211-220.

Rose, C.S. and Gyorgy, P. 1950. Hemolysis with alloxan and alloxan-like compounds and the protective action of tocopherol. Blood, 5 : 1062-1074.

อภินันทนาการจาก

บริษัท ยูเนี่ยนแคสแทป จำกัด

67/224 ซอยเสนานิคม 1 ถนนพหลโยธิน

ลาดพร้าว บางกะปิ กรุงเทพฯ10230

โทร. 5792328, 5794412, 5794591, 5795245

ผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มผลกำไรต่อปศุสัตว์ไทย

ผู้แทนจำหน่ายผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์จาก

วัคซีนสำหรับไก่ทุกชนิด
บริษัท ซีว่า ลาบอราเทอรี่ จำกัด, สหรัฐอเมริกา

วัคซีนสำหรับสุกรทุกชนิด
บริษัท ไต้หวันโดเมสติคแอนนิมอลเคมีคอล
แอนด์ฟาร์มาซูทีคอล จำกัด, ไต้หวัน

ยาฉีดและยาละลายน้ำ
บริษัท แคนาดาแพคเกอร์ จำกัด, แคนาดา

ยาฉีดและยาละลายน้ำ
บริษัท เอ เอส อี ยุโรป เอ็น วี จำกัด, เบลเยี่ยม

ยาฉีดและยาละลายน้ำ
บริษัท โปรชีน่า จำกัด , อิตาลี

GLYCOPROTEINS

An Important Part of Enveloped Viruses

Penchan Phillips

Veterinary Biologics Center, Pak Chong, Nakornrachasima 30130

ABSTRACT

The viral glycoproteins are essential for both the attachment of viruses to the cell membranes and the penetration of viral genomes. They can be purified and prepared for inactivated viral vaccines. These glycoproteins can be classified into a simple or a complex form. The carbohydrate and peptide moieties of both types are bonded by a beta N-glycosidic linkage. The synthesis of viral glycoprotein depends on cellular glycosyltransferase which located in the rough endoplasmic reticulum.

Introduction

Glycoproteins are essential determinants of infectivity of enveloped viruses and for that reason they have been of interest to scientists for the pathogenesis of viral infections. Vaccine can be produced experimentally from viral glycoproteins.

Location and Structure

In all enveloped virus studied so far, glycoproteins have been detected (Choppin and Scheid,1980). Within the virion they are usually associated with the envelope where they are visualized by electron microscopy as pretrusions called spikes. Most investigators have focused on glycoproteins of rhabdoviruses, orthomyxoviruses and paramyxoviruses and identified them as essential for virus attachment to cell receptors and for the penetration of the viral genome into the cytoplasm of the cell (Choppin and Compans,1977; Choppin and Scheid,1980; Compans and Choppin,1975; Wagner,1975). This theory has been supported by the observation that removal of the spikes by treatment with glycosidases of proteases destroyed viral infectivity (Laver,1971; Londberg-Holm and Philipson,1974).

Function

It is also of interest that all orthomyxoviruses and some of the paramyxoviruses carry on their surfaces an enzyme; neuraminidase, which cleaves neuraminic acid containing receptors on cell surfaces (Compans and Choppin,1975; Choppin and Compans,1977). For that reason, neuraminic acid is not a component in viral glycoproteins of orthomyxoviruses.

Studies with host-range restricted mutants of parainfluenza viruses have revealed that viral glycoproteins are the host-range determinants (Klenk et al,1974); Lazarowitz et al,1973). Thus, when the restricted virus is treated with a protease such as trypsin, and the glycoprotein-containing receptors of the virus are modified or activated, the restriction was removed (Klenk et al,1974; Lazarowitz et al,1973). Modification of viral glycoproteins seem to be less important for virus attachment than for preparation of the viral envelope to fuse with the cell membrane a process described as penetration (Nagai et al,1976). From these studies, it is evident and has been broadly accepted among virologists that infection of cells

with enveloped viruses rely on a complex interplay between glycoprotein-containing receptors on the viral envelope and the cell membrane as well as essential cofactors such as cell membrane associated enzymes which modify viral receptors.

Haemagglutinating Properties

From in-vitro studies of the interaction of orthomyxoviruses and some paramyxoviruses with red blood cells, it has been shown that the receptors on the red blood cell membrane are highly specific for these viruses (Compans and Choppin,1975; Choppin and Compans,1977). Later studies show that the hemagglutinating properties of these viruses resided in one of the two glycoproteins of the envelope. The other glycoproteins are identified as a neuraminidase or, as with some paramyxoviruses,, the cell fusion factor (F) (Choppin and Compans,1977; Compans and Choppin,1975).

Viral Vaccine Production

The hemagglutinins of these viruses can elicit the protective immune response of the host and be readily purified from concentrated virus preparations . Therefore, the production of potent, inactivated vaccines against human influenza A virus and other enveloped viruses has become technically feasible. These split virus vaccines have the advantage of being free of nucleic acid and contain a highly purified immunogen which is less likely to elicit undue side reactions than conventional vaccines.

Molecular Weight

Based on their electrophoretic mobility in acrylamide containing gels, the molecular weights of viral glycoproteins are estimated to range from 10 to 180 kilodaltons(kD) with the

exception of rhabdoviruses which contain glycoproteins belonging to a single size class (69 kD), the RNA-containing, enveloped viruses have a many as 2-4 different glycoproteins. Among those DNA viruses, the herpesviruses have been studied most extensively and have as many as 13 glycoproteins (Roizman,1977).

Classification

Depending on their composition, viral glycoproteins can be classsified into two categories: the simple or high-mannose glycoproteins which contain, in addition to N-acetylgucosamine, largely mannose, whereas the complex glycoproteins contained galactose, fucose, and neuraminic acid in addition to mannose (Gosh, 1980). In both types of glycoproteins, the carbohydrate and peptide moieties are bonded together by a beta N-glycosidic linkage which formed between the amino acid asparagine and N-acetylglucosamine (Gosh, 1980). A complex composition is typical for the glycoprotein of the rhabdovirus vesicular stomatitis, whereas orthomyxovirus, paramyxovirus, togavirus and retrovirus contain a mixture of simple and complex glycopeptides except that the neuraminidase containing orthomyxovirus and paramyxovirus lack neuraminic acid (Hunt et al, 1979).

Complicated Glycoproteins

Very limited data are available concerning the glycoproteins of poxviruses. Of the few poxviruses which have been analyzed in some detail, vaccinia has been most studied (Dales, 1973).

The determination of the exact number of glycoproteins and their localization in vaccinia virion has been complicated by the fact that vaccinia virions may exist in two morphologically different or two infectious forms (Dales et al, 1976). The extracellular form has a cell membranederived, outer envelope and the intracellular form is without the additional envelope. It is observed that antibodies

which neutralized the extracellular form are ineffective against the intracellular form of the virus and vice versa (Turner and Squires, 1971). While it is not known at present whether the neutralizing antibodies are directed against viral glycoproteins or it is evident that protective antibody must be directed against extracellular poxviruses as this form may be primarily responsible for the natural transmission of the infection (Boulter, 1969; Turner and Squires,1971).

Sites for Synthesis

It is generally accepted that viral genomes are too limited to incorporate genetic information which could code for carbohydrate synthesis. For the synthesis of the carbohydrate moiety of viral glycopeptides, viruses must therefore rely on cellular glycosyltransferases (Gosh,1980). These enzymes are localized in the rough endoplasmic reticulum which has been shown in uninfected and virus-infected cells to be the major site for synthesis and transport of carbohydrate containing peptides (Klenk et al, 1974). For vesicular stomatitis virus and influenza virus, it has been demonstrated that, after synthesis, viral glycoproteins are transported from the rough endoplasmic reticulum to the cell membrane where they become incorporated at sites destined for virus maturation (Klenk et al, 1974; Knipe et al, 1977; Wagner et al, 1970). Approximately 20 minutes are required from the beginning of synthesis until the viral glycoproteins are demonstrable in the cell membrane (Knipe et al, 1977).

References

Choppin, P.W, and Scheid, A, 1980. The role of viral glycoproteins in adsorption, penetration and pathogenicity of viruses. Rev. Infect. Dis. 2:40.

Choppin, P.W, and Compans, R.W., 1977. Reproduction of paramyxoviruses. Compr. Virol. 4:95.

Compans, R.W., and Choppin. P.W., 1975. Reproduction of myxoviruses. Compr. V rol. 4:179.

Wagner, P.R., 1975. Reproduction of rhabdoviruses. Compr. Virol. 4:1

Laver, W.G., 1971. Separation of the two polypeptides derived from the haemagglutinin subunit of influenza virus. Virology. 45:275

Londberg - Holm, K., and Philipson. L., 1974. Early interaction between animal viruses and cells. Monogr. Virol. 9:1.

Klenk, H.D., Wollert, w., Roff, R., Schotissek, C. 1974 Association of influenza virus proteins with Cytoplasmic fractions. Virology 57:28

Lazarowitz, S.G.,Goldberg, A.R.and Choppin, R.W. 1973. Proteolytic cleavage by plasmin of HA polypeptile of influenza virus; Host-cell activation and serum plasminogen. Virology 56:172.

Nagai, Y.,Klenk, H,D., and Roff,R., 1976. Proteolytic activation of virus specific glycoproteins and its significance for the pathogenicity of Newcastle disease virus. Virology. 72:494.

Roizman, B., 1977. Molecular Biology of Animal Viruses, Vol.2 Marcel Dekker, New York pp 769.

Gosh, H.P., 1980. Synthesis and Maturation of Glycoproteins of enveloped animal viruses. Rev. Infect. Dis. 2:86.

Hunt, I., Wright, S.E., Etchison, J.R., and Summers, D.F., 1979. Oligosaccharide derived of avian RNA tumor virus glycoproteins contain heterogeneous oligomannosyl. Cores. J.Virol. 29:336

Dales, S. 1973. Early events in cell animal virus interactions. Bact. Rev. 37:103.

Dales, S.W., Stern, W., Weintraub, S.B., and Huima, T., 1976. Cell membrane receptors for virus antigens and antibodies, polypeptides, hormones, and small molecules. Raven Press, New York, pp. 253

Turner, G.W., and Squires, E, 1971. Inactivated smallpox vaccine immunogenicity of intracellular and extracellular vaccinia virus. J.Gen. Virol. 13:19.

Boulter, E.A., 1969. Protection against poxviruses. Progr. Soc. Med 62:295.

Klenk, H.D., Wollert, W.,Roff, R., and Scholtissek, C., 1974. Association of influenza virus proteins with cytoplasmic fractions. Virology. 57:28.

Knipe, D.M., Baltimore, D., and Lodish, H.F., 1977. Separate pathways of major structural proteins of vesicular stomatitis virus. J. Virol. 21:1121.

Wagner, E.R., Snyder, T.C., and Yamazaki, S., 1970. Proteins of Vesicular stomatitis virus: Kinetics and cellular sites of synthesis. J.Virol. 5:548.