

بررسی تغییرات شاخص‌های التهابی سرم آمیلوئید A و هاپتوگلوبین طی التهاب القاء شده پس از تزریق ترپنتین در اسبچه‌های خزر

نادر وجدانی فر^{۱*}، شهاب الدین صافی^۲، عباس رحیمی فروشانی^۳، سارو خالدی^۴

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۱۸

چکیده

عملکرد پاسخ میزان به عفونت‌ها و شرایط التهابی تحت عنوان پاسخ مرحله حاد گفته می‌شود. در این تحقیق شاخص‌های التهابی سرم آمیلوئید A، هاپتوگلوبین در زمان سلامت و همچنین پس از القاء التهاب توسط ترپنتین در اسبچه‌های خزر مورد بررسی قرار گرفته است. تعداد ۳۰ راس اسبچه خزر با استفاده از روش بلوکهای چهارتایی تصادفی به دو گروه تقسیم شدند که در آن یک گروه ۱۵ تایی به صورت زیر جلدی تحت تزریق ترپنتین برای ایجاد التهاب و گروه دوم ۱۵ تایی به میزان هم حجم سالیس فیزیولوژیک نرمال دریافت کردند. نمونه‌های خونی از رگ و داج در زمان‌های ۰، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۱۴۴ ساعت پس از تزریق ترپنتین و سالیس فیزیولوژیک نرمال اخذ گردید که دامنه طبیعی میزان سرم آمیلوئید A سرم خون اسبچه‌های خزر ۵۸/۵۶ - ۰ میلی‌گرم بر لیتر و دامنه طبیعی میزان هاپتوگلوبین در سرم خون اسبچه‌های خزر ۲/۹۵ - ۰/۴۱ گرم بر لیتر بدست آمد روند تغییرات التهابی هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A در زمانهای مختلف پس از التهاب کاملاً معنی دار بودند ($P < 0.001$). نقاط برش هاپتوگلوبین در زمانهای ۴، ۱۴۴، ۷۲، ۴۸ ساعت پس از تزریق ترپنتین و القاء التهاب جهت تفکیک دام‌های سالم از بیمار در زمانهای یاد شده به ترتیب 1.35 g/l ، 1.43 g/l ، 2.14 g/l ، 3.10 g/l می‌باشد که حساسیت و ویژگی آن‌ها ۴ ساعت پس از القاء التهاب به ترتیب 86.7% و 80% و در زمانهای ۱۴۴، ۷۲، ۴۸ ساعت پس از القاء التهاب همگی به ترتیب 93.3% و 100% بدست آمده است و نقاط برش سرم آمیلوئید A در زمانهای ۱۴۴، ۷۲، ۴۸، ۲۴ ساعت 1.5173 mg/l ، 1.6281 mg/l ، 4.7948 mg/l بودند که حساسیت و ویژگی همگی آنها در نقاط برش مذکور به ترتیب 91.7% ، 100% به دست آمده است. این یافته‌ها می‌تواند به عنوان شاخص شرایط فیزیولوژیکی اسبچه خزر مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: پاسخ مرحله حاد، پروتئین فاز حاد، هاپتوگلوبین، سرم آمیلوئید A، اسبچه خزر

مقدمه

عدم وجود یک ابزار تشخیصی مناسب در پایش

سلامت حیوان و موثر نبودن اغلب معاینات بالینی در هنگام نبود قابلیت باروری و تکثیر و همچنین عفونتهای تحت بالینی، ممکن است بطور غیر مستقیم بر رشد و بازدهی و سلامت دام‌ها تأثیر بسزایی بگذارند و اهمیت استفاده از روشهای پاراکلینیکی نظر کلینیکال پاتولوژی، میکروبیولوژی و سرولوژی را دوصد چندان نموده است (۱۴) که این ابزارها می‌تواند در جلوگیری

۱- استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج- ایران
 ۲- دانشیار، گروه کلینیکال پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران - ایران
 ۳- دانشیار، گروه آمار زیستی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران - ایران
 ۴- مربی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج - ایران
 *- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Dr. Vojdanifar@yahoo.com

از انقراض گونه‌های منحصربفرد دنیا نظیر اسبچه‌های خزر کاربرد فراوان داشته باشد.

امروزه اندازگیری پروتئین‌های فازحاد به عنوان یک ابزار تشخیصی مهم در پایش سلامت حیوان مطرح است و به دلیل پایین بودن نیمه عمر پروتئین‌های فاز حاد در سرم و تغییرات غلظت آنها در حیوانات بیمار، اندازگیری غلظت پروتئین‌های فاز حاد سرم می‌تواند به عنوان انعکاس صحیحی از پاسخ سیستمیک بدن برآورد گردد و اطلاعات بسیار سودمندی را در خصوص شدت ضایعه در یک حیوان در اختیار دامپزشک قرار دهد و در سطح یک جمعیت مورد مطالعه، اندازگیری غلظت پروتئین‌های فاز حاد با فراهم نمودن اطلاعات در زمینه شیوع عفونت‌های بالینی و تحت بالینی که از طریق افزایش سرمی پروتئین‌های فاز حاد انتخابی صورت می‌گیرد نقش بسیار مهمی در تعیین حضور و یا عدم حضور بیماری دارد و می‌تواند به عنوان ابزاری در تعیین پیش آگهی بیماری و شدت آن مطرح باشد (۵ و ۱۴). با توجه به اینکه تمامی پروتئین‌های فاز حاد با یک روش مشابه در گونه‌های حیوانی مختلف تغییر نمی‌یابند (۵)، بنابراین قبل از آنکه بتوانیم به طور موثر از پروتئین‌های فاز حاد به عنوان ابزار کلینیکی و تحقیقی استفاده کنیم باید پروتئین‌های فاز حاد مختلف را در اسبچه خزر در هنگام بیماری و تحت شرایط غیربیماری مورد تحقیق و بررسی قرار دهیم. با بررسی تغییرات شاخص‌های التهابی سرم آمیلوئید (SAA)، هاپتوگلوبین در سرم در حالت سلامت و همچنین القاء التهاب پس از تزریق تریپتین در اسبچه‌های خزر جهت ایجاد پاسخ مرحله حاد به عنوان فاکتورهای تشخیصی در عفونت‌های بالینی و تحت بالینی و همچنین تفکیک بیماری‌های حاد و مزمن، تعیین پیش آگهی بیماری‌ها، موثر بودن روند درمانی و شدت بیماری می‌باشند (۱۴ و ۶).

مواد و روش کار

در ابتدا تعداد ۳۰ راس اسبچه خزر ۱ تا ۲۳ سال

موجود در مرکز تحقیقاتی خجیر که از لحاظ بالینی، رادیولوژیکی و از نظر کارشناس مرکز، همگی ظاهر سالم داشته‌اند انتخاب گردیده و به منظور یکنواخت بودن شرایط و نتایج آزمایش از مادیانهای آبستن نمونه‌گیری به عمل نیامد. به منظور سهولت مطالعه آماری نتایج بدست آمده از اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر در اسبچه‌های خزر، این حیوانات از نظر جنسی به دو گروه نریان و مادیان و از نظر سنی به سه گروه ۰-۵ و ۶-۱۰ و بزرگتر از ۱۱ سال تقسیم شدند. از نظر نوع تغذیه با توجه به زمان خونگیری که در اواخر مهر ماه و اوایل آبان ماه ۱۳۸۹ بود و نگهداری آنها در اصطبل و تغذیه دستی مشابه بود، تفاوت چندانی در جیره غذایی آنها مشاهده نشد و به طور کلی جو، یونجه و کاه به عنوان سه بخش اصلی جیره بودند. پس از اطمینان از خلوص نژادی و سلامت حیوان نمونه‌گیری انجام گرفت. نمونه‌های خونی در داخل لوله‌های ساده بدون ماده ضد انعقاد از سیاهرگ وداج و با شرایط استریل گرفته شد. روی هر نمونه شماره حیوان و سایر مشخصات ضروری از جمله سن و جنس ثبت شد. پس از اینکه لخته مناسب تشکیل می‌گردید در همان مرکز تحقیقاتی خجیر با کمک سانتریفیوژ در ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ نموده و با سمپلر سرم را از لخته جدا کرده و در مجاورت یخ به آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی پلی کلینیک تخصصی حیوانات خانگی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات (واقع در سعادت آباد) انتقال می‌یافتند.

حداکثر ۳ روز بعد از اطمینان از سلامت کامل حیوان با استفاده از روش بلوکهای چهارتایی تصادفی تعداد ۳۰ راس اسبچه خزر به دو گروه تقسیم شدند که در آن یک گروه ۱۵ تایی از اسبچه‌های خزر بصورت زیر جلدی (SC) تحت تزریق تریپتین (۵ سی سی) قرار گرفته و به گروه دوم ۱۵ تایی به میزان هم حجم محلول سالیین استریل نرمال (۵ سی سی) تزریق شد

اندازه‌گیری شده، آزمون‌های Greenhouse-Geiser و Sphericity Assumed مورد استفاده قرار گرفتند و جهت آگاهی از تغییرات پارامترها در زمانهای مختلف پس از القای التهاب در مقایسه با زمان صفر از آزمون-F test در آنالیز داده‌های تکراری استفاده شده است.

نتایج

- هاپتوگلوبین

مقایسه میانگین میزان هاپتوگلوبین سرم خون در دو جنس نشان داد که اختلاف این دو میانگین معنی دار نمی‌باشد ($t=313$ $df=28$ $p=0.757$). مقایسه میانگین میزان هاپتوگلوبین سرم خون در سه گروه سنی نشان داد که اختلاف معنی دار نمی‌باشد ($F=1.831$ $df=2$ $p=0.180$).

چون ملاک آزادی TestMauchly's برای Chi-Square=115.986 و $df=35$ و $P<0.001$ می‌باشد بنابراین جهت بررسی اثر فاکتور روند تغییرات هاپتوگلوبین در زمانهای مختلف از آزمون Greenhouse-Geisser استفاده شد که $P<0.001$ نشان‌دهنده تغییرات معنی دار آن می‌باشد. همچنین روند تغییرات هاپتوگلوبین در زمانهای مختلف پس از التهاب القاء شده در ارتباط با جنس معنی دار ولی در ارتباط با سن اختلافات معنی داری نشان نمی‌دهد. (جدول ۱)

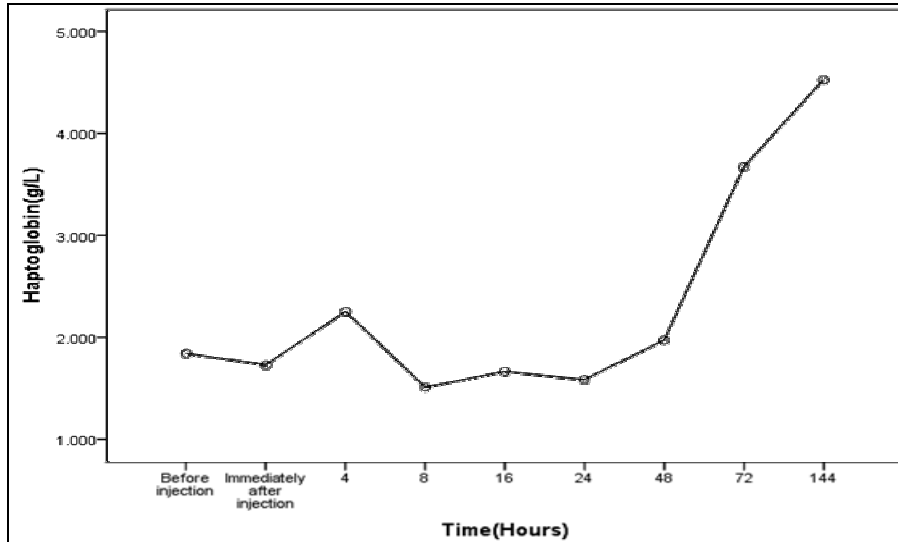
(۱۷ و ۱۳). نمونه‌های خونی از رگ وداج در داخل لوله های بدون ماده ضد انعقاد در زمان های صفر، ۲۴، ۸، ۴۸، ۷۲ و ۱۴۴ ساعت پس از تزریق تریپتین گرفته شد (۷ و ۱)، سرم از لوله ها جداسازی شده و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شده‌اند.

کیت اندازه‌گیری هاپتوگلوبین و کنترل هاپتوگلوبین مربوط به شرکت Tridelta co, Wicklow-Ireland Development Ltd. و کیت اندازه‌گیری SAA مربوط به شرکت Tridelta co, Wicklow-Ireland Development Ltd. دستگاه الیزا ریدر (ELISA Reader) مربوط به شرکت Biotech، لوله ساده شرکت Becton (BD) Dinickson، سمپلر، سرسمپلر مربوط به شرکت Eppendorf، میکروتیوبهای دو، پنج و ده میلی لیتری مورد استفاده قرار گرفت.

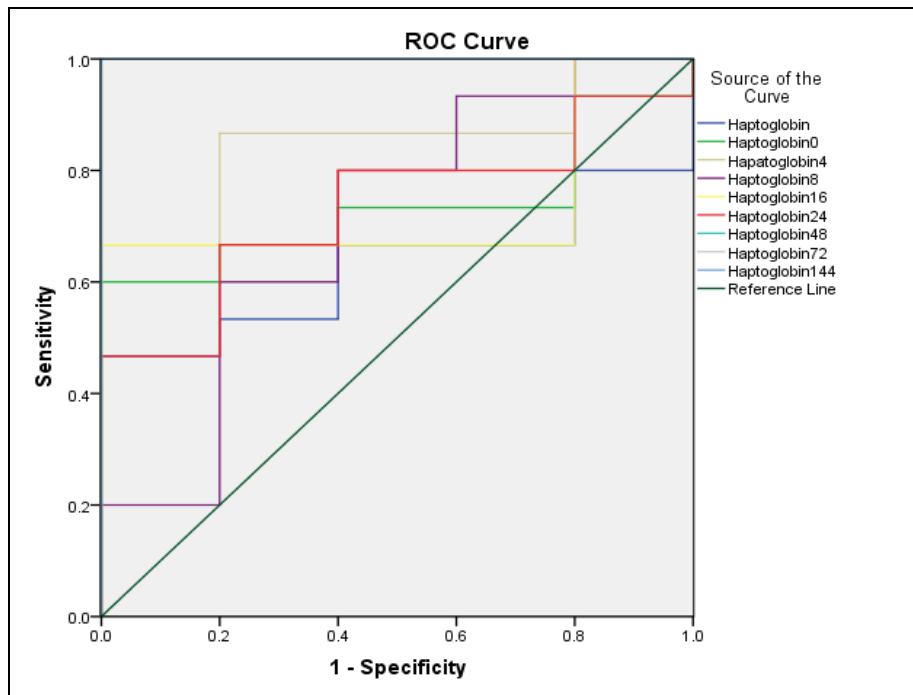
آنالیز آماری نتایج بدست آمده با نرم افزار کامپیوتری SPSS 19 انجام گرفت. جهت آگاهی از وجود اختلاف معنی دار در مورد هر یک از پارامترهای اندازه‌گیری شده در دو جنس نریان و مادیان آزمون t-test مستقل مورد استفاده قرار گرفت. جهت آگاهی از وجود اختلاف معنی دار بین میانگین در هر یک از پارامترهای اندازه‌گیری شده در گروههای سنی مختلف آزمون one-way Anova مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس ملاک آزادی TestMauchly's جهت بررسی و آگاهی از اثر فاکتور در روند تغییرات پارامترهای

جدول ۱- میزان هاپتوگلوبین (g/l) سرم خون اسبچه های خزر بر اساس سن و جنس

نژاد	جنس	سن (سال)		
		۱۱ <	۶-۱۰	۰-۵
اسبچه خزر	نریان	۱/۹۶±۰/۸۶	۱/۱۲±۰/۶۰	۱/۶۰±۰/۷۶
	(تعداد)	(۶)	(۹)	(۶)
	مادیان	۰/۹۲±۰/۲۵	۱/۵۲±۰/۶۴	۱/۹۸±۰/۵۶
	(تعداد)	(۲)	(۳)	(۴)
	میانگین	۱/۷۰±۰/۸۸	۱/۲۲±۰/۶۱	۱/۷۵±۰/۶۸
	(تعداد)	(۸)	(۱۲)	(۱۰)



نمودار ۱- روند تغییرات هاپتوگلوبین در زمانهای مختلف پس از القای التهاب با ترپنتین



نمودار ۲- منحنی ROC هاپتوگلوبین در زمانهای مختلف پس از القا التهاب

حساسیت و ویژگی هاپتوگلوبین -
 باتوجه به جدول زیر منحنی شاخص هاپتوگلوبین
 ۴ ساعت ($P < 0.05$)، ۷۲، ۴۸، ۱۴۴ ساعت ($P < 0.01$)
 پس از القاء التهاب پارامتر خوبی جهت تشخیص می
 باشد که نقاط برش جهت تفکیک دام های سالم
 از بیمار در زمانهای یاد شده به ترتیب $1/35$ g/l، $1/43$ g/l،
 ، $2/14$ g/l، $3/10$ می باشد که حساسیت و ویژگی
 آن ها ۴ ساعت پس از القاء التهاب به ترتیب ۸۶٪
 و ۸۰٪ و در زمانهای ۴۸، ۷۲، ۱۴۴ ساعت پس از القاء التهاب
 به ترتیب ۹۳٪ و ۱۰۰٪ بدست آمد و سطح زیر منحنی
 ROC در ۴ ساعت پس از القاء التهاب ۸۵٪ و در سایر
 زمانها ۱ محاسبه گردیده است.

حساسیت و ویژگی هاپتوگلوبین -
 باتوجه به جدول زیر منحنی شاخص هاپتوگلوبین
 ۴ ساعت ($P < 0.05$)، ۷۲، ۴۸، ۱۴۴ ساعت ($P < 0.01$)
 پس از القاء التهاب پارامتر خوبی جهت تشخیص می
 باشد که نقاط برش جهت تفکیک دام های سالم
 از بیمار در زمانهای یاد شده به ترتیب $1/35$ g/l، $1/43$ g/l،
 ، $2/14$ g/l، $3/10$ می باشد که حساسیت و ویژگی
 آن ها ۴ ساعت پس از القاء التهاب به ترتیب ۸۶٪
 و ۸۰٪ و در زمانهای ۴۸، ۷۲، ۱۴۴ ساعت پس از القاء التهاب
 به ترتیب ۹۳٪ و ۱۰۰٪ بدست آمد و سطح زیر منحنی
 ROC در ۴ ساعت پس از القاء التهاب ۸۵٪ و در سایر
 زمانها ۱ محاسبه گردیده است.

التهاب القاء شده درارتباط با جنس و سن، معنی دار نمی باشد.

- حساسیت و ویژگی سرم آمیلوئید A

باتوجه به جدول زیرمنحنی شاخص سرم آمیلوئید A در زمانهای ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۱۴۴ ساعت پس از تزریق تریپتین والقاء التهاب پارامترخوبی جهت تشخیص می باشد ($P < 0/01$) ونقاط برش SAA برای تفکیک دامهای سالم از بیمار به ترتیب زمان یاد شده mg/L ۵۲/۸، ۱۵۱۷/۳۱ mg/L، ۱۶۲/۸۱ mg/L، ۴۷۹/۴۸ mg/L بوده که حساسیت و ویژگی آن در نقاط برش مذکور به ترتیب ۹۱/۷٪، ۱۰۰٪ به دست آمده و سطح زیرمنحنی ROC در مورد SAA در زمانهای مذکور ۱ محاسبه گردید.

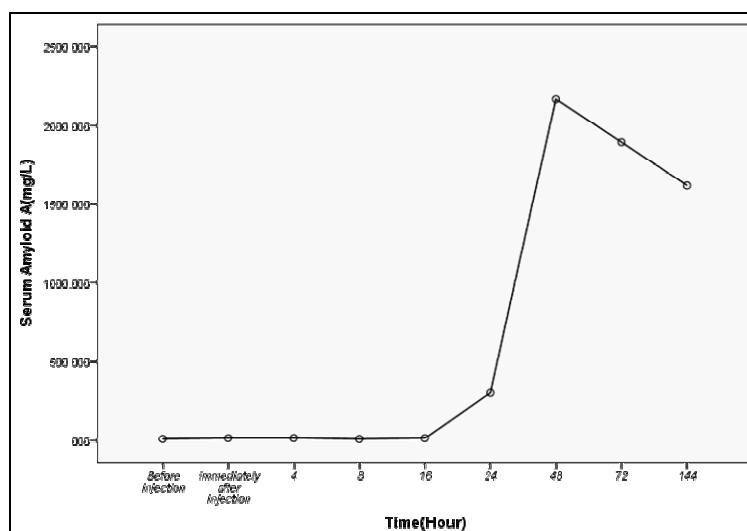
- سرم آمیلوئید A

نتایج مقایسه میانگین میزان سرم آمیلوئید A خون در دو جنس نریان و مادیان نشان داد که اختلاف این دو میانگین معنی دار نمی باشد ($t = 0.954$, $df = 27$, $P = 0.757$). نتایج مقایسه میانگین میزان SAA خون در سه گروه سنی نشان داد که اختلاف معنی دار نمی باشد ($F = 0.356$, $df = 2$, $P = 0.704$).

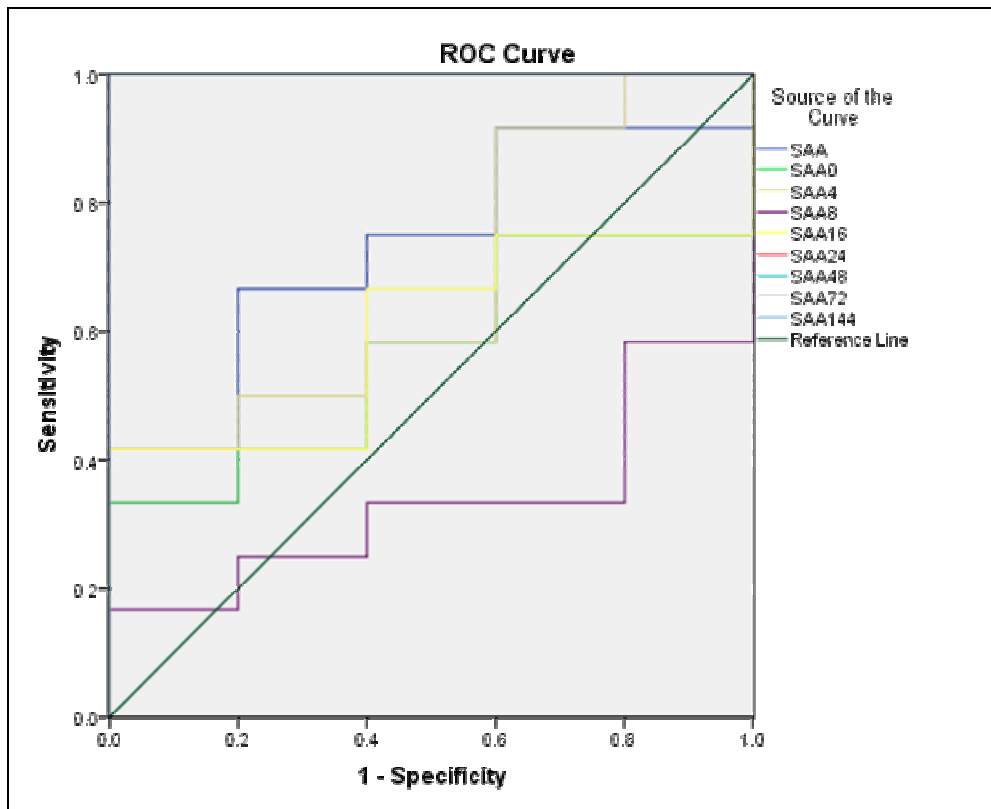
چون ملاک آزادی Test Mauchly's برای Chi-Square, 174.387 و $df = 35$ و $p < 0.001$ می باشد بنابراین جهت بررسی اثر فاکتور روند تغییرات SAA در زمانهای مختلف پس از القاء التهاب از آزمون Green house-Geisser استفاده شد و $P < 0.001$ نشان دهنده تغییرات معنی دار آن می باشد. همچنین روند تغییرات SAA طی

جدول ۲- میزان سرم آمیلوئید A (بر حسب میلی گرم بر لیتر) سرم خون اسبچه خزر بر اساس جنس و سن

نژاد	جنس	سن (سال)			میانگین کل
		۰-۵	۶-۱۰	۱۱ <	
اسبچه خزر	نریان	۹/۳۲۰ ± ۱۷/۸۹۳	۱۴/۰۱۵ ± ۲۳/۴۳	۵/۹۲۱ ± ۹/۱۵۳	۱۰/۴۱۳ ± ۱۸/۲۶۳
	(تعداد)	(۶)	(۹)	(۶)	(۲۱)
	مادیان	۷/۵۵ ± ۱۳/۲۷	۲/۰۳۴ ± ۰/۴۲۳	۱/۰۵۲ ± ۱/۱۶۵	۴/۲۶۹ ± ۸/۷۲۴
	(تعداد)	(۴)	(۳)	(۲)	(۹)
	میانگین	۸/۵۳۵ ± ۱۵/۰۶	۱۱/۰۲ ± ۲۰/۷	۴/۷۰۴ ± ۸/۰۶۹	۸/۵۰۶ ± ۱۶/۰۱۴
	(تعداد)	(۱۰)	(۱۲)	(۸)	(۳۰)



نمودار ۳- روند تغییرات سرم آمیلوئید A در زمانهای مختلف پس از القاء التهاب با تریپتین



نمودار ۴- منحنی ROC سرم آمیلوئید A در زمانهای مختلف پس از التهاب

سنجش مقادیر طبیعی غلظت هاپتوگلوبین سرم اسب به روش ایمونوتریدومتريک $0/68 \pm 1/43$ گرم بر لیتر اعلام نموده‌اند که مانند پونی‌های بالغ علفزاری می‌باشد و افزایش غلظت هاپتوگلوبین سرم اسب را پس از جراحی (Castration) به میزان ۲ تا ۳ برابر مقادیر طبیعی آن گزارش کرده‌اند که اوج این افزایش ۳ تا ۵ روز پس از جراحی بوده است و نیز استنشاق ویروس آنفلوانزا در پونی‌های واکسینه و غیر واکسینه باعث افزایش ۲ تا ۳ برابری هاپتوگلوبین می‌شود که ۷ تا ۱۰ روز پس از عفونت ادامه می‌یابد. (۱۰)

Hulten و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه دینامیک مارکرهای التهابی SAAHP، فیبرینوژن و آلفادوگلوبولین‌ها طی آرتریت غیرعفونی القاء شده در اسب‌ها افزایش غلظت هاپتوگلوبین سرم اسب ۲۴ ساعت پس از القاء آرتریت غیرعفونی به میزان $1/14$ برابر مقادیر طبیعی اعلام نمودند که ۴۸ تا ۹۶ ساعت

بحث

- هاپتوگلوبین

هاپتوگلوبین در اسب به عنوان یک پروتئین فاز حاد متوسط طبقه بندی شده است که در پاسخ مرحله حاد به میزان ۱۰ تا ۱۰ برابر مقادیر مرجع در اسب‌ها افزایش می‌یابد. در این تحقیق میزان متوسط هاپتوگلوبین (میانگین \pm انحراف معیار) در اسبچه‌های خزر $1/53 \pm 0/73$ گرم بر لیتر گزارش می‌شود دامنه طبیعی میزان هاپتوگلوبین در سرم خون اسبچه‌های خزر $0/41 - 2/95$ گرم بر لیتر تعیین گردید که نسبت به مقادیر طبیعی در سایر گزارشات که در ذیل بیان شده کمتر است.

Mark V. Crisman و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه پروتئین‌های خون و التهاب در اسب مقادیر مرجع میزان هاپتوگلوبین در اسب را ۱۰ - ۲ گرم بر لیتر گزارش کرده‌اند (۱۱). Kent و Goodal (۱۹۹۱) در مطالعه

شرایط نرمال کمتر از ۷ میلی‌گرم بر لیتر و در زمان افزایش ناشی از التهاب بین ۱۰-۱۱۰ mg/L گزارش کرده اند (۷).

Jacobsen و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه ارزیابی آزمایش ایمونوتریپیدومتریک SAA انسانی قابل دسترس تجاری برای تعیین میزان سرم آمیلوئید A اسبی متوسط غلظت سرم آمیلوئید A را در اسب هایی که به طور بالینی سالم بودند کمتر از ۰/۴۸ mg/L (۲/۳-۰/۴۸) و در اسب های دارای بیماریهای التهابی mg/L ۱۰۱۸ (۱۷۴۰-۱۷۰/۳) گزارش کرده اند (۹).

Stoneham و همکاران (۲۰۰۱) در اندازه گیری سرم آمیلوئید A در کره اسب ها به استفاده از آزمایش ایمونوتریپیدومتریک آگلوتیناسیون لاتکس مقادیر مرجع برای غلظت پلاسمایی سرم آمیلوئید A در اسب های سالم را کمتر از ۰/۵ تا ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر گزارش کرده اند (۱۵). نتایج آزمون T نشان داد که اختلاف معنی داری در مقایسه میانگین میزان SAA سرم خون در رابطه با جنس وجود ندارد و با توجه به نتایج آزمون one way Anova در مقایسه میانگین میزان SAA در گروه سنی مختلف اختلاف معنی داری نشان نمی‌دهد. نتایج آزمون Green house Greisser نشان داد که روند تغییرات SAA در اثر التهاب القا شده معنی دار می‌باشد (P<۰/۰۰۱) و این تغییرات در رابطه با جنس و سن اختلاف معنی داری ندارند.

نتایج آزمون F در بررسی و مقایسه تغییرات SAA در زمانهای مختلف پس از القا التهاب در مقایسه با زمان صفر نشان داد که این تغییرات ۴۸، ۷۲، ۱۴۴ ساعت پس از تزریق معنی دار می‌باشد و در زمانهای قبل از آن یعنی بلافاصله ۴، ۱۶، ۲۴ ساعت پس از تزریق و القاء التهاب معنی دار نمی‌باشد. همچنین اوج افزایش میزان SAA، ۴۸ ساعت پس از القا التهاب می‌باشد که پس از آن با کاهش میزان SAA در ساعت ۷۲ و ۱۴۴ مواجه می‌شویم که در مطالعات Hulten و همکاران (۱۹۹۹) در آرتريت غير عفوني القاء شده با

پس از القاء التهاب به اوج رسیده است (۶). Fagliari و همکاران (۱۹۹۸) در مطالعه تغییرات غلظت پروتئین های پلازما در اسب های پونی با لامینیت گوارشی القاء شده به صورت تجربی افزایش غلظت هاپتوگلوبین سرم خون را در پونی ها گزارش کرده اند (۴). Milne و همکاران (۱۹۹۱) در مطالعه پروتئین های فاز حاد در بیماری علف، عدم افزایش غلظت هاپتوگلوبین را در اسب های دچار کولیک گزارش کرده اند (۱۲). نتایج آزمون T در این تحقیق نشان داد که در نریان و مادیاں اسبچه خزر اختلاف معنی داری از نظر میزان هاپتوگلوبین سرم خون وجود ندارد. و همچنین نتایج آزمون one-way Anova نشان داد که میزان هاپتوگلوبین در گروه های سنی مختلف اختلاف معنی داری دارد (P<0.05) و در ارتباط با سن این اختلاف معنی دار نمی‌باشد. نتایج آزمون F در مقایسه تغییرات هاپتوگلوبین در زمانهای مختلف القاء التهاب در مقایسه با زمان صفر افزایش معنی داری را ۲۴ ساعت پس از القاء التهاب نشان می‌دهد که ۴۸، ۷۲، ۱۴۴ ساعت پس از القاء التهاب هم این افزایش معنی دار بوده که برخلاف انتظار ۱۴۴ ساعت پس از القاء التهاب نیز میزان هاپتوگلوبین افزایش معنی داری دارد و روند صعودی این افزایش همچنان حفظ شده است که تحقیقات بیشتری مدت زمان این افزایش و بازگشت به مقادیر مرجع لازم است.

- سرم آمیلوئید A

دامنه طبیعی میزان سرم آمیلوئید A در سرم خون اسبچه های خزر ۵۶/۵۸ - ۰ میلی‌گرم بر لیتر و به طور متوسط (میانگین ± انحراف معیار) ۱۶۷/۰۱ ± ۸/۵۰ میلی‌گرم بر لیتر گزارش می‌شود که دامنه طبیعی میزان سرم آمیلوئید A نسبت به سایر گزارشات به عمل آمده بالاتر است.

Hulten و همکاران (۱۹۹۹) در مطالعه سرم آمیلوئید A به عنوان شاخص عفونت ویروسی آنفلوآنزای اسب غلظت پلاسمایی سرم آمیلوئید A را در

Hulten (۲۰۰۲) در مطالعات خود غلظت SAA را در ضعف ناشی از عوامل غیر عفونی در کره اسب‌های تازه متولد شده (نقص در انتقال پاسیو، پیش بلوغ یا اختلال در بلوغ، سندرم مل ادجاستمنت و جمع شدگی مکنونیوم) نرمال گزارش کرده‌اند (۱۵،۸) و نیز Chavatte و همکاران (۱۹۹۲) تا حدودی افزایش ملایم غلظت SAA را گزارش کرده‌اند که ناشی از تفاوت در آزمایش‌ها و تکنیک نمونه‌گیری می‌باشد (۱).

Hulten و همکاران (۱۹۹۹) در مطالعه SAA به عنوان شاخص التهابی در عفونت ویروسی آنفلوآنزای اسب افزایش غلظت SAA را طی ۴۸ ساعت اول علائم بالینی گزارش کرده‌اند که پس از طی ۱۱ تا ۲۲ روز در موارد غیر پیچیده به مقادیر پایه خود رسیده‌اند که بانتهای این تحقیق همخوانی دارد (۷).

در مطالعه Cohen و همکاران، (۲۰۰۵) در ارزیابی غلظت SAA در کره اسب‌های دچار پنومونی رودوکوکوس اکوئی و استفاده از آن جهت تمایز شکل نرمال کره اسب‌های تحت تاثیر نشان داد که تعیین غلظت SAA دو ماه یک بار در کره اسب‌های کمتر از یک ماه وسیله مناسبی برای پایش عفونت راکوئی نیست که می‌تواند به علت طبیعت بیماری یا فاصله طولانی نمونه‌گیری باشد که تحقیقات بیشتری را در این زمینه لازم دارد (۲).

Vandenplas و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه غلظت SAA و پروتئین متصل به لیپوپلی ساکارید در اسب‌های دچار کولیک مشاهده کردند که اسب‌های دچار کولیک عفونی مانند انتریت، پریتونیت، کولیت یا آبسه‌های شکمی غلظت بسیار بالاتری نسبت به اسب‌های دچار کولیک غیر عفونی داشته‌اند و همچنین در اسب‌هایی که غلظت SAA بالاتری دارند احتمال زنده ماندن آنها بسیار کمتر از آنهاست که غلظت SAA کمتری دارند (۱۸).

Jacobsen و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه غلظت SAA سرم و مایع سینویال از اسب‌های سالم و اسب‌های

آمفوتریسین B این افزایش در میزان SAA ۱۶ ساعت پس از القاء التهاب آغاز شده و ۳۶ تا ۴۸ ساعت پس از آن به حداکثر میزان خود می‌رسد که ۲۲۷ برابر مقادیر طبیعی گزارش شده است و پس از طی ۸ روز به مقدار طبیعی خود باز می‌گردد (۶).

در مطالعات Jacobsen و همکاران (۲۰۰۱) شش روز پس از جراحی Castration میزان سرم آمیلوئید A به مقادیر اولیه خود باز می‌گردد (۹) در حالیکه در این تحقیق تا ۱۴۴ ساعت پس از التهاب نیز به مقادیر طبیعی خود نمی‌رسد.

مطالعات فراوانی برای ارزیابی کاربرد و کفایت سرم آمیلوئید A در کره‌های عفونی و سالم انجام شده است و به خاطر آنکه سپتی سمی اسب‌های تازه متولد شده است یکی از مهمترین مشکلات دامپزشکان می‌باشد، تشخیص و درمان سریع تاثیر بسیار ارزنده‌ای در نتیجه درمان خواهد داشت.

Hulten و Demmers (۲۰۰۲) در مطالعه سرم آمیلوئید A جهت کمک به مدیریت بیماری‌های عفونی کره اسب، افزایش غلظت SAA در کره اسب‌ها را به دنبال عفونت‌های باکتریایی مختلف گزارش کرده‌اند (۸).

Stoneham و همکاران (۲۰۰۱) در اندازه‌گیری سرم آمیلوئید A در کره اسب‌ها با استفاده از روش لاتکس آگلوتیناسیون ایمونوتربیدومتریک افزایش غلظت SAA را در کره اسب‌ها به میزان بالاتر از ۱۰۰ mg/L به دنبال سپتی سمی، عفونت‌های موضعی (شامل افتالموفلیت) و آرتریت گزارش کرده‌اند (۱۵).

Hulten و همکاران (۱۹۹۹) در مطالعه سرم آمیلوئید A به عنوان شاخص التهابی در عفونت ویروسی آنفلوآنزای اسبی، غلظت بیشتر میزان SAA را در عفونت‌های باکتریایی نسبت به عفونت‌های ویروسی که پاسخ متعادل تری را نشان می‌دهد مورد توجه قرار داده‌اند (۷).

در مقابل Stoneham و همکاران (۲۰۰۱) و

محبی، مهندس دهقانی و سرکار خانم اندیشه و کلیه پرسنل مرکز تحقیقاتی خجیر صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.

منابع

- 1- Chavatte, P.M., Pepys, M.B., Roberts, B., et al. (1992): Measurement of Serum amyloid A concentration as an aid to differential diagnosis of infection in newborn foals. *Equine Infections disease*; VI: 33-8
- 2- Cohen, N.D., Chaffin, M.K., vandenplas, M.L., et al. (2005): study of serum amyloid A concentrations as a mean of achieving early diagnosis of *Rhodococcusequi* Pneumonia. *Equine Veterinary Journal* ;37:2126
- 3- Hulten, C., Sletten, k., Foy Bruun, c., Marhauy, G., (1997): The acute phase Serum Amyloid A protein (SAA) in the horse, isolation and characterization of three isoforms. *veterinary Immunology and Immunopathology*, Volume 57, Issues 3-4. July,
- 4- Fagliari, J.J., McClenahan, D., Evanson, O.A., et al. (1998): changes in Plasma protein concentrations i ponies with experimentally induced alimentary laminitis. *Animal Journal of Veterinary Research*;59:1234-7
- 5- Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M., (2004): Current research on acute Phase Proteins in veterinary diagnosis: an overview the *veterinary Journal* 168 28-40
- 6- Hulten, C., Gronlund, U., Hirvonen, J., Tulamo, R.M., Suominen, M.M., Marhaug, G., Forsberg, M. (2002): Dynamics in serum of the inflammatory markers serum Amyloid A (SAA) , haptoglobin, Fibrinogen and alpha 2-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse . *Equine Veterinary Journal*, 34(7):699-704

دچار بیماری مفصلی پرداخته اند و در آرتريت ایجاد شده توسط لیپوپلی ساکارید B مقدار SAA سرم مایع سینویال به طور آشکار افزایش یافته است ($>100\text{mg/L}$) که می تواند به عنوان شاخص بیولوژیک خوبی برای بیماریهای مفصلی اسب به کار رود (۱۶).

حساسیت و ویژگی، دو شاخص عمده مورد استفاده جهت بیان صحت بالینی (Clinical Accuracy) یک روش تشخیصی هستند که در یک نقطه برش انتخابی از طریق مقایسه نتایج آزمون مورد ارزیابی بایک روش مرجع به عنوان استاندارد طلائی (برخوردار از حساسیت و ویژگی قابل قبول) سنجیده می شود. میزان حساسیت یک آزمون بر حسب نسبتی از دام های بیمار که با استفاده از آزمون مثبت تشخیص داده می شوند، سنجیده می شود. به عبارتی میزان توانایی یک آزمون در تشخیص درست موارد عفونی یا مثبت بیانگر میزان حساسیت آن بوده و دارای نسبت معکوس بامیزان فراوانی نتایج منفی کاذب است. میزان ویژگی یک آزمون بر حسب نسبتی از دام های سالم که دارای نتیجه منفی در آن آزمون هستند سنجیده می شود و دارای نسبت معکوس بامیزان فراوانی نتایج مثبت کاذب می باشد.

تاکنون مطالعه ای بر روی میزان حساسیت و ویژگی پارامترهای تشخیصی التهاب و محاسبه سطح زیر منحنی با توجه به جدول ROC در اسب ها صورت نگرفته است که با توجه به نتایج بدست آمده سرم آمیلوئید A و هاپتوگلوبین از پارامترهای بسیار مناسب جهت پایش سلامت اسبچه های خزرمی باشد که میزان SAA، ۲۴ ساعت و میزان هاپتوگلوبین ۴۸ ساعت پس از التهاب تغییرات بسیار زیادی نسبت به مقادیر طبیعی خود می یابد و حتی تا ۱۴۴ ساعت پس از التهاب نیز ادامه می یابد که نیاز به ادامه تحقیقات در زمان های دیگر است.

تشکر و قدردانی

لازم می دانم از زحمات بی شائبه جناب آقای دکتر شهرام دررداری، دکتر هرمز حمیدیه، مهندس کیارش

- 7- Hulten, C., sandgren, B., Skioldebr, E., etal. (1999): Theacute phase protein serum amyloid A(SAA) as inflammatory markers in equine influenza virus infection .Acta Veterinary Scandinavy; 40: 323-33
- 8- Hulten, C.,Demmers, S., (2002): serum amyloid A(SAA) as an aid in the management of infection disease in the foal: comparition with total leukocyte count , neutrophil count and fibrinogen. Equine Veterinary Journal ;34 :693-8
- 9- Jacobsen, S., Kjelgaardhansen, M., Hagbardpetersen, H., etal. (2006): Evaluation of a commercially available human serum amyloid A(SAA) , turbidometric immunoassay for determination of equine SAA concentrations . Veterinary Journal; 172 :315-9
- 10- Kent, J. E., Goodall, J., (1991): Assessment of an immunoturbidimetric method for measuring equine serum haptoglobin concentrations. Equine Veterinary Journal; 23:59-66
- 11- Mark, V., crisman, W., kentScarratt, K., Zimerman, L., (2008): Booldproteins and Inflammation: Veterinary clinical Equine 24285-297
- 12- Milne, E.M., Doxey, D.L., Kent, J. E., etal. (1991):.Acute phase proteins ingrass sickness (Equine dysautonomia). Research Veterinary Science; 50:273-8
- 13- Christoffersen, M., Baagoe, C., Bojesen, A. M., jacobson, S., Lehn-Jensen. H., (2001): Inflammatory markers in serum during induced endometritis in the mare.APP-oral presentation:189-190
- 14- Petersen, H.H., Nidsen, J.P., Heegaard, P.M.H., (2004): Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry Veterinary . Research; 24:163-87.
- 15- Stoneham, S.J., Palmer, L., Cash, R., Rossdale, P.D., (2001): Measurement of serum amyloid A in the neonatal foal using a latex agglutination immunoturbidimetric assay: determination of the normal range , variation with age andresponse todisease. Equine Veterinary Journal;33 (6) :599-603
- 16- Jacobsen, S., Niewold, T. A., Thomsen, M., Nanniemiolsen, S., lindegaard, C., etal. (2006): Serum amyloid A isoforms in serum and Synovial fluid in horses whit lipopoly saccharide induced arthritis. veterinary Immunology and Immunopathology 110.325-330
- 17- Toomas, O., (2008):Acute phase proteins in dairy Calves and reindeer Changes after birth and in respiratory infection. ISBN 978- 952- 10- 4589- 9 (PDF). [http:// ethesis. helsinki. Fi// university Printing House Helsinki](http://ethesis.helsinki.Fi//universityPrintingHouseHelsinki)
- 18- Vandenplas, M.L., Moore, J.N., Barton, M.H., et al. (2005): concentrations of serum amyloid A and lipopoly saccharide-binding in horses with colic.Animal Journal of Veterinary Research; 66:1509-16