تغییرات غلظت فیبرینوژن و مسیرهای انعقادی گاو در دو فصل سرد و گرم یا زمستان و تابستان

آمنه خوشوقتی*

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، کازرون، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: Khoshvaghti2004 @ yahoo.com
(دریافت مقاله: ۹۲/۴/۱۰ پذیرش نهایی: ۹۲/۸/۶)

چکیده

فیبرینوژن یکی از فاکتورهای اصلی و مهم در انعقاد خون و نیز از پروتئین‌های مرحله حاد مثبت می‌باشد که در مواردی از جمله التهاب، عفونت و استرس میزان آن افزایش می‌یابد. سنجش مدت زمان ترومبین و ترومبوپلاستین فعال نسبی از آزمایش‌های غربالگری است که به منظور بررسی وضعیت سیستم انعقادی انجام می‌شود. تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر فصل بر میزان فیبرینوژن و مدت زمان ترومبین و ترومبوپلاستین فعال نسبی گاو انجام شد. به منظور انجام این تحقیق از ۱۰ رأس گاو به ظاهر سالم متعلق به یک گاوداری دراطراف شهرستان یاسوج با رعایت شرایط استریل در دو فصل زمستان و تابستان خون‌گیری به عمل آمده وپلاسمای سیتراته جداسازی شد. میزان فیبرینوژن(FIB) به روش انکسار سنجی رسوبی و مدت زمان پروترومبین (PT) و ترومبوپلاستین فعال نسبی(APTT) به روش کوآگولومتری اندازه‌گیری شد. آزمون‌های آماری نشان داد که بین میانگین میزان فیبرینوژن در تابستان و زمستان اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد (p<۰/۰۵). اما تغییرات مدت زمان پروترومبین و ترومبوپلاسمین فعال نسبی به اندازه‌ای نبود که بین این پارامترها در فصل تابستان و زمستان اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شود (p>۰/۰۵). نتیجه این‌که سرمای فصل زمستان می‌تواند میزان فیبرینوژن را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش دهد، اما بر روی مسیرهای انعقادی تأثیر چندانی ندارد.

مجله آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۱۳۹۲، دوره ۷، شماره ۲، پیاپی ۲۶، صفحات ۱۸۹۶-۱۸۹۰.

کلید واژه‌ها: **پروترومبین، ترومبوپلاستین فعال نسبی، فصل، فیبرینوژن، گاو**

مقدمه

انعقاد و فیبرینولیز دو فرآیند مهم در هموستاز و تشکیل ترومبوز به شمار می‌روند. فیبرینوژن از پروتئین‌های مرحله حاد مثبت می‌باشد که تحت شرایطی از جمله التهاب، عفونت‌ها و استرس میزان آن افزایش می‌یابد. علاوه بر آن این پروتئین یکی از فاکتورهای اصلی و مهم انعقاد خون می‌باشد، به طوری‌که در مواردی که آسیب رگی اتفاق می‌افتد پلاکت‌ها و فاکتورهای انعقادی درگیر در مسیر داخلی و خارجی انعقاد فعال می‌شوند اما شرط تشکیل لخته تبدیل فیبرینوژن به فیبرین می‌باشد (Pabst et al., 2007).

سنجش مدت زمان ترومبین و ترومبوپلاستین فعال نسبی از آزمایش‌های غربالگری می‌باشند که به منظور تشخیص بیماری‌های انعقادی انجام می‌شوند و مشخص‌کننده وضعیت مسیر خارجی و داخلی انعقاد می‌باشد (Al-Mashhadani et al., 1994). استفاده از این آزمایش‌ها زمانی ارزشمند است که میزان طبیعی و عوامل تأثیرگذار بر آن‌ها معلوم باشد. فصل یکی از عواملی است که برخی از فاکتورهای خونی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. لذا در این تحقیق تأثیر فصل بر میزان فیبرینوژن، مدت زمان ترومبین و ترومبوپلاستین فعال نسبی مورد بررسی قرار گرفت تا در صورت مشخص شدن تأثیر آن بر روی این پارامترها این نکته در ارزیابی این پارامترها به منظور تشخیص بیماری‌های انعقادی در نظر گرفته شود و در هر فصل از مقادیر مربوط استفاده شود.

مواد وروش‌ها

به منظور انجام این تحقیق ۱۰ رأس گاو به ظاهر سالم متعلق به یک گاوداری صنعتی اطراف شهرستان یاسوج انتخاب شد و با انجام معاینات بالینی، آزمایش‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی و نیز بررسی آلودگی انگلی سلامتی آنها تأیید گردید. (هیچ‌یک از این گاوها تازه‌زا نبوده و به تازگی واکسن دریافت نکرده بودند و همگی غیرآبستن بودند). از هر یک از گاوها در صبح زود دو روز مختلف (به منظور اطمینان از عدم وجود تفاوت قابل ملاحظه در میانگین میزان هریک از پارامتر های مورد مطالعه در روزهای مختلف هر فصل) فصل زمستان و نیز در ظهر هنگام دو روز مختلف فصل تابستان با رعایت شرایط استریل خون‌گیری به عمل آمد و در لوله‌های حاوی مواد ضدانعقاد سیتراته جمع‌آوری شد. پس از هر مرحله خون‌گیری نمونه‌های خون سریعا در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال یافته و در آنجا به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۲۵۰۰ سانتریفوژ شده و پلاسمای حاصل در کاپ‌های مخصوص اپندورف جمع‌آوری شد. اندازه‌گیری فیبرینوژن به روش انکسارسنجی رسوبی و با استفاده از رفراکتومتر دیجیتال مدل 1T ساخت شرکت ATAGO ژاپن، تعیین مدت زمان پروترومبین و ترومبوپلاستین فعال نسبی به روش کوآگولومتریک وسیله دستگاه کوآگولومتر مدل RAL.Clot–SP و با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی شرکت زیست شیمی در آزمایشگاه یکی از بیمارستان‌های تخصصی شیراز انجام شد.

نتایج حاصل از آزمایش‌های مختلف (تعیین زمان پروترومبین، ترومبوپلاستین فعال نسبی و فیبرینوژن) با

استفاده از آزمون‌های آماری T test ودانکن در سیستم SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

جدول ۱ میانگین و خطای استاندارد زمان پروترومبین، ترومبوپلاستین فعال نسبی و فیبرینوژن را در دو روز مختلف در زمستان و تابستان نشان می‌دهد.

میانگین و خطای استاندارد زمان پروترومبین، ترومبوپلاستین فعال نسبی و فیبرینوژن در دو فصل زمستان و تابستان در جدول ۲ آورده شده است. وجود یا عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار در روزهای مختلف نمونه‌گیری در زمستان و تابستان و نیز بین میانگین میزان این پارامترها در دو فصل زمستان و تابستان در جدول ۳ آورده شده است.

همانطور که در جدول ۳ و ۱ مشاهده می‌شود میانگین پارامترهای مختلف مورد مطالعه در دو روز مختلف نمونه‌گیری در فصل زمستان و دو روز مختلف نمونه‌گیری در فصل تابستان به یکدیگر بسیار نزدیک می‌باشد، به طوری‌که علاوه بر آمار از نظر عددی نیز اختلاف چندانی نشان نمی‌دهند.

جدول ۲ نشان می‌دهد که بین میانگین زمان ترومبوپلاستین فعال نسبی، پروترومبین و نیز میانگین میزان فیبرینوژن در دو فصل زمستان و تابستان از نظر عددی اختلاف وجود دارد. جدول ۳ نشان می‌دهد که بین میانگین میزان PT و APTT در دو فصل زمستان و تابستان اختلاف آماری معنی‌دار وجود ندارد ($p>۰/۰۵$) اما بین میانگین میزان فیبرینوژن در دو فصل زمستان و تابستان اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده می‌شود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۱- میانگین و خطای استاندارد زمان پروترومبین، ترومبوپلاستین فعال نسبی و فیبرینوژن در دو روز مختلف در دو فصل زمستان و تابستان

	فاکتور	تعداد	میانگین	خطای استاندارد
زمستان	PT1 (ثانیه)	۱۰	۱۵/۳	۰/۳۹
	PT2 (ثانیه)	۱۰	۲۰/۳	۳/۰۲
	APTT1 (ثانیه)	۱۰	۸۲/۵	۷/۷۲
	APTT2 (ثانیه)	۱۰	۸۳/۹	۷/۵۶
	FIB1(mg/dl)	۱۰	۳۸۵/۰	۵۲/۸۳
	FIB2(mg/dl)	۱۰	۳۶۷/۶	۳۸/۴۳
تابستان	PT1 (ثانیه)	۱۰	۱۵/۷	۰/۲۲
	PT2 (ثانیه)	۱۰	۱۵/۶	۰/۳۵
	APTT1 (ثانیه)	۱۰	۷۷/۰	۶/۹۲
	APTT2 (ثانیه)	۱۰	۸۱/۸	۵/۱۲
	FIB1(mg/dl)	۱۰	۳۷۹/۴	۱۱/۰۷
	FIB2(mg/dl)	۱۰	۱۹۳/۸	۳۵/۰۳

*فیبرینوژن: FIB، زمان پروترومبین: PT، زمان ترومبوپلاستین فعال نسبی: APTT.

جدول ۲- میانگین و خطای استاندارد زمان پروترومبین، ترومبوپلاستین فعال نسبی و فیبرینوژن در دو فصل زمستان و تابستان

فصل/فاکتور	FIB(mg/dl) (Mean ± SE)	APTT(Second) (Mean ± SE)	PT(Second) (Mean ± SE)
زمستان	۳۷٦/۳±۳۹/۹۱	۸۳/۲±۳/۱۷	۱۷/۷ ±۱/۵۸
تابستان	۲۳٦/٦ ±۱٦/۵۹	۷۹/٤ ±۳/۱۵	۱۵/٦ ± ۰/۲٦

جدول ۳- وجود یا عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار در روزهای مختلف نمونه‌گیری در زمستان و تابستان و نیز بین میانگین این پارامترها در دو فصل زمستان و تابستان

FIB WIN FIB SUM	APTT WIN APTT SUM	PT WIN PT SUM	FIB1 SUM FIB2 SUM	APTT1 SUM APTT2 SUM	PT1 SUM PT2 SUM	FIB1WIN FIB2WIN	APTT1 WIN APTT2 WIN	PT1 WIN PT2 WIN
۰/۰۲۴	۰/۲۶۴۶	۰/۲۰۴	۰/۰۹۹	۰/۶۹۹	۰/۵۹۹	۰/۷۲۶	۰/۹۲۶	۰/۱۲۶۵

بحث و نتیجه‌گیری

عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار (p>۰/۰۵) بین میانگین PT، APTT و نیز فیبرینوژن در دو روز مختلف فصل زمستان با یکدیگر و نیز در دو روز مختلف فصل تابستان در مقایسه با یکدیگر نشان می‌دهد که می‌توان از میانگین میزان هر یک از پارامترهای مورد مطالعه در دو روز مختلف فصل زمستان به عنوان میانگین این فاکتورها در زمستان و نیز از میانگین میزان هر یک از پارامترهای مورد مطالعه در دو روز مختلف فصل تابستان به عنوان میانگین این مقادیر در تابستان استفاده نمود. به عبارت دیگر عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگین این پارامترها در روزهای مختلف یک فصل بیانگر عدم وجود تغییرات چشمگیر در میانگین میزان این فاکتورها در روزهای مختلف هر یک از فصول می‌باشد.

میانگین PT و APTT در زمستان به ترتیب ۱/۵۸ ±۱۷/۷و ۳/۱۷± ۸۳/۲ ثانیه و در تابستان به ترتیب ۰/۲٦ ±۱۵/٦ و ۳/۱۵± ۷۹/٤ ثانیه می‌باشد که بیانگر این مطلب است که مدت زمان مسیر خارجی و داخلی انعقاد در فصل زمستان در مقایسه با فصل تابستان از نظر عددی طولانی‌تر می‌باشد، اما بین هیچ‌یک از این دو فاکتور در زمستان و تابستان اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نمی‌شود (p>۰/۰۵)، این یافته‌ها بیانگر این نکته است که در فصل زمستان تا حدودی روند انعقاد طولانی می‌شود اما تاثیر فصل به اندازه‌ای نیست که سبب بوجود آمدن اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگین مدت زمان انعقاد خون در دو فصل زمستان و تابستان شده و موجود را از نظر انعقاد خون دچار مشکل کند.

Kheirabadi وهمکاران در سال ۲۰۰۷ در رابطه با تاثیر کاهش دما بر روی تشکیل لخته بیان نمودند که کاهش دمای ملایم تا متوسط واکنش اصلی تشکیل لخته را به تاخیر می اندازد و سرعت تشکیل لخته را بدون تاثیر بر روی قوام لخته نهایی کاهش می دهد. همچنین این محققین گزارش نمودند که به جز در موارد شدید در

دیگر موارد فاکتور ۷ اثر کاهش دما را جبران می کند (Kheirabadi et al., 2007).

در این رابطه Bouchama و همکاران در سال ۲۰۰۵ با انجام تحقیقی بر روی میمون (baboon) نتیجه گرفتند که استرس گرمایی زیاد عامل تهدیدکننده زندگی فرد است و سبب افزایش مدت زمان PT و APTT می‌شود (Bouchama et al., 2005).

میانگین میزان فیبرینوژن در فصل زمستان و تابستان به ترتیب ۳۹/۹۱± ۳۷۶/۳ و ۱۶/۵۹± ۲۳۶/۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد، اختلاف بین میانگین میزان این دو عدد به اندازه‌ای است که بین میانگین میزان این دو عدد اختلاف آماری معنی‌دار مشاهدن می‌شود (p<۰/۰۵).

فیبرینوژن فاکتور یک انعقادی می‌باشد و با تبدیل به فیبرین باعث انعقاد خون می‌شود به نظر می‌رسد سرما سبب کاهش روند انعقاد و طولانی شدن مدت زمان آن می‌شود، گرچه این کاهش چشمگیر نیست، اما افزایش فیبرینوژن در این تحقیق قابل ملاحظه می‌باشد، از طرف دیگر فیبرینوژن از پروتئین‌های مرحله حاد مثبت می‌باشد که به دنبال استرس، التهاب و عفونت میزان آن افزایش می‌یابد، از این‌رو می‌توان افزایش فیبرینوژن را در فصل زمستان آن هم در ساعات اوج سرما این طور توجیه کرد که استرس سرمایی بر روی فیبرینوژن تأثیر گذاشته و فیبرینوژن به عنوان یک پروتئین مرحله حاد مثبت به این استرس پاسخ داده و میزان آن افزایش می‌یابد.

در این رابطه Murciano Revert و همکاران در سال ۱۹۹۸ گزارش نمودند که در فصل سرما میانگین فیبرینوژن در مبتلایان به فشار خون شریانی اولیه بیشتر از فصل تابستان می‌باشد (Murciano Revert et al., 1998).

Stout و Crawford در سال ۱۹۹۱ با انجام تحقیقی بر روی افراد مسن گزارش نمودند که افزایش میزان فیبرینوژن در ٦ ماه سرد سال به اندازه‌ای است که بتواند سبب افزایش احتمال ابتلاء افراد به سکته‌های میوکاردیال و شوک در فصل زمستان شود (Stout and Crawford, 1991).

Tokutomi و همکاران در سال ۲۰۰٤ عنوان نمودند به نظر نمی‌رسد که کاهش درجه حرارت به مدت ٤٨ تا ۷۲ ساعت خطر ابتلا به عفونت و اختلالات انعقادی را افزایش دهد، گرچه بیماران هیپوترمیک افزایش قابل ملاحظه‌ای در شاخص‌های التهابی مانند پروتئین واکنش‌دهنده سی و تعداد گلبول‌های سفید پس از افزایش دمای مجدد نشان می‌دهند (Tokutomi et al., 2004).

Reed و همکاران در سال ۱۹۹۰ با انجام تحقیقی بیان نمودند که کاهش دما منجر به اختلالات انعقادی می‌شود، اما این اختلالات به میزان فاکتورهای انعقادی وابسته نمی‌باشد (Reed et al.,1990).

Bouchama و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش نمودند که استرس گرمایی امکان التهاب و پاسخ هموستاتیک را افزایش می‌دهد (Bouchama et al., 2005).

Salvagno و همکاران در سال ۲۰۰۹ بیان نمودند که در صورتی که نمونه‌ها قبل از سانتریفوژ شدن به مدت ۳ تا ٦ ساعت در دمای اتاق نگه‌داری شوند کاهش قابل توجهی در مدت زمان پروترومبین و میزان فیبرینوژن مشاهده می‌شود (Salvagno et al.,2009).

برخی تحقیقات بر تأثیر افزاینده استرس گرمایی بر مدت زمان PT و APTT دلالت دارند (Bruchim et al., 2006; Chen et al., 2006; Hart et al., 1980; Hsu et al., 2006) و برخی محققین اثر کاهنده استرس گرمایی را بر این پارامترها گزارش نموده‌اند (Al-Mashhadani et al.,1994; Bouchama et al.,2005).

Van Den Berg و همکاران در سال ۱۹۹۷ عدم تغییر میانگین میزان فیبرینوژن را به دنبال استرس گرمایی گزارش نمودند (Van Den Berg et al.,1997). Chen و همکاران با انجام تحقیقی بر روی ۳۲ موش آزمایشگاهی عنوان نمودند که شوک گرمایی ۴۰ درجه سلسیوس سبب افزایش مدت زمان PT و APTT می‌شود(Chen et al.,2006).

Bruchim و همکاران در سال ۲۰۰۶ با انجام تحقیقی در سگ بیان نمودند که در فصل تابستان مدت زمان PT و APTT افزایش و میانگین میزان فیبرینوژن تغییری نمی‌کند (Bruchim et al., 2006).

سرمای فصل زمستان تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر میانگین مدت زمان پروترومبین و ترومبوپلاستین فعال نسبی ندارد، اما میزان فیبرینوژن را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد.

منابع

- نظیفی، س. (۱۳۸۵). علوم آزمایشگاهی دامپزشکی (آسیب شناسی بالینی)، انتشارات دانشگاه شیراز، چاپ دوم، صفحه ۱۹۷-۱۹۳.

- Al-Mashhadani, S.A., Gader, A.G., Harthi, S.S, Kangav, D., Shaheen, F.A. and Bogus, F. (1994). The coagulophathy of that storke: alternations in coagulation and fibrinolysis in heat stroke patients during the pilgrimage (haj) to makkah. Blood Coagul Fibrinolysis, 5(5): 731-736.
- Bouchama, A., Roberts, G., Almohanna, F., El-sayed, R., Lach, B., Chollet- Martin, S., Ollivier, V., Albaradei, R., Loualich, A., Nakeeb, S., Eldali, A. and Deports, D. (2005). Inflammatory, hemostatic, and clinical changes in baboon experimental model for heat stroke. Journal of Applied Physiology, 98: 697-705.
- Bruchim, Y., Klement, E., Saragustry, J., Finkeilstein, E., Kass, P. and Arch, I. (2006). Heatstroke in dogs: a retrospective study of 54 cases (1999-2004) and analysis of risk factor for death. Journal of Veterinary International Medicine, 20: 38-46.
- Chen, C.M., Hou, C.C., Cheng, K.C., Tian, R.L., Ching, C.P. and Lin, M.T. (2006). Activated protein C theraphy in arat heat stroke model. Medicine Center Research Laberatory, 34(7): 1960-1966.
- Hart, L.E., Egier, B.P., Shimizu, A.J., Tadan, P.G. and Sutton, J.R. (1980). Exertional heat stroke: The runner's nemesis. Canadian Medical Association Journal, 122(10): 1144-1150.
- Hsu, S.F., Niu, K.C., Lin, C.L. and Lin, M.T. (2006). Brain cooling causes attenuation of cerebral oxidative stress, systemic inflammation, activated coagulation and tissue ischemia/injury during Heathstroke Sock, 26(2): 210-220.
- Kheirabadi, B.S., Delgado, A.V., Dubick, M.A., Scherer, M.R., Fedyk, C.G., Holcomb, J.B. and Pusateri, A.E. (2007). Nvitro effect of actiuated recombinant factor VII (rfvlla) on coagulation properties of human blood hypothermic temperatures. Journal of Trauma, 63(5): 1079-1089.

- Kulaputana, O., Macko, R.F., Ghiu, I., Phares, D.A., Goldberg, A.P. and Hagberg, J.M. (2005). Human gender differences in, fibrinolotic responses to exercise training and their determinant", Exp Physiology, 90: 881-887.
- Murciano Revert, J., Martinez-Lahverta, J.J. and Porcar, L.A. (1998). The seasanal variation in the plasma fibrinogen concentrations in patients with essential arterial hypertension. Aten Primaria, 22(5): 298-301.
- Pabst, M., Bondili, J.S., Stadlmann, J., Mach, L. and Altmann, F. (2007). Mass+retention time= structure: a strategy for the analysis of N-glycans by carbon LC-ESI-MS and its application to fibrin N-glycans. Analitical Chemistry, 79 (13): 5051–7.
- Reed, R.L. Bracey, A.W.J.r., Hudson, J.D., Miller, T.A. and fischer, R.P. (1990). Hypothrmia and blood coagulation :dissociation between enzyme activity and clotting factor lerels .Circ shok, 32(2): 141-152.
- Salvagno, G.L., Lippi, G., Montagnana, M., Franchini, M., Poli, G.G. and Uidi, G.C. (2009). Influenceof temperature and time before Centrifugation of specimens for routine coagulation testing. International Journal of Laboratory Hematology, 31(4): 462-467.
- Stout, R.W. and Crawford, V. (1991). Seasonal variations in fibrinogen concentrations among elderly people. Lancet, 338(8758): 9-13.
- Tokutomi, T., Miyagi, T., Morimoto, K., Karukaya, T. and Shigemorim, M. (2004). Effect of hypothermia on serum electrolyte ,inflammation ,coagulation,and nvtritional parameters in patients with severe traumatic brain injury. Neurocrit care, 1(2): 171-182.
- Van Den Berg, P.J.M., Hospers, J.E.H., Van Vliet, M., Mastered, W.L., Bouma, B.N. and Huisveld, L.A. (1997). Effect of endurance training and seasonal fluctuation on coagulation and fibrinolysis in young sedentary men. Journal of Applied Physiology, 82(2): 613-620.

The changes in the fibrinogen concentration and coagulation pathways in winter and summer in cattle

Khoshvaghti, A.*

Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.
* Corresponding author email: Khoshvaghti2004@yahoo.com
(Received: 2013/7/1 Accepted: 2013/10/28)

Abstract

Fibrinogen is an important coagulation factor and a positive acute phase protein and its levels increases in cases of inflammation infection and stress. The present research was done to determine whether the fibrinogen concentration, prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) can be affected by seasonal changes. In this study, the blood of ten apparently healthy cows from around Yasouj city were taken under aseptic conditions and, then the plasma was separated. The fibrinogen concentration, was assayed by sedimentation refractometry method, PT and APTT were measurement by coagolometric method. The statistical analysis indicated that there was significant difference between the mean concentration of fibrinogen in summer and winter ($P<0.05$), but the increase in PT and APTT was not as much that a significant statistical difference could be seen between these parameters in winter and summer ($P>0.05$). It is concluded that seasonal changes can affect the fibrinogen concentration but does no affect PT and APTT significantly.

Key words: Activated partial thromboplastin time, Cow, Fibrinogen, Prothrombin time