بررسی ارزش تشخیصی غلظت پلاسمایی آدنوزین د آمیناز، اسفنگوزین-۱- فسفات و ویسفاتین در تشخیص بالینی بیماری سارکوسیستوزیس در نشخوارکنندگان کوچک شهرستان ارومیه

امیرمهمان پسند[۱]، سهراب رسولی[۲*]، محمد حسین صادقی[۳]، فائزه حیدربیگی[۱]، سها رضازاده[۱]

۱- گروه دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۲- گروه انگل شناسی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۳- گروه میکروبیولوژی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی ، ارومیه، ایران

نویسنده مسئول: rasouli86@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۷/۲ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۸/۲۲)

چکیده

زمینه و هدف: سارکوسیستیس یک تک یاخته انگلی درون سلولی اجباریست که می تواند موجب اختلالات گوارشی در بیماران شود. همچنین باعث خسارات هنگفت مالی در صنعت دامداری می‌شود. مطالعه گستردگی شیوع این انگل در دام ها می تواند موجب بالا رفتن آگاهی و احتمال پیشگیری به موقع در جلوگیری از تلفات دامی باشد. بررسی حاضر به منظور مطالعه‌ی تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی آدنوزین‌دآمیناز، ویسفاتین و اسفنگوزین-۱- فسفات در اثر آلودگی گوسفند و بز به سارکوسیست انجام شد.

مواد و روش ها: طی یک دوره ی ۶ ماهه (از دی ماه ۱۳۹۸ تا خرداد ۱۳۹۹) از ۱۶۰ نمونه (۸۰ لاشه گوسفند و ۸۰ لاشه بز) که مورد بررسی ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک قرار گرفتند خونگیری انجام شد. حجم نمونه با فرض میانگین شیوع احتمالی آلودگی در حدود ۹۰ ٪ و فاصله اطمینان ۹۵٪ تعیین گردید. لاشه‌ها از لحاظ وجود کیست های دانه برنجی مورد مشاهده و بررسی قرار گرفتند و پس از جداسازی نمونه‌های پلاسما پارامترهای آدنوزین د آمیناز، ویسفاتین و اسفنگوزین-۱- فسفات مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج: بر اساس نتایج این مطالعه ، کلیه پارامترهای مذکور در بزان و گوسفندان بیمار مورد مطالعه نسبت به گروه شاهد دارای افزایش آماری معنی دار بودند (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری: در مجموع، سارکوسیست می تواند باعث بروز تغییراتی در مقادیر پلاسمایی آدنوزین‌دآمیناز، ویسفاتین و اسفنگوزین-۱- فسفات شود. لذا می‌توان با بررسی‌های وسیع تر پارامترهای یاد شده به همراه دیگر پارامترهای پلاسمایی در تشخیص بیوشیمیایی (بیومارکر) سارکوسیست در نشخوارکنندگان استفاده نمود.

کلید واژه ها : سارکوسیستوزیس، آدنوزین دآمیناز، ویسفاتین، اسفنگوزین ۱-فسفات، ارومیه

مقدمه

آلودگی‌های انگلی از شایع ترین امراض حیوانات محسوب می‌شوند. شرایط اقلیمی و آب‌وهوایی، نحوه تغذیه حیوانات و پوشش‌های گیاهی از جمله عوامل تاثیرگذار بر آلودگی‌های انگلی هستند .براساس نتایج به دست آمده از مطالعات انجام شده در ارتباط با شیوع سارکوسیست در گوسفندان در کشورهای مختلف به ترتیب ۹۷٪ در عراق، ۹۳٪ در اتیوپی، ۹۰٪ در ترکیه و ۵۲.۵۱٪ در چین گزارش شده است(Agholi. et al. 2021). مطالعاتی که اخیرا با کمک تکنیک های مولکولی صورت گرفته، شیوع سارکوسیست را بین ۵۲ تا ۱۰۰ درصد گزارش داده است (Rezaei and Mirzaei 2016 ؛ Moré، 2011) از جمله پیامدهای عفونت‌های انگلی در صنعت پرورش دام، مرگ‌ومیر حیوانات آلوده، کاهش وزن و تولیدات آن‌ها و بی‌مصرف بودن ارگان‌های آلوده پس از ذبح را می‌توان نام برد (Bargozide. *et al*. 2017).

امروزه گونه‌های مختلفی از سارکوسیست در انسان و حیوانات شناخته شده‌اند(Arshad. *et al*. 2007). مورفولوژی کیست سارکوسیست در اکثر میزبان ها یکی است ولی اندازه کیست آن در گونه های مختلف متفاوت است و در برخی میزبان ها با چشم غیر مسلح دیده نمی شود (-NourollahiFard.*et al*. 2009). به طور کلی اکثر میزبانان نهایی با مصرف گوشت حاوی کیست‌های داخل الیاف عضلانی یا همان سارکوسیست که حاوی برادی‌زوئیت فراوانی است به تک یاخته مبتلا می‌گردند. برادی زوئیت‌ها سیر تکامل جنسی را از دیواره روده کوچک آغاز می‌کنند و تبدیل به اواوسیت می‌گردند و اسپروسیت حاوی اسپروزوئیت با مدفوع از میزبان نهایی دفع شده و با خوردن آن‌ها توسط میزبان واسط، یعنی گوسفند، بز، گاو و خوک چرخه زندگی انگل کامل می‌شود (Dubey. *et al*. 2000).

گونه‌های *S.hircicanis* و *S.Capracanis* کیست‌های میکروسکوپی وگونه‌ی *S.caprafelis* کیست‌های ماکروسکوپی در بز ایجاد می‌کنند. همچنین گونه‌های-*S. ovicanis*و *S.ovifelis* از جمله سارکوسیست‌هایی هستند که در گوسفند آلودگی ایجاد می‌کنند. کیست‌های دانه برنجی که در گوسفند و بز، سارکوسیست ایجاد می‌کنند در حلق، مری، دیافراگم، زبان، قلب و ماهیچه‌های اسکلتی دیده می‌شوند و در بافت‌هایی که آلودگی شدید است سارکوسیست توسط تعداد زیادی سلول آماسی و بافت فیبروه احاطه شده است (tenter .1995).

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که عفونت‌های انگلی با تغییراتی در فعالیت آدنوزین‌دآمیناز[1] همراه هستند (Da silva. *et al*. 2011؛ Suswam. *et al*. 2003). کاهش فعالیت **آدنوزین دآمیناز** ممکن است سبب افزایش غلظت آدنوزین داخل سلول شود که به آدنوزین اجازه می‌دهد تا با کاهش پاسخ ایمنی در برابر انگل و تقویت عفونت انگلی یک اثر ضد التهابی احتمالی ایجاد کند(Grosskopf Hyolande. *et al*.2017).

علاوه بر این، مکمل بیرونی اسفنگوزین-۱- فسفات [2] بار انگل داخل سلولی را با کاهش فسفریلاسیون ERK1/2 و IL-10 در سطح mRNA و پروتئین کاهش می‌دهد(-Arish. *et al*. 2015). با افزایش مهاجرت سلول‌های لنفوئیدی ذاتی، مشخص شده است که کموتاکسی به واسطه اسفنگوزین-۱-فسفات در دفاع ضد انگلی نقش دارد (-Huang.*et al*.2018). در اکثر بیماری‌های عفونی، آنزیم های دخیل در متابولیسم اسفنگوزین-۱- فسفات مورد هدف قرار می‌گیرند. به همین دلیل در طی‌عفونت‌های انگلی سیگنال دهی اسفنگوزین-۱- فسفات دچار اختلال می‌شود (Arish.

[1] -Adenosine deaminase (ADA)

[2]- Sphingosine-1-phosphate (S1P)

et al. 2015). با این حال، گزارش‌های کمی در مورد نقش لیپیدهای فعال زیستی، مانند اسفنگوزین-۱- فسفات و مسیرهای سیگنالینگ مرتبط در طول عفونت با انگل‌های تک یاخته‌ای وجود دارد.

در ارتباط با ویسفاتین، مطالعات هر چند اندک، حاکی از آن است که ویسفاتین فعالیت درون سلولی آنزیم‌های وابسته به NAD/NADH که برای ترشح انسولین تحریک شده با گلوکز حیاتی هستند را در سلول‌ها بتای پانکراس تنظیم می‌کند(Revollo. *et al*. 2007). سطوح ویسفاتین در گردش خون به‌طور تنگاتنگی با تجمع بافت چربی سفید[3] مرتبط است و سنتز آن به وسیله چندین فاکتور شامل TNF-α ، گلوکورتیکوئیدها، IL-6 و هورمون رشد تنظیم می-شود(Jaso friedman.*et al*.2008). این هورمون توانایی پیش‌التهابی و آنتی‌آپوپتوتیک دارد و نقش مهمی در بیماری-های التهابی و عفونی ایفاء می‌کند(Sonoli. *et al*.2011).

در این مطالعه، برای اولین بار تغییرات آنزیم آدنوزین‌دآمیناز سرمی در نشخوارکنندگان کوچک مبتلا به سارکوسیست مورد بررسی قرار گرفت.

شایان ذکر می‌باشد که مطالعات وسیعی، افزایش معنی‌دار پارامترهای بیوشیمیایی از جمله آدنوزین‌دآمیناز ، اسفنگوزین-۱- فسفات و ویسفاتین را در بیماری‌های مختلف همچون بیماری‌های قلبی، هایپرگلایسمی و دیابت، بدخیمی‌ها و اختلالات منجر به التهاب را در انسان و دام گزارش نموده-اند و این پارامترها به عنوان یکی از شاخص‌های التهابی در تشخیص بعضی از بیماری‌ها یاد کرده‌اند (Erkilic. *et al*. 2003). با توجه به اینکه استان آذربایجان غربی و شهرستان ارومیه از قطب های تولید گوشت قرمز در کشور می باشد، ضرورت انجام تحقیقی بر پایه بررسی تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی در حین شیوع سارکوسیست در دام های کشتاری جهت به چالش کشیدن روش های سنتی بیش از پیش اهمیت پیدا می کند. مطالعات زیادی در زمینه بررسی میزان ماکروکیستها و حتی میکروکیستهای سارکوسیست در دامهای مختلف انجام گرفته است ولی هیچ یک به بررسی پارامترهای بیوشیمیایی حاصل از ابتلا به سارکوسیستیس نپرداخته اند. مطالعه حاضر به جهت بررسی تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی آدنوزین‌دآمیناز، ویسفاتین و اسفنگوزین-۱- فسفات در گوسفندان و بز های آلوده به سارکوسیست در شهرستان ارومیه، برای اولین بار در ایران به منظور تعیین نقش این بایومارکر های شیمیایی جهت تشخیص سارکوسیست انجام شد.

مواد و روش ها

در بررسی حاضر که به مدت شش ماه از دی ماه ۱۳۹۸ تا خرداد ۱۳۹۹ در کشتارگاه صنعتی شهرستان ارومیه به طول انجامید. به منظور تعیین میزان شیوع سارکوسیست در بزها و گوسفندان ذبح شده و تاثیر شیوع این بیماری بر پارامترهای بیوشیمیایی مختلف، در مجموع از ۱۶۰ لاشه دام کشتاری شامل ۸۰ لاشه گوسفند و ۸۰ لاشه بز نمونه‌گیری تصادفی ساده انجام شد و مورد بررسی ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک قرار گرفتند. حجم نمونه با فرض میانگین شیوع احتمالی آلودگی در حدود ۹۰ ٪ و فاصله اطمینان ۹۵٪ و خطای نمونه برداری ۵ ٪ تعیین‌گردید. حجم نمونه سارکوسیستیس‌های آلوده کننده این نشخوارکنندگان طی مراحل شناسایی آنها در میزبان مشخص شد.

با مراجعه به کشتارگاه ارومیه و بعد از تهیه نمونه خون و لاشه‌های مورد مطالعه بافت‌های مختلف شامل زبان، مری، قلب، دیافراگم، ران و بازو از لحاظ وجود

[3] - white Adipose Tissue (WAT)

کیست‌های دانه برنجی مورد مشاهده و بازرسی قرار گرفت. همچنین اطلاعات مربوط به دام‌ها از قبیل جنس، نوع دام، سن، بافت حاوی ماکروکیست و شدت آلودگی ثبت گردید. در ادامه جهت بررسی مقایسه‌ای پارامترهای بیوشیمیایی، نمونه خون‌های کامل تهیه شده به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد ارومیه منتقل گردید. برای سنجش میزان اسفنگوزین -۱- فسفات پلاسما، از کیت الایزای شرکت East Biopharm, Hangzhou کشور چین استفاده شد. کیت ویسفاتین از شرکت Biotech day crystal چین خریداری شده و هر دو به روش الایزا اندازه گیری شد. آزمایش آدنوزین‌د آمیناز توتال با استفاده از کیت شرکت شیم آنزیم و آزمایشی ADA2 با استفاده از مهار کننده erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl)adenine[4] انجام گردید.

در این مطالعه ٤٤ نمونه خون از گوسفندان (۲۵ گوسفند ماده و ۱۹ گوسفند نر) و ۳۹ نمونه خون از بزهای (۲۳ بز ماده و ١٦ بز نر) مبتلا به سارکوسیست که بطور ماکروسکوپیک در کشتارگاه ارومیه شناسایی شده بودند ، اخذ شد. ٣٦ نمونه خون از گوسفندان (٢٦ گوسفند ماده و ۱۰ گوسفند نر) و ٤١ نمونه خون از بز هایی (۲۱ بز ماده و ۲۰ بز نر) که هیچگونه ضایعه ماکروسکوپیکیک و میکروسکوپیک نداشتند ، اخذ شد و به عنوان گروه سالم در نظر گرفته شدند. نمونه‌های خونی مذکور به لوله‌های حاوی مقادیر مناسب ضد انعقاد EDTA منتقل شدند و درآزمایشگاه آزمایش میکروسکوپیک جهت آگاهی از وجود و یا عدم وجود انگل خونی به کمک رنگ‌آمیزی گیمسا (محلول ۵ درصد) صورت گرفت.

جدا شدن پلاسمای نمونه‌های خونی به مدت ۱۰ دقیقه در ٦٠٠٠ دور سانتریفیوژ و نگهداری آنها در فریزر به دمای ۲۵- درجه سلسیوس صورت گرفت. جهت ذوب نمودن نمونه‌های پلاسمایی منجمد شده و دست یابی به دمای مدنظر، از بن ماری سرولوژیک ۳۷ درجه سیلسیوس استفاده شد (طبق بروشور کیت).

اساس اندازه‌گیری فعالیت انزیم آدنوزین‌دآمیناز تبدیل آدنوزین به اینوزین است. اینوزین تولید شده سپس توسط آنزیم نوکلئوزید فسفوریلاز به هیپوگزانتین تبدیل می‌گردد. هیپوگزانتین توسط آنزیم گزانتین اکسیداز، اکسید شده و تولید H_2O_2 می‌گردد. مقدارH_2O_2 تولید شده به روش رنگ سنجی اندازه گیری شد.

به‌منظور اندازه‌گیری ویسفاتین از روش الایزا استفاده شد (Salama.*et al.*2015).

به منظور اندازه گیری اسفنگوزین-۱-فسفات یکی از چاهک‌ها به عنوان شاهد قرار داده شد، در همین راستا به یکی از چاهک‌ها (معمولاً اولین چاهک) ۵۰µl از محلول رنگزای A و ۵۰µl از محلول رنگزای B و محلول متوقف کننده اضافه گردید. در پنج چاهک بعدی ۵۰µl از رقت‌های مختلف استاندارد ریخته و به آن ۵۰µl استرپتاویدین–HRP اضافه شد. در چاهک-های نمونه ٤٠µl از نمونه را ریخته و به آن ۱۰µl آنتی‌بادی اسفنگوزین-۱- فسفات اضافه کرده و ۵۰µl استرپتاویدین–HRP نیز افزوده شد. چاهک‌ها را تکان داده و کاغذ مخصوص بر روی چاهک‌ها قرار داده شد

[4] - EHNA

و در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس به مدت یک ساعت انکوبه گردید. پس از اتمام زمان انکوباسیون چاهک‌ها را به حالت وارونه قرار داده تا مایع داخل چاهک‌ها به طور کامل خارج گردد که این عمل با چند بار تکان دادن تکرار شد. ۵۰ µl از محلول رنگ زای شماره A و سپس همان مقدار محلول رنگ زای B به چاهک‌ها اضافه گردید و سپس چاهک‌ها را تکان داده تا محتویات کاملاً مخلوط گردد و سپس ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس انکوبه گردید (دور از نور). در مرحله بعد به هر چاهک ۵۰µl از محلول متوقف کننده که با آب مقطر رقیق شده است را اضافه کرده که در این حالت رنگ محلول به زرد تغییر می‌نماید. در پایان جذب نوری چاهک‌های استاندارد و نمونه‌ها در طول موج ٤٥٠nm با دستگاه الایزا ریدر بدست آمده و پس از تهیه منحنی استاندارد مقادیر اسفنگوزین-۱-فسفات نمونه‌ها براساس منحنی استاندارد مشخص می‌گردد.

_ تحلیل آماری داده‌ها

پردازش اطلاعات با بهره‌گیری از نرم‌افزار Excell, v.2013 و SPSS, v.19 انجام شده است. برای تعیین ارتباط بین متغیرها آزمون تی به کار گرفته شد و موارد P<۰/۰۵ معنادار تلقی گردید.

نتایج

نتایج حاصل از آزمون کلموگروف اسمیرنوف در جدول ۱ و ۲ نشان می‌دهد که مقدار سطح معنی‌دار پارامتر تحقیق، کمتر از ضریب ملاک یعنی ۰/۰۵ است. بنابراین پارامترهای تحقیق توزیع نرمال و پیش شرط آزمون تی مستقل را دارا می‌باشند.

همان گونه که نتایج آزمون تی مستقل نشان می‌دهد، از آنجا که در مقایسه میانگین دو گروه گوسفندان نر و ماده سالم و بیمار مقدار سطح معنادار به دست آمده کمتر از سطح معنی‌دار ملاک ۰/۰۵ است، بنابراین با ۹۵ ٪ اطمینان می‌توان گفت که تفاوت معناداری بین میانگین پارامترهای آدنوزین د آمیناز، اسفنگوزین-۱-فسفات و ویسفاتین در بین گروه‌های سالم و بیمار وجود دارد (**P**<۰/۰۵) (جدول ۱).

همچنین مقایسه میانگین پارامترها بین دو گروه بزهای نر و ماده سالم و بیمار نیز حاکی از آن است که تفاوت معناداری بین میانگین پارامترهای آدنوزین د آمیناز، اسفنگوزین-۱- فسفات و ویسفاتین در بین گروه های سالم و بیمار وجود دارد (**P**<۰/۰۵) (جدول ۲) .

جدول ۱. مقایسه میانگین پارامتر های ADA ، S1P و ویسفاتین در گوسفندان نر و ماده سالم و بیمار

گونه	جنس	تعداد	وضعیت	میانگین ADA (u/L)	میانگین S1P (ng/l)	میانگین ویسفاتین (µg/L)
گوسفند	نر	۱۰	سالم	۱۱/۰۹	۸۶/۳۳	۰/۸۳
		۱۹	بیمار	۷۶/۵۲	۲۱۵/۰۶	۸/۲۲
	ماده	۲۶	سالم	۱۹/۷۳	۵۵/۳۱	۰/۳۷
		۲۵	بیمار	۱۲۲/۱۵	۲۴۴/۱۵	۷/۴۴

جدول ۲. مقایسه میانگین پارامترهای ADA، S1P و ویسفاتین در بزهای نر و ماده سالم و بیمار

گونه	جنس	تعداد	وضعیت	میانگین ADA (u/L)	میانگین S1P (ng/l)	میانگین ویسفاتین (µg/L)
بز	نر	۲۰	سالم	۲۸/۶۶	۱۰۵/۱۲	۰/۵۳
		۱۶	بیمار	۹۷/۱۱	۳۲۴/۵۵	۹/۸۲
	ماده	۲۱	سالم	۳۵/۶۲	۴۲/۱۸	۰/۲۸
		۲۳	بیمار	۱۶۴/۴۴	۳۸۹/۶۲	۱۱/۵۷

بحث و نتیجه گیری

در مجموع امروزه مطالعات زیادی با هدف بررسی نقش و عملکرد پارامترهای بیوشیمیایی به عنوان یک شاخص تشخیصی برای بیماری‌ها در حال انجام می‌باشد. نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر افزایش معنی‌دار($P<۰/۰۵$) در کلیه پارامترهای پلاسمایی در گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم بود. احتمال دارد افزایش معنی‌دار پارامترهای بیوشیمیایی مورد بررسی در این مطالعه در نشخوارکنندگان کوچک مبتلا به سارکوسیست ناشی از اثر تحریکی بیماری یاد شده در بیوسنتز این پارامترها به دنبال آلودگی و التهاب باشد، چرا که این پارامترها یکی از شاخص‌های التهابی است که در فاز حاد بیماری‌ها افزایش می‌یابد (Grosskopf Hyolanda 2017؛ Sonoli *et al*. 2011).

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که فعالیت آنزیم آدنوزین‌دآمیناز در بزان و گوسفندان مبتلا، نسبت به سالم به طور معنی داری افزایش یافته است. فقدان آدنوزین‌دآمیناز در اریتروسیت و لنفوسیت باعث ضعف سیستم ایمنی می‌شود. همچنین مهار این آنزیم، عملکرد و بلوغ لنفوسیت ها و سایر سلول های ایمنی را تضعیف می کند. با فقدان آدنوزین‌دآمیناز در تمام سلول ها، سیستم ایمنی آسیب دیده و عفونت های حیاتی، تک یاخته ای، قارچی، باکتریایی‌ولنفوپنی دیده می‌شود(Cenesiz. *et al.*2007). به علاوه هنگامی که مونوسیت ها و ماکروفاژها به انگل‌های داخلی آلوده می‌شوند، فعالیت آدنوزین‌دآمیناز در آن‌ها افزایش می-یابد. تاکنون مطالعه‌ای برای تعیین سطح آدنوزین‌دآمیناز در سارکوسیستیس انجام نشده است. با این حال در مطالعه‌ای که Tripathi و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام دادند، مشخص شد که سطح آدنوزین‌دآمیناز در لیشمانیوز احشایی افزایش می‌یابد(Tripathi. *et al*. 2008). همچنین در مطالعه ای دیگر، ذکر شده است که سطح آدنوزین‌دآمیناز در مالاریا افزایش می‌یابد (-Daddona. *et al*. 1984) که با نتایج حاصل از مطالعات ما هم خوانی دارد. در مطالعه ای که در سال ۲۰۱٤ توسط Ulka و همکاران بر روی نمونه های انسانی انجام شد، مشخص گردید که سطح ADA در بیماران مبتلا به Enterobius Vermicularis به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از عفونت انگلی کاهش می یابد.(Ulku KARAMAN et al. 2014) که با نتایج حاصل از مطالعات ما مطابقت ندارد. همچنین در مطالعه ای دیگر که روی ۷۰ موش آزمایشگاهی انجام شد نشان داده شد که مقادیر ADA در پلاسمای تعدادی از موش های مبتلا به تریپانوزوما اوانسی افزایش پیدا کرده که با مطالعه ی انجام شده هم خوانی دارد.

نتایج این بررسی نشان دهنده افزایش معنی‌دار مقادیر پلاسمایی اسفنگوزین-۱- فسفات در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد می‌باشد($\mathbf{P}<۰/۰۵$). افزایش غلظت اسفنگوزین-۱- فسفات نقش مهمی در هدایت سلول‌های ایمنی به محل آسیب دیده دارد (*et al*. Mahajan_Thakur 2015). فرایندهایی چون گردش خون لنفوئیدی، ارائه آنتی ژن و التهاب، همگی می‌توانند تحت تاثیر موضعی و سیستماتیک سطح اسفنگوزین-۱- فسفات قرار بگیرند، (Bandhuvula Saba and 2007؛ Huang et al. 2018؛ Kim. *et al*. 2009). همچنین در عفونت‌های انگلی-تک

یاخته ای می‌تواند باعث ازاد سازی سیتوکین‌ها و کموکاین‌های پیش‌التهابی شود که منجر به تخریب انگل و پاسخ التهابی شود. مقاله منتشر شده‌ای مبنی بر تغییرات پلاسمایی اسفنگوزین-۱- فسفات در سارکوسیست وجود ندارد ولی در مطالعه‌ای که Finney و همکاران انجام دادند، مشخص شد که سطح پلاسمایی اسفنگوزین-۱- فسفات در مالاریا کاهش می‌یابد(Finney. *et al*. 2010).

در مطالعه ای دیگر ذکر شده است که اسفنگوزین-۱- فسفات در عفونت لیشمانیا نقش محافظتی دارد و سطح پلاسمایی آن افزایش می یابد ؛ همچنین ممکن است برای تولید دارو های ضد لیشمانیا مفید باشد(Arish. *et al* 2018). در مطالعه ای دیگر که در سال 2018 توسط Elzoheiry و همکاران روی موش های آزمایشگاهی مبتلا به شیستوزوما انجام شد، نشان دهنده ی تجزیه S1P توسط این انگل برای تولید اسفنگوزین و فسفات بود که با نتایج حاصل از مطالعات ما هم خوانی ندارد. (Elzoheiry, Manal, et al. 2018). در مطالعه ای دیگر که توسط گروهی از محققان روی افراد مبتلا به مالاریا انجام شد مشخص گردید که میزان S1P در خون این افراد کاهش پیدا کرد که با نتایج حاصل از تحیقق ما مشابهت ندارد. Luciana Dalla Rosa .,et al. (2017). در مطالعه ای که در سال 2017 که در ارتباط با موش های آزمایشگاهی مبتلا به بروسلا انجام شد، نشان داد که بر اثر ابتلا به این بیماری مقادیر S1P افزایش پیدا می کند که می توان به نقش این ماده در بلوغ و مهاجرت سریع لنفوسیت ها به ویژه لنفوسیتهای T در طی عفونت ها اشاره کرد.(azimzadeh .et al. 2017).

همچنین نتایج نشان می‌دهد که سطح پلاسمایی ویسفاتین در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد بیشتر است ($P<۰/۰۵$).

در واقع آنچه از این مطالعات بر می‌آید حاکی از آن است که می‌توان از افزایش سطوح ویسفاتین پلاسمایی در دام های بیمار به عنوان یک شاخص تشخیصی برای تشخیص بیماری‌های عفونی مانند سارکوسیست استفاده کرد.

همانند دو پارامتر قبلی، تاکنون مطالعه‌ای برای تعیین سطح پلاسمایی و نقش ویسفاتین در سارکوسیستیس انجام نشده است و این مطالعه اولین مطالعه در زمینه بررسی مقادیر ویسفاتین در تشخیص سارکوسیست می باشد .گزارش شده است که ویسفاتین در طول عفونت و التهاب باعث القاء تولید اینترلوکین-۱ بتا، فاکتور نکروز تومور آلفا و ... می‌شود (Bayani.*et al*.2017).

در مجموع این نتیجه گیری را می‌توان داشت که مطالعه انجام شده، مطالعه اولیه می باشد و با هدف ارائه و شناسایی تغییرات پارامترهای یاد شده در سارکوسیست صورت گرفته است و در ادامه مطالعات کاملترو گسترده تری همراه با سایر پارامترها و آزمون های آماری لازم است که بتوان از پارامترهای فوق در جهت تشخیص سارکوسیست در نشخوارکنندگان کوچک از لحاظ بیوشیمایی و ارائه یک بیومارکر نوین بهره جست.

تعداد کم نمونه ها، از جمله مشکلات این مطالعه می

باشد. در صورتی که نتایج این مطالعه، در بررسی‌های بیشتر و با نتایج مشابه تکرار شود و به علاوه، مکانیزم نحوه ارتباط بین فعالیت پارامترهای بیوشیمیایی و نحوه کنترل عفونت مشخص گردد، شاید در آینده بتوان از داروهای مهارکننده فعالیت برای کمک به درمان و یا تشخیص استفاده نمود.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره دکتری حرفه‌ای دامپزشکی دانشگاه ازاد اسلامی واحد ارومیه است. بدین‌وسیله مراتب تقدیر و تشکر را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد واحد ارومیه که ما را در این امر یاری کردند، به جا می‌آوریم.

منابع

1. AGHOLI, M., GOODARZI, A. & TAGHINEZHAD, A. 2021. The present status of Sarcocystis spp. and sarcocystosis in Iran: a literature review. Annals of Parasitology, 67, 567-574.

2. ARISH, M., HUSEIN, A., ALI, R., TABREZ, S., NAZ, F., AHMAD, M. Z. & RUB, A. 2018. Sphingosine-1-phosphate signaling in Leishmania donovani infection in macrophages. PLoS Neglected Tropical Diseases, 12, e0006647.

3. ARISH, M., HUSEIN, A., KASHIF, M., SALEEM, M., AKHTER, Y. & RUB, A. 2015. Sphingosine-1-phosphate signaling: unraveling its role as a drug target against infectious diseases. Drug discovery today, 21, 133-142.

4. Arshad, M., Dalimiasl, A., Ghafarifard, F., 2007. A comparative study of Sarcocystis

diagnosis carcasses of slaughtered sheep in Tabriz abattoir. J Anim Fisheries Res Dev, 75:69-72.

5. AZIMZADEH, K., NARGESABAD, R. N. & VOUSOOGHI, N. 2017. Evaluation of plasma sphingosine 1-phosphate, hepcidin and cardiovascular damage biomarkers (cardiac troponin I and homocysteine) in rats infected with brucellosis and vaccinated (Rev-1, RB-51). Microbial pathogenesis, 109, 67-70.

6. BANDHUVULA, P. & SABA, J. D. 2007. Sphingosine-1-phosphate lyase in immunity and cancer: silencing the siren. Trends in molecular medicine, 13, 210-217.

7. BAYANI, M., POURALI, M. & KEIVAN, M. 2017. Possible interaction between visfatin, periodontal infection, and other systemic diseases: A brief review of literature. European journal of dentistry, 11, 407-410.

8. CENESIZ, S., NISBET, C., YARIM, G. F., ARSLAN, H. H. & CIFTCI, A. 2007. Serum adenosine diaminase activity and nitric oxide level in cows with trichophytosis. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 54, 155-158.

9. DA SILVA, A. S., BELLE, L. P., BITENCOURT, P. E., SOUZA, V. C., COSTA, M. M., OLIVEIRA, C. B., JAQUES, J. A., LEAL, D. B., MORETTO, M. B. & MAZZANTI, C. M. 2011. Activity of the enzyme adenosine deaminase in serum, erythrocytes and lymphocytes of rats infected with Trypanosoma evansi. Parasitology, 138, 201-208.

10. DADDONA, P. E., WIESMANN, W., LAMBROS, C., KELLEY, W. & WEBSTER, H. 1984. Human malaria parasite adenosine deaminase. Characterization in host enzyme-deficient erythrocyte culture. Journal of Biological Chemistry, 259, 1472-1475.

11. DALLA ROSA, L., DA SILVA, A. S., RUCHEL, J. B., GRESSLER, L. T., OLIVEIRA, C. B., FRANÇA, R. T., LOPES, S. T., LEAL, D. B. & MONTEIRO, S. G. 2013. Influence of treatment with 3′-deoxyadenosine associated deoxycoformycin on hematological parameters and activity of adenosine deaminase in infected mice with Trypanosoma evansi. Experimental parasitology, 135, 357-362.

12. DUBEY, J., SAVILLE, W. J. A., LINDSAY, D., STICH, R., STANEK, J., SPEER, C., ROSENTHAL, B., NJOKU, C., KWOK, O. C. H. & SHEN, S. 2000. Completion of the life cycle of Sarcocystis neurona. Journal of Parasitology, 86, 1276-1280.

13. ELZOHEIRY, M., DA'DARA, A. A., BHARDWAJ, R., WANG, Q., AZAB, M. S., EL-KHOLY, E.-S. I., EL-BESHBISHI, S. N. & SKELLY, P. J. 2018. Intravascular Schistosoma mansoni cleave the host immune and hemostatic signaling molecule sphingosine-1-phosphate via tegumental alkaline phosphatase. Frontiers in immunology, 9, 1746.

14. FILIPPATOS, T. D., RANDEVA, H. S., DERDEMEZIS, C. S., ELISAF, M. S. & MIKHAILIDIS, D. P. 2010. Visfatin/PBEF and atherosclerosis-related diseases. Current vascular pharmacology, 8, 12-28.

15. FINNEY, C. A., HAWKES, C. A., KAIN, D. C., DHABANGI, A., MUSOKE, C., CSERTI-GAZDEWICH, C., ORAVECZ, T., LILES, W. C. & KAIN, K. C. 2011. S1P is associated with protection in human and experimental cerebral malaria. Molecular medicine, 17, 717-725.

16. GROSSKOPF, H. M., SCHWERTZ, C. I., MACHADO, G., BOTTARI, N. B., DA SILVA, E. S., GABRIEL, M. E., LUCCA, N. J., ALVES, M. S., SCHETINGER, M. R. C. & MORSCH, V. M. 2017. Cattle naturally infected by Eurytrema coelomaticum: Relation between adenosine deaminase activity and zinc levels. Research in Veterinary Science, 110, 79-84.

17. HUANG, Y., MAO, K., CHEN, X., SUN, M.-A., KAWABE, T., LI, W., USHER, N., ZHU, J., URBAN JR, J. F. & PAUL, W. E. 2018. S1P-dependent interorgan trafficking of group 2 innate lymphoid cells supports host defense. Science, 359, 114-119.

18. JASO-FRIEDMANN, L., LEARY III, J. H., PRAVEEN, K., WALDRON, M. & HOENIG, M. 2008. The effects of obesity and fatty acids on the feline immune system. Veterinary immunology and immunopathology, 122, 146-152.

19. KARAMAN, U., KIRAN, T. & COLAK, C. 2014. The levels of adenosine deaminase (ADA) in the serum of Enterobius vermicularis positive patients. Medicine Science, 3, 1648-1654.

20. KIM, R. H., TAKABE, K., MILSTIEN, S. & SPIEGEL, S. 2009. Export and functions of sphingosine-1-phosphate. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1791, 692-696.

21. MAHAJAN-THAKUR, S., BÖHM, A., JEDLITSCHKY, G., SCHRÖR, K. & RAUCH, B. H. 2015. Sphingosine-1-phosphate and its receptors: a mutual link between blood coagulation and inflammation. Mediators of inflammation, 2015.

22. MIRZAEI, M. & REZAEI, H. 2016. The role of sheep in the epidemiology of Sarcocystis spp. in Tabriz area northwest of Iran. Journal of Parasitic Diseases, 40, 285-288.

23. REVOLLO, J. R., KÖRNER, A., MILLS, K. F., SATOH, A., WANG, T., GARTEN, A., DASGUPTA, B., SASAKI, Y., WOLBERGER, C. & TOWNSEND, R. R. 2007. Nampt/PBEF/visfatin regulates insulin secretion in β cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. Cell metabolism, 6, 363-375.

24. SALAMA, H. M., GALAL, A., MOTAWIE, A. A., KAMEL, A. F., IBRAHIM, D. M., ALY, A. A. & HASSAN, E. A. 2015. Adipokines vaspin and visfatin in obese children. Open access Macedonian journal of medical sciences, 3, 563.

25. SONOLI, S., SHIVPRASAD, S., PRASAD, C., PATIL, A., DESAI, P. & SOMANNAVAR, M. 2011. Visfatin-a review. European Review for Medical & Pharmacological Sciences, 15.

26. SUSWAM, E., ROSS, C. & MARTIN, R. 2003. Changes in adenosine transport associated with melaminophenyl arsenical (Mel CY) resistance in Trypanosoma evansi: down-regulation and affinity changes of the P2 transporter. Parasitology, 127, 543-549.

27. TENTER, A. M. 1995. Current research on Sarcocystis species of domestic animals. International Journal for Parasitology, 25, 1311-1330.

28. TRIPATHI, K., KUMAR, R., BHARTI, K., KUMAR, P., SHRIVASTAV, R., SUNDAR, S. & PAI, K. 2008. Adenosine deaminase activity in sera of patients with visceral leishmaniasis in India. Clinica Chimica Acta, 388, 135-138.

Investigating the diagnostic value of plasma concentration of adenosine deaminase, sphingosine-1-phosphate and visfatin in the clinical diagnosis of sarcocystosis in small ruminants of Urmia city

Amir mehmanpasand[1], Sohrab Rasouli[2], mohammad mosiensadeghi[3], Faezeh Haidarbeigi[1] ,soha rezazadeh[1]*

1. Department of veterinary, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

2. Department of pathology, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

3. Department of Microbiology. Faculty of Veterinary Medicine. Urmia branch. Iran.

*Corresponding Author's E.Mail: ***sohrab_rasouli86@yahoo.com***

(Received:** Sep. 2023 **Accepted:** Nov. 2023)

Abstract

Background and purpose: Sarcocystis is an obligate intracellular parasitic protozoan that can cause digestive disorders in patients. It also causes huge financial losses in the livestock industry. Studying the prevalence of this parasite in livestock can lead to increased awareness and the possibility of timely prevention in preventing livestock losses. The present study was conducted to study the changes in the biochemical parameters of adenosine deaminase, visfatin, and sphingosine-1-phosphate due to sarcocyst infection in sheep and goats.

Materials and methods: During a period of 6 months (from January 2018 to June 2019), blood was drawn from 160 samples (80 sheep carcasses and 80 goat carcasses) that were examined macroscopically and microscopically. The sample size was determined by assuming the average possible prevalence of contamination to be around 90% and a confidence interval of 95%. The carcasses were observed and examined for the presence of rice grain cysts, and after separating the plasma samples, the parameters of adenosine deaminase, visfatin, and sphingosine-1-phosphate wereevaluated.

Results: Based on the results of this study, all the mentioned parameters in the study patient's goats and sheep had a statistically significant increase compared to the control group ($P<0.05$). Discussion and conclusion: In general, sarcocysts can cause changes in the plasma levels of adenosine deaminase, visfatin, and sphingosine-1-phosphate. Therefore, it can be used in the biochemical diagnosis (biomarker) of sarcocyst in ruminants with wider studies of the aforementioned parameters along with other plasma parameters.

Key words: *Sarcocystosis*, Adenosine deaminase, Visfatin, Sphingosine-1-phosphate, Urmia