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

نادر وجدانی‌فر[1*]، شهاب الدین صافی[2]، عباس رحیمی فروشانی[3]، سارو خالدی[4]

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

چکیده

عملکرد پاسخ میزبان به عفونت ها 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 اسبچه های 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 سالین فیزیولوژیک نرمال دریافت کردند.نمونه‌های خونی از رگ وداج در زمان‌های ۰، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۱۴۴ ساعت پس از تزریق ترپنتین و سالین فیزیولوژیک نرمال اخذ گردید که دامنه طبیعی میزان سرم آمیلوئید A سرم خون اسبچه‌های خزر ۵۸/ ۵۶ – ۰ میلی‌گرم بر لیتر ودامنه طبیعی میزان هاپتوگلوبین درسرم خون اسبچه های خزر ۲/۹۵-۰/۴۱ گرم بر لیتر بدست آمد روند تغییرات التهابی هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید Aدر زمانهای مختلف پس از التهاب کاملا معنی دار بودند (P<۰/۰۰۱). نقاط برش هاپتوگلوبین درزمانهای۴، ۱۴۴،۷۲،۴۸ ساعت پس ازتزریق ترپنتین والقاء التهاب جهت تفکیک دام های سالم ازبیماردرزمانهای یادشده به ترتیب ۱/۳۵ g/l، ۱/۴۳ g/l ، ۲/۱۴ g/l، ۳/۱۰ g/l می‌باشد که حساسیت و ویژگی آن ها ۴ساعت پس ازالقاء التهاب به ترتیب ۸۶/۷٪ و ۸۰٪ودرزمانهای۱۴۴،۷۲،۴۸ ساعت پس از القاء التهاب همگی به ترتیب ۹۳/۳٪و ۱۰۰٪ بدست آمده است ونقاط برش سرم آمیلوئیدA درزمانهای ۱۴۴،۷۲،۴۸،۲۴ساعت ۵۲/۸ mg/l ، ۱۵۱۷/۳۱mg/l، ۱۶۲/۸۱ mg/l، ۴۷۹/۴۸ mg/l بودند که حساسیت وویژگی همگی آنها درنقاط برش مذکور به ترتیب ۹۱/۷٪، ۱۰۰٪ به دست آمده است. این یافته‌ها می‌تواند به عنوان شاخص شرایط فیزیولوژیکی اسبچه خزر مورد استفاده قرار گیرد.

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

مقدمه

عدم وجود یک ابزار تشخیصی مناسب در پایش سلامت حیوان و موثر نبودن اغلب معاینات بالینی درهنگام نبود قابلیت باروری و تکثیر و همچنین غفونتهای تحت بالینی، ممکن است بطور غیر مستقیم بررشد وبازدهی و سلامت دامها تأثیر بسزایی بگذارند و اهمیت استفاده از روشهای پاراکلینیکی نظرکلینیکال پاتولوژی، میکروبیولوژی و سرولوژی را دوصد چندان نموده است(۱٤) که این ابزارها می تواند در جلوگیری

۱- استادیار،گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج- ایران
۲- دانشیار، گروه کلینیکال پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحدعلوم وتحقیقات، 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 اسبچه های 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 پروتئین های فاز حاد در سرم و تغییرات غلظت آنها در حیوانات بیمار، اندازه‌گیری 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، اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌های فاز حاد با فراهم نمودن اطلاعات درزمینه شیوع عفونتهای بالینی و تحت بالینی که ازطریق افزایش سرمی پروتئینهای فاز حاد انتخابی صورت می‌گیرد نقش بسیار مهمی درتعیین حضور ویاعدم حضور بیماری دارد و میتواند به عنوان ابزاری در تعین پیش آگهی بیماری و شدت آن مطرح باشد (۱٤و۵). با توجه به اینکه تمامی پروتئین‌های فاز حاد با یک روش مشابه درگونه‌های حیوانی مختلف تغییر نمی‌یابند(۵)، بنابراین قبل از آنکه بتوانیم به طورموثراز پروتئین های فازحاد به عنوان ابزار کلینیکی و تحقیقی استفاده کنیم باید پروتئین‌های فاز حاد مختلف را در اسبچه خزر درهنگام بیماری و تحت شرایط غیربیماری مورد تحقیق و بررسی قرار دهیم. با بررسی تغییرات شاخص‌های التهابی سرم آمیلوئید A(SAA)، هاپتوگلوبین در سرم در حالت سلامت و همچنین القاء التهاب پس از تزریق ترپنتین در اسبچه‌های خزر جهت ایجاد پاسخ مرحله حاد به عنوان فاکتورهای تشخیصی در عفونت‌های بالینی وتحت بالینی و همچنین تفکیک بیماری‌های حاد و مزمن،تعیین پیش آگهی بیماری‌ها، موثر بودن روند درمانی وشدت بیماری می‌باشند (۱٤و٦).

مواد و روش کار

در ابتدا تعداد ۳۰ راس اسبچه خزر۱ 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 ۵-۰ و۱۰-٦ 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 درسعادت آباد) انتقال می‌یافتند.

حداکثر ۳ روز بعداز اطمینان از سلامت کامل حیوان با استفاده ازروش بلوکهای چهارتایی تصادفی تعداد۳۰ راس اسبچه خزر به دوگروه تقسیم شدند که در آن یک گروه ۱۵ تایی ازاسبچه‌های خزر بصورت زیر جلدی (SC) تحت تزریق ترپنتین (۵ سی سی) قرار گرفته و به گروه دوم ۱۵ تایی به میزان هم حجم محلول سالین استریل نرمال (۵ سی سی) تزریق شد

(۱۷و۱۶و۱۳). نمونه‌های خونی از رگ وداج در داخل لوله های بدون ماده ضد انعقاد درزمان های صفر،۲٤،۱٦،۸،٤، ٤۸، ۷۲ و ۱٤٤ ساعت پس از تزریق ترپینتین گرفته شد(۱و٤و۷)،سرم از لوله ها جداسازی شده و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شده‌اند.

کیت اندازه‌گیری هاپتوگلوبین وکنترل هاپتوگلوبین مربوط به شرکت Tridelta co,Wicklow-Ireland Development Ltd. وکیت اندازگیری SAA مربوط به شرکت Tridelta co, Wicklow- Ireland Development Ltd.، دستگاه الایزا 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 قرارگرفت.

آنالیز آماری نتایج بدست آمده با نرم افزار کامپیوتری SPSS 19 انجام گرفت.جهت آگاهی از وجود اختلاف معنی‌دار در مورد هر یک از پارامترهای اندازه گیری شده در دو جنس نریان و مادیان آزمون t-test مستقل مورداستفاده قرار گرفت.جهت آگاهی از وجود اختلاف معنی دار بین میانگین در هریک از پارامترهای اندازه گیری شده در گروههای سنی مختلف آزمون one-way Anova مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس ملاک آزادی TestMauchly's جهت بررسی و آگاهی از اثرفاکتور در روندتغییرات پارامترهای اندازه‌گیری شده، آزمون‌های Greenhouse-Geiser و Sphericity Assumed مورد استفاده قرار گرفتند و جهت آگاهی از تغییرات پارامترها درزمانهای مختلف پس ازالقائ التهاب در مقایسه با زمان صفر ازآزمون F-test درآنالیز داده‌های تکراری استفاده شده است.

نتایج

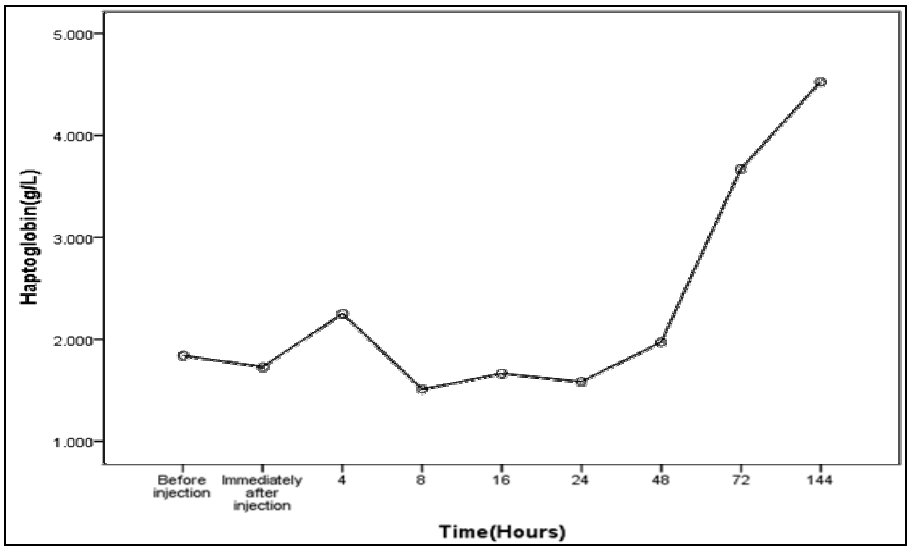
- هاپتوگلوبین

مقایسه میانگین میزان هاپتوگلوبین سرم خون دردوجنس نشان دادکه اختلاف این دو میانگین معنی دارنمی باشد (t=-313 df=28 p=0.757). مقایسه میانگین میزان هاپتوگلوبین سرم خون درسه گروه سنی نشان دادکه اختلاف معنی دارنمی باشد (F=1.831 df=2 p=0.180).

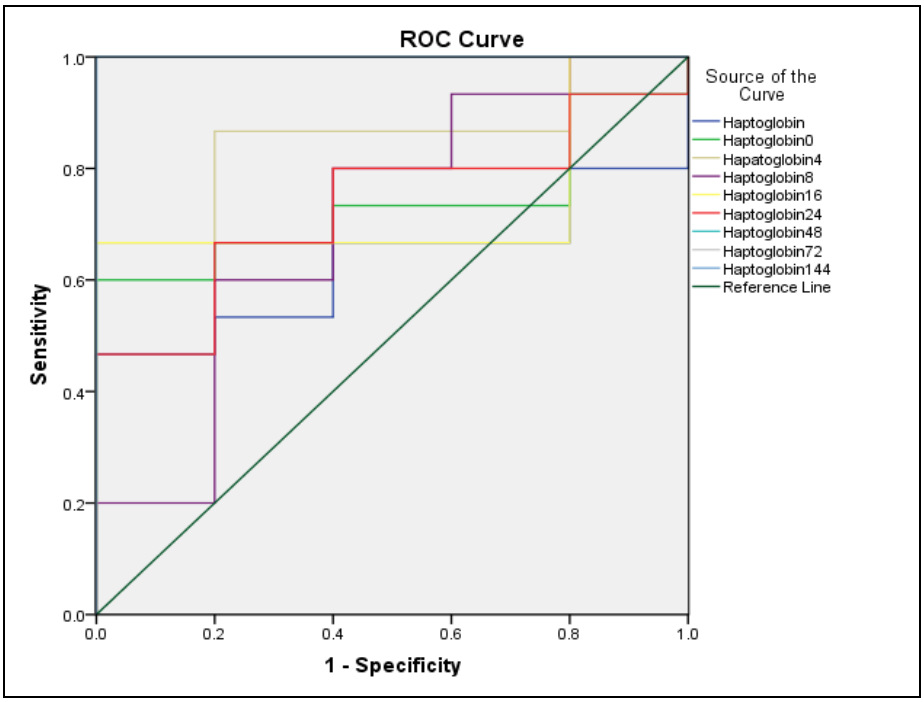
چون ملاک آزادی TestMauchly's برای Chi-Square=115.986 و df=35 و P<0.001 می‌باشد بنابراین جهت بررسی اثر فاکتور روند تغییرات هاپتوگلوبین در زمانهای مختلف از آزمون Green house- Geisser استفاده شد که P<0.001 نشان‌دهنده تغییرات معنی‌دار آن می‌باشد. همچنین روند تغییرات هاپتوگلوبین در زمانهای مختلف پس از التهاب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

جدول ۱- میزان هاپتوگلوبین(g/l) سرم خون اسبچه های خزربراساس سن وجنس

نژاد	جنس	سن(سال) ۰-۵	۶-۱۰	۱۱<	میانگین	میانگین کل
اسبچه خزر	نریان (تعداد)	۱/۶۰±۰/۷۶ (۶)	۱/۱۲±۰/۶۰ (۹)	۱/۹۶±۰/۸۶ (۶)	۱/۵۰۴±۰/۷۸۳ (۲۱)	۱/۵۳±۰/۷۳
	مادیان (تعداد)	۱/۹۸±۰/۵۶ (۴)	۱/۵۲±۰/۶۴ (۳)	۰/۹۲±۰/۲۵ (۲)	۱/۵۹±۰/۶۴ (۹)	
	میانگین (تعداد)	۱/۷۵±۰/۶۸ (۱۰)	۱/۲۲±۰/۶۱ (۱۲)	۱/۷۰±۰/۸۸ (۸)	۱/۵۳±۰/۷۳ (۳۰)	



نمودار۱- روند تغییرات هاپتوگلوبین در زمانهای مختلف پس از القائ التهاب با ترپنتین



نمودار۲- منحنی ROCهاپتوگلوبین در زمانهای مختلف پس از القا التهاب

- حساسیت و ویژگی هاپتوگلوبین

باتوجه به جدول زیرمنحنی شاخص هاپتوگلوبین ٤ ساعت (P<0.05). ١٤٤،٧٢،٤٨ ساعت (P<0.01) پس ازالقاء التهاب پارامترخوبی جهت تشخیص می باشد که نقاط برش جهت تفکیک دام های سالم ازبیماردرزمانهای یادشده به ترتیبg/l ١/٣٥، g/l ١/٤٣ ، g/l ٢/١٤، g/l ٣/١٠ می‌باشد که حساسیت وویژگی آن ها ٤ساعت پس ازالقاء التهاب به ترتیب ٨٦/٧٪ و٨٠٪ودرزمانهای١٤٤،٧٢،٤٨ ساعت پس از القاء التهاب به ترتیب ٩٣/٣٪و١٠٠٪ بدست آمدوسطح زیرمنحنی ROC در ٤ ساعت پس ازالقاء التهاب ٠/٨٥٣ و در سایر زمانها ١ محاسبه گردیده است.

– سرم آمیلوئید A

نتایج مقایسه میانگین میزان سرم آمیلوئیدA خون دردوجنس نریان و مادیان نشان دادکه اختلاف این دو میانگین معنی دارنمی باشد(t=0.954 , df=27 , P=0.757). نتایج مقایسه میانگین میزان SAA خون درسه گروه سنی نشان دادکه اختلاف معنی دارنمی باشد (F= 0.356,df=2 , P=0.704).

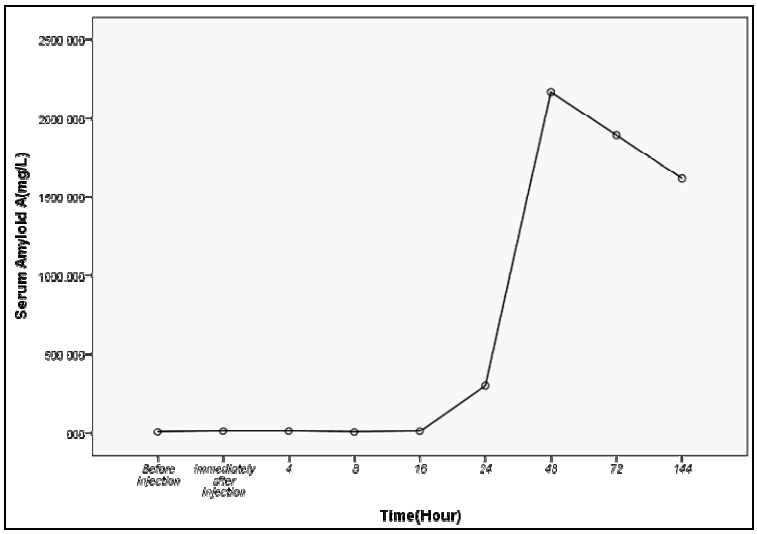
چون ملاک آزادی TestMauchly's برای Chi-Square,174.387 و df=35 و p<0.001 می‌باشد بنابراین جهت بررسی اثرفاکتورروندتغییرات SAA در زمانهای مختلف پس از القائ التهاب ازآزمون Green house-Geisser استفاده شد و P<0.001 نشان دهنده تغییرات معنی دارآن می باشد. همچنین روند تغییرات SAA طی التهاب القاء شده درارتباط با جنس و سن، معنی‌دار نمی‌باشد.

– حساسیت و ویژگی سرم آمیلوئیدA

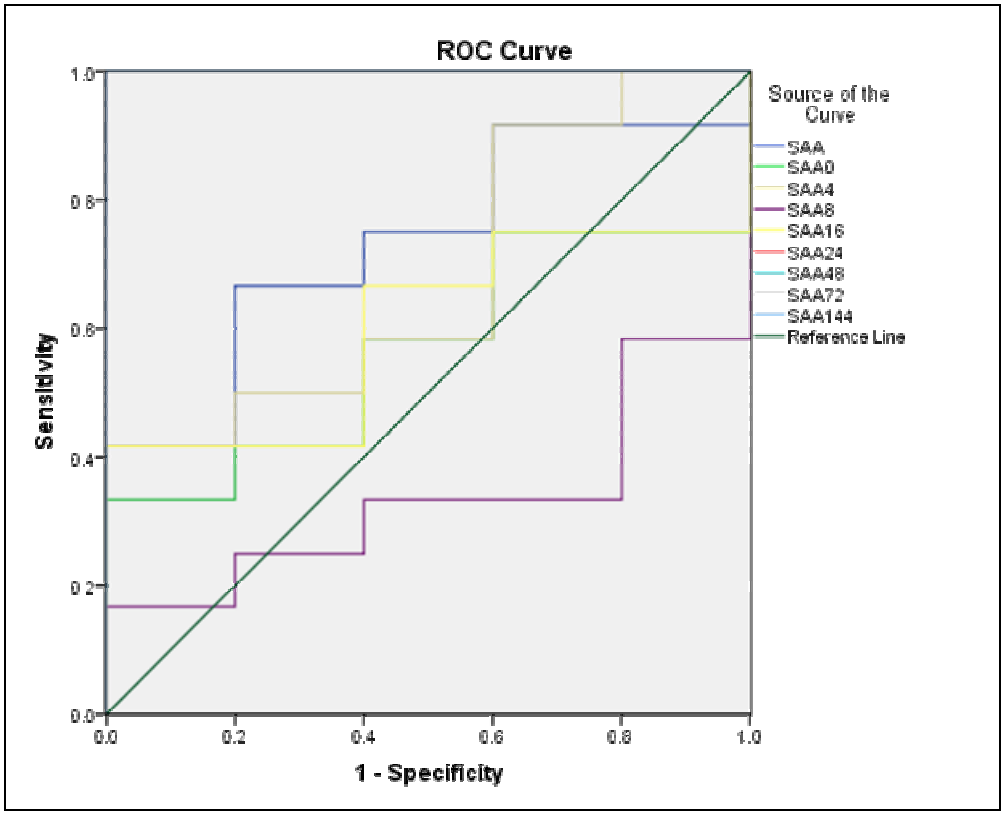
باتوجه به جدول زیرمنحنی شاخص سرم آمیلوئید A در زمانهای ۲۴،۴۸،۷۲،۱۴۴ساعت پس ازتزریق ترپنتین والقاء التهاب پارامترخوبی جهت تشخیص می‌باشد (P<0/01) ونقاط برشSAA برای تفکیک دام‌های سالم ازبیماربه ترتیب زمان یادشده mg/L ۵۲/۸، ۱۵۱۷/۳۱mg/L، ۱۶۲/۸۱ mg/L، ۴۷۹/۴۸ mg/L بودکه حساسیت وویژگی آن درنقاط برش مذکور به ترتیب ٪۹۱/۷، ٪۱۰۰ به دست آمده و سطح زیرمنحنی ROCدرمورد SAA درزمانهای مذکور۱ محاسبه گردید.

جدول ۲- میزان سرم آمیلوئید A (برحسب میلی‌گرم بر لیتر) سرم خون اسبچه خزربراساس جنس و سن

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



نمودار۳- روند تغییرات سرم آمیلوئید A در زمانهای مختلف پس از القائ التهاب با ترپنتین



نمودار٤- منحنی ROC سرم آمیلوئید A در زمانهای مختلف پس از التهاب

بحث

- هاپتوگلوبین

هاپتوگلوبین دراسب به عنوان یک پروتئین فاز حادمتوسط طبقه بندی شده است که درپاسخ مرحله حاد به میزان ۱تا۱۰ برابر مقادیر مرجع دراسب‌ها افزایش می‌یابد. در این تحقیق میزان متوسط هاپتوگلوبین (میانگین±انحراف معیار) دراسبچه‌های خزر ۱/۵۳±۰/۷۳ گرم بر لیتر گزارش می شودودامنه طبیعی میزان هاپتوگلوبین درسرم خون اسبچه های خزر ۰/٤۱-۲/۹۵ 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 والتهاب دراسب مقادیر مرجع میزان هاپتوگلوبین دراسب را ۱۰ -۲ گرم بر لیتر گزارش کرده‌اند (۱۱). Kent و Goodal (۱۹۹۱) درمطالعه سنجش مقادیر طبیعی غلظت هاپتوگلوبین سرم اسب به روش ایمونوتربیدومتریک ۰/٦۸ ±۱/٤۳ گرم بر لیتر اعلام نموده‌اند که مانند پونی های بالغ علفزاری می باشد وافزایش غلظت هاپتوگلوبین سرم اسب راپس از جراحی(Castration) به میزان ۲ تا ۳ برابر مقادیر طبیعی آن گزارش کرده اند 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 می شود 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 دراسب‌ها افزایش غلظت هاپتوگلوبین سرم اسب ۲٤ ساعت پس از القائ آرتریت غیرعفونی به میزان ۱/۱٤ برابر مقادیر طبیعی اعلام نمودند که ٤۸ تا ۹٦ ساعت

پس از القائ التهاب به اوج رسیده است (٦). Fagliari و همکاران (۱۹۹۸) درمطالعه تغییرات غلظت پروتئین‌های پلاسما در اسبهای پونی با لامینیت گوارشی القاء شده به صورت تجربی افزایش غلظت هاپتوگلوبین سرم خون را درپونی‌ها گزارش کرده اند (٤). Milne و همکاران (۱۹۹۱) درمطالعه پروتئین‌های فاز حاد دربیماری علف، عدم افزایش غلظت هاپتوگلوبین را در اسب‌های دچار کولیک گزارش کرده‌اند (۱۲). نتایج آزمون T دراین تحقیق نشان داد که در نریان و مادیان اسبچه خزر اختلاف معنی‌داری ازنظر میزان هاپتوگلوبین سرم خون وجود ندارد. وهمچنین نتایج آزمون one-way Anowa نشان داد که میزان هاپتوگلوبین درگروه‌های سنی مختلف اختلاف معنی‌داری دارد ($P<0.05$) و در ارتباط باسن این اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد. نتایج آزمون F درمقایسه تغییرات هاپتوگلوبین درزمانهای مختلف القاء التهاب درمقایسه با زمان صفرافزایش معنی داری را٢٤ ساعت پس از القاء التهاب نشان می دهد که ١٤٤،٧٢،٤٨ساعت پس ازالقاء التهاب هم این افزایش معنی داربوده که برخلاف انتظار ١٤٤ ساعت پس از القاء التهاب نیز میزان هاپتوگلوبین افزایش معنی داری دارد و روندصعودی این افزایش همچنان حفظ شده است که تحقیقات بیشتری مدت زمان این افزایش وبازگشت به مقادیر مرجع لازم است.

– سرم آمیلوئیدA

دامنه طبیعی میزان سرم آمیلوئید A درسرم خون اسبچه‌های خزر ٥٦/٥٨ – ٠ میلی‌گرم بر لیتر و به طور متوسط(میانگین ±انحراف معیار) ١٦/٠١±٨/٥٠ میلی‌گرم بر لیتر گزارش می شود که دامنه طبیعی میزان سرم آمیلوئیدA نسبت به سایر گزارشات به عمل آمده بالاتر است.

Hulten و همکاران (۱۹۹۹) درمطالعه سرم آمیلوئید A به عنوان شاخص عفونت ویروسی آنفلوانزای اسب غلظت پلاسمایی سرم آمیلوئید A رادر 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 (۲۰۰٦) درمطالعه ارزیابی آزمایش ایمونوتربیدومتریک 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 ٠/٤٨ mg/L (٢/٣–٠/٤٨) و در اسب‌های دارای بیماریهای التهابی ١٠١٨ mg/L (١٧٤٠–١٧٠/٣) گزارش کرده اند.(۹)

Stoneham و همکاران (۲۰۰۱) دراندازه‌گیری سرم آمیلوئید A درکره اسب‌ها به استفاده از آزمایش ایمونوتربیدومتریک آگلوتیناسیون لاتکس مقادیر مرجع برای غلظت پلاسمایی سرم آمیلوئید A دراسب‌های سالم راکمتراز ٠/٥ تا ٢٠ میلی‌گرم بر لیتر گزارش کرده‌اند (۱۵). نتایج آزمون Tنشان 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 Anowaدر مقایسه میانگین میزان SAAدر گروه سنی مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهد. نتایج آزمون Green house Greisserنشان داد که روند تغییرات SAA در اثر التهاب القا شده معنی‌دار می‌باشد ($P<٠/٠٠١$) و این تغییرات در رابطه با جنس و سن اختلاف معنی‌داری 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 ٤٨، ٧٢، ١٤٤ ساعت پس از تزریق معنی‌دار می‌باشد و در زمانهای قبل از آن یعنی بلافاصله ٢٤،١٦،٨،٤ ساعت پس از تزریق و القاء التهاب معنی‌دار نمی‌باشد. همچنین اوج افزایش میزان SAA، ٤٨ ساعت پس از القا التهاب می‌باشد که پس از آن با کاهش میزانSAA در ساعت ٧٢ و ١٤٤مواجه می‌شویم که در مطالعات Hulten و همکاران (۱۹۹۹) در آرتریت غیر عفونی القاء شده با

آمفوتریسین B این افزایش در میزان SAA ١٦ ساعت پس از القاء التهاب آغاز شده و ٣٦ تا ٤٨ ساعت پس از آن به حداکثر میزان خود می رسد که ٢٢٧ برابر مقادیر طبیعی گزارش شده است و پس از طی۸ روز به مقدارطبیعی خود باز می گردد (٦).

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 ١٤٤ ساعت پس از التهاب نیز به مقادیر طبیعی خود نمی رسد.

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

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

Stoneham و همکاران (۲۰۰۱) دراندازه‌گیری سرم آمیلوئید A درکره اسب‌ها بااستفاده از روش لاتکس آگلوتیناسیون ایمونوتربیدومتریک افزایش غلظت SAA رادرکره اسب ها به میزان بالاتر ازmg/L ۱۰۰ به دنبال سپتی سمی، عفونت‌های موضعی (شامل افتالموفلبیت) وآرتریت گزارش کرده اند (۱۵).

Hulten و همکاران (۱۹۹۹) در مطالعه سرم آمیلوئیدA به عنوان شاخص التهابی درعفونت ویروسی آنفلوانزای اسبی، غلظت بیشتر میزان SAA را درعفونت‌های باکتریایی نسبت به عفونت‌های ویروسی که پاسخ متعادل‌تری رانشان می‌دهد موردتوجه قرار داده‌اند (۷).

درمقابل Stoneham و همکاران (۲۰۰۱) و Hulten (۲۰۰۲) درمطالعات خود غلظت SAA رادرضعف ناشی ازعوامل غیرعفونی درکره اسب های تازه متولد شده (نقص درانتقال پاسیو، پیش بلوغی یااختلال دربلوغ ،سندرم مل ادجاستمنت وجمع شدگی مکونیوم) نرمال گزارش کرده‌اند(۱۵،۸) و نیزChavatte و همکاران (۱۹۹۲) تاحدودی افزایش ملایم غلظت SAA را گزارش کرده اند که ناشی از تفاوت درآزمایش‌ها وتکنیک نمونه گیری می باشد (۱).

Hulten و همکاران (۱۹۹۹) در مطالعه SAA به عنوان شاخص التهابی درعفونت ویروسی آنفلوانزای اسب افزایش غلظت SAA راطی ٤٨ ساعت اول علائم بالینی گزارش کرده اند که پس ازطی ۱۱ تا ۲۲ روز درمواردغیرپیچیده به مقادیر پایه خود رسیده اند که بانتایج این تحقیق همخوانی دارد (۷).

در مطالعه Cohen و همکاران، (۲۰۰۵) درارزیابی غلظت SAA درکره اسبهای دچار پنومونی رودوکوکوس اکوئی واستفاده ازآن جهت تمایز شکل نرمال کره اسب های تحت تاثیرنشان داد که تعیین غلظت SAA دوماه یک بار در کره اسب‌های کمتراز یک ماه وسیله مناسبی برای پایش عفونت ر.اکوئی نیست که می تواند به علت طبیعت بیماری یافاصله طولانی نمونه گیری باشد که تحقیقات بیشتری رادراین زمینه لازم دارد (۲).

Vandenplas و همکاران (۲۰۰۵) درمطالعه غلظت SAAو پروتئین متصل به لیپوپلی ساکارید دراسب های دچارکولیک مشاهده کردند که اسب های دچار کولیک عفونی مانند انتریت،پریتونیت ،کولیت یا آبسه های شکمی غلظت بسیاربالاتری نسبت به اسب های دچارکولیک غیرعفونی داشته اندوهمچنین دراسب هایی که غلظتSAA بالاتری دارنداحتمال زنده ماندن آنها بسیارکمتراز آنهایی است که غلظت SAAکمتری دارند (۱۸).

Jacobsen وهمکاران (۲۰۰٦) درمطالعه غلظت SAA سرم ومایع سینویال ازاسب‌های سالم و اسب‌های

دچار بیماری مفصلی پرداخته اند ودرآرتریت ایجاد شده توسط لیپوپلی ساکارید Bمقدار SAA سرم مایع سینویال به طور آشکار افزایش یافته است (>۱۰۰mg/L) که می‌تواند به عنوان شاخص بیولوژیک خوبی برای بیماریهای مفصلی اسب به کاررود (۱۶).

حساسیت وویژگی،دوشاخص عمده مورد استفاده جهت بیان صحت بالینی (Clinical Accuracy)یک روش تشخیصی هستند که دریک نقطه برش انتخابی ازطریق مقایسه نتایج آزمون موردارزیابی بایک روش مرجع به عنوان استانداردطلائی (برخوردارازحساسیت وویژگی قابل قبول) سنجیده می شود.میزان حساسیت یک آزمون برحسب نسبتی ازدام های بیمارکه بااستفاده ازآزمون مثبت تشخیص داده می‌شوند، سنجیده می‌شود.به عبارتی میزان توانایی یک آزمون درتشخیص درست مواردعفونی یامثبت بیانگرمیزان حساسیت آن بوده ودارای نسبت معکوس بامیزان فراوانی نتایج منفی کاذب است.میزان ویژگی یک آزمون برحسب نسبتی ازدام‌های سالم که دارای نتیجه منفی درآن آزمون هستند سنجیده می شود ودارای نسبت معکوس بامیزان فراوانی نتایج مثبت کاذب می‌باشد.

تاکنون مطالعه‌ای برروی میزان حساسیت وویژگی پارامترهای تشخیصی التهاب ومحاسبه سطح زیرمنحنی باتوجه به جدول ROC دراسب ها صورت نگرفته است که باتوجه به نتایج بدست آمده سرم آمیلوییید A و هاپتوگلوبین از پارامترهای بسیار مناسب جهت پایش سلامت اسبچه‌های خزرمی‌باشد که میزان SAA، ۲٤ ساعت و میزان هاپتوگلوبین ٤۸ ساعت پس از التهاب تغییرات بسیار زیادی نسبت به مقادیر طبیعی خود می‌یابد و حتی تا ۱٤٤ ساعت پس از التهاب نیز ادامه می‌یابد که نیاز به ادامه تحقیقات در زمان‌های دیگر است.

تشکر و قدردانی

لازم می‌دانم از زحمات بی شائبه جناب آقای دکتر شهرام درداری، دکتر هرمز حمیدیه، مهندس کیارش محبی، مهندس دهقانی وسرکار 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 Pnumonia .Equine Veterianry Journal ;37:2126

3- Hulten, C., Sletten, k., FoynBruun, 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,Volume57,Issues 3-4. July,

4- Fagliari, J.J., McClenahan, D., Evanson, O.A., etal. (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

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., jacobsen, 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., Nanniemilolsen, 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

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