بررسی سطح پلاسمایی هپسیدین، سیستاتین سی و ژلسولین در تیلریوز گوسفندی (نژاد قزل) بر اساس سن و شدت پارازیتمی

کاوه عظیم‌زاده[1]*، سینا ایزدمهر[2]

۱- استادیار، گروه علوم درمانگاهی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.
۲- دانش‌آموخته دکترای حرفه ای دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: kn_az@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۹۵/۵/۲ پذیرش نهایی: ۹۶/۲/۲۰)

چکیده

بیماری تیلریوز یکی از معضلات مهم صنعت دامداری در اکثر نقاط جهان و ایران بوده که نقش مهمی در کاهش تولید شیر و گوشت داشته و در ضمن باعث ضایعات گسترده خونی و بافتی می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات پلاسمایی هپسیدین، سیستاتین سی و ژلسولین در گوسفندان نژاد قزل مبتلا به تیلریوز می‌باشد. در این مطالعه پس از اخذ نمونه خون از گروه‌های بیمار و سالم، اقدام به تعیین فراسنجه‌های خونی اعم از هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید گردید، سپس فراسنجه‌های پلاسمایی فوق نیز با کیت‌های اختصاصی و به کمک تکنیک الایزا اندازه‌گیری شدند. نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار (p<۰/۰۱) هپسیدین و سیستاتین سی و کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۱) ژلسولین در گروه بیمار (۳۰ رأس) نسبت به گروه سالم (۳۰ رأس) بود. همچنین، افزایش سن و شدت پارازیتمی، باعث تشدید تغییرات شدند، به‌طوری‌که بیشترین غلظت هپسیدین و سیستاتین سی و بیشترین تعداد لنفوسیت‌ها در گروه سنی ٤ ساله و با شدت پارازیتمی بیش از ٤ درصد و کمترین غلظت ژلسولین و سایر فراسنجه‌های هماتولوژیک نیز در همان گروه سنی و با همان شدت پارازیتمی مشاهده شد. با توجه به نتایج بدست آمده، به احتمال زیاد التهاب و آسیب سلولی گسترده در گوسفندان مبتلا به تیلریوز در بافت‌های مختلف و به‌خصوص در کلیه‌ها وجود دارد.

کلیدواژه‌ها: تیلریوز گوسفندی، هپسیدین، سیستاتین سی، ژلسولین.

مقدمه

جنس تیلریا (Theileria) از انگل‌های داخل سلولی بوده که چرخه زندگی خود را در داخل گلبول‌های قرمز و سلول‌های لنفوئیدی تکمیل می‌کند (Soulsby, 1982). این انگل باعث بروز بیماری تیلریوز شده که یکی از بیماری‌های مهم در منطقه استوایی و نیمه‌استوایی بوده و طبق اظهار نظر برخی از محققین سالانه بیش از پانصد هزار رأس دام در آفریقا در اثر این بیماری تلف می‌شوند (Lewis and Purnel, 1981). تیلریوزیس در گوسفند به‌عنوان یکی از بیماری‌های ناشی از انگل‌های خونی نقش مهمی در کاهش تولید (شیر و گوشت) در ایران دارد (Hashemi-Fesharaki, 1997). *تیلریا لستوکاردی* (*Theileria lestoquardi*) و *تیلریا اوویس* (*Theileria ovis*) گونه‌های اصلی در بروز تیلریوز در گوسفند در ایران بوده (Hashemi-Fesharaki, 1997) و گونه *تیلریا اوویس* باعث بروز تیلریوز با حدت کم در گوسفند می‌شود.

هپسیدین (Hepcidin) پپتید کوچک و کاتیونیک ۲۵ اسید آمینه‌ای، به‌شکل سنجاق سر، با دو صفحه β-sheet و دارای ٤ پیوند دی‌سولفیدی درون مولکولی می‌باشد (Ganz, 2003). این پپتید عملکرد تنظیمی خود را با خنثی‌سازی عملکرد فروپورتین که در سطح ماکروفاژها، هپاتوسیت‌ها و انتروسیت‌ها بیان می‌شود، اعمال می‌کند و از این طریق باعث افزایش ذخایر آهن داخل سلولی، کاهش جذب آهن مواد غذایی و کاهش غلظت آهن گردش خون می‌گردد. علاوه بر نقش تنظیمی در متابولیسم آهن، هپسیدین با تغییر مسیر پاسخ‌های التهابی و کاهش میزان آهن در دسترس میکروب‌ها نقش ضدمیکروبی خود را ایفا می‌کند (Kanda *et al*., 2008; Dede *et al*., 2008). فعالیت ضدباکتریایی (*اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) و ضد قارچی (*کاندیدا آلبیکنس*، *آسپرژیلوس نایجر* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس*) هپسیدین در بسیاری از مطالعات به اثبات رسیده است (Park *et al*., 2001; Ashrafian, 2003) به‌طورکلی بیان کبدی هپسیدین توسط دو سیگنال که شامل افزایش بار آهن و تولید سیتوکاین‌های التهابی مثل IL-6، IL-1 و لیپوپلی‌ساکاریدها می‌باشد، افزایش می‌یابد. مطالعه منتشرشده‌ای در رابطه با تغییرات پلاسمایی هپسیدین در دامپزشکی و بالاخص تیلریوز گوسفند وجود ندارد و بررسی حاضر اولین مطالعه‌ای است که در این زمینه صورت می‌گیرد.

سیستاتین‌سی (cystatin C) پروتئینی است کوچک با ۱۳ کیلو دالتون وزن که به مهارکننده‌های سیستئین پروتئاز متعلق است. این پروتئین در تمام سلول‌های هسته‌دار به طور مداوم تولید شده و به داخل خون آزاد شده و نیمه عمر آن ۲ ساعت است (Filler *et al*., 2005; Villa *et al*., 2005). این پروتئین به‌طور مستقل توسط گلومرول‌ها در کلیه فیلتر شده و دوباره در توبول‌های پروگزیمال بازجذب و کاتالیزه می‌شود (Antognoni *et al*., 2007). سیستاتین سی به‌عنوان با ارزش‌ترین بیومارکر سرمی در تعیین عملکرد کلیه شناخته شده است و به‌خصوص، انتخاب خوبی برای آگاهی از میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) در انسان است (Lassus and Harjola, 2012; Herget-Rosenthal *et al*., 2007). علاوه بر این، در شرایط مختلف اعم از التهاب، عفونت یا بدخیمی‌ها تغییری در سطح سیستاتین سی دیده نمی‌شود (Lassus and Harjola, 2012). در مقابل، کراتینین سرمی معمولاً

زمانی‌که حداقل دو سوم از کلیه آسیب دیده، افزایش خود را نشان می‌دهد (Bostom *et al*., 1999). لازم به ذکر است که عواملی مانند جنس، سن، رژیم غذایی و حجم توده بدن غلظت کراتینین خون را تحت تاثیر قرار داده ولی تاثیری در میزان سیستاتین‌سی ندارد (Lassus and Harjola, 2012). در دامپزشکی مطالعات مختلفی، اهمیت سیستاتین سی را به عنوان یک نشانگر با ارزش در ارزیابی عملکرد کلیه در سگ گزارش کرده‌اند (Jensen *et al*., 2001; Almy *et al*., 2002)، ولی موردی در رابطه با تغییرات سیستاتین سی در تیلریوز گوسفندی گزارش نشده است.

ژلسولین (Gelsolin) پروتئینی است با وزن مولکولی ۸۲ کیلو دالتون که به‌صورت داخل‌سلولی (سیتوپلاسم و میتوکندری) و خارج سلولی (پلاسما) در بدن یافت می‌شود. ژلسولین پروتئین متصل‌شونده به اکتین است که در حذف اکتین خارج سلولی که متعاقب آسیب بافتی از سلول خارج می‌شود، شرکت می‌کند. این پروتئین اولین‌بار در سال ۱۹۷۹ در ماکروفاژهای ریه خرگوش شناسایی گردید (Young *et al*., 1994). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که ژلسولین در حرکت سلول، تنظیم آپوپتوز، تنظیم تومورزایی و در فعالیت‌های ضدآسیب سلولی مثل حذف اکتین از خون شرکت کرده و به‌عنوان مارکر پیش‌آگهی در شرایط حاد بیماری مطرح می‌باشد. درضمن با ایجاد ثبات در میتوکندری‌ها و با ممانعت از آزادسازی سیتوکروم C، مانع تقویت سیگنال‌هایی می‌شود که منجر به آپوپتوز می‌شوند (Hui, 1999; Marrocco, 2010). مطالعاتی که در این زمینه صورت گرفته است به مطالعات انسانی برمی‌گردد که برای مثال می‌توان به گزارش اسمیت و همکاران در سال ۱۹۸۸ و دینوبیل و همکاران در سال ۱۹۹۸ اشاره کرد که کاهش سطح ژلسولین را در مبتلایان به پنومونی و متعاقب ابتلا به مالاریا (*پلاسمودیوم فالسی پاروم*) گزارش کردند (Smith *et al*., 1988; DiNubile *et al*., 1998).

به‌طور کلی مطالعات اندکی در ارتباط با بررسی تغییرات فراسنجه‌های مختلف خونی در گوسفندان مبتلا به تیلریوز گزارش شده است (Gao *et al*., 2002) و این مطالعه اولین مورد است که تغییرات سه فراسنجه مختلف بیوشیمیایی هپسیدین، سیستاتین سی و ژلسولین و فراسنجه‌های خونی را در گوسفندان مبتلا به تیلریوز بر اساس سن و شدت پارازیتمی بررسی می‌کند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۳۰ رأس گوسفند نر نژاد قزل ٤-۱ ساله (تشخیص سن بر اساس شمارش دندان) مبتلا به تیلریوز که بر اساس علایم بالینی و آزمایشگاهی تشخیص داده شدند، از دامداری‌های بخش مرکزی و جنوبی استان آذربایجان غربی انتخاب گردیدند. در ضمن همین تعداد گوسفند سالم نر قزل ٤-۱ ساله که از نظر کلینیکی و پاراکلینیکی علایم بیماری تیلریوز و سایر بیماری‌ها را نداشتند، به‌عنوان گروه سالم در نظر گرفته شدند. جهت بررسی شدت آلودگی انگلی، نمونه‌های خونی که از ورید مارژینال گوش اخذ شده بودند، با گیمسای ۱۰ درصد رنگ‌آمیزی شده و وجود شیزونت تیلریا در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۱۰۰× مشاهده گردید و شدت آلودگی بر اساس کمتر از ۲ درصد، ۲-٤ درصد و بیش از ٤ درصد تعیین گردید. بدین ترتیب که میزان آلودگی گلبول‌های قرمز با

مشاهده حداقل 1×10^4 گلبول قرمز با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰× در هر نمونه خونی و گزارش آن به‌صورت درصد تعیین شد. در ادامه پس از اخذ ۱۰ میلی‌لیتر نمونه خونی از ورید وداج و انتقال آن به لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد EDTA (اتیلن دی آمین تترا استیک اسید)، ۳ میلی‌لیتر جهت بررسی فراسنجه‌های هماتولوژیک اعم از تعداد گلبول قرمز، درصد هماتوکریت، مقدار هموگلوبین و تعداد گلبول‌های سفید جدا گردید و با استفاده از دستگاه شمارش‌گر سلولی (Cell counter, MINDRAY- BC-Vet2800, China) اندازه‌گیری شدند. جهت تهیه پلاسما با دور ۵۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند و پلاسما پس از جداسازی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگه‌داری شدند. اندازه‌گیری هر سه فراسنجه با تکنیک الایزا (Elisa, RA1000) انجام شد. اندازه‌گیری هپسیدین پلاسمایی با کیت اختصاصی (Bioassay Technology Laboratory Co, China)، سیستاتین سی با کیت اختصاصی (Mybiosource, San Diego, USA) و اندازه‌گیری ژلسولین پلاسمایی نیز با کیت اختصاصی (Antibodies online Co, Germany) انجام شدند.

تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های به‌دست آمده به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه و بررسی اختلاف میانگین‌ها با آزمون t-student توسط نرم‌افزار SAS v9.1 انجام شد (Cary, NC, USA, SAS). ضمناً معیار معنی‌داری در تحلیل آماری $p<0/01$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطح سرمی هپسیدین و سیستاتین سی در گروه بیمار نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌داری داشت و در رابطه با ژلسولین در گروه بیمار نسبت به گروه سالم کاهش معنی‌داری مشاهده گردید ($p<0/01$). از نظر سنی تغییرات فوق‌الذکر شدیدتر بود، به‌طوری‌که با افزایش سن گوسفندان مبتلا، افزایش هپسیدین و سیستاتین سی و کاهش ژلسولین شدیدتر می‌شد. ضمناً همین تغییرات در گوسفندان با پارازیتمی بیش از ٤ درصد (٤<) بیشتر از آلودگی ٤-۲ درصد بود (جداول ۳ و ٤). از لحاظ فراسنجه‌های خونی، کاهش معنی‌دار ($p<0/01$) تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و مقدار هموگلوبین در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد برآورد شد، به‌طوری‌که با افزایش درصد آلودگی، این کاهش شدیدتر می‌شد (جدول ۱). از لحاظ سن نیز همان تغییرات کاهشی مشاهده شد، به‌طوری‌که با افزایش سنِ گروه بیمار، تغییرات کاهشیِ شدیدتری نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۲). در رابطه با گلبول‌های سفید، عدم تغییرات معنی‌دار در تعداد نوتروفیل‌ها و افزایش معنی‌دار ($p<0/01$) لنفوسیت‌ها و تعداد کل گلبول‌های سفید بر حسب شدت آلودگی در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید، به‌طوریکه با افزایش شدت آلودگی، افزایش تعداد لنفوسیت‌ها و تعداد کل گلبول‌های سفید مشاهده شد (جدول ۱). در ضمن با افزایش سن گروه بیمار، تغییرات فوق در گلبول‌های سفید تشدید گردید (جدول ۲).

جدول ۱- مقایسه فراسنجه‌های خونی بین گروه بیمار و سالم بر اساس شدت آلودگی انگلی

گروه‌ها	شدت آلودگی (%)	گلبول قرمز ($\times10^{12}$/L)	هماتوکریت (%)	هموگلوبین (g/dL)	گلبول سفید ($\times10^{9}$/L)	نوتروفیل ($\times10^{9}$/L)	لنفوسیت ($\times10^{9}$/L)
شاهد	صفر درصد (۳۰)	۱۰/۷۶±۰/۱۲	۳٤/٦±۲/٤	۱۲/۱۳±۰/۰۵	۹/۷۳±۰/۱۱	۲/۳۱±۰/۱۲	٦/۵۸±۰/۹
	کمتر از ۲ درصد (۸)	۸/۳۹±۰/۲ †	۲۸/۳۲±۱/۳ †	۹/۳٤±۰/۰۷†	۱۲/۵۲±۰/۱۲	۲/۵۵±۰/۰٦	۸/۹۵±۰/۱۳†
بیمار	٤-۲ درصد (۱۵)	۵/۸٤±۰/۰۳ †	۲۵/۷۲±۱/۳۵†	۷/۱۵±۰/۰۲ †	۱۵/۱۲±۰/۱۳†	۲/٦٤±۰/۰۵	۱۰/۵۷±۰/۱۸†
	بیش از ٤ درصد (۷)	٤/٤۹±۰/۲ †	۲۱/٦٦±۱/۵۷ †	۵/۸۳±۰/۱۱ †	۱۵/۸۹±۰/۱۱ †	۲/۷۱±۰/۰۷	۱۰/۸٦±۰/۱۱

داده‌ها به‌صورت میانگین± انحراف معیار نشان داده شده است. علامت † نشان‌دهنده وجود تغییرات معنی‌دار در هر ستون می‌باشد ($p\leq$۰/۰۱).

جدول ۲- مقایسه فراسنجه‌های خونی بین گروه بیمار و سالم بر اساس سن

گروه‌ها	شدت آلودگی (%)	گلبول قرمز (×1012/L)	هماتوکریت (%)	هموگلوبین (g/dL)	گلبول سفید ($\times10^{9}$/L)	نوتروفیل ($\times10^{9}$/L)	لنفوسیت ($\times10^{9}$/L)
شاهد	تعداد (۳۰)	۱۰/۷٦±۰/۱۲	۳٤/٦±۲/٤	۱۲/۱۳±۰/۰۵	۹/۷۳±۰/۱۱	۲/۳۱±۰/۱۲	٦/۵۸±۰/۹
بیمار	۱ ساله (٦)	۸/۵۲±۰/۳ †	۲۷/۱۲±۱/۲ †	۹/۸۱±۰/۰٦ †	۱۲/۳٦±۰/۱۲	۲/٤٦±۰/۱۳	۸/۳۳±۰/۱۱ †
	۲ ساله (۱۸)	٦/۳٤±۰/٤ †	۲۵/۱٦±۱/۷ †	۷/۳۹±۰/۰۳ †	۱٤/۵۸±۰/۰۹ †	۲/۳۵±۰/۱۲	۱۰/۳٤±۰/۱۲ †
	۳ ساله (٤)	۵/۷٦±۰/۰۲ †	۲۲/۲٦±۲/٤ †	٦/۵۸±۰/۰٤ †	۱۵/۹۲±۰/۱۲ †	۲/٤۲±۰/۰۹	۱۰/۷۸±۰/۱۱ †
	٤ ساله (۲)	۵/۰۸±۰/۳ †	۲۰/۵۹±۱/۸۷ †	۵/۳٤±۰/۰٤ †	۱۹/۸۹±۰/۰۹ †	۲/۷۱±۰/۱٤	۱۰/۹٤±۰/۰۸ †

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده است. علامت † نشان‌دهنده وجود تغییرات معنی‌دار در هر ستون می‌باشد ($p\leq$۰/۰۱).

جدول ۳- مقایسه تغییرات فراسنجه‌های پلاسمایی هپسیدین، سیستاتین سی و ژلسولین بین گروه بیمار و سالم بر اساس شدت آلودگی انگلی

گروه‌ها	شدت آلودگی (%)	ژلسولین (mg/L)	سیستاتین سی (ng/ml)	هپسیدین (pg/ml)
شاهد	صفر درصد (۳۰)	۱۹۳/۸۹±۲۹/٦۲	۹/۱۱±۲/۲	۹۷/۷۵± ۱٦/٦
	کمتر از ۲ درصد (۸)	۹۱/۸۲±٤/۵۷ †	۱۷/٦۱±۲/۸۸ †	۲۱۳/۵۸±۳۸/۲ †
بیمار	٤-۲ درصد (۱۵)	٤٤/۳۳±۲/۰۵ †	۲٦/۵۹±۳/۷۹ †	۲۹۳/۰٤±٦٤ †
	بیش از ٤ درصد (۷)	۳٦/۸۹±۲/۳۹ †	۳۲/۸۱±۵/۱۸ †	۳۸٦/۲٦±٦۲/۲ †

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده است. علامت † نشان‌دهنده وجود تغییرات معنی‌دار در هر ستون می‌باشد ($p\leq$۰/۰۱).

جدول ٤- مقایسه تغییرات فراسنجه‌های پلاسمایی هپسیدین، سیستاتین سی و ژلسولین بین گروه بیمار و سالم بر اساس سن

گروه‌ها	شدت آلودگی (%)	ژلسولین (mg/L)	سیستاتین سی (ng/ml)	هپسیدین (pg/ml)
شاهد	تعداد (۳۰)	۱۹۳/۸۹±۲۹/٦۲	۹/۱۱±۲/۲	۹۷/۷٥± ۱٦/٦
بیمار	۱ ساله (٦)	۸۲/٤۳±٦/۱۲ †	۱٥/۹۳±۳/۳۲ †	۱۹٤/۸±۳٦/۳۳ †
	۲ ساله (۱۸)	٦۳/٥٥±٦/۸۷ †	۳۱/۳۹±٤/٥٤ †	۲٤۹/۷۲±۲۹/٥۸ †
	۳ ساله (٤)	٤۱/۱۳±٤/٤۷ †	۳۹/٤٥±٤/۸۱ †	۳۰۹/۱۸±۳٤/۲۸ †
	٤ ساله (۲)	۳٤/۹۲±۳/۷۲ †	٤۳/۲۹±۳/۷۲ †	۳۸۱/۷۷±٥٤/۹۲ †

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده است. علامت † نشان‌دهنده وجود تغییرات معنی‌دار در هر ستون می‌باشد (p≤۰/۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری

تیلریوز یکی از بیماری‌های شایع گوسفند در ایران بوده که باعث کاهش تولید شیر و گوشت می‌گردد (Hashemi-Fesharaki, 1998; Kinnaird *et al.*, 2013). در این مطالعه متعاقب افزایش سن و شدت پارازیتمی، با کاهش معنی‌دار هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول‌های قرمز در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد مواجه شدیم. از آنجائی‌که تخریب گلبول‌های قرمز با واسطه منوسیت‌ها در سیستم رتیکولواندوتلیال و طحال در تیلریوز گاوی گزارش شده است (Mehta *et al.*, 1988; Rayula and Hafez, 1995; Singh *et al.*, 2001)، از این‌رو به احتمال زیاد تخریب گلبول‌های قرمز در این مطالعه نیز می‌تواند به‌دلیل حذف در سیستم رتیکولواندوتلیال باشد.

هپسیدین هورمون پپتیدی کوچکی است که در پاسخ به کم خونی، هیپوکسی و التهاب در کبد تولید شده و همچنین دارای خاصیت ضدمیکروبی بوده و یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های آهن در بدن می‌باشد. در موارد التهاب و عفونت، بالاخص آلودگی‌های انگلی و جراحات بافتی، غلظت اکثر سیتوکاین‌های التهابی از قبیل اینترلوکین ٦ افزایش می‌یابد که این افزایش، منجر به افزایش سطح سرمی هپسیدین می‌شود، تا مانع آزادسازی آهن از انتروسیت‌ها، هپاتوسیت‌ها و ماکروفاژها شود (Park *et al.*, 2001; Ganz, 2003). با ارزیابی میزان سرمی هپسیدین در گروه‌های سالم و مبتلا بر حسب سن و شدت پارازیتمی مشاهده نمودیم که میانگین غلظت سرمی هپسیدین در گوسفندان بیمار نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌داری داشت، به‌طوریکه با افزایش سن و افزایش شدت پارازیتمی، غلظت هپسیدین نیز با افزایش همراه بود. با توجه به تحقیقات بسیار کم صورت‌گرفته در بخش دامپزشکی، به‌ناچار برای تحلیل یافته‌های خود باید به مطالعات صورت‌گرفته در مورد انسان استناد کنیم. یلماز و همکاران در سال ۲۰۱٤ افزایش هپسیدین سرمی را در مبتلایان به بروسلوز گزارش کرده (Yilmaz *et al.*, 2014) و در تحقیق انجام‌شده توسط هاوارد و همکاران در سال ۲۰۰۷، سطح سرمی هپسیدین در افراد مبتلا به مالاریا با درجات مختلف پارازیتمی و آنمی در مقایسه

با افراد سالم بسیار بالا بود (Howard *et al*., 2007). از طرف دیگر اسپاتیسوود و همکاران در سال ۲۰۱٤، افزایش سنتز هپسیدین را در مبتلایان به مالاریا در مرحله پارازیتمی گزارش کردند (Spottiswoode *et al*., 2014). اکثر عوامل پاتوژن از جمله باکتری‌ها و انگل‌های خونی مثل *پلاسمودیوم فالسی‌پاروم* برای تکثیر و تزاید خود به آهن نیاز دارند. از این‌رو، سنتز (در کبد) و آزادسازی هپسیدین به خون رخ می‌دهد تا باعث کاهش آهنِ در دسترس عوامل بیماری‌زا گردد. از آنجا که افزایش بیان (up-regulation) هپسیدین به کمک اینترلوکین ٦ در مرحله پارازیتمی بیماری مالاریا رخ می‌دهد، این احتمال وجود دارد که در مرحله پارازیتمی تیلریوز گوسفند نیز افزایش سنتز و آزادسازی هپسیدین با مکانیسم فوق اتفاق بیفتد. در ضمن گفتنی است که آنمی و هیپوکسی ناشی از آن نیز از فاکتورهای مهم در افزایش بیان و سنتز هپسیدین بوده و چون در این بیماری کم‌خونی رخ داده است، پس این عامل نیز می‌تواند تحریک کننده سنتز هپسیدین باشد. در مجموع نتایج فوق با مطالعه اخیر مطابقت دارد.

سیستاتین سی پروتئین کوچکی بوده که در اثر آسیب‌های گلومرولی و بخش پروگزیمال کلیه در سرم افزایش یافته و تغییرات سرمی آن به‌عنوان معیار تشخیص میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) می‌باشد. در مطالعات بالینی دامپزشکی از اوره و کراتینین سرمی جهت ارزیابی وضعیت کارکرد کلیوی استفاده می‌شود. عوامل پیش‌کلیوی می‌توانند باعث افزایش اوره سرمی بدون آسیب کلیوی گردند، که این حالت در رابطه با کراتینین کمتر صادق است. از طرف دیگر افزایش کراتینین سرمی زمانی رخ می‌دهد که کلیه تقریباً دو سوم کارکردش را از دست دهد (Miyagawa *et al*., 2009; Oge *et al*., 2003). از آنجا که اوره و کراتینین سرمی تحت تاثیر فاکتورهای خارج کلیوی هم هستند، از این‌رو چندین سال است که از تغییرات سرمی پروتئینی بنام سیستاتین سی که به‌عنوان مهمترین مارکر تشخیصی چگونگی کارکرد گلومرول‌های کلیه می‌باشد، استفاده می‌شود (Antognoni *et al*., 2005; Randers and Erlandsen, 1999). با ارزیابی میزان سرمی سیستاتین سی در گروه‌های سالم و بیمار بر اساس سن و شدت پارازیتمی مشاهده نمودیم که میانگین میزان سرمی این فراسنجه در گوسفندان بیمار بیشتر از گوسفندان سالم بود و شدت پارازیتمی و افزایش سن تاثیر افزایشی در این فراسنجه داشت.

تحقیقاتی در مورد این بیومارکر در بیماری‌های گوسفند صورت نگرفته و اطلاعات زیادی برای استناد وجود ندارد، ولی در یکی از مطالعات انجام شده در سگ‌های مبتلا به لیشمانیوز، مشخص گردیده که در سگ‌های مبتلا به این بیماری، سطح این فراسنجه در مقایسه با گروه سالم افزایش معنی‌داری داشته است و علت آنرا آسیب گلومرولی کلیه گزارش کردند (Pasa *et al*., 2009). در مطالعه دیگر پکمزجی و همکاران در سال ۲۰۱۵ عدم تغییر معنی‌دار سیستاتین سی را در سگ‌های مبتلا به دایروفیلاریازیس گزارش نمود (Pekmezci *et al*., 2015a) و یا می‌توان به مطالعه دیگر پکمزجی و همکاران در سال ۲۰۱۵ اشاره داشت که افزایش معنی‌دار سیستاتین سی را در سگ‌های مبتلا به بابزیوز و لیشمانیوز گزارش کرد و حتی سیستاتین سی را بعنوان فاکتور نوین در تشخیص زود هنگام آسیب کلیوی در سگ‌های مبتلا به۲ بیماری مذکور ارائه نمود

(Pekmezci *et al*., 2015b). از آنجا که اکثر انگل‌های خونی مثل بابزیا و لیشمانیا با تشکیل کمپلکس‌های ایمنی (مکانیسم‌های ایمونوپاتولوژیک) باعث آسیب‌های بافتی مخصوصا در کلیه می‌شوند (Van Velthuysen and Florquin)، از این‌رو این احتمال وجود دارد که تیلریوز نیز مثل سایر انگل‌های خونی با تشکیل کمپلکس‌های ایمنی باعث آسیب کلیوی (مخصوصاً گلومرول‌های کلیه) شده و نهایتاً منجر به افزایش سیستاتین سی در پلاسما گردد. نتیجه حاصله از این تحقیق با مطالعات فوق همخوانی دارد.

ژلسولین پروتئین متصل‌شونده به اکتین می‌باشد که هدف از این اتصال حذف و به حداقل رساندن اکتین خون می‌باشد که در اثر بیماری‌های مختلف و آسیب‌های بافتی ناشی از آنها وارد خون می‌گردد که این‌حالت به خصوص در بیماری‌هایی که منجر به مشکلات هماتولوژیک می‌شود، چه به‌طور مستقیم (درگیر کردن سلول‌های خونی) و چه به‌طور غیرمستقیم (درگیری در اندام‌های دخیل در خون‌سازی) دیده می‌شود. آزادسازی زیاد اکتین به خون منجر به کاهش چشمگیر ژلسولین می‌شود که پیش آگهی مناسبی برای بهبودی مبتلایان به بیماری نمی‌باشد. پس می‌توان گفت که ژلسولین پلاسما با شدت و سرانجام بیماری در ارتباط است و بنابراین، به عنوان شاخص موثر در پیش‌آگهی در بیماری‌های حاد مطرح می‌باشد. در بیماران مبتلا به پنومونی، تب و تشنج نیز سطوح ژلسولین کاهش می‌یابد، که نشان می‌دهد که عواملی غیر از همولیز نیز می‌تواند غلظت ژلسولین را کاهش دهد (Mei *et al*., 2014; Zhao *et al*., 2013). با ارزیابی غلظت سرمی ژلسولین در گروه‌های سالم و بیمار بر حسب سن و شدت پارازیتمی مشاهده کردیم که میانگین غلظت پلاسمایی ژلسولین در گوسفندان بیمار کمتر از گوسفندان سالم بود. در زمینه دامپزشکی تحقیقی در مورد این بیومارکر صورت نگرفته، ولی در مورد انسان مطالعاتی در بیماری‌های مختلف انجام شده است که طی یکی از این مطالعات که توسط اسمیت و همکارانش در سال ۱۹۸۸ انجام گرفته است، کاهش سطح ژلسولین سرم را در بیماران مبتلا به پلاسمودیوم فالسیپاروم گزارش نمودند و پس از درمان افزایش سطح ژلسولین سرمی را مشاهده کردند (Smith *et al*., 1988). در مطالعه دیگر مِی و همکاران در سال ۲۰۱۲ اولاً کاهش ژلسولین سرمی را در مبتلایان به هپاتیت B مشاهده کردند و ثانیاً تغییرات سطح ژلسولین سرمی را به‌عنوان بیومارکر احتمالی جهت تشخیص شدت آسیب کبدی در آنها گزارش نمودند (Mei *et al*., 2012). از طرف دیگر می‌توان به تحقیق زآو و همکارانش در سال ۲۰۱۳ اشاره نمود که کاهش ژلسولین را در بیماران مبتلا به خونریزی مغزی مشاهده کردند و حتی گزارش نمودند که کاهش ژلسولین در این بیماران نشانگر وضعیت وخیم و پیش‌آگهی بد بیماری می‌باشد (Zhao *et al*., 2012). در مطالعه هیو و همکارانش در سال۲۰۱۳ اهمیت ژلسولین در تشخیص و ارزیابی وضعیت لوپوس اریتماتوز و آرتریت روماتوئید مورد بررسی قرارگرفت (Hu *et al*., 2012). از آنجا که کاهش ژلسولین پلاسمایی متعاقب افزایش اکتین در خون رخ می‌دهد، پس به احتمال زیاد می‌توان گفت که در تیلریوز به‌خاطر آسیب سلولی در ارگان‌های مختلف به‌خصوص در کلیه، آزادسازی اکتین به خون رخ داده و در نهایت این مکانیسم باعث افزایش سنتز و ترشح

ژلسولین به خون گشته تا اکتین را مهار کند که بالاخره منجر به کاهش ژلسولین در پلاسمای مبتلایان به تیلریوز شده است. این یافته با نتایج حاصل از مطالعه ما مطابقت دارد.

به‌طورکلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد از آنجایی که التهاب و آسیب گسترده در بافت‌های مختلف، از جمله کلیه در پاتوژنز بیماری تیلریوز گزارش شده است (Col and Uslu, 2007)، لذا علت اصلی افزایش سیستاتین سی در بررسی حاضر آسیب کلیوی بوده و التهاب ناشی از آسیب بافتی (اعم از کلیه) منجر به افزایش هپسیدین و کاهش ژلسولین (جهت حذف اکتین آزادشده از سلول‌های آسیب دیده) شده است. در ضمن گفتنی است که با افزایش شدت پارازیتمی و افزایش سن گوسفندان مبتلا، تغییرات پلاسمایی در فراسنجه‌های فوق شدیدتر شده است. در مجموع بر اساس نتایج به‌دست آمده در ارتباط با فراسنجه‌های بیوشیمیایی، به احتمال زیاد در گوسفندان مبتلا به تیلریوز التهاب و آسیب سلولی گسترده در بافت‌های مختلف و به‌خصوص در کلیه وجود دارد.

سپاسگزاری

مؤلفین مراتب سپاس خود را از آقای دکتر عبدالرضا کمالی به خاطر کمک در انجام آزمایشات ابراز می‌دارند. نویسندگان اظهار می‌دارند که در این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافعی وجود ندارد.

منابع

- Almy, F.S., Christopher, M.M., King, D.P. and Brown S.A. (2002). Evaluation of cystatin C as an endogenous marker of glomerular filtration rate in dogs. Journal of Veterinary Internal Medicine, 16(1): 45-51.
- Antognoni, M.T., Siepi, D., Porciello, F., Rueca, F. and Fruganti, G. (2007). Serum cystatin C evaluation in dogs affected by different diseases associated or not with renal insufficiency. Veterinary Research Communications, 31(1): 269-271.
- Antognoni, M.T., Siepi, D., Porciello, F. and Fruganti, G. (2005). Use of serum cystatin C determination as a marker of renal function in the dog. Veterinary Research Communication, 29: 265-267.
- Ashrafian, H. (2003). Hepcidin the missing link between hemochromatosis and infections. Infection and Immunity, 71: 6693-6700.
- Bostom, A.G., Gohh, R.Y., Bausserman, L., Hakas, D. and Jacques, P.F. (1999). Serum cystatin C as a determinant of fasting total homocysteine levels in renal transplant recipients with a normal serum creatinine. Journal of American Society Nephrology, 10: 164-166.
- Col, R. and Uslu, A. (2007). Changes in selected serum components in cattle naturally infected with Theileria annulata. Bulletin Veterinaria Institute Pulawy, 15: 15-18.
- Dede, S., Deger, Y., Deger, S. and Tanritanir, P. (2008). Plasma Levels of zinc, copper, copper/zinc ratio, and activity of carbonic anhydrase in equine piroplasmosis. Biological Trace Element Research, 125: 41-45.
- DiNubile, M., Antin, J., Bressler, S., Stossel, T. and Ferrara, J. (1998). Decreased gelsolin levels are associated with interstitial pneumonia after allogeneic BMT. Blood, 92: 683a.

- Filler, G., Bokenkamp, A., Hofmann, W., Le Bricon, T., Martinez-Bru, C. and Grubb, A. (2005). Cystatin C as a marker of GFR-history, indications, and future research. Clinical Biochemistry, 38: 1-8.
- Ganz, T. (2003). Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. Blood, 102(3): 783-788.
- Gao, Y.L., Yin, H., Luo, J.X., Ouyang, W.Q., Bao, H.M., Guan, G.Q., *et al*. (2002). Development of an enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis of Theileria sp. infection in sheep. Parasitology Research, 88: 8-10.
- Hashemi-Fesharaki, R. (1998). Control of Theileria annulata in Iran. Parasitology Today, 4: 36-40.
- Hashemi-Fesharaki, R. (1997). Tick-borne diseases of sheep and goats and their related vectors in Iran. Parasitologia, 39: 115-117.
- Herget-Rosenthal, S., Bökenkamp, A. and Hofmann, W. (2007). How to estimate GFR-serum creatinine, serum cystatin C or equations? Clinical Biochemistry, 40: 153-161.
- Howard, C.T., McKakpo, U.S., Quakyi, I.A., Bosompem, K.M. and Addison, E.A. (2007). Relationship of hepcidin with parasitemia and anemia among patients with uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in Ghana. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 77(4): 623-626.
- Hui, Q.S., Masaya, Y., Marisan, M. and Yin, H.L. (1999). Gelsolin, a Multifunctional Actin Regulatory Protein. Journal of Biological Chemistry, 274: 33179-33182.
- Hu, Y., Li, H., Li, W.H., Meng, H.X., Fan, Y.Z., *et al*. (2013). The value of decreased plasma gelsolin levels in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in diagnosis and disease activity evaluation. Lupus, 22(14): 1455-1461.
- Jensen, A.L., Bomholt, M. and Moe, L. (2001). Preliminary evaluation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay (PETIA) for the determination of serum cystatin C-like immunereactivity in dogs. Veterinary Clinical Pathology, 30(2): 86-90.
- Kanda, J., Mizumoto, C., Kawabata, H., Tsuchida, H., Tomosugi, N. and Matsuo, K. (2008). Serum hepcidin level and erythropoietic activity after hematopoietic stem cell transplantation. Haematologica, 93: 1550-1554.
- Kinnaird, J.H., Weir, W., Durrani, Z., Pillai, S.S., Baird, M. and Shiels, B.R. (2013). A bovine lymphosarcoma cell line infected with Theileria annulata exhibits an irreversible reconfiguration of host cell gene expression. PLoS One, 8(6): e66833.
- Lassus, J. and Harjola, V.P. (2012). Cystatin C: a step forward in assessing kidney function and cardiovascular risk. Heart Failure Reviews, 17: 251-261.
- Lewis, D. and Purnell, R.E. (1981). The piroplasm Theileria ovis detected in sheep in south wales. Veterinary Record, 108(3): 56-57.
- Marrocco, C., Rinalducci, S., Mohamadkhani, A., D'Amici, G.M. and Zolla L. (2010). Plasma gelsolin protein: a candidate biomarker for hepatitis B-associated liver cirrhosis identified by proteomic approach. Blood Transfusion, 8(3): 105-112.
- Mehta, H.K., Sisodia, R.S. and Misraula, R.S. (1988). Clinical and haematological observations in experimentally induced cases of bovine theileriosis. Indian Journal of Animal Science, 58: 584-587.
- Mei, L., Zheng, S., Shengbin, X. and Enyun, S. (2014). Predictive value of serum gelsolin in hepatitis B virus (HBV)-related chronic liver disease. African Journal of Biotechnology, 11(20): 4640-4645.
- Miyagawa, Y., Takemura, N. and Hirose, H. (2009). Evaluation of the measurement of serum cystatin C by an enzyme-linked immunosorbent assay for humans as a marker of the glomerular filtration rate in dogs. Journal of Veterinary Medicine Science, 71: 1169-1176.
- Oge, H., Doganay, A., Oge, S. and Yildirim, A. (2003). Prevalence and distribution of Dirofilaria immitis in domestic dogs from Ankara and vicinity in Turkey. Dtsch Tierarztl Wochenschr, 110: 69-72.

- Park, C.H., Valore, E.V., Waring, A.J. and Ganz, T. (2001). Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in liver. Journal of Biological Chemistry, 276: 7806-7810.
- Pasa, S., Bayramli, G., Atasoy, A., Karul, A., Ertug, S. and Ozensoy Toz, S. (2009). Evaluation of serum cystatin-C in dogs with visceral leishmaniasis. Veterinary Research Communications, 33(6): 529-534.
- Pekmezci, D., Guzel, M., Yildirim, A., Ciftci, G., Pekmezci, G.Z., Tutuncu, M., *et al*. (2015a). Evaluation of serum cystatin-C concentrations in dogs infected with Dirofilaria immitis. Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 62(4): 303-306.
- Pekmezci, D., Ural, K., Aysul, N., Guzel, M. and Ciftci, G. (2015b). Assessment of renal function using canine cystatin- C levels in canine babesiosis and ehrlichiosis. Acta Veterinaria-Beograd, 65(1): 56-65.
- Randers, E. and Erlandsen, E.J. (1999). Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function – A Review. Clinical Chemistry Laboratory Medicine, 37: 389-395.
- Rayula, V. and Hafeez, M.D. (1995). Haematological values in cattle infected with Theileria annulata. Indian Journal of Animal Science, 56: 1202-1203.
- Singh, A., Singh, J., Grewal, A.S. and Brar, R.S. (2001). Studies on some blood parameters of crossbred calves with experimental Theileria annulata infections. Veterinary Research Communication, 25: 289-300.
- Smith, D.B., Janmey, P.A., Sherwood, J.A., Howard, R.J. and Lind, S.E. (1988). Decreased plasma gelsolin levels in patients with Plasmodium falciparum malaria: a consequence of hemolysis? Blood, 72(1): 214-218.
- Spottiswoode, N., Patrick, E.D. and Drakesmith, H. (2014). Iron, anemia and hepcidin in malaria. Front Pharmacology, 5: 125.
- Soulsby, E.J.L. (1982). Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7th ed., London: ELBS, Bailliere Tindall, pp: 728-741.
- Van Velthuysen, M.L.F. and Florquin, S. (2000). Glomerulopathy associated with parasitic infections." Clinical Microbiology Reviews, 13(1): 55-66.
- Villa, P., Jiménez, M., Soriano, M.C., Manzanares, J. and Casasnovas, P. (2005). Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients. Critical Care, 9: 139-143.
- Yilmaz, E., Ayarci, A.O., Sigirli, D., Torlar, M.O., Budak, F. and Goral, G. (2014). increased serum hepcidin levels in brucellosis. Clinical Laboratory, 60(11): 1837-1843.
- Young, C.L., Feierstein, A. and Southwick, F.S. (1994). Calcium regulation of actin filament capping and monomer binding by macrophage capping protein. Journal of Biological Chemistry, 269(19): 13997-14002.
- Zhao, D.Q., Wang, K., Zhang, H.D. and Li, Y.J. (2013). Significant reduction of plasma gelsolin levels in patients with intracerebral hemorrhage. Clinica Chimica Acta, 415: 202-206.