

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 در اطراف شهرستان یاسوج با رعایت شرایط استریل در دو فصل زمستان و تابستان خون‌گیری به عمل آمده و پلاسما سیتراته جداسازی شد. میزان فیبرینوژن (FIB) به روش انکسار سنجی رسوبی و مدت زمان پروترومبین (PT) و ترومبوپلاستین فعال نسبی (APTT) به روش کواگولومتری اندازه‌گیری شد. آزمون‌های آماری نشان داد که بین میانگین میزان فیبرینوژن در تابستان و زمستان اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ($p < 0.05$). اما تغییرات مدت زمان پروترومبین و ترومبوپلاستین فعال نسبی به اندازه‌ای نبود که بین این پارامترها در فصل تابستان و زمستان اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شود ($p > 0.05$). 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 طوری که 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 و روش‌ها

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 پارامترهای 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 سریعاً در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال یافته و در آنجا به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۲۵۰۰ سانتریفوژ شده و پلاسما حاصل در کاپ‌های مخصوص اپندورف جمع‌آوری شد. اندازه‌گیری فیبرینوژن به روش انکسارسنجی رسوبی و با استفاده از رفاکتومتر دیجیتال مدل IT 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 و دانکن 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 طوری که 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 ($p > 0/05$) اما بین میانگین میزان فیبرینوژن در دو فصل زمستان و تابستان اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده می‌شود ($p < 0/05$).

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
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
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	۳۷۶/۳±۳۹/۹۱	۸۳/۲±۳/۱۷	۱۷/۷±۱/۵۸
تابستان	۲۳۶/۶±۱۶/۵۹	۷۹/۴±۳/۱۵	۱۵/۶±۰/۲۶

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

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

بحث و نتیجه‌گیری

۱۵/۶±۰/۲۶ و ۷۹/۴±۳/۱۵ 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 ($p>0/05$)، 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 و همکاران 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 می‌اندازد و سرعت تشکیل لخته را بدون تاثیر بر روی قوام لخته نهایی کاهش می‌دهد. همچنین این محققین گزارش نمودند که به جز در موارد شدید در

عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار ($p>0/05$) 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±۱۷/۷ و ۸۳/۲±۳/۱۷ ثانیه و در تابستان به ترتیب

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 ۶ ماه سرد سال به اندازه‌ای است که بتواند سبب افزایش احتمال ابتلاء افراد به سگته‌های میوکاردیال و شوک در فصل زمستان شود (Stout and Crawford, 1991).

Tokutomi و همکاران در سال ۲۰۰۴ عنوان نمودند به نظر نمی‌رسد که کاهش درجه حرارت به مدت ۴۸ 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 سانتریفیوژ شدن به مدت ۳ تا ۶ ساعت در دمای اتاق نگهداری شوند کاهش قابل توجهی در مدت زمان پروترومبین و میزان فیبرینوژن مشاهده می‌شود (Salvagno et al., 2009).

دیگر موارد فاکتور ۷ اثر کاهش دما را جبران می‌کند (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 $376/3 \pm 39/91$ و $236/6 \pm 16/59$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد، اختلاف بین میانگین میزان این دو عدد به اندازه‌ای است که بین میانگین میزان این دو عدد اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده می‌شود ($p < 0/05$).

فیبرینوژن فاکتور یک انعقادی می‌باشد و با تبدیل به فیرین 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 این رو 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

سلسیوس سبب افزایش مدت زمان PT و APTT می شود (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 نمی کند (Bruchim et al., 2006).

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

برخی تحقیقات بر تأثیر افزایشدهنده 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 کاهشدهنده 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). همکاران با انجام تحقیقی بر روی ۳۲ موش آزمایشگاهی عنوان نمودند که شوک گرمایی ۴۰ درجه

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 coagulopathy of that stroke: 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., Finkelstein, 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 therapy in arat heat stroke model. *Medicine Center Research Laboratory*, 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 Heatstroke. *Stroke*, 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). Nviro 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, fibrinolytic 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 seasonal 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. *Analytical Chemistry*, 79 (13): 5051-7.
- Reed, R.L. Bracey, A.W.J.r., Hudson, J.D., Miller, T.A. and Fischer, R.P. (1990). Hypothermia and blood coagulation :dissociation between enzyme activity and clotting factor levels .*Circulation*, 32(2): 141-152.
- Salvagno, G.L., Lippi, G., Montagnana, M., Franchini, M., Poli, G.G. and Uidi, G.C. (2009). Influence of 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 Shigemori, M. (2004). Effect of hypothermia on serum electrolyte ,inflammation ,coagulation,and nutritional 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., Mastere, 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.

