

الکتروفورز استات سلولز

دکتر علی اصغر بهاری^۱ دکتر عبدالعلی چاله^۲ دکتر حمید راهی^۳ دکتر ملیحه عباسعلی پورکبیره^۴

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۳، ۷۹-۷۵، (۱۳۸۰)

و خونگیری انجام شد. با رعایت سرعت عمل و استفاده از صاحب دام یا کارگر آشنای اسب برای مقید کردن دامها تلاش گردید تا حداقل استرس ممکن به حیوان وارد آید، نمونه‌های خون به وسیله لوله‌های خلدنار (Venoject) بدون ماده ضد انعقاد و سوزنهای یکبار مصرف از محل ورید وداج اسبها تهیه شد. سپس لوله‌های خون در محلی ثابت قرار داده شد تا لخته به صورت کامل شکل گیرد. برای جلوگیری از تاثیر نامطلوب سلولهای خونی روی پارامترهای سرم، در محل خونگیری به وسیله سانتریفوژ سرم نمونه‌ها از لخته جدا و در کمترین زمان ممکن در مجاورت یخ به کلینیک ویژه دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه منتقل شدند.

پروتئین تام سرم به روش بیوره اندازه‌گیری شد (۱۳) و سپس برای تفکیک فراکسیون‌های مختلف پروتئین سرم از روش الکتروفورز استات سلولز با استفاده از بافر باربیتال (Tris-barbital) در $\text{pH} = 8/4$ و ولتاژ ۱۸۰۰، زمان ۱۵ دقیقه استفاده شد. رنگ آمیزی پانسو - S برای مشخص نمودن باندهای تفکیک شده به کار رفت (۱۳و۶). دستگاه الکتروفورز مورد استفاده مدل Helena و دانسیتومتر 24-Joniour ساخت کارخانه هلنا فرانسه بودند. میزان آلبومین علاوه بر استخراج از منحنی الکتروفورز، از راه شیمیایی به روش رنگ سنجی برم کرزول گرین به وسیله اتوانالایزر تکنیکون (Technicon) مدل RA-XT اندازه‌گیری شد (۶).

در این پژوهش مقادیر مرجع معادل صدک‌های ۲/۵ و ۹۷/۵ بودند که با استفاده از نرم افزار Excel تعیین شدند (۳). برای دقت در مطالعه نتایج علاوه بر در نظر گرفتن جنس، اسبها به سه گروه سنی ۰-۳۶ ماه، ۳۷-۷۲ ماه و بالاتر از ۷۳ ماه تقسیم شدند. برای تعیین ارزش P و پی‌بردن به اختلاف معنی‌دار بین دو جنس از آزمون آماری T (T - test) و همچنین جهت بررسی احتمال وجود اختلاف معنی‌دار بین نتایج حاصله از گروههای مختلف سنی از روش آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد. آزمونهای T و آنالیز واریانس به طریقی که قبلاً جزئیات آن ذکر شده است (۲) با استفاده از نرم افزار نوشته شده محلی به نام "KUMS" (Kermanshah University of Medical Sciences) انجام شد.

نتایج

دامنه مرجع پروتئین‌های سرم اسبهای کرد همراه با مقادیر گزارش شده برای اسبچه خزر (۱)، اسبهای عرب ایرانی و ترکمن (۴) در جدول ۱ آورده شده است.

جداول ۲ و ۳ به ترتیب مقادیر به دست آمده برای هر پارامتر را به تفکیک سن و جنس نشان می‌دهند. در این جداول نتیجه مقایسه آماری میانگین هر پارامتر برای گروههای مختلف نیز ارائه شده است.

بحث

به دلیل متفاوت بودن میزان و الگوی الکتروفورز اجزای پروتئین‌های خون حیوانات مختلف، ارائه یک تابلوی مرجع برای این اجزا در شرایط گوناگون امری ضروری و متداول است. زیرا شناخت حالت طبیعی در شرایط متفاوت و در اختیار داشتن چنین الگو و مرجعی برای تشخیص تغییرات

در این پژوهش به منظور تعیین مقادیر مرجع پروتئین تام و فراکسیونهای آن ۳۸ رأس از اسبهای کرد اسب‌داریهای اطراف کرمانشاه که از نظر بالینی سالم بودند انتخاب شدند. حیوانات مورد مطالعه از رده‌های مختلف سنی و از هر دو جنس نر و ماده بودند. نمونه‌های خون از ورید وداج در شرایط ناشتا اخذ و سرمها جدا شدند. پروتئین تام به روش بیوره اندازه‌گیری شد و فراکسیونهای آن به روش الکتروفورز استات سلولز تعیین گردیدند. فراکسیون پست آلبومین در تمام نمونه‌ها وجود داشت ولی در همه نمونه‌ها فراکسیون بتا یک و بتا دو از یکدیگر جدا نشدند. دامنه‌های مرجع بر اساس صدکهای ۲/۵ و ۹۷/۵ محاسبه شدند. دامنه به دست آمده برای سرم اسبهای کرد برحسب گرم در لیتر برابر بود با پروتئین تام ۲۹/۱-۶۱، آلبومین ۳۷ - ۲۸/۸۸ (۵۵/۳۹ - ۳۷/۹۵ درصد) پست آلبومین ۲/۱ - ۰/۴ (۲/۹۳ - ۰/۵۸ درصد)، آلفا یک گلوبولین ۱۲/۲۳ - ۵/۳۵ (۱۷/۳۱ - ۸/۲۰ درصد)، آلفا دو گلوبولین ۸/۶۷ - ۳/۳۹ (۱۲/۰۸ - ۵/۸۸ درصد)، بتا یک گلوبولین ۲۱/۹ - ۱۰/۲۳ (۲۸/۱۳ - ۱۵/۶۴ درصد)، بتا دو گلوبولین ۹/۸۲ - ۲/۷۹ (۱۳/۰۹ - ۴/۳۱ درصد)، گاما گلوبولین ۲۰/۰۹ - ۸/۱ (۲۸/۸۵ - ۱۲/۰۱ درصد) و گلوبولین تام ۴۶/۵۱ - ۲۸/۷۴ (۶۰/۹۹ - ۴۲/۵ درصد). نسبت آلبومین به گلوبولین ۱/۲۴ - ۰/۶۱ به دست آمد. مقادیر به دست آمده با دامنه‌های موجود در سایر نژادها مقایسه شد. یک ارتباط مثبت بین سن و غلظت گاما گلوبولین در اسبهای کرد دیده شد. در مقایسه با الگوی الکتروفورز سایر اسبهای ایرانی، شناسایی پست آلبومین در مطالعه حاضر یک یافته جدید است.

واژه‌های کلیدی: پروتئین سرم، الکتروفورز استات، اسب کرد، کرمانشاه.

اسب کرد از جمله اسبهای اصیل و بومی ایران می‌باشد که در مناطق غربی کشور و بویژه کرمانشاه تکوین یافته است. در تبارنامه‌های متعددی ارتباط خویشاوندی اسب کرد با سایر اسبهای ایرانی و غیر ایرانی تعیین شده است (۱۱و۷).

ارتباط ژنتیک با استفاده از مارکرهای ژنتیکی بر اساس گروههای خونی و اختلافهای بیوشیمیایی قابل تخمین و ارزیابی است و می‌تواند مبنای تکامل نظریه‌های اجدادی باشد (۱۱). بر همین اساس دکتر کاتران با تکیه بر مارکرهای گروههای خونی نسبت به تعیین قرابت فنوتیپی و در نتیجه تشابه ژنوتیپی اسب اقدام نمود. بر پایه نتایج تحقیق دکتر کاتران اسب کرد بیشترین تشابه ژنتیکی را با اسبچه خزر و سپس اسب عرب دارا می‌باشد (۱۱).

به طور کلی یکی از مراحل در تشخیص بیماریها تفسیر صحیح یافته‌های آزمایشگاهی از طریق مقایسه با مقادیر مرجع می‌باشد. به این دلیل در اختیار داشتن مقادیر مرجع برای طبقات مختلف افراد از نظر سن، جنس، سالم بودن و مقایسه آن با مراحل مختلف یک بیماری برای تشخیص ارزشمند خواهد بود. هر آزمایشگاهی می‌تواند مقادیر مرجع خود را تعیین نماید تا از تاثیر متغیرهایی از قبیل موقعیت جغرافیایی، وضع تغذیه و روشهای نمونه‌گیری کاسته شود (۴، ۳، ۱).

بنابراین در این پژوهش با هدف ارائه مقادیر مرجع پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون، جداسازی و بررسی پروتئین‌های سرم اسبهای کرد انجام شد.

مواد و روش کار

تعداد ۳۸ رأس اسب کرد به ظاهر سالم از اسب‌داریهای کرمانشاه انتخاب

۱) عضو هیئت علمی آموزشکده دامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان - ایران.

۲) عضو هیئت علمی آموزشکده دامپزشکی دانشگاه رازی - کرمانشاه - ایران.

۳) گروه آموزشی علوم پایه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه - ایران.

۴) گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.



جدول ۱- مقایسه دامنه مرجع پروتئین‌های سرم اسبهای کرد اسب داریهای اطراف کرمانشاه در وضعیت ناشتا با مقادیر گزارش شده برای اسبهای عرب ایرانی، ترکمن و اسبچه خزر

پارامتر	واحد اندازه گیری	اسب کرد*	اسب عرب ایرانی**	اسب ترکمن**	اسبچه خزر***
پروتئین تام	گرم در لیتر	۶۱-۷۹/۱	۵۸/۷-۶۸/۳	۶۱/۴-۷۲	۵۴/۶-۹۶/۶
آلبومین (به روش شیمیایی)	گرم در لیتر	۲۶/۷۵-۳۵	-	-	-
آلبومین	درصد	۳۷/۹۵-۵۵/۳۹	۴۴/۵۷-۵۹/۶۵	۴۲/۵۴-۵۱/۴۶	۴/۹-۵۵/۵
آلبومین	گرم در لیتر	۲۸/۸۸-۳۷	۲۷/۷-۲۳/۵	۲۹/۳-۲۳/۱	۲۷/۷-۲۷/۸
Postalbumin	درصد	۰/۵۸-۲/۹۳	-	-	-
Postalbumin	گرم در لیتر	۰/۴۴-۲/۱	-	-	-
α_1 گلوبولین	درصد	۰/۷۹-۲/۱۳	-	-	۱/۹-۴/۶
α_1 گلوبولین	گرم در لیتر	۰/۵۲-۲/۳۱	-	-	۱/۲-۴
α_2 گلوبولین	درصد	۵/۸۸-۱۲/۰۸	-	-	۷/۳-۱۴/۴
α_2 گلوبولین	گرم در لیتر	۲/۹۳-۸/۶۷	-	-	۵/۸-۱۱/۵
α گلوبولین	درصد	۷/۱۶-۱۴/۳۲	۱۰/۲۶-۱۶/۰۶	۱۲/۲-۱۵/۴	۹/۲-۱۹
α گلوبولین	گرم در لیتر	۴/۸۹-۹/۹۵	۷/۲-۸/۹	۷-۱۰/۸	۷/۰-۱۵/۵
β گلوبولین	درصد	۱۵/۶۴-۲۸/۱۳	۱۲/۱۳-۱۶/۷۷	۱۱/۴-۱۶/۸۲	۸/۹-۲۴/۳۱
β گلوبولین	گرم در لیتر	۱۰/۲۳-۲۱/۹	۸/۲-۱۰	۷/۵-۱۱/۳	۲/۹-۲۳/۲
β_1 گلوبولین	درصد	۸/۲۰-۱۷/۳۱	-	-	۵/۸۰-۱۴/۴۰
β_1 گلوبولین	گرم در لیتر	۵/۳۵-۱۲/۲۳	-	-	۱/۰-۱۰/۹۰
β_2 گلوبولین	درصد	۴/۳۱-۱۳/۰۹	-	-	۳/۱۰-۹/۹۱
β_2 گلوبولین	گرم در لیتر	۲/۷۹-۹/۸۲	-	-	۱/۹۰-۱۲/۳۰
γ گلوبولین	درصد	۱۲/۰۱-۲۸/۸۵	۲۱/۱۶-۲۷/۷۴	۲۱/۵۵-۲۹/۰۹	۱۴/۷-۲۸
γ گلوبولین	گرم در لیتر	۸/۱-۲۰/۰۹	۱۳/۶-۱۷/۴	۰/۷۵-۱۰/۵	۹/۱-۲۱/۲
گلوبولین تام	درصد	۴۲/۵-۶/۱۹۹	۴۷/۹۱-۵۶/۲۳	۴۷/۶۷-۵۷/۸۵	۴۴/۵-۵۵
گلوبولین تام	گرم در لیتر	۲۸/۷۴-۴۶/۵۱	۳۰/۱-۳۵/۹	۲۵/۹-۴۱/۲	۲۶/۹-۴۹/۱
نسبت آلبومین به گلوبولین	-	۰/۶۱-۱/۲۴	۰/۸۳-۱/۰۳	۰/۸۲-۱/۰۴	۰/۸۲-۱/۲۵

(۰ براساس صدک‌های ۲/۵ و ۹۷/۵ محاسبه شده است، (۰۰ براساس $X \pm SD$ تعیین گردیده است، (۰۰۰ براساس حداقل و حداکثر به دست آمده است.

دانکن و پراسه (۱۹۸۶)، کانکو (۱۹۸۹)، میسر (۱۹۹۲) نیز همخوانی زیادی دارد (۶۰، ۱۰، ۱۳، ۲۰). مارکو (۱۹۸۷) با مطالعه بر روی ۲۰ رأس اسب بالغ تروبرد غلظت پروتئین تام سرم این حیوانات را $5.0/6 - 8.8$ g/L گزارش نموده که در سطحی پایینتر از اسب کرد است و با آن دارای اختلاف ظاهری می‌باشد (۱۸). دامنه آلبومین سرم اسبهای کرد در این پژوهش $28/88 - 37$ g/L تعیین

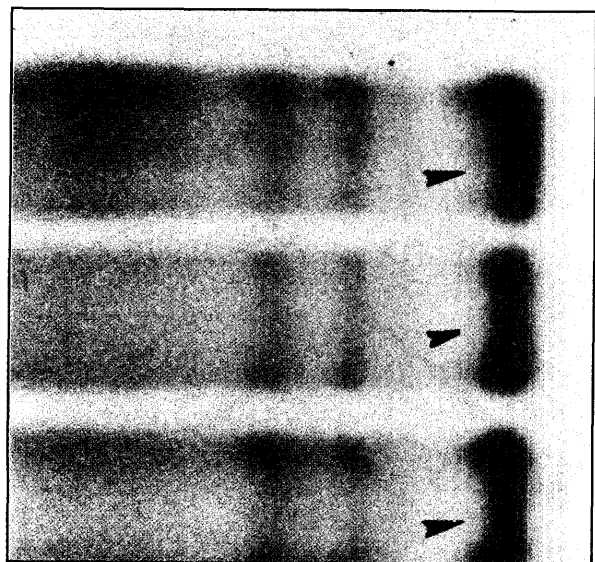
پاتولوژیک در هر یک از اجزای خون الزامی می‌باشد (۱۹، ۱۵، ۱۴، ۱۰). در این پژوهش دامنه‌های مرجع به روش غیر پارامتری و بر اساس صدکهای ۲/۵ و ۹۷/۵ تعیین شد که روشی مستقل از طبیعی بودن پراکندگی است و به همین دلیل نسبت به روش $X \pm 2SD$ از قابلیت اعتماد بیشتری برخوردار می‌باشد (۲۴ و ۲۵).

پس از الکتروفورز نمونه‌ها، به وسیله دانسیتومتری سطح زیر منحنی، درصد هر یک از فراکسیونهای پروتئین تام هر نمونه به دست آمد. در لبه کاتدی آلبومین یک بخش کوچک پروتئینی به نام پست آلبومین (Postalbumin) مشاهده شد (تصاویر ۱ و ۲). این ناحیه را همولوگ ناحیه آلفایک بتا گلیکوپروتئین در الگوی الکتروفورز انسان می‌دانند (۲۲).

کوتران ولانگ (۱۹۹۹) در ۲ رأس از ۴۱ رأس اسبچه خزر مورد آزمایش، سیستم آلفا ۱- بتا گلیکوپروتئین (پست آلبومین) را مشاهده نمودند (۸). اطمینانی (۱۳۷۷) نیز در تعدادی از اسبچه‌های خزر فراکسیون پست آلبومین را شناسایی نمود که به علت عمومیت نداشتن از گزارش آن صرفنظر کرد (۱). از سوی دیگر این فراکسیون در الکتروفورز به روش استات سلولز در اسبهای عرب ایرانی و ترکمن جدا نشده است (۱۰ و ۱۴).

به علاوه در میان تک سمیها تاکنون پست آلبومین در اسبهای عرب (۲۷) و (۲۲)، انگلو-عرب (۲۷ و ۱۷)، تاربرد (۲۷، ۲۲، ۱۷)، استاندارد برد (۲۲)، بومی هوکایدو (۱۷)، کریولو آرژانتینی (۲۳)، (prezewaleskii) (۲۴)، (cheju) (۱۲) و پونی‌های لهستانی (۲۶)، پوتوک (۲۰) و بومی kiso (۱۷) و همچنین الاغ (۲۲) گزارش شده است.

دامنه مرجع پروتئین تام سرم اسب کرد $61 - 79/1$ g/L به دست آمد این دامنه با یافته‌های رشیدی‌نیا (۱۳۷۴) برای اسبهای عرب ایرانی و ترکمن و اطمینانی (۱۳۷۷) برای اسبچه خزر (جدول ۱) دارای همپوشانی زیادی بوده (۴ و ۱)، به علاوه با دامنه ارایه شده توسط بنجامین (۱۹۸۹)،



تصویر ۱- سه مورد از نمونه‌های الکتروفورز شده پس از رنگ آمیزی با پانسو - S یگانها فراکسیون پست آلبومین را نشان می‌دهند.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر با اعتبارات پژوهشی دانشگاه رازی انجام شده است که از مجموعه پژوهشی آن دانشگاه تشکر و قدردانی می‌نماید. همچنین از خانم دکتر پروانه خضرائی نیا و آقای دکتر سعید نظیفی اساتید ارجمند کلینیکال پاتولوژی دانشکده‌های دامپزشکی دانشگاه‌های تهران و شیراز به لحاظ راهنمایی‌های ارزنده، از کارشناسان و تکنیسینهای محترم دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه آقایان امیر کیانی، علیرضا جهانگیر، مجید حیدرزاده و فریبرز بهره‌مند به خاطر زحمات بیدریغ و از دقت نظر خانم آرزو بهاری در تایپ متن و تهیه جداول سپاسگزاری می‌شود.

References

۱. اطیابی، ن. (۱۳۷۷): بررسی سیمای خونی (بیوشیمیایی و سلولی) اسبچه خزر مینیاتور و مقایسه آن با اسب عرب ایرانی. پایان نامه دکترای تخصصی کلینیکال پاتولوژی، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی.
۲. بهاری، ع.ا.، چاله، چاله، ع.، راهی، ح. و پورکبیره، عباسعلی، م. (۱۳۷۹): تعیین دامنه مرجع برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم اسبهای کرد، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۵ شماره ۳: ۸۶-۸۳.
۳. راهی، ح. و کیانی، ا. (۱۳۷۳): تعیین بازه‌های بیوشیمیایی مرجع با استفاده از نتایج آزمونهای روزمره آزمایشگاه، مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دوره دوم شماره ۱: ۱-۱۱.
۴. رشیدی نیام، ر. تعیین میزان طبیعی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون اسبهای عرب ایرانی و ترکمن. پایان نامه دکترای تخصصی کلینیکال پاتولوژی، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی.
5. Benjamin, M.M. (1989): Outline of Veterinary Clinical Pathology, 3rd ed. The Iowa State University Press Ames, Iowa. PP: 288
6. Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (1994): Teitze TextBook of Clinical Chemistry, 2nd ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia. PP: 1071.
7. Cothran, E.G. (1999): Genetic variation and genetic conservation of a rare breed: The Caspian pony. The first International Congress on Caspian Horse, Berenham, Texas, USA.
8. Cothran, E.G., Long, Y.G. (1999): A new phenogroup in the horse D system of red cell alloantigens found in the Caspian pony. The First International Congress on Caspian horse, Berenham, Texas, USA.
9. Doxey, D.L. (1986): Clinical Pathology and Diagnostic procedures, 2nd ed. Bailliere Tindall, London. PP: 66.
10. Duncan, J.R., Prasse, K.W. (1986): Veterinary Laboratory Medicine, 2nd ed Iowa State University Press Ames, Iowa. PP: 232.
11. Firouz, L.L. (1999): The original ancestors of the Turkoman, Caspian horses. The first International Congress on Caspian horse. Berenham, Texas, USA.
12. Han, S.K., Chung, E. Y., Shin, Y.C., Byun, H.D. (1995): Studies on serum proteins and enzyme polymorphism for conservation of Cheju horses, Korean J. Ani. Sci, 37: 52-58.
13. Keneko, J.J. (1989): Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4th ed. Academic Press Inc. California, PP: 886-889.

گردید. این پژوهش با نتایج اطیابی (۱۳۷۷) برای اسبچه خزر و رشیدی نیا (۱۳۷۴) برای اسبهای عرب ایرانی و ترکمن (جدول ۱) همخوانی زیادی دارد (۴ و ۱). گزارشات متعددی دامنه طبیعی آلبومین را در سطح نتایج این پژوهش ذکر نموده‌اند (۲۰، ۱۳، ۱۰، ۶). دوکسی (۱۹۸۳) میزان آلبومین سرم اسب را $21.7-27.7$ g/L گزارش کرده است که با دامنه‌های این پارامتر در اسب کرد دارای تفاوت قابل ملاحظه‌ای می‌باشد (۹). به علاوه دامنه آلبومین در اندازه‌گیری به روش شیمیایی $26.75-35$ g/L بود که دامنه به دست آمده از روش الکتروفورز اختلاف معناداری نداشت.

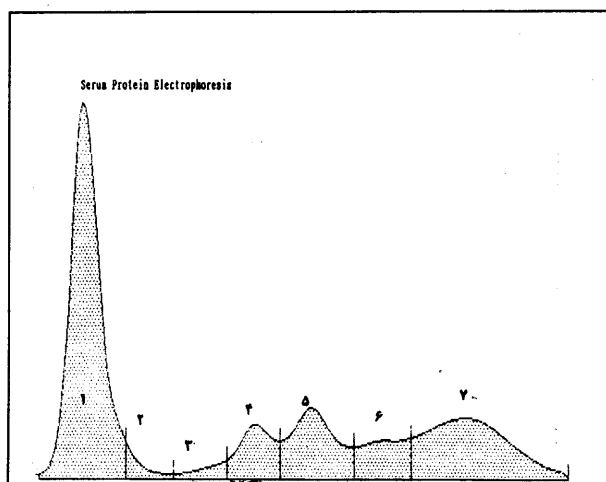
دامنه گلوبولین تام سرم اسبهای کرد $2.8/7.4-4.6/5.1$ g/L محاسبه گردید. این یافته علاوه بر گزارش رشیدی نیا (۱۳۷۴) در اسبهای عرب ایرانی و ترکمن و اطیابی (۱۳۷۷) برای اسبچه خزر (جدول ۱)، با دامنه ارایه شده توسط کانکو (۱۹۸۹)، بنجامین (۱۹۸۹) و مییر (۱۹۹۲) همخوانی دارد (۶، ۱۳، ۲۰).

در رابطه با اجزا گلوبولین‌ها تنها در دامنه فراکسیون بتا گلوبولین اسبهای کرد با اسبهای عرب ایرانی و ترکمن اختلاف چشمگیری وجود دارد (جدول ۱). مقدار این پارامتر در اسبهای کرد بیشتر است.

مقایسه میزان فراکسیونهای مختلف پروتئین سرم اسبهای کرد نشان می‌دهد میزان و درصد گاما گلوبولین با افزایش سن افزوده می‌گردد (جدول ۲)، هر چند این اختلاف میان گروههای سنی در این پژوهش معنی‌دار نبود. این یافته با گزارش کریستین سن و فیرت (۱۹۷۷) همخوانی دارد (۱۶).

مقایسه آماری با مقادیر بخشهای مختلف پروتئین سرم خون اسبهای کرد بین دو جنس بیانگر اختلاف معنی‌دار در میزان و درصد پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین تام و فراکسیونهای پست آلبومین، آلفایک، آلفادو و بتا گلوبولین و همچنین نسبت آلبومین به گلوبولین می‌باشد. در رابطه با پارامترهای بالا قابل ذکر است که مقادیر مربوط به پست آلبومین و نسبت آلبومین به گلوبولین در دامهای نر بیش از دامهای ماده بود. رشیدی نیا (۱۳۷۴) نیز نسبت آلبومین به گلوبولین را دامهای نر بیش از دامهای ماده و دارای اختلاف معنی‌دار گزارش نموده است (۴).

همان‌گونه که در بالا آمد این پژوهش تفاوت ظاهری را میان فراکسیون بتا در اسبهای کرد با دو گروه از اسبهای بومی ایران نشان می‌دهد (جدول ۱). به طور کلی اینکه آیا این گونه تفاوتها می‌توانند به عنوان یک ویژگی فنوتیپی متمایز کننده بین اسبها مطرح گردد پرسشی است که پاسخ آن نیاز به مطالعات بیشتری دارد. به هر حال متفاوت بودن اسبها از نظر حضور و یا عدم حضور پست آلبومین در الگوی الکتروفورز آنها می‌تواند گویای ژنوتیپ متفاوت آنها باشد.



نمودار ۱- منحنی حاصل از دانسیتمتری یکی از نمونه‌های الکتروفورز شده ۱- آلبومین، ۲- Postalbumin، ۳- α_1 گلوبولین، ۴- α_2 گلوبولین، ۵- β_1 گلوبولین، ۶- β_2 گلوبولین، ۷- γ گلوبولین.

14. Knox, D.P., Mckelvey, W.A.C., Jones, D.G. (1988): Blood biochemical reference values for farmed deer. *Vet. Rec*, 122: 109-112.
15. Komarek, J. (1980): Biochemical reference values of blood foal and their significance in health testing. *Veterinarstvi (Czechoslovakia)*, 39: 502-504.
16. Kristensen, F., Firth, E.C. (1977): Analysis of serum proteins and cerebrospinal fluid in clinically normal horses, using agarose electrophoresis. *J. Vet. Res*, 38: 1089-1092.
17. Kumajima, M., Abe, T., Mogi, K., Hosoda, T. (1981): Studies on the genetic variation of Gc protein and postalbumin protein in horse ser and their usefulness in parentage testing. *Japn. J. Zootech. Sci*, 52: 17-21.
18. Marcu, N., Doina, I., Velea, C., Pop, A. (1987): Study on some indices of metabolism in Thoroughbred horses, *Bul. Inst. Agro Chej-Napoca zootech. Sci. Med. Vet*, 4: 23-27.
19. McDougall, S., Lopherd, E.E, Smith, S. (1991): Haematological and biochemical reference values for grazing Saanen goats. *Austr. Vet. J*, 68: 370-372.
20. Meyer, D.J., Coles, E.H., Rich, L.J. (1991): *Veterinary Laboratory Medicine*. 1st edition. W. Saunders Co. Philadelphia, PP: 331.
21. Pascual, M.I., Tejedor, T., Montegudo-Ibanz, L.V., Intxausti-Delcasal, J.I., Arrua-Lavina, M.V. (1998): Genetic analysis of the Pottok breed of pony, *Arch. Zootech*. 42: 178-179, 181-188.
22. Patterson, S.D., Bell, Shaw, D.C. (1991): Donkey and horse alpha-beta glycoprotein: partial characterization and new alleles, *Com. Biochem. Physiol*, 98: 523-528.
23. Peral-Garcia, P., Kienast, M.E., Villegas, C.E.E., Diaz, S., Dulout, F.N. (1996): Genetic relationship between horse breed through multivariate analysis, *Agro-Sur*, 24: 39-42.
24. Put, W., White house, D.B. (1983): Genetics of four plasma protein loci in *Equus Prezwalskii*: new alleles at prealbumin, postalbumin and transferrin loci, *Anim. Blood Grps Biochem. Genet*, 14: 7-16.
25. Tietz, N.W. (1987): *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 3rd ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PP: 202-211.
26. Tomaszewska-Guszkiewicz, K., Smugala, M., Pikula, R. (1994): Polymorphism of Gc and Pa systems and occurrence of haplotypes Al and Gc loci in Polish pony (Trapan horses), *Adv. Agri. Sci*, 3: 45-48.
27. Yokohama, M., Moghi, K. (1985): Detection of protease inhibitor (pi) systems of the light breed horses by isoelectric focusing, *Jap. J. Zootech. Sci*, 56: 883-888.

Determination of reference ranges for serum protein and fractions in Kurd horses by cellulose acetate electrophoresis

Bahari, A.A.¹, Chalechaleh, A.A.², Rahi, H.³, Pourkabir, M.A.⁴

¹School of Veterinary Medicine, Bou-Ali Sina University, Hamadan, Hamadan – Iran. ²School of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah – Iran. ³School of Medicine,

Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah – Iran. ⁴Department of Basic Sciences Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran – Iran.

In this study, cellulose acetate electrophoresis was conducted on 38 serum samples from clinically normal Kurd horses of both sexes and various ages. One fasting blood sample from each horse was collected by jugular puncture and serums were separated. Total protein concentration was determined by Biuret reaction. Based on 2.5 and 97.5 percentiles were calculated for total protein, A/G ratio and the detected fractions: Total protein 61-79. 1g/L, A/G ratio 0. 61-1.24, albumin 28.9-37g/L (37.9-55.39%), postalbumin 0.44-2.1g/L (0.58-2.93%), α 1-globulin 0.52-2.31g/L (0.79-3.13%), α 2-globulin 3.93-8.67g/L (5.88-12.08%), β -globulin 10.23-21.9g/L (15.64-28.13%), γ -globulin 8.1-20.09g/L (12.01-28.85%). A positive correlation between age and γ -globulin concentration was found in kurd horses. Comparing with the electrophoretic pattern of other Iranian horse races, presence of postalbumin in this study is a new finding.

Key words: Serum protein, Cellulose acetate electrophoresis, Postalbumin, Kurd horses, Kermanshah.

