Archive of SID

تأثیر تجویز وریدی پلی‌میکسین B بر علایم بالینی و غلظت سرمی هاپتوگلوبین و گلوکز متعاقب القای اندوتوکسمی تجربی در گوسفند

پرویز خیبری[۱]، علی حاجی محمدی[۲*]، خلیل بدیعی[۳]، مهرداد پورجعفر[۳]، علی اصغر چالمه[۲]

۱. دانشجوی دکتری تخصصی بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۲. استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۳. استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.

دریافت: ۲۹ فروردین ماه ۹۵ **پذیرش:** ۱ تیرماه ۹۵

چکیده

هدف این پژوهش بررسی تأثیر داروی پلی‌میکسین B بر اندوتوکسمی ایجاد شده درگوسفند است. برای این منظور، تعداد ۲۰ رأس گوسفند در ۴ گروه آزمایش ۵ رأسی به روش تصادفی تقسیم شدند. گروه‌های آزمایشی شامل دو دوز درمانی پلی‌میکسین B، گروه اول (دوز ۶۰۰۰ واحد) و گروه دوم(دوز۱۲۰۰۰ واحد) برای هر کیلوگرم وزن بدن و همچنین دو گروه کنترل مثبت و کنترل منفی در نظر گرفته شد. القای اندوتوکسمی با تزریق وریدی لیپوپلی‌ساکارید باکتری *اشرشیاکولی*سروتیپ O55:B5 با دوز ۰/۵ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن انجام شد. در زمان‌های مختلف، شامل پیش از تزریق اندوتوکسین و سپس به فواصل ۱/۵ ساعته تا ۶ ساعت پس از آن و همچنین در ساعات ۲۴ و ۴۸ ارزیابی بالینی خون‌گیری انجام شد. در گروه‌های درمان بلافاصله بعد از اتمام تزریق اندوتوکسین، پلی‌میکسین B با دو دوز مشخص به هر گروه و به روش داخل وریدی به همراه ۲/۵ لیتر دکستروز ۵ درصد - سدیم کلراید ۰/۴۵ درصد تزریق شد. مشخص شد که مقادیر هاپتوگلوبین در گروه‌های تحت درمان با پلی‌میکسین B در زمان‌های مختلف نسبت به گروه کنترل مثبت کمتر است و اختلاف آماری معنی‌داری را از ساعت ۳ تا ۴۸ نشان داد ($P<0/05$) اما بین دو گروه آزمایشی پلی‌میکسین B این اختلاف معنی‌دار نبود. همچنین در این پژوهش تأثیر مثبت استفاده از پلی‌میکسین B در بهبود نشانه‌های بالینی به دنبال القای اندوتوکسمی معنی‌دار بود. در این مطالعه با توجه به تأثیر مثبت داروی پلی‌میکسین B بر بهبود نشانه‌های بالینی و کاهش غلظت سرمی هاپتوگلوبین می‌توان این دارو را به عنوان یک داروی مؤثر در درمان اندوتوکسمی گوسفند مدنظر قرار داد.

واژه‌های کلیدی: اندوتوکسمی، پلی‌میکسین B، هاپتوگلوبین،گلوکز، علایم بالینی، گوسفند.

مقدمه

اندوتوکسین، لیپوپلی ساکارید دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی است که در طی مرگ باکتری و یا در هنگام تکثیر و تزاید سریع آن آزاد و به گردش عمومی خون راه پیدا می‌کند. اندوتوکسمی معمول‌ترین شکل توکسمی در دام‌های بزرگ است. به دنبال آزاد شدن اندوتوکسین ناشی از تخریب دیواره‌ی باکتری‌های گرم منفی در خون، دسته‌ای از سازوکارهای التهابی و دفاعی در بدن شکل می‌گیرد که نیازمند درمان سریع و به موقع برای جلوگیری از پیشرفت بیشتر التهاب و شوک اندوتوکسیک است. تشخیص به هنگام و درمان اصولی اندوتوکسمی در پیش‌گیری از وخامت بیماری و مرگ

* پست الکترونیک نویسنده‌ی مسؤول: hajimohammadi@shirazu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

حیوان بسیار مهم و حیاتی است. اصول درمان اندوتوکسمی بر چهار محور اساسی شامل پیش‌گیری از ورود اندوتوکسین به جریان خون، خنثی‌سازی اندوتوکسین، از بین بردن و یا کاهش تولید واسطه‌های التهابی و انجام مراقبت‌های حمایتی ِعمومی از بیمار، استوار است (۱۵ و ۲۰). در صورت وجود کانون عفونی، نخستین اقدام، استفاده از آنتی‌میکروب‌های علیه باکتری‌های گرم منفی است (۳ و ۲۰). سازوکار اثر عوامل ضدمیکروبی بر این باکتری‌ها از شاخص‌های مهم در گزینش این عوامل در درمان اندوتوکسمی به شمار می‌رود. به‌عنوان نمونه، در صورتی که سرعت اثر عامل ضدمیکروبی بر میکروارگانیسم بالا باشد به یک‌باره میزان زیادی اندوتوکسین به دستگاه گردش خون سرازیر و بیماری تشدید می‌شود. البته ذکر این نکته حائز اهمیت است که عدّه‌ای از پژوهشگران بیان می‌کنند که تجویز آنتی‌بیوتیک‌های باکتریوسیدال در اندوتوکسمی سبب تخریب دیواره باکتری‌های گرم منفی و در نتیجه افزایش میزان اندوتوکسین در سیستم بیولوژیک بدن می‌شود (۱۳). از این‌رو یافتن آنتی‌بیوتیکی که بتواند با چنین فرایندی مقابله کند و به شکلی سبب جلوگیری از افزایش ناگهانی اندوتوکسین در سیستم بیولوژیک بدن بشود، بسیار ارزشمند است. این مورد ضرورت استفاده از خانواده پلی‌میکسین که هم روی باکتری‌های گرم منفی و هم اندوتوکسین آن‌ها مؤثر است را بیان می‌کند. پلی‌میکسین B یک آنتی‌بیوتیک پلی‌پپتیدِ باکتریوسیدال با عملکرد سریع است که از *باسیلوس پلی میکسا* به دست می‌آید و سازوکار عمل آن شبیه دترجنت‌هاست (۱۲). پلی‌میکسین B بر لیپوپلی‌ساکارید دیواره خارجی باکتری‌های گرم منفی تأثیر می‌گذارد (۱۰). به‌دلیل بار مثبت پپتید به کار رفته در ساختمان پلی‌میکسین و همچنین بار منفی موجود در لیپوپلی ساکارید، این دارو می‌تواند به قسمت لیپید A موجود در لیپوپلی‌ساکارید متصل شود و به عنوان یک عامل جمع‌کننده در خنثی‌سازی اندوتوکسین مؤثر باشد که این مکانیسم از طریق ایجاد یک واکنش الکترواستاتیک بین لیپوپلی‌ساکارید و بار مثبت پپتید پلی‌میکسین صورت می‌پذیرد (۶). در پژوهش‌های متعددی، اثرات داروهای ضدالتهابی مختلف بر اندوتوکسمی تجربی القا شده در گوسفند بررسی شده است (۴، ۵، ۲۱ و ۲۲)؛ اما بر اساس اطلاعات موجود، تاکنون مطالعه‌ای درخصوص تأثیر بالینی و ضدالتهابی استفاده از شکل وریدی پلی‌میکسین B بر اندوتوکسمی تجربی در نشخوارکنندگان کوچک صورت نگرفته است. پلی‌میکسین B به منظور بهبود اندوتوکسمی ناشی از ضایعات اختناقی روده، پلوروپنومونی و متریت بعد از زایمان در اسب‌های بالغ مورد استفاده شده که اثرات مفیدی را نیز به همراه داشته است (۲۵). بنابراین، هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی اثر دو دوز متفاوت از پلی‌میکسینB بر علایم بالینی و پاسخ‌های التهابی در مدل تجربی اندوتوکسمی القای شده توسط باکتری *اشرشیاکلی* سروتیپ O55: B5 در گوسفند دنبه‌دار ایرانی است.

مواد و روش کار

پژوهش حاضر در بیمارستان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز انجام گرفت. بدین منظور، از تعداد ۲۰ رأس گوسفند دنبه‌دار ایرانی با سن تقریبی ۶-۴ ماه و وزن تقریبی ۲۰ کیلوگرم استفاده شد. پیش از انجام پژوهش، گوسفندان از لحاظ علایم بالینی و شمارش کامل خون ارزیابی شدند و سلامت دام‌ها به منظور ورود به مطالعه تایید شد. در طی انجام مطالعه، دام‌ها به آب، علوفه و کنسانتره دسترسی مناسب داشتند. به منظور اطمینان از نبود بیماری‌های انگلی در این گوسفندان، سه هفته قبل از انجام پژوهش، همگی تحت درمان با آلبندازول به میزان ۱۵ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی و آیورمکتین به میزان ۰/۲ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت زیرپوستی قرار گرفتند و بیست روز

www.SID.ir

Archive of SID

بعد به منظور اطمینان از عدم حضور تخم یا لارو انگل‌ها، مدفوع آن‌ها تحت بررسی قرار گرفت. پس از آن حیوانات مورد مطالعه در ۴ گروه ۵ رأسی شامل گروه ۱ پلی‌میکسین B، گروه ۲ پلی‌میکسین B، کنترل منفی و کنترل مثبت طبقه‌بندی شدند.

به منظور القای اندوتوکسمی از فرم تجاری لیپوپلی‌ساکارید باکتری *اشرشیاکولی* سروتیپ (O55:B5 Sigma-Aldrich®) استفاده شد. شیوه ایجاد اندوتوکسمی به این صورت بود که یک تک دوز (۰/۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) از لیپوپلی‌ساکارید باکتری را در ۲۵۰ سی‌سی نرمال سالین حل شده و با نرخ ۱۰ میلی‌لیتر برای هر کیلوگرم وزن بدن به روش داخل وریدی در عرض نیم ساعت تزریق شد (۵). در گروه ۱ پلی‌میکسین B و ۲ پلی‌میکسین B بلافاصله بعد از اتمام تزریق لیپوپلی‌ساکارید به حیوان، پلی‌میکسین B به ترتیب با دوز ۶۰۰۰ و ۱۲۰۰۰ واحد برای کیلوگرم وزن بدن و به روش داخل وریدی به همراه ۲/۵ لیتر دکستروز ۵ درصد - سدیم کلراید ۰/۴۵ درصد با نرخ ۲۰ میلی‌لیتر برای کیلوگرم وزن بدن در ساعت تجویز شد. پلی‌میکسین B به‌صورت ویال ۵ میلیون واحدی حاوی پودر استریل محصول شرکت Löwen Apotheke هانفر آلمان بود. در گروه آزمایشی کنترل مثبت، تنها اقدام به ایجاد اندوتوکسمی و تجویز ۲/۵ لیتر دکستروز ۵ درصد - سدیم کلراید ۰/۴۵ درصد بدون هیچ دارویی شد. در گروه آزمایشی کنترل منفی، بدون القای اندوتوکسمی، تنها اقدام به تجویز ۲/۵ لیتر دکستروز ۵ درصد - سدیم کلراید ۰/۴۵ درصد بدون هیچ دارویی شد. در تمامی گروه‌ها حیوانات تا ۴۸ ساعت تحت نظارت قرار داشتند. پیش از تزریق لیپوپلی‌ساکارید، وضعیت بالینی هر حیوان از نظر دمای بدن، تعداد ضربان قلب و تعداد تنفس مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از شروع تزریق لیپوپلی‌ساکارید، هر ۹۰ دقیقه یک‌بار ارزیابی وضعیت بالینی تا ۶ ساعت ادامه یافت. همچنین در ساعت ۲۴ و ۴۸ پس از تزریق لیپوپلی‌ساکارید نیز مجدداً تکرار شد. به منظور اخذ نمونه خون از یک کاتتر شماره ۱۸ و تثبیت آن در ورید وداج حیوان استفاده شد. خون‌گیری در زمان‌های مختلف، پیش از تزریق لیپوپلی‌ساکارید (زمان صفر) و سپس به فواصل ۱/۵ ساعته تا ۶ ساعت ادامه یافت؛ همچنین در ساعات ۲۴ و ۴۸ پس از تزریق لیپوپلی‌ساکارید خون‌گیری مجدداً تکرار شد. پس از اخذ هر نمونه، در محل انجام شد آزمایش جداسازی سرم با سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه) انجام و سرم حاصله بلافاصله به آزمایشگاه ارسال و در فریزر با دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

سنجش هاپتوگلوبین سرم خون با استفاده از کیت بیوشیمیایی (Tridelta) ساخت کشور ایرلند و بر اساس خواص پراکسیدازی هموگلوبین و با دستگاه تجزیه‌گر خودکار در طول موج ۶۳۰ نانومتر انجام گرفت. اندازه‌گیری گلوکز سرم به روش کلریمتری (رنگ‌سنجی) و با کیت شرکت زیست شیمی تهران انجام گرفت. شدت رنگ حاصله در طول موج۵۵۰-۴۹۰ نانومتر با غلظت گلوکز نمونه متناسب است.

برای تجزیه و تحلیل آماری نتایج به دست آمده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. مقایسه مقادیر سرمی و یافته‌های بالینی در گروه‌های آزمایش در زمان‌های مشخص با روش آماری one-way ANOVA و آزمایش تعقیبی LSD بررسی شد. به منظور بررسی روند تغییرات در زمان‌های نمونه‌گیری از آزمایش Repeated measures ANOVA و به منظور بررسی احتمال اختلاف آماری در هر گروه بین دو زمان مختلف از آزمایش Paired sample t test استفاده شد و سطح معنی‌داری به میزان $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته و داده‌ها در بخش نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار (SE) محاسبه و نشان داده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

غلظت سرمی هاپتوگلوبین و گلوکز در زمان‌های مختلف در گروه‌های آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. هاپتوگلوبین پس از القای اندوتوکسمی به سرعت در تمام گروه‌ها بجز گروه کنترل منفی افزایش یافت. هیچ‌گونه تغییر قابل توجهی درگروه کنترل منفی مشاهده نشد. در بین ساعات مختلف نمونه‌گیری (به جز ساعت صفر و ۱/۵) اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه آزمایشی کنترل مثبت و کنترل منفی مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیشترین غلظت سرمی هاپتوگلوبین در گروه آزمایشی کنترل مثبت و در زمان ۴۸ بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید اتفاق افتاد (۶±۵۸۹ میکروگرم در میلی‌لیتر) که اختلاف آماری معنی‌داری با ساعت صفر این گروه داشت. غلظت سرمی هاپتوگلوبین در دو گروه تحت درمان با پلی‌میکسین B در زمان‌های مختلف نسبت به گروه کنترل مثبت پایین‌تر بود و اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد (از ساعت ۳ تا ۴۸) (P<۰/۰۵)، هرچند بین دو گروه آزمایشی پلی‌میکسین B این اختلاف آماری معنی‌دار نبود.

در زمان ۱/۵ بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید، افزایش معنی‌داری در میزان غلظت سرمی گلوکز در همه گروه‌ها دیده شد. در مقایسه بین گروهی کاهش معنی‌دار میزان گلوکز در زمان ۱/۵ در گروه ۲ پلی‌میکسین مشاهده شد (P<۰/۰۵). (جدول ۱). در گروه کنترل مثبت تا ساعت ۶ بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید، روند افزایشی در غلظت سرمی گلوکز مشاهده شد و از ساعت ۲۴ بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید غلظت سرمی گلوکز به حد طبیعی بازگشت که اختلاف آماری معنی‌داری با ساعت صفر نداشت (P<۰/۰۵). در گروه‌های تحت درمان در ساعت‌های مختلف، اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه کنترل مثبت و گروه ۱ پلی‌میکسین B مشاهده نشد. در مورد گروه ۲ پلی‌میکسین B اختلاف آماری معنی‌داری بین غلظت سرمی گلوکز در ساعت‌های ۱/۵ (۶۸±۶۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و ۳ (۳۲±۳۶۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) با گروه ۱ پلی‌میکسین B و گروه کنترل مثبت دیده شد (P<۰/۰۵).

بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید اختلاف آماری معنی‌داری در دمای مقعدی بین گروه‌های کنترل مثبت و دو گروه پلی میکسین B با گروه کنترل منفی دیده شد (P<۰/۰۵). در گروه‌های تحت درمان با گروه کنترل مثبت اختلاف آماری معنی‌داری بین دمای مقعدی در همه ساعت‌ها به جز ساعت ۴۸ دیده شد (P<۰/۰۵)، هر چند بر اساس نتایج این مطالعه (جدول ۲) در ارزیابی دمای مقعدی بین دو گروه پلی‌میکسین B، نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری بین ساعت‌های ۳ و ۴۸ وجود دارد (P<۰/۰۵). شمار ضربان قلب در ۱/۵ ساعت بعد از القای اندوتوکسمی در همه گروه‌ها به غیر از گروه کنترل منفی به صورت معنی‌داری افزایش یافت و این اختلاف معنی‌دار تا ساعت ۳ در همه گروه‌ها ادامه داشت. ارزیابی ضربان قلب در گروه کنترل مثبت نشان داد، شمار ضربان قلب تا ساعت ۴/۵ روند افزایشی داشت و از ساعت ۴/۵ تا ساعت ۴۸ روند کاهشی آغاز شد؛ لیکن در ساعت ۴۸ شمار ضربان قلب نسبت به ساعت صفر بیشتر و این اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). در دو گروه تحت درمان با پلی‌میکسین B به جز در ساعت‌های ۳ و ۴۸، اختلاف آماری معنی‌داری در دیگر ساعت‌ها در این دو گروه تحت درمان دیده نشد (P<۰/۰۵).

در ساعت ۱/۵ بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید در همه گروه‌های تحت درمان شمار تنفس نسبت به گروه کنترل منفی افزایش معنی‌داری پیدا کرد (P<۰/۰۵). درگروه کنترل مثبت، شمار تنفس تا ساعت ۳ روند افزایشی داشت و بعد از آن تا ساعت ۴۸ روند کاهشی به خود گرفت، هر چند در ساعت ۴۸ نیز شمار تنفس نسبت به ساعت صفر بیشتر و این اختلاف با ساعت صفر معنی‌دار بود. در دو گروه تحت درمان با پلی‌میکسین B، در همه ساعت‌ها اختلاف آماری معنی داری بین دو گروه پلی‌میکسین B دیده نشد، اگرچه در گروه درمانی (گروه

www.SID.ir

Archive of SID

۱) پلی‌میکسین B درساعت‌های ۴/۵، ۶، ۲۴ و ۴۸ اختلاف آماری معنی‌داری با گروه کنترل مثبت مشاهده شد (P<۰/۰۵).

جدول ۱– غلظت هاپتوگلوبین و گلوکز (میانگین±خطای معی‌ار) متعاقب تجویز لیپوپلی‌ساکارید باکتری اشرشیاکولی و پلی‌میکسین B در گروه‌های درمان و کنترل

گروه‌ها		آزمون‌های بیوشیمیایی	زمان صفر	پس از ۱/۵ ساعت	پس از۳ ساعت	پس از ۴/۵ ساعت	پس از۶ ساعت	پس از ۲۴ ساعت	پس از ۴۸ ساعت
کنترل	کنترل منفی	هاپتوگلوبین (µg/ml)	۲۳۲±۵	۲۴۲±۶	۲۴۶±۱۰^{a}	۲۵۳±۹^{c}	۲۵۹±۱۳^{c}	۲۵۳±۱۵^{c}	۲۵۳±۱۵^{c}
		گلوکز (mg/dl)	۴۰±۴^{ab}	۸۹۹±۲۱^{a}	۶۶۵±۲۷^{a}	۴۰۵±۲۰	۲۱۱±۱۳	۲۷±۲	۲۵±۵
	کنترل مثبت	هاپتوگلوبین (µg/ml)	۲۵۴±۱۵	۳۰۱±۱۴	۳۹۵±۲۲^{c}	۴۴۸±۱۷^{b}	۵۲۴±۲۰^{b}	۵۶۵±۹^{b}	۵۸۹±۶^{b}
		گلوکز (mg/dl)	۴۲±۵^{ab}	۸۳۷±۳۴^{a}	۶۵۱±۱۱۴^{a}	۵۱۵±۱۰۰	۳۰۰±۱۱۴	۴۴±۱۱	۳۳±۴
تحت درمان	B (۱) پلی میکسین	هاپتوگلوبین (µg/ml)	۲۴۸±۳۳	۳۰۰±۴۵	۳۳۰±۵۰^{ac}	۳۷۴±۵۸^{a}	۳۹۷±۶۳^{a}	۴۳۹±۶۴^{a}	۴۴۲±۶۷^{a}
		گلوکز (mg/dl)	۵۷±۱۱^{a}	۹۶۳±۴۵^{a}	۶۲۳±۷۸^{a}	۳۶۴±۶۷	۱۸۷±۵۷	۳۶±۶	۳۸±۸
	B(۲)پلی‌میکسین	هاپتوگلوبین µg/ml)	۲۶۱±۱۷	۲۸۲±۲۲	۲۹۹±۲۲^{a}	۳۱۲±۲۵^{ac}	۳۲۷±۲۹^{ac}	۳۳۹±۳۰^{ac}	۳۶۲±۳۷^{ac}
		گلوکز (mg/dl)	۳۱±۷^{b}	۶۲۰±۶۸^{b}	۳۶۸±۳۲^{b}	۲۹۴±۱۲	۱۰۵±۴۱	۲۹±۷	۳۳±۸

حروف نامتشابه در هر ستون نشان دهنده سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ است.

جدول ۲– مقایسه نشانه‌های بالینی (میانگین ± خطای معی‌ار) متعاقب تجویز لیپوپلی‌ساکارید باکتری اشرشیاکولی و پلی‌میکسین B در گروه‌های درمان و کنترل

گروه‌ها		نشانه‌های بالینی	زمان صفر	پس از ۱/۵ساعت	پس از ۳ ساعت	پس از ۴/۵ساعت	پس از ۶ ساعت	پس از ۲۴ ساعت	پس از ۴۸ ساعت
کنترل	کنترل منفی	ضربان قلب (تعداد/دقیقه)	۱۰۸±۳^{ab}	۱۱۲±۳^{c}	۱۱۸±۳^{c}	۱۱۸±۲^{c}	۱۱۱±۳^{a}	۱۰۸±۲^{a}	۱۱۱±۲^{b}
		تعداد تنفس (تعداد/دقیقه)	۳۴	۳۶^{b}	۳۷^{b}	۳۵^{d}	۳۶^{d}	۳۶^{d}	۳۴^{d}
		دما (°C)	۳۹/۱	۳۹/۱^{c}	۳۹/۲^{d}	۳۹/۱^{c}	۳۹/۲^{a}	۳۹/۲^{a}	۳۹/۲^{b}
	کنترل مثبت	ضربان قلب (تعداد/دقیقه)	۱۰۲±۲^{b}	۱۲۱±۳^{b}	۱۴۴±۲^{d}	۱۶۰±۰^{b}	۱۵۲±۲^{b}	۱۴۵±۲^{b}	۱۳۹±۱^{c}
		تعداد تنفس (تعداد/دقیقه)	۳۴±۱	۴۳±۱^{a}	۵۹±۱^{a}	۵۱±۱^{bc}	۴۸±۱^{bc}	۴۳±۱^{b}	۴۰±۰^{b}
		دما (°C)	۳۹/۲	۴۰/۴^{b}	۴۰/۴^{c}	۴۰/ ۲^{b}	۴۰^{b}	۴۰^{b}	۴۰^{c}
درمان	B (۱) پلی میکسین	ضربان قلب (تعداد/دقیقه)	۱۱۴±۳^{a}	۱۲۵±۳^{a}	۱۳۶±۳^{a}	۱۴۰±۲^{a}	۱۳۴±۲^{a}	۱۲۷±۲^{a}	۱۲۳±۳^{a}
		تعداد تنفس (تعداد/دقیقه)	۳۲	۴۱±۱^{a}	۵۶±۲^{a}	۴۸±۱^{a}	۴۳±۱^{a}	۳۹±۱^{ad}	۳۶±۰^{a}
		دما (°C)	۳۸/۸	۴۰^{a}	۳۹/۹^{a}	۳۹/۶^{a}	۳۹/۴^{a}	۳۹/۱^{a}	۳۸/۸^{a}
	B (۲) پلی میکسین	ضربان قلب (تعداد/دقیقه)	۱۱۳±۲^{a}	۱۲۵±۲^{a}	۱۴۲±۳^{b}	۱۳۷±۲^{a}	۱۲۸±۱^{a}	۱۲۶±۴^{a}	۱۲۰±۳^{b}
		تعداد تنفس (تعداد/دقیقه)	۳۳±۰	۴۳±۱^{a}	۵۶±۱^{a}	۴۹±۰^{ac}	۴۷±۲^{ac}	۴۱±۱^{ab}	۳۷±۰^{a}
		دما (°C)	۳۹	۴۰^{a}	۳۹/۷^{b}	۳۹/۴^{a}	۳۹/۲^{a}	۳۹/۱^{a}	۳۹^{b}

حروف نامتشابه در هرستون نشان‌دهنده سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵) است.

بحث

با وجود مطالعات گسترده و بیان روش‌های مختلف در خصوص درمان اندوتوکسمی در حیوانات مزرعه، میزان مرگ‌ومیر ناشی از این وضعیت همچنان بالاست (۲۰). انتشار اندوتوکسین در خون یک محرّک برای تولید پروتئین‌های فاز حاد و واسطه‌های التهابی به شمار می‌آید.

www.SID.ir

Archive of SID

پروتئین‌های فازحاد به دلیل نیمه عمر نسبتاً کوتاهی که در خون دارند و حساسیت بالا در حیوانات بیمار، می‌توانند به عنوان یک معیار برای ارزیابی سلامت حیوانات محسوب شوند (۸). ارزیابی پروتئین‌های فاز حاد به منظور تشخیص بیماری‌های عفونی مختلف حساسیت بیشتری نسبت به آزمون‌های خون شناسی و بالینی دارند. در طی رخداد سندرم پاسخ التهابی سیستمیک، غلظت سرمی پروتئین‌های فاز حاد افزایش و در مراحل بهبود شرایط التهابی کاهش می‌یابند (۱۷). پروتئین‌های فازحاد، به ویژه هاپتوگلوبین، و تغییرات آن‌ها به‌دلیل شرایط التهابی و غیرالتهابی مختلف در بسیاری از گونه‌های جانوری از جمله گوسفند به شکل گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۶ و ۲۳). حد طبیعی غلظت سرمی هاپتوگلوبین در گوسفند دنبه‌دار ایرانی۰/۰۵± ۰/۱۸ گرم در لیتر است (۱۸). نتایج مطالعه حاضر همانند دیگر مطالعات بیان کرد که می‌توان هاپتوگلوبین را نوان یک شاخص مناسب برای ارزیابی اندوتوکسمی در گوسفند در نظر گرفت، به گونه‌ای که بعد از القای اندوتوکسمی افزایش چشم‌گیری در غلظت سرمی آن در ساعت ۴۸ بعد از القای اندوتوکسمی دیده شد. همچنین استفاده از پلی‌میکسین B به عنوان یک داروی آنتی‌توکسین، سبب کاهش غلظت سرمی هاپتوگلوبین نسبت به گروه کنترل مثبت شده است هر چند اختلاف معنی‌داری در دو دوز متفاوت پلی‌میکسین در میزان هاپتوگلوبین مشاهده نشد. در مطالعه‌ای که صمیمی و همکاران بر ارزیابی غلظت سرمی هاپتوگلوبین به دنبال القای اندوتوکسمی تجربی در گوسفند دنبه‌دار ایرانی انجام دادند، مشخص شد که به دنبال القای اندوتوکسمی، غلظت سرمی هاپتوگلوبین در ساعت ۴۸ بعد از تزریق اندوتوکسین افزایش قابل توجهی داشته است (۲۲). اثرات مفید استفاده از پلی‌میکسین B برای بهبود ضایعات اختناقی روده، پلوروپنومونی و متریت بعد از زایمان در اسب‌های بالغ مشخص شده است (۲۵). مک‌کی و همکاران بعد از تزریق لیپوپلی ساکارید باکتری به اسب، بیان کردند که استفاده از پلی‌میکسین B با دوز ۵۰۰۰ واحد برای کیلوگرم وزن بدن سبب کاهش قابل توجه سطوح سرمی فاکتور نکروز کننده توموری و اینترلوکین-۶ در خون و همچنین کاهش شمار ضربان قلب، تنفس و دما می‌شود (۱۴)؛ همچنین در مطالعه‌ای استفاده از داروی پلی‌میکسین B در درمان اندوتوکسمی تجربی ایجاد شده در اسب ارزیابی شد و اثرات وابسته به دوز پلی‌میکسین B در مهار فاکتور نکروز کننده توموری مطالعه گردید و مشخص شد که پس از تزریق پلی‌میکسینB تقریباً تا ۷۵ درصد از میزان فعالیت فاکتور نکروز کننده توموری کاسته شد (۱۹). در پژوهشی، پس از القای اندوتوکسمی تجربی (تزریق تک دوز لیپوپلی‌ساکارید باکتری *اشرشیاکلی* با دوز ۰/۵ میکروگرم برای کیلوگرم وزن بدن) در یک گروه از کره اسب‌ها و بروز علایم اندوتوکسمی، نشان داده شد که تزریق آهسته وریدی پلی‌میکسین B با دوز ۶۰۰۰ واحد برای هر کیلوگرم وزن بدن سبب کاهش قابل توجه میزان لاکتات خون، فاکتور نکروز کننده توموری و ترومبوکسان و بهبود علایم بالینی اندوتوکسمی در کره اسب‌های تحت درمان شد (۲۷).

در خلال سپتی سمی شدید و شوک سپتیک، تغییرات پاتوفیزیولوژیک بسیاری اتفاق می‌افتد. یکی از این تغییرات، اختلال در میزان قند خون است (۲۴ و ۲۶). اثرات اندوتوکسمی بر متابولیسم کربوهیدرات‌ها شامل کاهش غلظت گلوکز پلاسما، که بسته به میزان و شدت اندوتوکسمی متفاوت است، کاسته شدن از میزان گلیکوژن کبدی و کاهش تحمل بافت‌ها نسبت به گلوکز است. حد طبیعی غلظت سرمی گلوکز در گوسفند ۸۰-۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر است (۲۰). افزایش قند خون در ابتدای اندوتوکسمی اتفاق می‌افتد و گذراست که ناشی از فعّال شدن مسیر سمپاتیک در اوایل اندوتوکسمی است و احتمالاً مسئول افزایش اولیه قند خون وگلیکوژنولیز کبدی است و به دنبال آن هیپوگلیسمی رخ می‌دهد که روند طولانی‌تری را به خود اختصاص می‌دهد (۲۰). در

www.SID.ir

Archive of SID

پژوهش حاضر، به دنبال القای اندوتوکسمی، افزایش غلظت سرمی گلوکز مشاهده می‌شود که این امر می‌تواند هم ناشی از تأثیر اندوتوکسین بر فعّال کردن مسیر سمپاتیک به منظور بالا بردن میزان قند خون در اوایل اندوتوکسمی و هم تأثیر تزریق وریدی مایعات حاوی گلوکز به دنبال القای اندوتوکسمی به حیوان باشد. اندوتوکسمی در دو فاز هیپردینامیک و سپس هیپودینامیک رخ می‌دهد در فاز اول که به سرعت طی می‌شود هیپرگلیسمی و در فاز دوم، متعاقبا" هیپوگلیسمی بروز می‌کند چون فاز هیپرگلیسمی بسیار گذراست و حیوان به سرعت وارد مرحله هیپوگلیسمی می‌شود، تزریق وریدی مایعات حاوی دکستروز، بخشی ضروری از درمان‌های اندوتوکسمی است که در مطالعه حاضر به عنوان یک روش یکسان در تمامی گروه‌ها انجام شد. در گروه کنترل منفی نیز غلظت گلوکز خون بیش از حد طبیعی است که این امر ناشی از تجویز ۲/۵ لیتر دکستروز ۵ درصد - سدیم کلراید ۰/۴۵ درصد است. در این پژوهش اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه کنترل مثبت و دو گروه تحت درمان با پلی‌میکسین B دیده نشد که شاید علت آن مربوط به اثر مهارکنندگی پلی‌میکسین B بر روی انسولین خون و جلوگیری از ورود گلوکز به داخل سلول‌ها و متعاقباً بالا ماندن سطح گلوکز خون باشد (۷ و ۱۱). نتایج حاصل از ارزیابی گلوکز در پژوهش حاضر با مطالعات پیشین هم‌خوانی دارد (۷ و ۱۱). پلی‌میکسین B در شرایط داخل بدن، اثر کاهنده انسولین بر قند خون را مهار می‌کند (۱). نتیجه این اثر ضدانسولینی پلی‌میکسین B مهار انتقال قند به واسطه انسولین هم در عضلات اسکلتی و هم در بافت چربی است (۲ و ۹). درعضله، همچنین پلی‌میکسین B مانع از تحریک انتقال قند به دنبال هیپوکسی و فعالیت انقباضی عضله می‌شود (۱۱).

در مطالعات مختلفی در گوسفند تأثیر داروهای ضدالتهابی بر روی بهبود نشانه‌های بالینی به دنبال القای اندوتوکسمی تجربی مورد بررسی قرار گرفته است. Chalmeh و همکاران مقایسه اثرات تجویز دگزامتازون و فلونکسین مگلومین بر فاکتورهای التهابی سرم و علایم بالینی پس از ایجاد اندوتوکسمی تجربی در گوسفند را مورد بررسی قرار دادند (۴). در پژوهشی که Samimi و همکاران (۲۲) وRahmani Shahraki و همکاران (۲۱) به ترتیب بر روی اثرات ضدالتهابی داروی‌های دی‌متیل‌سولفوکسید و پنتوکسی فیلین بر اندوتوکسمی تجربی در گوسفند و ارزیابی نشانه‌های بالینی پس از بروز اندوتوکسمی انجام دادند، مشخص شد که این داروها اثرات قابل توجهی در بهبود نشانه‌های بالینی (دما، تنفس، ضربان قلب) به دنبال وقوع اندوتوکسمی تجربی داشته است. در مطالعه Wong و همکاران نیز تأثیر بالینی پلی‌میکسین B بر اندوتوکسمی تجربی در گروهی از کره اسب‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد این دارو سبب بهبود نشانه‌های بالینی به دنبال تزریق اندوتوکسین شده است (۲۷). در پژوهش حاضر نیز به دنبال اندوتوکسمی تجربی در گوسفند و آشکار شدن نشانه‌های افزایش شمار تنفس، ضربان قلب و دما، داروی پلی‌میکسین B با دو دوز مختلف آزمایش شد و مشخص گردید این دارو توانسته سبب جلوگیری از افزایش دما در ساعت‌های نمونه‌گیری نسبت به گروه کنترل مثبت شود. با ارزیابی شمار ضربان قلب، نیز مشخص شد که این دارو سبب کاهش شمار ضربان قلب پس از القای اندوتوکسمی در گروه‌های تحت درمان پلی‌میکسین B نسبت به گروه کنترل مثبت شده است؛ همچنین با مقایسه شمار تنفس بین گروه کنترل مثبت و دو گروه تحت درمان با پلی‌میکسین B مشخص شد که روند افزایش معنی‌دارِ شمار تنفس در دو گروه درمانی با پلی میکسین B نسبت به گروه کنترل مثبت متوقف شده است. در این پژوهش تاثیر پلی‌میکسین B در بهبود نشانه‌های بالینی و جلوگیری از افزایش هاپتوگلوبین مستقل از دو دوز آزمایش (۶۰۰۰ و ۱۲۰۰۰ واحد برای کیلوگرم وزن بدن) بود. در این مطالعه با توجه به تأثیر استفاده از

www.SID.ir

Archive of SID

پلی‌میکسین B در بهبود نشانه‌های بالینی پس از القای اندوتوکسمی و همچنین نتایج به دست آمده از ارزیابی هاپتوگلوبین و گلوکز، می‌توان پلی‌میکسین B را به عنوان یک داروی مؤثر در درمان اندوتوکسمی گوسفند در نظر گرفت.

منابع

1- Amir, S. and Schechter, Y; Polymyxin B is a Potent inhibitor of insulin hypoglycemia in mice. Eur. J. Pharmacol; 1985; 110(2): 83-285.

2- Amir, S; Sasson, S; Kaiser, N; Meyerovitch, J. and Shechter, Y; Polymyxin B is an inhibitor of insulin-induced hypoglycemia in the whole animal model. Studies on the mode of inhibitory action. J. Biol. Chem; 1987; 262(14): 6663-6667.

3- Bryan, C.S; Reynolds, K.L. and Brenner, E.R; Analysis of 1,186 episodes of gram-negative bacteremia in non-university hospitals: the effects of antimicrobial therapy. Rev. Infect. Dis; 1983; 5(4): 629-638.

4- Chalmeh, A; Badiei, K; Pourjafar, M. and Nazifi, S; Acute Phase response in experimentally Escherichia coli serotype O55: B5 induced endotoxemia and its comparative treatment with dexamethasone and flunixin meglumine in Iranian fat-tailed sheep. Vet Arh; 2013; 83(3): 301-312.

5- Chalmeh, A; Badiei, K; Pourjafar, M. and Nazifi, S; Modulation of inflammatory responses following insulin therapy in experimentally bolus intravenous Escherichia coli lipopolysaccharide serotype O55: B5 induced endotoxemia in Iranian fat-tailed sheep. Small Rumin. Res.; 2013; 113(1): 283-289.

6- Clausell, A; Garcia-Subirats, M; Pujol, M; Busquets, M.A; Rabanal, F. and Cajal, Y; Gram-negative outer and inner membrane models: insertion of cyclic cationic lipopeptides. J Phys Chem B; 2007; 111(3): 551-563.

7- Cormont, M; Gremeaux, T; Tanti, J; Van Obberghen, E. and Le Marchand-Brustel, Y; Polymyxin B inhibits insulin-induced glucose transporter and IGF II receptor translocation in isolated adipocytes. Eur. J. Biochem.; 1992; 207(1): 185.

8- Eckersall, P. and Bell, R; Acute Phase Proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. Vet. J.; 2010; 185(1): 23-27.

9- Gremeaux, T; Tanti, J; Van Obberghen, E. and Le Marchand-Brustel, Y; Polymyxin B selectively

www.SID.ir

Archive of SID

North Am. Equine Pract.; 2003; 19(3): 681-695.

16- Murata, H; Stress and acute Phase Protein response: an inconspicuous but essential linkage. Vet. J.; 2007; 173(3): 473-474.

17- Nazifi, S; Khoshvaghti, A. and Gheisari, H; Evaluation of serum and milk amyloid A in some inflammatory diseases of cattle. Iran J Vet Res; 2008; 9(3): 222-226.

18- Nowroozi-Asl, A; Nazifi, S. and Bahari, A; Determination of serum haptoglobin reference value in clinically healthy Iranian fat-tailed sheep. Iran J Vet Res; 2008; 9(2): 171-173.

19- Parviainen, A.K; Barton, M.H. and Norton, N.N; Evaluation of Polymyxin B in an *ex vivo* model of endotoxemia in horses. Am. J. Vet. Res.; 2001; 62(1): 72-76.

20- Radostits, O; Gay, C; Hinchcliff, K. and Constable, P; Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, Pigs and goats: Saunders Elsevier philadelphia, 2007, PA. P. 53-60.

21- Rahmani Shahraki, A; Pourjafar, M; Chalmeh, A; Badiei, K; Heidari, S.M.M; Zamiri, M.J. and Nazifi, S; Attenuating the endotoxin induced acute Phase response by inhibits insulin effects on transport in isolated muscle. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab; 1987; 252(2): E248-E254.

10- Hancock, R.E; peptide antibiotics. Lancet; 1997; 349(9049): 418-422.

11- Henriksen, E; sleeper, M; Zierath, J. and Holloszy, J; Polymyxin B inhibits stimulation of glucose transport in muscle by hypoxia or contractions. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab; 1989; 256(5): 662-667.

12- Hermsen, E.D; Sullivan, C.J. and Rotschafer, J.C; Polymyxins: Pharmacology, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and clinical applications. Infect. Dis. Clin. North Am.; 2003; 17(3): 545-562.

13- Hurley, J.C; Louis, W; Tosolini, F.A. and Carlin, J; Antibiotic-induced release of endotoxin in chronically bacteriuric patients. Antimicrob. Agents Chemother; 1991; 35(11): 2388-2394.

14- Mackay, R; Clark, C; Logdberg, L. and Lake, P; Effect of a conjugate of Polymyxin B-dextran 70 in horses with experimentally induced endotoxemia. Am. J. Vet. Res.; 1999; 60(1): 68-75.

15- Moore, J.N. and Barton, M.H; Treatment of endotoxemia. Vet. Clin.

www.SID.ir

Archive of SID

Pentoxifylline in comparison with dexamethasone and ketoprofen in sheep. Small Rumin. Res.; 2016; 136: 156-160.

22- Samimi, A.S; Hajimohammadi, A; Fazeli M. and Nazifi S; Effect of Dimethyl sulfoxide on clinical signs and acute phase proteins during endotoxemia induced by *Escherichia Coli* serotype O55:B5 in sheep. Online J Vet Res; 2014; 18(3): 188-200.

23- Skinner, J. and Roberts, L; haptoglobin as an indicator of infection in sheep. Vet. Rec.; 1994; 134(2): 33-36.

24- Sung, J; Bochicchio, G.V; Joshi, M; Bochicchio, K; Tracy, K. and Scalea, T.M; Admission hyperglycemia is predictive of outcome in critically ill trauma Patients. J. Trauma Acute Care Surg; 2005; 59(1): 80-83.

25- Sykes, B. and Furr, M; Equine endotoxaemia-A state-of-the-art review of therapy. Aust. Vet. J.; 2005; 83(1-2): 45-50.

26- Taylor, J.H. and Beilman, G.J; hyperglycemia in the intensive care unit: no longer just a marker of illness severity. Surg Infect; 2005; 6(2): 233-245.

27- Wong, D.M; sponseller, B.A; Alcott, C.J; Agbedanu, P.N; Wang, C. and Hsu, W.H; Effects of intravenous administration of Polymyxin B in neonatal foals with experimental endotoxemia. J. Am. Vet. Med. Assoc.; 2013; 243(6): 874-881.

www.SID.ir

Archive of SID

Vol.11 / No.1
Spring-Summer 2017

Effect of Polymyxin B on clinical signs, serum haptoglobin and glucose concentrations following experimental endotoxemia in sheep

Kheibari, P.[1]; Hajimohammadi, A.[2*]; badiei, Kh.[3]; Pourjafar, M.[3]; Chalmeh, A.[2]

1. Large Animal Internal Medicine Student, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.
2. Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.
3. Professor of Large Animal Internal Medicine, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.

Recieved: 18 April 2016 ***Accepted:*** 22 June 2016

Summary

In order to evaluate the effects of intravenous Polymyxin B on clinical signs, serum haptoglobin and glucose concentrations' following experimental endotoxemia in sheep the Present study was Performed. 20 clinically healthy Iranian fat-tailed sheep were randomly divided to 4 equal groups containing Ploymyxin B 6000 and 12000 U/kg, Positive and negative controls. Endotoxemia was induced by administration of lipopolysaccharide of *Escherichia coli* serotype O55:B5 at 0.5 µg/kg, intravenously. Blood sampling and clinical evaluation were Performed Prior and 1.5, 3, 4.5, 6, 24 and 48 hours after endotoxemia induction. Polymyxin B in both treatment groups was intravenously infused along with 2.5 liter of dextrose 5% Plus to sodium chloride 0.45% at 20 ml/kgbw/hour. Positive control group received endotoxin and 2.5 liter intravenous fluids, subsequently, and fluid therapy was only Performed in negative control one. Serum glucose and haptoglubin were assessed and haptoglubin in Polymyxin B received groups was significantly lower than Positive control one from hour 3 to 48 after endotoxemia induction ($P<0.05$); however, there were no significant differences between Polymyxin B groups. Furthermore, Polymyxin B was improved the clinical signs (core body temperature, heart and respiratory rates) of endotoxic animals, significantly. Serum glucose levels were increased following endotoxemia induction but there were no significant differences among Positive control and Polymyxin B received groups. Based on the significant effects of Polymyxin B on improving the clinical signs and decreasing the circulating haptoglubin levels, it could be stated that this drug may be considered as an effective modulator on ovine endotoxemia.

***Keywords*:** Endotoxemia, Polymyxin B, haptoglubin, Glucose, Clinical signs, sheep.

* Corresponding Author E-mail: hajimohammadi@shirazu.ac.ir

www.SID.ir