

# مطالعه کم خونی سگ در آلودگی تجربی با تریپانوزوما اوانسی

دکتر سید مصطفی رضوی<sup>۱\*</sup>، دکتر سعید نظیفی<sup>۲</sup>، دکتر رضا شهریاری<sup>۳</sup>، دکتر آزاده ابراهیمی<sup>۴</sup>

دریافت مقاله: ۲۳ اسفند ماه ۱۳۸۳

پذیرش نهایی: ۴ تیرماه ۱۳۸۴

## Study of Anaemia in Experimentally Infected Dogs with *Trypanosoma evansi*

Razavi, S.M.<sup>1</sup>, Nazifi, S.<sup>2</sup>, Shahriari, R.<sup>3</sup>, Ebrahimi, A.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz, Iran. <sup>2</sup>Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz, Iran. <sup>3</sup>Kahnooj Veterinary Office, Kahnooj, Kerman, Iran. <sup>4</sup>Graduated from the School of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz, Iran.

**Objective:** To determine the correlation among parasitemia rate and some haematological parameters in infected dogs with *T.evansi*.

**Design:** Experimental study.

**Animals:** Five Iranian crossbred dogs, 8 months old and 15 kg mean body weight.

**Procedure:** Blood and serum samples were collected four times before infection (as control). Dogs were infected with IV injection of  $2 \times 10^5$  *T.evansi*. Then blood and serum samples were collected daily for ten days after infection and parasitemia rate, haematologic and biochemical parameters (including PCV, Hb, RBC, MCV, MCH, MCHC, MCF, as well as LDH and SOD activities) were measured.

**Statistical analysis:** ANOVA, Duncan and Regression.

**Results:** The results revealed negative correlation of parasitemia rate with RBC ( $r=-0.8$ ), Hb Concentrations ( $r=-0.8$ ), PCV ( $r=-0.8$ ) and SOD activity ( $r=-0.87$ ) and positive correlation between parasitemia rate and MCF values ( $r=0.87$ ). The results also showed positive correlation between values of PCV and SOD ( $r=0.96$ ), Hb and SOD ( $r=0.96$ ) and RBC and SOD ( $r=0.96$ ). Negative correlations were observed between values of PCV and MCF ( $r=-0.95$ ), Hb and MCF ( $r=-0.96$ ), and RBC and MCF ( $r=-0.96$ ).

**Clinical implications:** The obtained results indicate that a reduction in SOD activity make RBCs to be extra vascularily lysed by oxidant.

*J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 61,2:169-174,2006.*

**Keyword:** *Trypanosoma evansi*, dog, parasitemia, hemolysis.

**Corresponding author's email:** razvi@shirazu.uc.ir

هدف: تعیین ارتباط میان پارازیتمی و برخی از پارامترهای هماتولوژیک در سگهای آلوده به تریپانوزوما اوانسی (آلودگی تجربی).

طرح: مطالعه تجربی.

حیوانات: پنج قلابه سگ هشت ماهه از نژاد مخلوط ایرانی با میانگین وزنی ۱۵ کیلوگرم روش کار: تهیه نمونه خون و سرم، چهار بار پیش از آلودگی (به عنوان شاهد)، آلوده کردن سگها با تزریق داخل وریدی  $2 \times 10^5$  تریپانوزوما اوانسی، تهیه نمونه خون و سرم بطور روزانه برای ده روز پس از آلودگی و اندازه گیری مقادیر پارازیتمی، پارامترهای هماتولوژیک شامل هماتوکریت (PCV)، هموگلوبین (Hb)، تعداد گلبولهای قرمز (RBC)، میانگین حجم گلبولی (MCV)، میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی (MCHC)، میانگین شکنندگی گلبولی (MCF) و فعالیت آنزیمهای لاکتات دهیدروژناز (LDH) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز واریانس، دانکن و رگرسیون.

نتایج: نتایج نشان داد که هر چه میزان پارازیتمی افزایش یابد تعداد گلبولهای قرمز ( $r=-0.8$ )، میزان هموگلوبین ( $r=-0.8$ )، PCV ( $r=-0.8$ ) و فعالیت آنزیم SOD ( $r=-0.87$ ) کاهش و میزان شکنندگی گلبولی ( $r=+0.87$ ) افزایش می یابد. نتایج همچنین نشان داد که بین PCV و فعالیت آنزیم SOD ( $r=+0.96$ )، هموگلوبین و SOD ( $r=+0.96$ )، تعداد گلبولهای قرمز و SOD ( $r=+0.96$ ) همبستگی مثبت وجود دارد. همبستگی منفی بین PCV و MCF ( $r=-0.95$ )، هموگلوبین و MCF ( $r=-0.96$ ) و تعداد گلبولهای قرمز و MCF ( $r=-0.96$ ) به دست آمد ( $P<0.01$ ).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج مطالعه حاضر، بنظر می رسد که در خلال تریپانوزومیازیس، کاهش فعالیت آنزیم SOD موجب حساس شدن گلبولهای قرمز شده و احتمالاً این سلولها بوسیله عامل اکسیدان در خارج از عروق خونی تخریب می شوند. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۵، دوره ۶۱، شماره ۲، ۱۷۴-۱۶۹.

واژه های کلیدی: تریپانوزوما اوانسی، سگ، پارازیتمی، همولیز.

تریپانوزوما اوانسی یکی از انگل های تک یاخته ای خونی است که عمدتاً در مناطق گرمسیری در خون دامها دیده می شود. انتقال انگل از طریق مکانیکی و به وسیله حشرات خونخوار صورت می گیرد. این انگل در شتر و اسب و به ندرت در سگ سبب بیماری می شود (۱۴). تریپانوزوما اوانسی در سگ سبب بزرگ شدن غدد لنفاوی، افزایش ضربان قلب، تعداد تنفس و درجه

۱) گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

۲) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

۳) شبکه دامپزشکی شهرستان کهنوج، کرمان - ایران.

۴) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

\* نویسنده مسؤول: razvi@shirazu.ac.ir

حرارت بدن می شود. تب حاصله در اثر آلودگی با تریپانوزوما اوانسی نسبتاً بالاست. هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبولهای قرمز نیز کاهش می یابند (۸، ۱۳، ۱۴).

اولین گزارش از بروز بیماری تریپانوزومیازیس در سگ به وسیله





Wiesenhutter در سال ۱۹۷۵ صورت گرفته است (۱۶).

Dwivedi و همکاران در سال ۱۹۷۷ با ایجاد آلودگی تجربی در سگ فعالیت آنزیمهای AST و ALT سرم را مورد بررسی قرار دادند (۴). در تحقیقی دیگر، Rue و همکاران در سال ۱۹۸۸ تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی سرم سگ را در عفونت تریپانوزوماوانسی مورد بررسی قرار دادند (۱۰).

Silva و همکاران در سال ۱۹۹۵ وقوع بیماری سورا را در سگ در برزیل گزارش کردند (۱۳). De Aquino و همکاران در سال ۱۹۹۹ با ایجاد تجربی بیماری حاصل از تریپانوزوماوانسی در سگ، الگوی پاسخ آنتی بادی را به دو روش الیزا و IFAT بررسی کردند (۲).

De La Rue و همکاران در سال ۲۰۰۰ با ایجاد آلودگی تجربی در ۱۴ قلاده سگ آلوده به فرم حاد بیماری نشان دادند که در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ تعداد گلبولهای قرمز کاهش می یابد اما سایر فاکتورها در عفونت حاد تغییر چندانی نداشته و فقط لنفوسیت ها به میزان کمی افزایش می یابند (۳).

نظیفی و همکاران در سال ۲۰۰۴ وقوع یک مورد مهلک بیماری سورا را در سگ در ایران گزارش کردند (۹).

در زمینه میزان پارازیتمی و بروز همولیز در تریپانوزومیا یس ناشی از تریپانوزوماوانسی در سگ گزارش منتشر شده ای یافت نشد.

هدف اصلی از پژوهش حاضر، تعیین رابطه میان پارازیتمی و پارامترهای هماتولوژیک در سگهای مبتلا به تریپانوزوماوانسی می باشد و چنانچه چنین ارتباطی به دست آید می توان از آن برای پیش آگهی و درمان بیماری استفاده کرد.

## مواد و روش کار

تعداد پنج قلاده سگ (چهار قلاده نر و یک قلاده ماده) ۸ ماهه، به وزن ۱۴ تا ۱۶ کیلوگرم (متوسط ۱۵ کیلوگرم) مورد مطالعه قرار گرفتند. ابتدا همه سگهای مورد مطالعه از نظر وضعیت عمومی و بالینی معاینه شدند. دو هفته قبل از آغاز تحقیق به تمامی سگهای مورد آزمایش داروهای ضد انگل (پرازی کوانتل<sup>۱</sup> و مبندازول<sup>۲</sup>) خوراندند. قبل از تزریق انگل در چهار نوبت در چهار روز مختلف از سگها خونگیری به عمل آمد و پارامترهای مختلف به عنوان شاهد قبل از آلودگی منظور گردیدند. سپس تعداد  $2 \times 10^4$  تریپانوزوماوانسی (جدا شده به روش ماکروهماتوکریت از خون شتر آلوده از منطقه کهنوج - کرمان) به هر یک از سگهای مورد آزمایش به صورت داخل وریدی تزریق گردید. ویژگی های مورفولوژیک انگل جدا شده عبارت بودند از: اندازه ۲۰-۳۰ میکرون، کینتوپلاست با فاصله از انتهای خلفی، پرده موج کاملاً توسعه یافته و تاژک آزاد بیرون زده از انتهای قدامی. سگها تحت مراقبت قرار گرفته و از آنها هر روز و به مدت ۱۰ روز خونگیری به عمل آمد.

در پژوهش حاضر برای پی بردن به میزان همولیز از سه آزمایش زیر استفاده گردید:

الف - آزمایش شکنندگی گلبولهای قرمز (۱)

ب - سنجش LDH سرم. این آنزیم به میزان فراوان در داخل گلبولهای قرمز وجود دارد و با لیز گلبولهای قرمز، میزان آن در سرم خون افزایش می یابد (۱۵).

ج - سنجش SOD سرم. وجود آنزیم SOD در سیتوزول گلبولهای قرمز به عنوان سد دفاعی، استرس های اکسیداتیو وارده بر غشا را تعدیل کرده و مانع از همولیز می شود. بنابراین انتظار می رود در موارد همولیز میزان آنزیم کاهش یابد (۵، ۶).

در مورد سگهای مورد آزمایش:

۱- میزان آلودگی (میزان پارازیتمی) مشخص گردید. برای تعیین میزان پارازیتمی، با میزان معینی خون (۱۰ میکرولیتر) گسترش تهیه شد و پس از رنگ آمیزی گیمسا، تعداد انگل در یک سانتی متر مکعب محاسبه گردید.

۲- میزان هماتوکریت به روش میکروهماتوکریت، میزان هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین و تعداد گلبولهای قرمز خون به روش هماسیتومتری تعیین گردیدند. میزان شاخص های گلبولی (MCV, MCH, MCHC) با استفاده از فرمولهای استاندارد تعیین شد (۷).

۳- آزمایش شکنندگی اسمزی گلبولهای قرمز بر روی تمام نمونه ها انجام شد نتیجه ی آزمایش شکنندگی اسمزی به صورت غلظتی از NaCl که منجر به متلاشی شدن ۵۰ درصد گلبولهای قرمز می شود، بیان گردید (۱).

۴- سنجش LDH (لاکتات دهیدروژناز) سرم با استفاده از روش کالری متریک سیگما انجام شد.

۵- سنجش SOD (سوپراکسید دیسموتاز) سرم با استفاده از روش کالری متری کیت SOD ساخت شرکت کوژ ژاپن و با استفاده از دستگاه الیزا ریدر<sup>۲</sup> صورت گرفت.

پس از انجام تحقیق (روز دهم پس از آلودگی) سگهای مورد آزمایش به وسیله داروی سورامین با دوز ده میلی گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت داخل وریدی درمان شدند.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمونهای آماری آنالیز واریانس، آنالیز رگرسیون و دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. حد معنی دار P بصورت  $P < 0/05$  و  $P < 0/01$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

در سگهای آلوده به تریپانوزوماوانسی در روزهای هشتم، نهم و دهم پس از آلودگی، تب خفیف ( $39/6^{\circ}C$ )، کم رنگی مخاطات به ویژه مخاطات دهان، افزایش ضربان قلب (155/min) و افزایش خفیف تعداد تنفس (40/min) مشاهده شد. در آزمایش خون مواردی از اختلالات گلبولهای قرمز از جمله اکینوسیت ها و بازوفیلی دانه دانه مشاهده گردید.

نتایج بدست آمده از تعیین میزان پارازیتمی، پارامترهای اریتروسیستی خون، فعالیت آنزیمهای LDH، SOD و میانگین شکنندگی گلبولی در نمونه های شاهد و آلوده در جدول شماره یک ارائه شده است.

ضرایب همبستگی میان پارازیتمی، پارامترهای اریتروسیستی خون،





جدول ۱- میزان پارامترهای هماتولوژیک و فعالیت آنزیم های LDH و SOD و میانگین شکنندگی گلبولی در سگهای آلوده به تریپانوزوماوانسی (n=۵).

روز	شاهد	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
پارامتر											
پارازیتمی (تعداد در سانتی متر مکعب)	a ۰۰ ±۰۰۰	a ۰۰ ±۰۰۰	a ۰۰ ±۰۰۰	a ۴۰ ±۲۴/۹۶	a ۸۰ ±۲۰	b ۲۴۰ ±۴۰	b ۳۶۰ ±۶۰	c ۴۶۰ ±۶۷/۸۲	d ۵۰۰ ±۸۳/۶۶	e ۶۴۰ ±۱۰۲/۹۵	e ۷۲۰ ±۶۶/۳۳
RBC (× 10 <sup>۶</sup> /ml)	g ۷/۸۲ ±۰/۱	g ۷/۷۲ ±۰/۰۲	f ۶/۲۶ ±۰/۰۴	e ۵/۵ ±۰/۰۴	d ۴/۹۳ ±۰/۰۵	c ۴/۴ ±۰/۰۷	b ۳/۶۸ ±۰/۰۴	a ۳/۵۴ ±۰/۰۶	a ۳/۳۸ ±۰/۰۶	a ۳/۲۴ ±۰/۰۵	
Hb (g/dl)	g ۱۵/۶۶ ±۰/۲	g ۱۵/۴۴ ±۰/۰۸	f ۱۲/۴۲ ±۰/۰۹	e ۱۰/۹۵ ±۰/۰۶	d ۹/۹ ±۰/۰۷	c ۸/۷۷ ±۰/۱۱	b ۷/۳۷ ±۰/۰۸	a ۷/۰۷ ±۰/۰۹	a ۶/۷۵ ±۰/۱	a ۶/۵۷ ±۰/۰۷	
PCV(%)	g ۴۶/۹ ±۰/۵۹	g ۴۶ ±۰/۳۱	f ۳۷/۲ ±۰/۳۷	e ۳۲/۸ ±۰/۲	d ۲۹/۶ ±۰/۲۴	c ۲۶/۴ ±۰/۲۴	b ۲۲/۲ ±۰/۲	a ۲۱/۲ ±۰/۲	a ۲۰/۴ ±۰/۲۴	a ۱۹/۸ ±۰/۲	
MCV (FL)	a ۵۹/۹۶ ±۰/۱۷	a ۵۹/۵۳ ±۰/۳۷	a ۵۹/۴ ±۰/۴۸	a ۵۹/۶ ±۰/۴۶	a ۵۹/۹۸ ±۰/۵۳	a ۵۹/۹۵ ±۰/۶۱	a ۵۹/۸ ±۰/۶	a ۶۰/۲۶ ±۰/۷	a ۵۹/۸۷ ±۰/۶۳	a ۶۰/۳۳ ±۰/۸۳	a ۶۰/۹۸ ±۰/۴۲
MCH (p.g)	a ۲۰/۰۲ ±۰/۱۱	a ۱۹/۹۹ ±۰/۰۵	a ۱۹/۸۴ ±۰/۱	a ۱۹/۸۹ ±۰/۰۷	a ۲۰/۰۷ ±۰/۱۰	a ۱۹/۹۲ ±۰/۰۹	a ۱۹/۹۳ ±۰/۱	a ۱۹/۹۹ ±۰/۱۳	a ۱۹/۹۸ ±۰/۱۲	a ۱۹/۹۵ ±۰/۱۷	a ۲۰/۲۳ ±۰/۱۲
MCHC (%)	a ۳۳/۴۱ ±۰/۲۵	a ۳۳/۵۸ ±۰/۱۷	a ۳۳/۴ ±۰/۱۱	a ۳۳/۲۸ ±۰/۱۲	a ۳۳/۴۷ ±۰/۲۴	a ۳۳/۲۴ ±۰/۱۸	a ۳۳/۳۴ ±۰/۱۶	a ۳۳/۱۹ ±۰/۱۷	a ۳۳/۳۸ ±۰/۱۶	a ۳۳/۰۹ ±۰/۱۸	a ۳۳/۱۹ ±۰/۱۳
LDH (U/L)	a ۱۵۴/۲۵ ±۶/۱۱	a ۱۴۸/۸ ±۱/۹۵	a ۱۴۷/۴ ±۳/۵۲	a ۱۵۷/۶۶ ±۱/۷۱	a ۱۴۹/۳۳ ۲/۵	a ۱۴۹/۷۳ ±۱/۸۶	a ۱۵۳/۶ ±۱/۹۴	a ۱۵۳/۹ ±۲/۴۴	a ۱۵۵/۴۶ ±۳/۹۷	a ۱۵۰/۵۲ ۳/۰۹	a ۱۵۲/۷۳ ±۳/۰۶
SOD (u/ml)	h ۴/۸۱ ±۰/۰۴	h ۴/۸۱ ±۰/۰۵	g ۴/۷۱ ±۰/۰۳	f ۴/۶۵ ±۰/۰۵	e ۴/۶۱ ±۰/۰۵	d ۴/۵۲ ±۰/۰۶	c ۴/۴۳ ±۰/۰۶	b ۴/۳۸ ±۰/۰۵	a ۴/۳۳ ±۰/۰۱	a ۴/۳۲ ±۰/۰۰۹	a ۴/۳۲ ±۰/۰۰۹
MCF g/l NaCl 50% lysis	a ۰/۵۱ ±۰/۰۰۴	a ۰/۵۲ ±۰/۰۰۵	b ۰/۵۵ ±۰/۰۰۵	c ۰/۵۸ ±۰/۰۰۵	c ۰/۵۹ ±۰/۰۰۴	d ۰/۶۲ ±۰/۰۰۳	e ۰/۶۴ ±۰/۰۰۵	f ۰/۶۷ ±۰/۰۰۵	f ۰/۶۸ ±۰/۰۰۲	f ۰/۶۸ ±۰/۰۰۵	f ۰/۶۸ ±۰/۰۰۵

\* میانگین ± خطای معیار (X±SE)

در هر ردیف، میانگین هایی که دارای حروف لاتین نامتشابه هستند دارای اختلاف آماری معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

۴- همبستگی منفی معنی داری میان هماتوکریت و میانگین شکنندگی

گلبولی (P<۰/۰۱، r=-۰/۹۵)، هموگلوبین و میانگین شکنندگی گلبولی (P<۰/۰۱، r=-۰/۹۶) و تعداد گلبولهای قرمز و میانگین شکنندگی گلبولی (P<۰/۰۱، r=-۰/۹۶) به دست آمد. این همبستگی ها نشان داد که در سگهای آلوده هر چه شکنندگی گلبولهای قرمز بیشتر می شود میزان هموگلوبین و هماتوکریت بیشتر کاهش می یابد و کم خونی تشدید می شود.

۵- تفاوت معنی داری در میزان MCV و MCHC در روزهای پس از آلودگی مشاهده نشد. همچنین میزان پارازیتمی با میزان MCH، MCV و MCHC همبستگی معنی داری را نشان نداد. با توجه به این توضیحات کم خونی سگهای مبتلا از نوع نورموسیتیک - نورموکرومیک است.

### بحث

در پژوهش حاضر با نمونه گیری خون در روزهای متوالی پس از عفونت از روز سوم تریپانوزوماوانسی در خون سگهای آلوده دیده شد. با گذشت روزهای پس از آلودگی، میزان پارازیتمی در سگهای مبتلا افزایش یافت. در سگهای آلوده در روزهای هشتم، نهم و دهم پس از عفونت، تب خفیف، کمرنگی مخاطات به ویژه مخاطات ناحیه دهان و ملتحمه چشم، افزایش خفیف ضربان قلب و تعداد تنفس مشاهده شد. با توجه به اینکه سگها در دوره کمون بیماری قرار داشتند علائم اختصاصی تریپانوزوماوانسی دیده نشد.

De Aquino و همکاران در سال ۱۹۹۹ در تحقیقی نشان دادند که

تریپانوزوماوانسی در طی ۱۷-۹ روز پس از تلقیح انگل در خون سگهای مبتلا

فعالیت آنزیمهای LDH، SOD و میانگین شکنندگی گلبولی سگهای آلوده به تریپانوزوماوانسی در جدول شماره دو ارائه شده است. نتایج این بررسی نشان داد که تعداد گلبولهای قرمز، میزان هموگلوبین، هماتوکریت، SOD و میانگین شکنندگی گلبولی در سگهای آلوده به تریپانوزوماوانسی با قبل از آلودگی اختلاف معنی داری دارند (P<۰/۰۱).

نتایج به دست آمده از بررسی همبستگی میان پارامترهای مورد سنجش در سگهای مبتلا به تریپانوزوماوانسی نشان داد:

۱- با گذشت روزهای پس از آلودگی میزان پارازیتمی افزایش معنی داری نشان می دهد (P<۰/۰۱).

۲- در سگهای آلوده هر چه میزان پارازیتمی افزایش می یابد تعداد گلبولهای قرمز خون (P<۰/۰۱، r=-۰/۸)، میزان هموگلوبین (P<۰/۰۱، r=-۰/۸)، هماتوکریت (P<۰/۰۱، r=-۰/۸) و فعالیت آنزیم SOD (P<۰/۰۱، r=-۰/۸۷) کاهش و میانگین شکنندگی گلبولهای قرمز (P<۰/۰۱، r=-۰/۸۷) افزایش می یابد.

۳- در سگهای آلوده هر چه میزان SOD سرم کاهش می یابد میزان هماتوکریت هم کم می شود (کم خونی شدیدتر می شود) (P<۰/۰۱، r=۰/۹۶).

این همبستگی در مورد میزان هموگلوبین و تعداد گلبولهای قرمز با فعالیت SOD سرم نیز وجود داشت (P<۰/۰۱، r=۰/۹۶). همبستگی منفی معنی داری میان فعالیت آنزیم SOD و میانگین شکنندگی گلبولهای قرمز مشاهده شد (P<۰/۰۱، r=-۰/۹۸)، به این معنی که هر چه آنزیم SOD کاهش می یابد شکنندگی گلبولهای قرمز افزایش می یابد.





جدول ۲- ضرایب همبستگی میان پارامترهای هماتولوژیک، فعالیت آنزیم‌های LDH و SOD و میانگین شکنندگی گلبولی در سگهای آلوده به تریپانوزوماوانسی (n=۵).

Nacl 50% lysis MCF g/l	SOD (U/ml)	LDH (U/L)	M.C.H.C (%)	M.C.H (pg)	M.C.V (fl)	P.C.V (%)	Hb (g/dl)	RBC ( $\times 10^6 / \mu l$ )	پارازیتمی (تعداد در سانتی متر مکعب)	
۰/۸۷**	۰/۸۷**	۰/۱۸	۰/۲۶	۰/۱۳	۰/۲۲	۰/۸۰**	۰/۸۰**	۰/۸۰**	۱/۰۰	پارازیتمی (تعداد در سانتی متر مکعب)
۰/۹۶**	۰/۹۶**	۰/۲۴	۰/۳۵*	۰/۲	۰/۳۱*	۰/۹۹**	۰/۹۹**	۱/۰۰		RBC ( $\times 10^6 / \mu l$ )
۰/۹۶**	۰/۹۶**	۰/۲۳	۰/۳۳*	۰/۱۷	۰/۲۸*	۰/۹۹**	۱/۰۰			Hb (g/dl)
۰/۹۵**	۰/۹۶**	۰/۲۳	۰/۳*	۰/۱۵	۰/۲۶	۱/۰۰				PCV(%)
۰/۳۷*	۰/۲۸*	۰/۱۹	۰/۸۵**	۰/۸۸**	۱/۰۰					MCV (fl)
۰/۲۵	۰/۱۸	۰/۱	۰/۵۲**	۱/۰۰						MCH (pg)
۰/۳۹**	۰/۳۱*	۰/۲۴	۱/۰۰							MCHC (%)
۰/۲۸*	۰/۲۴	۱/۰۰								LDH (U/L)
۰/۹۸**	۱/۰۰									SOD (U/ml)
۱/۰۰										MCF g/l Nacl 50% lysis

\*\*در سطح  $P < 0.01$  معنی دار است. \*در سطح  $P < 0.05$  معنی دار است.

نتایج مطالعه حاضر مبنی بر جبران پذیر بودن کم خونی همخوانی دارد. Silva و همکاران در سال ۱۹۹۵ نیز کم خونی جبران پذیر را در سگهای مبتلا به تریپانوزومیازیس گزارش کردند. این محققین در مطالعه خود کم خونی شدیدی را گزارش کردند که با حضور اشکال غیر طبیعی گلبولهای قرمز نظیر آکانتوسیت‌ها و میکرواسفروسیت‌ها همراه بوده است (۱۳). در پژوهش حاضر، مواردی از اختلالات گلبولهای قرمز از جمله اکینوسیت‌ها و بازوفیلی دانه دانه دیده شد.

در سگهای آلوده به تریپانوزوماوانسی هر چه میزان پارازیتمی بیشتر می‌شد فعالیت آنزیم SOD بیشتر کاهش می‌یافت. همچنین هر چه میزان SOD سرم کاهش می‌یافت میزان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبولهای قرمز نیز کاهش پیدا می‌کرد. کاهش میزان SOD دلالت بر افزایش همولیز دارد. کاهش فعالیت آنزیم SOD در غشای گلبولهای قرمز منجر به افزایش احتمال مواجهه گلبولهای قرمز با محصولات ناشی از استرس‌های اکسیداتیو می‌گردد. نتیجه این برخورد از بین رفتن ساختمان متقارن لیپیدهای غشای سلول، کاهش قدرت انعطاف پذیری، اختلال در تبادل آب و یونها و نهایتاً تورم سلولی و متلاشی شدن گلبولهای قرمز است (۶). گلبولهای قرمز مواجهه یافته با اکسیدانت‌ها سریعتر از گلبولهای قرمز طبیعی به مرحله پیری می‌رسند و ضریب شکنندگی آنها افزایش می‌یابد. این مسئله منجر به حذف زودهنگام گلبولهای قرمز از دستگاه گردش خون به وسیله روند فاگوسیتوز می‌شود. علاوه بر این، کاهش SOD در ساختمان

دیده می‌شود (۲). نتایج این محققین با پژوهش حاضر همخوانی ندارد. تکثیر انگل در داخل بدن سگهای آلوده به نحوی بود که با گذشت روزهای پس از آلودگی تعداد انگل افزایش می‌یافت. در سگهای آلوده، هر چه میزان پارازیتمی افزایش می‌یافت تعداد گلبولهای قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت کاهش می‌یافت. بروز کم خونی و پیشرفت آن در تریپانوزومیازیس سگ توسط Salakij و همکاران در سال ۱۹۹۹، De La Rue و همکاران در سال ۲۰۰۰ و نظیفی و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش شده است (۱۲، ۱۳، ۹). در پژوهش حاضر تعداد گلبولهای قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت از روز دوم پس از آلودگی شروع به کاهش کرده است. De La Rue و همکاران در سال ۲۰۰۰ نیز در آلودگی تجربی سگها با تریپانوزوماوانسی نشان دادند که از همان روزهای نخست پس از آلودگی تعداد گلبولهای قرمز کاهش می‌یابد و کم خونی پیشرفت می‌کند (۳). کم خونی حاصله در سگهای مورد مطالعه از نوع نورموسیتیک - نورموکرومیک بود. زیرا میزان MCV و MCHC نسبت به نمونه شاهد تفاوت معنی داری نشان نداد. این کم خونی از نوع جبران پذیر بود. زیرا در خون سگهای مبتلا تعداد زیادی رتیکولوسیت دیده شد و رتیکولوسیت‌ها شاخص بسیار مهمی برای تشخیص کم خونی‌های جبران پذیر هستند (۱۵). نظیفی و همکاران در سال ۲۰۰۴ در یک قلابه سگ آلوده به تریپانوزومیازیس کشنده که به طور طبیعی آلوده شده بود سه درصد گلبولهای قرمز هسته دار گزارش کردند (۹). حضور گلبولهای قرمز هسته دار در خون محیطی نشان دهنده کم خونی جبران پذیر است که از این جهت با





آثاری از همولیز داخل عروقی دیده نمی شود (عدم تغییر آنزیم LDH)، برای این اساس می توان کم خونی حاصله را از نوع همولیتیک خارج عروقی دانست. علل مختلفی برای بروز کم خونی در تریپانوزومیازیس آفریقایی حاد و مزمن گزارش شده است. از جمله این علل می توان به افزایش تخریب گلبولهای قرمز، همولیز خارج و داخل عروقی ناشی از فعال شدن سیستم ایمنی و فعال شدن سیستم منوسیت - ماکروفاژی غیر اختصاصی و آثار تخریب کننده مستقیم انگل اشاره کرد (۳، ۱۳).

در پژوهش حاضر شواهدی دال بر همولیز داخل عروقی بدست نیامد زیرا میزان LDH تفاوت معنی داری را میان گروه شاهد و گروه بیمار نشان نداد. LDH به مقدار بسیار زیادی در داخل گلبولهای قرمز وجود دارد و در اثر همولیز داخل عروقی فعالیت آن در سرم خون به طور قابل ملاحظه ای افزایش می یابد. با توجه به عدم تغییر LDH وقوع همولیز داخل عروقی منتفی است اما سایر علل مانند همولیز خارج عروقی، افزایش تخریب گلبولهای قرمز، فعال شدن غیر اختصاصی سیستم منوسیت - ماکروفاژی و اثرات ضربه ای مستقیم انگل به گلبولهای قرمز در تحقیق حاضر محتمل به نظر می رسد. در واقع تمامی این مکانیسم ها، مکانیسم هایی هستند که نشان می دهند شکنندگی گلبولهای قرمز در اثر آلودگی انگلی افزایش یافته است و این همان نتیجه ای است که در تحقیق حاضر به دست آمده است. نکته جالب توجه و جدیدی که در پژوهش حاضر به دست آمده است این است که با افزایش پارازیتی میزان SOD سرم کاهش یافته است. این مسئله حضور عوامل اکسیدانت را در عفونت تریپانوزومیازیس سگ مطرح می کند. اثبات این فرضیه جدید نیازمند تحقیقات بیشتر است.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان و وظیفه خود می دانند از حمایت شورای پژوهشی و معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی شیراز و همکاری صمیمانه خانم ها فاطمه فرش نشانی و فاطمه نجاتی بخاطر انجام آزمایشات و خانم ها مایل، شریف پور و رحیمی بخاطر تایپ مقاله تشکر و قدردانی نمایند.

### References

1. Chanarin, I. (1989) Laboratory Hematology. 1st ed. Churchill Living Store. PP. 94-96.
2. De Aquino, L.P., Machado, R.Z., Alessi, A.C. Marques L.C., De Castro, M.B. (1999) Clinical, parasitological and immunological aspect of experimental infection with *Trypanosoma evansi*. in dogs. Mem Inst Oswaldo Cruz, 94: 255-260.
3. De La Rue, M.L. Silva, R.A.M.S., Silva H.S.J., De Carli, G.A. (2000) Leukocytes and reticulocytes

هموگلوبین نیز تغییراتی ایجاد کرده و سبب کاهش انتقال اکسیژن توسط هموگلوبین می شود (۵، ۶). در این رابطه فرضیه ای نیز مبنی بر همبستگی میان استرس های اکسیداتیو و چرخه زندگی گلبول قرمز وجود دارد. برای این اساس هر چه استرس های اکسیداتیو وارده به گلبولهای قرمز بیشتر شود فعالیت SOD گلبول های قرمز بیشتر کاهش می یابد و گلبولها سریعتر متلاشی می شوند (۱۱). به هر حال آنزیم SOD محافظت کننده گلبول قرمز است. در شرایطی که کاتابولیسم پراکسید هیدروژن تولید شده توسط این آنزیم به خوبی صورت نگیرد گلبولهای قرمز سریعاً تخریب می شوند. در اینجا اشاره می شود که در سگهای مبتلا به تریپانوزومیازیس تجربی، همبستگی منفی معنی داری میان فعالیت آنزیم SOD و میانگین شکنندگی گلبولهای قرمز دیده شد ( $P < 0.01, r = -0.98$ )، به این معنی که با کاهش فعالیت آنزیم SOD، شکنندگی گلبولهای قرمز افزایش می یابد. در بررسی به عمل آمده مشخص شد که تاکنون تحقیقی در زمینه تغییرات SOD در تریپانوزومیازیس سگ انجام نشده و نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر روشن کننده حقایقی در زمینه مکانیسم کم خونی و همولیز در تریپانوزومیازیس سگ می باشد به خصوص اینکه مشخص شد هر چه میزان پارازیتی بیشتر می شود میزان همولیز نیز افزایش می یابد.

نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که در سگهای آلوده هر چه تعداد گلبولهای قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت بیشتر کاهش می یابد و کم خونی تشدید می شود به همان نسبت میزان شکنندگی گلبولهای قرمز نیز بیشتر می شود. در واقع علی رغم اینکه انگل خارج گلبولی است اما افزایش پارازیتی که با افزایش کم خونی همراه است منجر به افزایش شکنندگی گلبولهای قرمز می شود. همان طور که در تحقیق حاضر و همچنین تحقیق Silva و همکاران در سال ۱۹۹۵ مشاهده می شود با افزایش پارازیتی تغییرات مورفولوژیک گلبولهای قرمز افزایش می یابد و تعداد اسفروسیت ها و سایر گلبولهای غیر طبیعی در گردش خون محیطی افزایش می یابد (۱۳). غشای گلبولهای قرمز غیر طبیعی به ویژه اسفروسیت ها از مقاومت کمتری برخوردار بوده و شکننده تر هستند. به همین دلیل شکنندگی گلبولهای قرمز با افزایش پارازیتی افزایش یافته است. سایر اشکال غیر طبیعی از جمله بازوفیلی دانه دانه و هاول ژولی بادی و رتیکیولوسیت ها در خون محیطی بیشتر می شوند اما طحال نمی تواند به طور همزمان تمام گلبولهای قرمز غیر طبیعی را خارج سازد بنابراین تعدادی از آنها در گسترش خونی دیده می شوند. این اشکال نشان دهنده افزایش خونسازی و پاسخ مغز استخوان به کم خونی نیز هستند (۱۵).

Scott و Stockham در سال ۲۰۰۲ اظهار داشتند که کم خونی ناشی از آلودگی با تریپانوزوما کم خونی همولیتیک است اما پاتوژنز و مکانیسم دقیق آن هنوز ناشناخته است (۱۵). نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که کم خونی ایجاد شده به وسیله تریپانوزوما اوآنسی در سگ یک کم خونی همولیتیک است که با میزان پارازیتی همبستگی مثبت معنی داری دارد. با توجه به اینکه میانگین شکنندگی گلبولهای قرمز افزایش یافته است اما





- counts in acute infection of dogs with *Trypanosoma evansi*. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*. 42: 163-166.
4. Dwivedi, S.K., Gautam, O.P, Verma, B.B. (1977) Studies on serum transaminase activities in experimental *Trypanosoma evansi* infection in dogs. *Indian Vet J*. 54: 108-110.
  5. Edwards, C.J., Fuller, J. (1996) Oxidative stress in erythrocytes. *Comp. Haematol. Int*. 6: 24-31.
  6. Glass, G.A., Gershon, D.(1984) Decreased enzymatic protection and increased sensitivity to oxidative damage in erythrocytes as a function of cell. *Biochem. J*. 218: 513-537.
  7. Jain, N.C. (1986) *Schalm's Veterinary Hematology*. 4th ed. Lea & Febiger Publication. Philadelphia. PP. 381-383.
  8. Losos, G.J. (1980) Disease caused by *Trypanosoma evansi*. a review. *Vet Res Communic*. 4: 165-181.
  9. Nazifi, S., Razavi, S.M., Molazem, M.(2004) Fatal trypanosomiasis in dog. A case report. *Indian Vet J*. 81: 823.
  10. Rue, M.L., Decarli, G.A., Herrera, H.M. and Silva, R.A.M.S. (1988) Biochemical changes in acute infection of dogs with *Trypanosoma evansi*. *Protozool Res J*. 7: 28-35.
  11. Sailk, L.A. Sich, H.L., Baricos, W.H. (1982) Enzymatic and immunologic quantitation of erythrocyte superoxide dismutase in adults and neonatal and different gestational ages. *Pediatric Res*. 16: 933-937.
  12. Salakij, C., Salakij, J., Rochanapat, N., Suthunma, P. and Nunklang, G.(1999) Hematological characteristics of blood parasite infected dogs. *Kasetsart J*. 33: 589-600.
  13. Silva, R.A.M.S., Herrera, M.M., Domingos, L.B.S., Ximenes, F.A. and Davila, A.M.R. (1995) Pathogenesis of *Trypanosoma evansi* infection in dogs and horses: hemathological and clinical aspect. *Ciencia Rural*. 25: 233-238.
  14. Soulsby, E.G.L. (1982) *Helminths, Arthropodes and Protozoa of Domestic Animals*. Bailliere Tindall, London. 532-534.
  15. Stockham, S.L., Scott, M.A. (2002) *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Iowa State Press, Iowa, U.S.A. PP. 136-137.
  16. Wiesenhutter E. (1975) Trypanosomiasis in dog: A case report from Malaysia. *South Asian J Trop Med Pub Heal*. 6: 445.

