

مقایسه تغییرات سیتوکین‌های پیش التهابی و ارتباط آنها با شاخص‌های خون در گاوهای سالم و آلوده به تیلریا آنولاتا در شهرستان ارومیه

• آزاده باباپور

دانش‌آموخته دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، صندوق پستی ۱۱۷۷، ارومیه، ایران

• رامین علی‌قلی (نویسنده مسئول)

علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، صندوق پستی ۱۱۷۷، ارومیه، ایران

• سیامک عصری رضائی

علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، صندوق پستی ۱۱۷۷، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: آذرماه ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: آبانماه ۱۳۹۲

ali_ramin75@yahoo.com

چکیده

تیلریوز بیماری تکیاخته‌ای خونی و لنفوسیتی بوده که با علائم تب، زردی، کم‌خونی و مرگ در گاو دیده می‌شود. در بروز علائم بیماری واکنش التهابی نقش داشته که خود وابسته به تولید شاخص‌های پیش‌التهابی است. در سال ۱۳۹۰ تعداد ۲۶ و ۶۸ راس گاو سالم و بیمار پس از انجام معاینات بالینی و انگل‌شناسی انتخاب گردیدند و شاخص‌های هماتولوژی و ایمنونولوژی اندازه‌گیری شدند. ابتدا پارازیتمی در خون محیطی گاوهای بیمار تعیین شده و سپس خون وریدی حاوی EDTA برای تعیین مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد لکوسیتها، میزان پارازیتمی و نیز نمونه سرم برای اندازه‌گیری مقادیر $TNF-\alpha$ ، $IL-1-\beta$ و $IL-3$ جمع‌آوری شدند. نتایج بدست آمده با مقادیر پارامترهای فوق‌الذکر در گاوهای سالم و فاقد آلودگی مقایسه شدند. بر حسب تعداد اريتروسیت‌های حاوی انگل تیلریا مشاهده شده در هر شان میکروسکوپی (۵-۱، ۱۰-۶ و ۲۰-۱۱ درصد گلبول‌های قرمز) دام‌های مبتلا به سه گروه پارازیتمی خفیف، متوسط و شدید تقسیم شدند. پراکندگی و درصد گاوهای با پارازیتمی خفیف، متوسط و شدید شامل ۵۳ راس (۷۷/۹٪) آلودگی خفیف، ۹ راس (۱۳/۳٪) متوسط و ۶ راس (۸/۸٪) شدید بودند. بر این اساس بیشترین تعداد دام‌های مبتلا در گروه با آلودگی خفیف و کمترین تعداد در گروه با آلودگی شدید قرار داشتند که این اختلاف بین گروه‌های پارازیتمی معنی‌دار بود ($P < 0.01$). کمترین درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین و نیز بالاترین غلظت $TNF-\alpha$ ، $IL-1-\beta$ و $IL-3$ و بیشترین تعداد لکوسیت‌ها در آلودگی شدید به تیلریا مشاهده شدند؛ ولی تعداد مونوسیت‌ها در آلودگی متوسط بیشتر بودند. کمترین تعداد برای لکوسیت‌ها و پایین‌ترین غلظت $TNF-\alpha$ ، $IL-1-\beta$ و $IL-3$ در آلودگی خفیف مشاهده شدند. در مجموع دام‌های تحت مطالعه، میانگین درصد هماتوکریت و هموگلوبین با افزایش شدت آلودگی کاهش یافته و برعکس تعداد لکوسیت‌ها و غلظت سیتوکین‌های پیش‌التهابی افزایش می‌یابند. آنالیز واریانس یکطرفه تفاوت معنی‌داری تعداد لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها و نیز مقادیر شاخص‌های پیش‌التهابی گروه‌های گاو با آلودگی‌های خفیف، متوسط و شدید را در ($P < 0.05$) و ($P < 0.01$) نشان داد. حداقل غلظت سیتوکین‌های پیش‌التهابی در گروه کنترل و حداکثر آنها در گروه با آلودگی شدید به تیلریا مشاهده گردید. بین درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین با شاخص‌های پیش‌التهابی ارتباط معکوس و معنی‌دار ($P < 0.01$) بوده و بین شاخص‌های پیش‌التهابی ارتباط مستقیم و معنی‌دار ($P < 0.01$) مشاهده شد. شاخص‌های پیش‌التهابی با تمامی پارامترهای خون به استثناء درصد هماتوکریت و هموگلوبین در ارتباط بودند. بالاترین ضریب همبستگی بین شاخص‌های پیش‌التهابی ($r=0.89$) و پائین‌ترین آنها بین پارامترهای لکوسیتی ($r=0.22$) دیده شدند. نتیجه اینکه سیتوکین‌های پیش‌التهابی پاسخی مناسب در عفونتهای تیلریا بوده و می‌توانند نشانگرهای مناسبی در ارزیابی گاوهای مبتلا به تیلریا آنولاتا باشند.

واژه‌های کلیدی: گاو، تیلریا آنولاتا، پارازیتمی، سیتوکین‌های پیش‌التهابی، $TNF-\alpha$ ، $IL-1-\beta$ و $IL-3$

● Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 103 pp: 14-19

Comparison of the pre-inflammatory cytokin changes and their relationships with hematological parameters in healthy and infected cows with *Theileria annulata* in Urmia

Babapour, A.; Vet. Graduated, Vet. College, Urmia University, P.O.Box 1177, Urmia, Iran

AliGholi, R.; Clinical Sci, Vet. College, Urmia University, P.O.Box 1177, Urmia, Iran (Corresponding Author)

Asri Rezaei, S.; Clinical Sci, Vet. College, Urmia University, P.O.Box 1177, Urmia, Iran

Email: ali_ramin75@yahoo.com

Received: December 2012 Accepted: November 2013

Theileriosis is one of the erythrocyte and lymphocyte parasitic disease in cows which characterized by fever, jaundice, anemia and death. Theileriosis due to *Theilaeria annulata* is the results of an inflammatory response in animals body that directly related to pre-inflammatory parameters. The amounts of these parameters were investigated in 26 and 68 healthy and infected cows to *Theilaeria annulata*, respectively, in Urmia 2012. Theileria infection was confirmed in the clinical and parasitological examinations and parasitemia were determined in peripheral blood smear. Jugular whole blood were prepared to evaluate hematocrit, hemoglobin, white cell count (WCC), differential count, and serum for TNF- α , IL1B and IL3. The results were compared with healthy and non- parasitemic cows. The number of 1-5, 6-10 and 11-20 infected erythrocytes was classified as benign, moderate and severe parasitemia, respectively. The number of benign, moderate and severe parasitemin were 53 (77.95%), 9 (13.3%) and 6 (8.8%), respectively. Chi-Square test showed significant differences ($P<0.05$) among 3 groups with the highest and lowest infection were found in benign and severe parasitemia. The lowest percentage of PCV and Hb concentration and highest concentrations of TNF- α , IL1B, IL3 and leucocytes were found in severe infection to theileria, but monocytes were high in moderate group. The lowest leucocytes monocytes and low concentration of TNF- α , IL1B and IL3 were observed in benign infection. Mean PCV and Hb decreased, while WCC, TNF, IL1B and IL3 increased from benign to severe infection. ANOVA showed significant differences in lymphocytes, monocytes ($P<0.05$), TNF, IL1B and IL3 ($P<0.01$) from benign to severe infection. The minimum concentrations of TNF, IL1B and IL3 were in control animals and the maximum in severe infected cows. There were significant negative correlations between PCV, Hb and pre-inflammatory parameters and significant positive correlations among TNF, IL1B and IL3 ($P<0.01$). With the exception of PCV and Hb pre-inflammatory parameters were correlated with blood parameters. The highest correlations were observed among pre-inflammatory parameters ($r=0.89$) and the lowest in leucocytic parameters ($r=0.22$). In conclusion, the pre-inflammatory parameters are affected in theileria infection and could consider as the indices in cows infected with *Theileria annulata*.

Keywords. Cow, *Theileria annulata*, parasitemia, pre-inflammatory, TNF- α , IL1- β , IL-3

مقدمه

(۱۱،۷)، IL-1 β (۲۴) و IL-3 (۵) بوده که همانند شبکه‌ای گسترده سبب تحریک تولید پروتئین‌های فاز حاد التهابی می‌شوند (۹). با توجه به اینکه بخشی از چرخه تکاملی انگل تیلریا در داخل لنفوسیتها می‌باشد، تولید سیتوکینها میتواند متأثر از حضور داخل سلولی انگل تیلریا به منظور کمک به سیستم ایمنی جهت مقابله با این پاتوژن تغییر یابد. همچنین با توجه به اطلاعات فوق و تنوع گزارشات در خصوص چهره‌های بالینی، آزمایشگاهی و تشخیصی از جمله عوامل مسبب، نوع، حدت و شدت کم خونیه‌ها (۲)، هیچ دلیل مستندی در ارتباط با تغییرات سیتوکین‌های پیش‌التهابی در ابتلاء به تیلریوز در گاوها مشاهده نمی‌شود. نظر به کثرت گاوهای اصیل و حساس به تیلریوز در ارومیه نتایج این مطالعه میتواند زمینه‌های آگاهی هر چه بیشتر و پیشگیری از تیلریوز را مهیا سازد. لذا این مطالعه با اهداف تعیین درصد پارازیتمی، شاخص‌های خونی و پیش‌التهابی متأثر و سرانجام ارتباط بین غلظت سیتوکین‌های پیش‌التهابی و شدت پارازیتمی در گاوهای مبتلا به تیلریا آنولاتا در ارومیه انجام گردید.

تیلریوز تکیاخته‌ای خونی و لنفوسیتی است که در نشخوارکنندگان با تب، کم‌خونی و زردی مشخص می‌شود. عامل با گزش کنه‌ها در فصول گرم به گاو منتقل شده و کاهش رشد، وزن، تولید، تولیدمثل و سرانجام مرگ را ایجاد میکند (۲۳،۲۱،۱۵). گزارش شده است که علائم بالینی و شدت بیماری تیلریوز به بیماریزائی گونه تیلریا، حدت عامل، حساسیت و سن میزبان داشته که علت تنوع علائم و ضایعات ناشی از تیلریوزیس ملایم تا شدید را توجیه می‌نماید (۱۶).

مطالعات فراوانی در زمینه تعیین شاخص‌های التهابی به عنوان نماد بیماریهای عفونی انجام گرفته (۴،۱) که زمینه‌های ایمنی زائی و پیشگیری را فراهم نموده اند. شاخص‌های پیش‌التهابی سرآغاز واکنشهای التهابی در بیماریهای انگلی، باکتریائی و ویروسی بوده (۱۹) در صورتیکه در تیلریوز مطالعات مشابه در زمینه حضور آنها وجود نداشته و کمی نمودن آنها ضروری و با ارزش خواهد بود. از برجسته ترین سائتوکینها TNF- α

مواد و روش کار

در سال ۱۳۹۰ تعداد ۹۴ راس گاو با دامنه سنی ۱ تا ۸ سال پس از معاینات بالینی و آزمایش انگل شناسی و تشخیص آلودگی به تیلریا به دو گروه کنترل (سالیم) ۲۶ راس و گروه آلوده به تیلریا ۶۸ راس تقسیم شدند

مقدار ۵ میلی لیتر خون از ورید وداج اخذ و در لوله‌های حاوی و فاقد ضد انعقاد (EDTA) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردیدند. درصد هماتوکریت با روش میکروهماتوکریت، تعداد لکوسیتها به روش هموسیتومتری با استفاده از لام نئوبار و غلظت هموگلوبین به روش سیانومتهموگلوبین تعیین شدند. شمارش تفریقی لکوسیتها و تعیین تعداد نوتروفیلها، لنفوسیتها، مونوسیتها و ائوزینوفیلها با مشاهده گسترش خون و شمارش تعداد ۲۰۰ عدد لکوسیتها انجام گردید.

پارازیتمی با شمارش تک یاخته تیلریا در تعداد یک شان میکروسکوپی در گسترش خون تعیین شد. حضور متوسط یک تا ۵ گلبول قرمز آلوده به تیلریا در شان میکروسکوپی بعنوان آلودگی خفیف، تعداد بین ۶ تا ۱۰ گلبول قرمز آلوده در شان میکروسکوپی به عنوان آلودگی متوسط و ۱۱ تا ۲۰ تیلریا در گلبول قرمز در شان میکروسکوپی تحت عنوان آلودگی شدید گروه بندی شدند (۲). خون موجود در لوله‌ها در ۳۰۰۰ دور بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده، سرم آنها جدا و مقادیر شاخص‌های پیش‌التهابی TNF α ، IL۱B و IL۳ با استفاده از کیت‌های تجاری Ray Biotech ساخت انگلستان و به روش الیزا طبق دستور العمل کیت اندازه گیری شدند.

از آزمونهای (Chi- و Case summaries، t-test، (One way ANOVA) Square در نرم افزارهای SPSS و RBYC جهت تعیین میانگین، انحراف استاندارد، خطای معیار، دامنه شاخصها و مقایسه مقادیر واقعی میانگینها استفاده شدند.

نتایج

در این مطالعه درصد گاوهای با آلودگی خفیف به تیلریا ۷۸٪،

متوسط ۱۳/۲٪ و شدید ۸/۸٪ بودند. میانگین پارازیتمی در گروههای سه گانه (خفیف، متوسط و شدید) به ترتیب ۲/۱۷±۰/۷۲، ۶۲±۰/۶۷ و ۵۸±۰/۱۷۷ بود. ارزیابی اولیه نتایج نشان داد که بیشترین تعداد گاوهای مبتلا در گروه با آلودگی خفیف و کمترین تعداد در گروه با آلودگی شدید قرار داشتند که این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0/01$).

میانگین، انحراف معیار و دامنه شاخص‌های خون را به ترتیب در گروه-های کنترل، آلودگی خفیف، متوسط و شدید در جداول ۱ و ۲ درج شده اند. بالاترین غلظت هماتوکریت و هموگلوبین در دام‌های مبتلا به تیلریوز خفیف مشاهده گردید. بیشترین تعداد لکوسیتها، لنفوسیتها، نوتروفیلها، ائوزینوفیلها، غلظت IL۱B، TNF α و IL۳ در آلودگی شدید و افزایش تعداد مونوسیتها در گاوهای با آلودگی متوسط تعیین گردید. کم خونی شدید با کاهش شدید مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین همراه با کاهش تعداد مونوسیتها در موارد مبتلا به آلودگی شدید مشاهده شد. کمترین تعداد لکوسیتها، لنفوسیتها، نوتروفیلها، ائوزینوفیلها، همراه با مقادیر پائین IL۱B، TNF α و IL۳ در آلودگی خفیف مشاهده شدند (جدول ۲).

میانگین درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین از آلودگی خفیف به متوسط و شدید کاهش یافته ولی لکوسیتها، لنفوسیتها، نوتروفیلها، ائوزینوفیلها، مونوسیتها و پارامترهای پیش‌التهابی افزایش می‌یابند. نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه تفاوت معنی‌دار را در بین تعداد لنفوسیتها، مونوسیتها و افزایش غلظت شاخص‌های پیش‌التهابی در دام‌های مبتلا به آلودگی خفیف در قیاس با دام‌های با آلودگی شدید ($P < 0/05$) نشان داد (جدول ۳). سایر شاخصها تفاوت نشان ندادند. در این مطالعه حداقل غلظت شاخص‌های پیش‌التهابی در گروه کنترل و بیشترین آنها در آلودگی شدید به تیلریا آنولاتا مشاهده گردید.

نتایج آنالیز همبستگی وجود ارتباط معکوس و معنی‌دار بین هماتوکریت و شاخص‌های پیش‌التهابی IL۱B، TNF α و IL۳ نشان دادند ($P < 0/01$). درصد هموگلوبین نیز با همه شاخص‌های پیش‌التهابی ارتباط معکوس و معنی‌دار نیز نشان دادند ($P < 0/01$). همچنین رابطه مستقیم و

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار شاخصهای خون در گاوهای سالم و آلوده به تیلریا آنولاتا در شهرستان ارومیه

گاوهای آلوده		گاوهای سالم		شاخصها
تعداد	میانگین	تعداد	میانگین	
۶۸	۲۷/۹±۱/۱۳a	۲۶	۲۶/۷±۱/۹۸a	هماتوکریت (%)
۶۸	۹/۲±۰/۳۷a	۲۶	۸/۷±۰/۶۵a	هموگلوبین ۱
۶۸	۴/۷۶±۰/۰۶	--	--	پارازیتمی
۶۷	۶۲۲۱±۴۳۳b	۲۳	۱۰۱۳۰±۲۳۷۸a	لنفوسیتها ۲
۶۴	۴۶۱۲±۵۰۰b	۲۲	۳۰۸۷±۵۱۲a	نوتروفیلها ۲
۲۴	۱۲۰۲±۳۶۴b	۵	۱۴۰۸±۷۰۳a	ائوزینوفیلها ۲
۴۴	۱۱۷۵±۱۶۸b	۱۶	۲۸۰۵±۸۳۶a	مونوسیتها ۲
۶۷	۱۳۰۵۳±۱۵۸۵b	۲۴	۱۲۳۶۷±۱۹۱۲a	لکوسیتها ۲
۶۶	۷۳۳±۱۳۷b	۲۲	۲۸۳±۸۵a	TNF α
۶۶	۷۱/۵±۷/۹b	۲۲	۴۴/۸±۹/۵a	IL۱B α
۶۶	۴۸/۶±۴/۸b	۲۱	۴۱/۱±۶/۷a	IL۳ α

$$ld/nmg = 2 \quad l\mu/x = 2 \quad g/dl = 1$$

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف بطور معنی داری متفاوت می‌باشد ($P < 0/05$)

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار شاخصهای خون در گاوهای با آلودگی خفیف (۵۲)، متوسط (۹) و شدید (۶) به تیلریا در شهرستان ارومیه

شاخصها	آلودگی خفیف	آلودگی متوسط	آلودگی شدید
هماتوکریت (%)	۲۸/۶±۱/۳a	۲۶/۴±۲/۹a	۲۴/۲±۳/۱۷a
هموگلوبین ۱	۹/۵±۰/۴۳a	۸/۷±۰/۹۷a	۷/۹۸±۱/۱a
پارازیتمی	۲/۷۲±۰/۱۷a	۷/۷±۰/۶b	۱۸/۵±۱/۹۸c
لنفوسیتها ۲	۵۵۹۸±۳۶۸a	۷۳۳۰±۱۷۴۴b	۹۹۶۰±۲۱۴۱c
نوتروفیلها ۲	۴۶۹۲±۶۱۸a	۴۰۲۲±۱۱۱۷b	۴۸۴۷±۷۲۰c
ائوزینوفیلها ۲	۳۷۰±۳۸a	۳۶۰±۷۸a	۲۳۱±۳۴a
مونوسیتها ۲	۱۶۱۰±۲۶۶a	۱۵۸۰±۳۸۵a	۷۲۰±۲۴۰a
لکوسیتها ۲	۱۲۸۵۷±۱۹۹۳a	۱۲۷۷۷±۲۴۳۶a	۱۴۱۶۶±۱۹۰۴a
TNF α	۴۵۵±۱۰۵a	۱۲۱۲±۵۱۸b	۲۳۷۸±۶۰۱c
IL۱B α	۵۳/۹±۶/۱a	۹۵/۳±۲۳/۲b	۱۸۵/۵±۳۴/۴c
IL۳ α	۳۹/۹±۴/۹a	۷۰/۹±۱۳/۵b	۸۹/۲±۱۴/۳c

Id/nmg = ۲ I μ /x = ۲ g/dl = ۱

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف بطور معنی داری متفاوت می باشد (P<۰/۰۵)

جدول ۳: مقایسه میانگین غلظت شاخصهای خون در گاوهای سالم و آلودگی خفیف، متوسط و شدید به تیلریا در شهرستان ارومیه

شاخصها	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	مقدار F	احتمال معنی Z دار بودن
هماتوکریت (%)	۱۵۷/۶	۳	۵۲/۱۹	۰/۵۷	۰/۶۴
هموگلوبین ۱	۱۹/۷	۳	۶/۶	۰/۶۶	۰/۵۸
پارازیتمی (%)	۱۴۳۰	۲	۷۱۵	۲۰۳	۰/۰۰۱**
لنفوسیتها ۲	۳/۸۸E	۳	۱/۷۳E	۳/۱	۰/۰۳*
نوتروفیلها ۲	۴/۷۲E	۳	۰/۷۸E	۱/۴	۰/۳۹
ائوزینوفیلها ۲	۰/۵۴E	۳	۰/۵۱۲E	۷/۰	۰/۰۰۱**
مونوسیتها ۲	۰/۵۳E	۳	۰/۵۱E	۲/۷۷	۰/۰۵*
لکوسیتها ۲	۳/۷۸E	۳	۱/۷۳E	۰/۰۸	۰/۹۶
TNF α	۲/۶۳	۳	۰/۷۹E	۱۱/۹	۰/۰۰۱**
IL۱B α	۱۱۵۱۰۲	۳	۰/۵۴E	۱۵/۵	۰/۰۰۱**
IL۳ α	۲۰۳۴۶	۳	۰/۴۷E	۵/۷۷	۰/۰۰۱**

P<۰/۰۱*** P<۰/۰۵ = * Id/nmg = ۲ I μ /x = ۲ g/dl = ۱

با پارازیتمی بالای یک درصد از گاوهای سالم متفاوت بوده در صورتیکه این تفاوت در پارازیتمی کمتر از یک درصد محسوس نمی باشد. محققان کم خونی با درجات متفاوتی را در تیلریا ذکر نموده اند که با شدت آلودگی بستگی دارد (۲۱، ۱۵). عدم وجود اختلاف آماری در پارامترهای خون بین گاوهای سالم و آلوده به تیلریا بر سیستم خونسازی احتمالاً نشانگر ابتلا بسیار خفیف با پارازیتمی ۴/۷٪ را برای مجموع نمونه ها دارد. در این مطالعه گاوهای آلوده با پارازیتمی ۲۰٪ واجد هماتوکریت ۹٪ بوده در حالیکه با پارازیتمی ۳۸٪ میزان هماتوکریت ۳۸٪ را نشان دادند که این نتیجه بیانگر این نکته است که با پیشرفت آلودگی به تیلریا کم خونی نیز توسعه می یابد. در این مطالعه با افزایش درصد پارازیتمی مقادیر شاخص های کمخونی

معنی دار بین پارازیتمی با IL۳، IL۱B، TNF α ، لنفوسیتها و ائوزینوفیلها، بین شاخص های پیش التهابی، IL۳ و TNF IL۱B با یکدیگر و لنفوسیتها، IL۳ و IL۱B با مونوسیتها (P<۰/۰۱) مشاهده گردید (جدول ۴).

بحث

در این بررسی بین درصد پارازیتمی مشاهده شده در خون گاوهای مبتلا به تیلریا با تغییرات تابلوی خونی همخوانی وجود داشت. مقادیر بالای هماتوکریت و هموگلوبین در گاوهای با آلودگی خفیف مشاهده شد و در این دسته از دامها کمخونی واقعی مشاهده نگردید. در مطالعه نظیفی و همکاران (۲) نشان داده شد که پارامترهای هماتولوژی در گاوهای

جدول ۴: ارتباط بین شاخصهای خون و پیش‌التهابی در گاوهای آلوده به تیلریا آنولاتا در شهرستان ارومیه (۶۸ = n).

شاخصها	هموگلوبین	پارازیمی	لکوسیت	TNF	IL۱B	IL۳	لنفوسیت	نوتروفیل	مونوسیت	اُتوزینوفیل
هماتوکریت (%)	۰/۹۹**	-۰/۱۹	۰/۰۵	-۰/۶۱**	-۰/۶۴**	-۰/۷۱**	-۰/۰۶	-۰/۰۱	-۰/۱۳	۰/۰۲۰
هموگلوبین ۱		-۰/۲۰	-۰/۰۵	-۰/۶۱**	-۰/۶۴**	-۰/۷۱**	-۰/۰۷	-۰/۰۴	-۰/۱۳	۰/۰۲۰
پارازیمی (%)			۰/۰۵	۰/۵۹**	۰/۶۷**	۰/۴۵**	۰/۳۵**	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۶۳**
لکوسیتها ۲				-۰/۰۳	-۰/۰۵	-۰/۰۶	۰/۲۸*	۰/۲۱	۰/۰۱	۰/۳۸**
TNF۳					۰/۸۹**	۰/۷۹**	۰/۵۹**	-۰/۰۳	۰/۱۶	۰/۰۱
IL۱B۳						۰/۸۴**	۰/۶۷**	-۰/۱۱	۰/۲۳*	-۰/۱۱
IL۳۳							۰/۲۲*	۰/۰۱	۰/۲۴*	-۰/۲۰
لنفوسیتها ۲								۰/۰۱	-۰/۱۹	۰/۰۵
نوتروفیلها ۲									۰/۰۵	۰/۲۰
مونوسیتها ۲										-۰/۰۹

(P<۰/۰۵)=**

(P<۰/۰۵)=*

ld/nmg = ۳

lg/dl = ۱ lg/μx = ۲

بالاترین ضریب همبستگی بین شاخص‌های پیش‌التهابی (r=۰,۸۹) و پائین‌ترین آنها بین شاخص‌های لکوسیتی (r=۰,۲۲) بودند. نتایج ارتباط بین شاخص‌های پیش‌التهابی نشان می‌دهد که با تحریک انگل تیلریا تمامی این شاخصها بطور همزمان و یکسو افزایش یافته تا زمینه‌ای برای تولید عوامل التهابی شده و با تجمع ماکروفاژها در صدد محدود نمودن عفونت انگلی در گاو شوند. این نتایج تاکنون در بیماری انگلی تیلریوز در گاو گزارش نشده و نیازمند مطالعات تکمیلی و تأیید کننده است در صورتیکه ارتباط بین درصد پارازیمی با پارامترهای خون گاوهای تیلریوزی مانند گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین بصورت معکوس و معنی دار توسط مولفان دیگر گزارش شده است (۲). در این مطالعه رابطه نسبتاً ضعیفی بین پارازیمی با لنفوسیت‌ها (r=۰/۳۵) و رابطه قوی با اُتوزینوفیل‌ها (r=۰/۶۳) مشاهده شد که می‌تواند بیانگر هجوم لنفوسیت‌ها و اُتوزینوفیل‌ها متعاقب تیلریا آنولاتا در گاو باشد.

در پایان میتوان گفت که گاوهای آلوده به تیلریا با پارازیمی مثبت و متفاوتی همراه بوده که میانگین آن تا ۵٪ بوده و اکثراً آلودگی خفیف هستند. میانگین هماتوکریت و هموگلوبین با افزایش آلودگی کاهش یافته در صورتیکه لکوسیتها و مخصوصاً شاخص‌های پیش‌التهابی افزایش می‌یابند. شاخص‌های پیش‌التهابی با هماتوکریت و هموگلوبین مرتبط بوده در صورتیکه با اجزاء لکوسیتی ارتباطی ندارند. لذا نقش شاخص‌های پیش‌التهابی را در آلودگیهای تیلریا مثبت تلقی نمود. نتیجه اینکه اندازه گیری سیتوکین‌های پیش‌التهابی می‌تواند یک روش ارزشمند و کمی در تیلریا آنولاتا بوده و نشانگرهای مناسبی در تیلریا آنولاتا باشند. با توجه به افزایش معنی‌دار سیتوکین‌های پیش‌التهابی نقش آنها را در آلودگی تیلریا مثبت تلقی نمود

منابع مورد استفاده

- ۱- ابوالعباس، ک (۱۳۸۹). ایمنولوژی سلولی و مولکولی. انتشارات ارجمند، چاپ اول، ویراست ششم، صفحات ۳۷۹-۳۸۰
- ۲- نظیفی، سعید؛ رضوی، سیدمصطفی؛ مقدم، معدی؛ فرش نشانی فاطمه (۱۳۸۸). مطالعه ارتباط پارازیمی با پارامترهای هماتولوژیک و برخی پارامترهای بیوشیمیایی

همانند یافته‌های Nazifi و همکاران (۱۴) کاهش یافته و شاخص‌های التهابی، لکوسیت‌ها و پیش‌التهابی مانند IL۱B، TNF، IL۳ افزایش می‌یابند. Glass و همکاران (۱۰) گزارش کرده‌اند که تیلریا آنولاتا در گاوهای حساس سبب افزایش شدید سیتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود. یکی از وجوه این روند بیماری تولید پروتئینهای فازحاد التهابی است که میتواند تولید سیتوکینهای پیش‌التهابی را بصورت سیستماتیک افزایش دهد (۱۳). التهاب یا ضایعات بافتی ایجاد شده در بیماری تیلریوز منجر به رهاشدن سیتوکین‌های پیش‌التهابی نظیر IL-۱، IL-۶ و TNFα میگردد که متعاقباً سبب تغییر غلظت خونی طیف وسیعی از پروتئینها که در کبد تولید می‌شوند میگردد (۸). خونریزی، انتشار لنفوسیتها و نکروز شیردان، کبد، کلیه، روده و مغزاستخوان نشان دهنده واکنش التهابی گسترده‌ای است که در بیماری تیلریوز گاوی مشاهده میشود (۱۳، ۱۷).

کمزخونی ناشی از همولیز خارج عروقی در تیلریوز می‌تواند ناشی از فرایندهای آنزیمی (۱۶)، ایمنولوژیک (۲۲)، مکانیکی (۲۳)، سموم انگل (۳)، هیپرپلازی اریتروئید و افزایش هماتوگلوبین ایجاد شود. وجود آنزیم پروتئاز (۲۰، ۲۲)، رادیکالهای اکسیژن (۱۷)، افزایش پروتئینهای اکسید شده در غشای گلبولهای آلوده، آسیبهای اکسیداتیو و کاهش تقارن غشاء گلبول‌ها از علل تخریب گلبول‌های قرمز در تیلریوز می‌باشند (۱۳، ۲۵).

تعداد لکوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در بین گاوهای سالم و بیمار تغییرات معنی‌داری را نشان نداده و این بدان معنی است که این عوامل تحت تاثیر آلودگی به تیلریوز قرار نداشتند. در صورتی که لنفوسیتها افزایش، اُتوزینوفیل‌ها و مونوسیت‌ها کاهش یافته‌اند. لنفوسیتوز (۲۳، ۶) و لنفوپنی (۱۷) در تیلریوز گزارش شده‌اند که علت آن فاکتور رشد تولید شده توسط لنفوسیت‌های آلوده یا شیزونت‌دار می‌باشد. گزارشات تجربی و نه کاملاً مستند وجود لکوپنی تا ۸۰٪، نوتروپنی ۳۰-۳۸٪ و لنفوسیتوز ۶۰-۶۸٪ را نشان می‌دهند. در مطالعه حاضر تعداد لکوسیت‌ها در بین گروه‌های آلوده به تیلریا جزئی افزایش غیرمعنی داری را تظاهر نمودند. دامهایی که از بیماری بهبود پیدا می‌کنند برای مدتی به لنفوپنی شدید و مداوم که عمدتاً سلولهای T است دچار شده که احتمالاً علت آن مربوط به تخریب آنها و تعلل در تشکیل مجدد آنها باشد (۱۸، ۱۶).

- in Iranian indigenous cattle infected with *Theileria annulata*. *Veterinarski Archiv* 80: 205-214,
- 15- Omer, O. H.; Haroun, E. M.; Mahmoud, O. M.; Abdel-Magied, E. M.; El-Malik, K. H. and Magzoub, M..(2003). Parasitological and Clinico-pathological Profiles in Friesian Cattle Naturally Infected with *Theileria annulata* in Saudi Arabia. *J. Vet. Med. B* 50, 200-203.
- 16- Omer, O. H.; Mahmoud, O. M.; Haroun, E. M.; Hawas, A. and Sweeney, D. (2002). Haematological Profiles in pure bred cattle naturally infected with *Theileria annulata* in saudi Arabia. *J. Vet. Parasitol*, 107: 161-168.
- 17- Radostits, M.; Gay, C. C.; Blood, D. C. and Hinchcliff, W. (2007). *Veterinary Medicin*, 9th Edn., (W. B. SAUNDERS).
- 18- Ramin, A.G.; Asri-Rezaie, S.; Hemati, M.; Eftekhari, Z.; Jeloudary, M.; Ramin S. (2011). Evaluation of the erythrocytes and leucocyte alterations in cows infected with *Theileria annulata*. *Acta Veterinaria*, 61: 567-574,
- 19- Schrader, J.W. (1994). Interleukin-3. In: *The Cytokine Handbook*. Ed: Thomson A., Academic Press, San Diego, CA.
- 20- Shiono, H.; Yagi, Y.; Chikayama, Y.; Miayazaki, S.; Nakamura, I. (2002). Oxidative damage and phosphatidylserine expression of red blood cells in cattle experimentally infected with *Theileria sergenti*. *Parasitol Res*, 89: 228-234.
- 21- Shiono, H.; Yagi, Y.; Chikayama, Y.; Miyazaki, S.; Nakamura, I. (2003). The influence of Oxidative bursts of Phagocytes on red blood cell oxidation in anemic cattle infect with *Theileria sergenti*. *Free Radic Res.*, 37: 1181-1189.
- 22- Shiono, H.; Yagi, Y.; Kumar, A.; Yamanaka, M. (2004). Accelerated binding of autoantibody to red blood cells with increasing anaemia in cattle experimentally infected with *Theileria sergenti*. *J. Vet. Med. B infect Dis. Vet. Public Health*, 51: 39-42.
- 23- Stockham, S.L.; Kjemtrup, A.M.; Corad, P.A.; Schmidt, D.A.; Scott, M.A.; Robinson, T. W. (2000). Theileriosis in a missouri Beef Herd Caused by *Theileria buffeli*: Case Report, herd investigation and experimental Transmission. *J. Vet Pathol*, 37: 11-21.
- 24- Warren, J.S. (1990). Interleukins and tumor necrosis factor in inflammation. *Crit Rev Clin Lab Sci* 28: 37-59.
- 25- Yagi, Y.; Thoongnon, P.; Shiono, H.; Chikayama, Y. (2002). Increase in oxidized proteins in *Theileria sergenti*-infected erythrocyte Membrane. *J. Vet. Med. Sci.*, 64: 623-5.
- سرم خون گاوهای مبتلا به تیلبریوز ناشی از تیلبریا آنولاتا. مجله دامپزشکی ایران، شماره ۲۴، صفحات ۷۹-۷۰.
- ۳- هاشمی فشارکی، رضا (۱۳۶۵). تیلبریوز گاوی در ایران، صفحات: ۹۶-۲۱ (انتشارات مؤسسه رازی، سازمان تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی دامپزشکی اکسیر، تهران).
- 4- Arai, K.I.; Lee, F.; Miyajima, A.; Miyatake, S.; Arai, N. (1991). Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annu Rev Biochem* 59, 783-836.
- 5- Crosier, P.S. and Clark, S.C. (1992). Basic biology of the hematopoietic growth factors. *Semin Oncol* 19, 349- 61.
- 6- Dhar, S.; Malhotra, D.V.; Bhushan, C.; Gautam, O.P. (1987). Chemotherapy of *Theileria annulata* infection with buparvaquone. *Vet. Rec.*, 119: 635-636.
- 7- Dinarello, C.A. (1992). Reduction of inflammation by decreasing production of interleukin-1 or by specific receptor antagonism. *Int J Tiss Reac* 14: 65-75.
- 8- Feldman, B. V., Zinkl, N.C.; Jain G.J. (2000). Schalm, S. *Veterinary Hematology*, 5th ed., pp: 1152-1159, (Williams and Wilkins. Philadelphia). Gabay, C., Kushner, I., 1999, Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 340, 448-454.
- 9- Gabay, C. and Kushner, I. (1999). Acute-Phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation. *N Engl J Med*; 340: 448-454.
- 10- Glass, E.; Craigmile, S.; Springbett, A.; Preston, P.M.; Kirvar, E.; Wilkie, G.; Eckersall, P.D.; Hall, F.R.; Brown, C.G. (2003). The protozoan parasite, *Theileria annulata*, induces a distinct acute phase protein response in cattle that is associated with pathology. *J. Parasitol*, 33: 1409-1418.
- 11- Habibi, G.R.; Esmail Nia, K.; Bozorgi1, S.; Hashemi-Fesharki, R.; Bordbar, N. (2009). Semi-quantitative Analysis of Expression of Various Genes in relation to Possible Markers for *Theileria annulata* Attenuation. *Archives of Razi Institute*, 64: 9-17.
- 12- Hooshmand-rad, P. (1984). Blood protozoan disease of ruminants. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 81: 779-792.
- 13- Jubb, K.V.F., Kenedy, P.C.; Palmer N. (1991). *Pathology of Domestic Animals*. 4th Edn. Vol 3, Academic Press. California, pp. 251-255.
- 14- Nazifi, S.; Razavi, S.M.; Reiszadeh, M.; Esmailnezhad, Z.; Ansari-Lari, M. (2010). Diagnostic values of acute phase proteins

