DOI: 10.22092/VJ.2022.358837.1978
شماره ۱۳۷ زمستان ۱۴۰۱
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

بررسی شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز متعاقب تزریق سم خام و فراکسیون‌های استحصال شده عقرب همی اسکورپیوس لپتوروس و تاثیر آنتی‌ونوم پلی والان عقرب‌زدگی برجلوگیری از این تغییرات

• **علی خاتمی‌نیا(نویسنده مسئول)**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی؛ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
• **هدیه جعفری**
بخش جانوران سمی و پادزهر، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، شعبه اهواز، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ایران
• **میثاق جلالی**
گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
• **معین یزدخواستی**
بخش کلنیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۲۵-۰۴-۱۴۰۱ تاریخ پذیرش:۰۱-۰۹-۱۴۰۱
Email:Alikhataminia@gmail.com

چکیده

عقرب‌زدگی از مهم‌ترین معضلات بهداشتی در مناطق گرمسیر جهان، از جمله ایران به شمار می‌رود. در این مطالعه تغییرات ایجاد شده در شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز متعاقب تزریق سم خام و فراکسیون‌های سم عقرب همی اسکورپیوس لپتوروس و همچنین ارزیابی میزان اثربخشی آنتی‌سرم پلی والان عقرب‌زدگی برجلوگیری از این تغییرات در رت صورت گرفت. تعداد ۹۶ سر رت شامل گروه شاهد و گروه دوم الی هشتم به ترتیب سم خام عقرب و فراکسیون‌های یک الی شش را دریافت نمودند. و سپس در زمان‌های ۱ ، ۳ و ۲۴ ساعت پس از تزریق، خونگیری به عمل آمد. گلبول‌های قرمز در محیط‌هایی با غلظت‌های مختلف کلریدسدیم قرار داده شد و میزان همولیز با استفاده از رنگ‌سنجی تعیین گردید. گروه سم خام و گروه فراکسیون دو، میزان مقاومت گلبول‌های قرمز را نسبت به غلظت‌های هیپوتونیک کاهش داده بود، این دو گروه جهت ارزیابی اثر آنتی‌ونوم تولیدی موسسه سرم سازی رازی مورد چالش قرار گرفتند. نتایج نشان داد، در گروه‌هایی که سم‌خام و فراکسیون دو را دریافت نمودند، میزان مقاومت گلبول‌های قرمز نسبت به غلظت‌های هیپوتونیک کاهش و منحنی گلبول‌های قرمز دستخوش تغییر شده است. میزان شکنندگی گلبول‌های قرمز در این گروه‌ها و در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش نشان داده است ($P<0/05$). فراکسیون یک وسه کمترین تغیرات شکنندگی گلبول‌های قرمز بوجود آوردند. میزان شکنندگی گلبول‌های قرمز در گروه‌هایی که آنتی‌سرم عقرب زدگی را دریافت کردند در مقایسه با گروه شاهد تغییرات معنی‌داری را نشان نداده بود تجویز آنتی سرم عقرب‌زدگی توانسته است از تغییرات منحنی اسموتیک فراجیلیتی گلبولهای قرمز به طور معنی‌داری جلوگیری به عمل آورد. ($P>0/05$).

کلمات کلیدی: همی‌اسکورپیوس لپتوروس، فراکسیون‌های سم،آنتی‌ونوم عقرب‌زدگی، شکنندگی گلبول‌های قرمز، موش صحرایی

● Veterinary Researches & Biological Products No 137 pp: 140-149

Evaluation of osmotic fragility of erythrocytes following injection of crude venom and extracted fractions of *Hemiscorpius lepturus* scorpion and the effect of polyvalent scorpion antivenom to prevent these changes

By: Khataminia, A., (Corresponding Author) Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Iran. Jafari, H., Department of Venomous Animals and Toxins, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ahvaz, Iran. Jalali,M.,Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. Yazdkhasti,M., Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received:2022-07-16 Accepted: 2022-11-22

Email: Alikhataminia@gmail.com

Scorpion sting is one of the most important health problems in the world, including Iran. In this study, changes in osmotic fragility of erythrocytes following injection of crude venom and fractions of *Hemiscorpius lepturus* and evaluation of the efficacy of polyvalent antivenom to prevent these changes in rats. A total 96 rats, including the control and the second to eighth groups, received crude scorpion venom and fractions one to six, respectively. Then, blood samples were taken at 1, 3 and 24 hours after injection. Red blood cells were placed in media with different concentrations of sodium chloride and the amount of hemolysis was determined. The crude venom and the fraction two had reduced the resistance of erythrocytes to hypotonic concentrations. These two groups were challenged to evaluate the effect of antimony produced by Razi antivenom Institute. The results showed that in the groups received the crud venom and fraction 2, the resistance of red blood cells to hypotonic concentrations decreased and the curve of red blood cells changed. The fragility of red blood cells in these groups and compared with the control group showed a significant increase ($p < 0.05$). The one-third fraction produced the least changes in the fragility of red blood cells. The level of erythrocyte fragility in the groups that received the scorpion sting antivenom did not show significant changes compared to the control group. ($P > 0.05$). Administration of scorpion sting antivenom has been able to significantly prevent changes in the extracellular osmotic curve of red blood cells.

Key words: *Hemiscorpius lepturus,* venom fractions, scorpion sting, anti venom, Osmotic fragility of red blood cells, rat

مقدمه

عقرب‌ها جزو اولین گروه جانورانی هستند که پا به عرصه‌ی حیات نهادند. پراکندگی جغرافیایی این جانوران وسیع بوده و در بسیاری از نقاط دنیا زندگی می‌کنند. داشتن ویژگی‌های منحصر به فرد از جمله شکل ظاهری و وجود غده‌ی سمی، سبب شده تا این بندپا از دیرباز همواره مورد وحشت انسان به‌ویژه مردمان مشرق زمین بوده باشد (۶، ۱۳). در سم عقرب‌ها فاکتورهای سمی متعددی از قبیل نوروتوکسین، هموتوکسین، کاردیوتوکسین و آنزیم‌های مختلفی همچون لستیناز، هیالورونیداز، فسفولیپاز، پروتئیناز یافت می‌شود (۹).

همی‌اسکورپیوس لپتوروس عقربی از خانواده‌ی همی‌اسکورپیده که به زبان محلی به‌نام گادیم معروف است، خطرناک‌ترین عقرب خوزستان و یکی از خطرناک‌ترین عقرب‌های ایران و جهان می‌باشد (۱۲). حدود ۱۰ الی ۱۵ درصد عقرب‌زدگی‌ها، در سال مربوط به این عقرب است، که بر اساس شواهد، سال به سال به درصد عقرب‌زدگی‌های مربوط به این عقرب افزوده شده به طوری که ۹۵ درصد از مرگ و میر ناشی از عقرب‌زدگی در استان خوزستان، مربوط به عقرب مذکور می‌باشد (۸، ۱۵). علائم ناشی از عقرب‌زدگی ممکن است از یک خارش و درد موضعی تا علائم سیستمیک مانند اختلالات قلبی- تنفسی به عنوان علل اصلی مرگ در اثر عقرب‌زدگی متغییر باشد. سم عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس در انسان در مراحل حاد منجر به ایجاد همولیز شدید، نارسایی حاد و ثانوی کلیه‌ها، آشفتگی فیزیولوژیک سیستم عصبی مرکزی و پمپاژ قلب، اختلالات عروقی و سیتوتوکسیته‌ی شدید می‌شود. مرگ بیمار ممکن است به دلیل نارسایی حاد کلیوی و یا ایست قلبی، تنفسی که همراه با نشانه‌های شدید سیستم عصبی مرکزی هستند، باشد (۶، ۸). زهر این عقرب، عملکرد اعضای حیاتی بدن را مختل می‌کند و ممکن است باعث مرگ و میر شود (۷).

آگاهی از تغییراتی که به دنبال عقرب‌زدگی در بدن ایجاد می‌شود می‌تواند به عنوان اولین قدم در جهت حمایت از وضعیت بیمار به‌شمار آید. به علاوه بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد، مکانیسم عمل سم انواع عقرب‌ها متفاوت بوده و بر این اساس، سم هر نوع عقرب می‌تواند اندام خاصی را در بدن متأثر ساخته و بروز نشانه‌های بالینی متفاوتی را به‌دنبال داشته باشد. ضرورت آگاهی از مکانیسم اثر سم و اندامی که

بیشترین آسیب به آن وارد می‌شود در جهت یافتن راهکارهای درمانی مناسب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از جمله اقدامات درمانی عقرب‌زدگی می‌توان از داروها و ترکیبات مختلفی از جمله آنتی‌ونوم و سایر درمان‌های حمایتی بهره برد. برای درمان‌های حمایتی می‌توان به کورتیکواستروئیدها، آنتی‌هیستامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها اشاره نمود. هدف اصلی از این درمان، دست یافتن به گروهی از آنتی‌بادی‌های قادر به خنثی سازی توکسین های پروتئینی عقرب است که به گونه‌های خطرناك عقرب در آن منطقه بستگی دارد (۱۷).

فاکتورهای بسیار مهم در رسیدن به بیشترین بازدهی در سرم درمانی وجود دارد. این فاکتورها شامل قدرت درمانی آنتی‌ونوم، زمان سپری شده میان عقرب‌زدگی و تزریق آنتی‌ونوم و دوز و روش تزریق آن می‌باشند (۲۲، ۲۳). هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی اثرات سم عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس و فراکسیون‌های آن در ایجاد همولیز از طریق بررسی میزان شکنندگی گلبول‌های قرمز و همچنین مطالعه‌ی نقش آنتی‌ونوم پلی‌والان از نظر زمان و دفعات تزریق پادزهر بر جلوگیری از این تغییرات می‌باشد.

همولیز عبارت است از خروج هموگلوبین از گلبول های قرمز تحت تاثیر هر عاملی ,بنابراین همولیز با پاره شدن غشا گلبولی و خارج شدن هموگلوبین همراه است، هموگلوبین در آب محلول است شفاف می‌شود و جسم گلبولی که بی‌رنگ است در ته ظرف رسوب می‌کند. (۲). کیفیت همولیز منحصرا بستگی به فشار اسمزی ندارد بلکه در محیط های ایزوتونیک نیز گلبول های قرمز تحت تاثیر برخی از مواد شیمیایی مانند اسیدها، سموم همولیز می‌شوند که به چنین موادی همولیز کننده می‌گویند. (۱۶). در تحقیق حاضر بررسی شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز متعاقب تزریق سم خام عقرب همی اسکورپیوس لپتوروس و فراکسیون‌های استحصال شده از آن بررسی می‌شود و سپس تاثیر آنتی‌ونوم پلی والان عقرب‌زدگی بر این تغییرات مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

مواد و روش کار

الف) تهیه سم عقرب

برای انجام این مطالعه سم خام عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس (استحصال شده بوسیله شوک الکتریکی) به صورت لیوفیلیزه از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه جنوب غرب کشور-اهواز تهیه شد.

جدول ۱- درصد پروتئین های موجود در فراکسیون‌ها.

Fraction	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Protein (%)	%۱۲	%٤۳	%۸	%۱۸	%٦	%۱۳

ب) جداسازی فراکسیون‌های سم عقرب

شش فراکسیون مختلف از سم عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس با روش کروماتوگرافی جدا گردید. برای این منظور سم لیوفیلیزه عقرب مذکور با استفاده ازورتکس ، در بافر آمونیوم استات حل شده و سانتریفیوژ گردید. بعد محلول رویی به ستون ژل سفادکس G۵۰ تزریق شده و کروماتوگرافی انجام گرفت. جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر(UV/VIS) قرائت شده و پس از آن فراکسیون‌های مختلف به صورت جداگانه جمع آوری گردید.

سمیت هر فراکسیون از طریق اندازه گیری LD۵۰ سم وبا تزریق داخل رگی به موش سوری تعیین گردید. درجه خلوص فراکسیون های سمی نهایی با کروماتوگرافی ستونی و SDS-PAGE بررسی و تائید گردید. فراکسیون‌ها در ابتدا با ازت مایع منجمد سپس در دستگاه فریزدرایر لیوفیلیزه و تغلیظ شدند. غلظت پروتئین‌های سم به روش برادفورد Bradford et al (۱۹۷۶) با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد. پروتئین موجود درسم درطول موج ۲۸۰ نانومتر قرائت گردید (جدول یک).

ج)گروه‌های درمانی

جهت انجام مطالعه تجربی، در مرحله اول تعداد ۹۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار موش های رت نژاد ویستار از جنس نر و با وزن تقریبی۲۰±۲۰۰گرم، به‌طور تصادفی به ۸ گروه و به شرح زیر تقسیم شدند.

گروه یک (کنترل): به هر موش ۵ /۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه دو (سم خام): به هر موش مقدار mg/kg ۱ سم خام عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه‌های ۳، ۴،۵، ۶ ،۷ و ۸ (فراکسیون سم): در هر گروه یک فراکسیون جدا شده از سم عقرب به شرح جدول یک به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. دوز انتخابی برای هر یک از گروه‌های دریافت کننده فراکسیون‌ها متناسب با غلظت فراکسیون‌های جدا شده نسبت به سم خام بود.

در مرحله بعدی این مطالعه، و بر اساس نتایج بدست آمده از تاثیر سم و فراکسیون‌ها، بر میزان شکنندگی گلبول‌های قرمز، هر کدام از گروه‌ها که دارای تاثیرات معنی‌داری نسبت به گروه شاهد باشد با چالش ارزیابی

جدول ۲- میزان دوز انتخابی فراکسیون‌ها متناسب با غلظت فراکسیون‌های جدا شده از سم عقرب همی‌اسکوپیوس لپتوروس.

	فراکسیون‌های سم					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
میزان فراکسیون جدا شده (٪)	٪۱۲	٪٤۳	٪۸	٪۱۸	٪٦	٪۱۳
دوز مورد استفاده (µg/kg)	۱۲۰	٤۳۰	۸۰	۱۸۰	٦۰	۱۳۰

با آنتی‌ونوم قرار خواهد گرفت. لذا با توجه به اینکه گروه دو (سم خام) و گروه ۴ (فراکسیون دو)، میزان مقاومت گلبول‌های قرمز را نسبت به غلظتهای هیپوتونیک کاهش داده بود، این دو گروه جهت ارزیابی اثر آنتی‌ونوم تولیدی موسسه سرم سازی رازی مورد چالش قرار گرفتند.برای این منظور تعداد ۷۲ سرموش صحرایی نر به طور تصادفی به ۶ گروه مساوی تقسیم شدند و به شرح زیر تحت درمان قرار گرفتند.

گروه نهم: این گروه همزمان با دریافت سم خام (با همان دوز و روش تزریق)، آنتی‌ونوم پلی والان به میزان ml/kg ۵/۲ از طریق داخل عضلانی دریافت کردند.

گروه دهم: این گروه ۴۰ دقیقه بعد از دریافت سم خام (با همان دوز و روش تزریق)، آنتی‌ونوم پلی والان به میزان ml/kg ۵/۲ از طریق داخل عضلانی دریافت کردند.

گروه یازدهم: این گروه پس از تزریق سم، یک بار ۴۰ دقیقه بعد و بار دوم ۱۲۰ دقیقه پس از دریافت سم خام (با همان دوز و روش تزریق)، آنتی‌ونوم پلی والان به میزان ml/kg ۵/۲ از طریق داخل عضلانی دریافت کردند.

گروه دوازدهم: این گروه همزمان با دریافت فراکسیون ۲، (با همان دوز و روش تزریق)، آنتی‌ونوم پلی والان به میزان ml/kg ۵/۲ از طریق داخل عضلانی دریافت کردند.

گروه سیزدهم: این گروه ۴۰ دقیقه بعد از تزریق فراکسیون ۲، (با همان دوز و روش تزریق)، آنتی‌ونوم پلی والان به میزان ml/kg ۵/۲ از طریق داخل عضلانی دریافت کردند.

گروه چهاردهم: این گروه، یک بار ۴۰ دقیقه بعد و بار دوم ۱۲۰ دقیقه پس از دریافت فراکسیون ۲ (با همان دوز و روش تزریق)، آنتی‌ونوم پلی والان به میزان ml/kg ۵/۲ از طریق داخل عضلانی دریافت کردند.

د) جمع‌آوری خون

از هر گروه در سه مرحله و هر بار از چهار سر موش رت به ترتیب در زمان‌های ۱، ۳ و ۲۴ ساعت پس از تزریق، خونگیری به عمل آمد. نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد سیترات سدیم جهت بررسی تغییرات هماتولوژیک و همچنین تاثیر سم و فراکسیون سمی بر شکنندگی گلبول‌های قرمز، جمع‌آوری شد. پس از بی‌هوش کردن موش‌های صحرایی با استفاده از پنتوباربیتال سدیم mg/kg ۶۰ به صورت داخل صفاقی، خونگیری از قلب آنها انجام شد. پس از خونگیری، موش‌ها آسان کشی شدند.

و) بررسی مورفولوژی گلبول های قرمز

آزمایش کامل خون شامل Hct، شمارش RBC، غلظت Hb، MCV، MCH، MCHC، RDW، شمارش WBC و شمارش پلاکت‌ها با استفاده از دستگاه سل کانتر دامی VET انجام گرفت. همچنین گستره-ی خونی به منظور بررسی مرفولوژی سلولی و شمارش تفریقی لکوسیتها با استفاده از رنگ آمیزی گیمسا تهیه گردید.

ه) آزمایش شکنندگی گلبول‌های قرمز

محلول استوک بافر نمکی که حاوی ۱۰۰گرم NaCl، ۱/۸۷ گرم NaH_2PO_4 و ۱۳/۶۵ گرم Na_2HPO_4 در یک لیتر آبمقطر بود تهیه شد. سپس برای تهیه بافر یک درصد ، ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول استوک آماده، اضافه شد. بعد از خونگیری همراه با ماده ضد انعقاد برای هر نمونه خون ۱۶ عدد لوله آزمایش تهیه شد. در هر لوله آزمایش به نسبت‌های مشخص شده در جدول شماره ۴-۲ آب‌مقطر و بافر نمکی آماده حاوی یک درصد NaCl، ریخته شد. به این ترتیب لوله‌های آماده شده حاوی غلظت‌های مختلف از صفر تا ۰/۸۵ درصد نمک بودند. سپس به میزان ۲۰ لاندا خون شسته شده با بافر نمکی یک درصد به هر لوله اضافه شد. لوله‌ها پس از مخلوط کردن و آماده‌سازی آنها، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرارداده شدند. پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و نتایج با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید. به این ترتیب که ابتدا دستگاه با آبمقطر به عنوان بلانک تنظیم شد و بعد از آن میزان جذب نوری محلول رویی هر یک از لوله‌ها در مقابل لوله آب‌مقطر به عنوان ۱۰۰ درصد همولیز مورد مقایسه قرار گرفت (۱۰).

نتایج

نتایج آزمایش‌های کامل خونی (CBC)

تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)

بررسی آماری که روی شمار گلبول‌های قرمز انجام گرفت، نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز در زمان نمونه‌گیری ساعت ۱، در تمامی گروه‌ها،

جدول ۳- غلظت‌های محلول نمکی مربوط به آزمایش شکنندگی گلبول‌های قرمز.

شماره لوله / ترکیبات	۱	۲	۳	٤	٥	٦	٧	٨	٩	١٠	١١	١٢	١٣	١٤	١٥	١٦
بافر نمکی ۱ درصد (ml)	٤/٢٥	٤	٣/٧٥	٣/٥	٣/٢٥	٣	٢/٧٥	٢/٥	٢/٢٥	٢	١/٧٥	١/٥	١/٢٥	١	٠/٥	٠
آبمقطر (ml)	٠/٧٥	١	١/٢٥	١/٥	١/٧٥	٢	٢/٢٥	٢/٥	٢/٧٥	٣	٣/٢٥	٣/٥	٣/٧٥	٤	٤/٥	٥
غلظت نمک ٪	٠/٨٥	٠/٨٠	٠/٧٥	٠/٧٠	٠/٦٥	٠/٦٠	٠/٥٥	٠/٥٠	٠/٤٥	٠/٤٠	٠/٣٥	٠/٣٠	٠/٢٥	٠/٢٠	٠/١٠	٠

نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافته بود (p<۰/۰۵). در زمان ساعت ۳ افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد در تعداد گلبول‌های قرمز در گروه‌های F3، F4، F5 و F6 وجود داشت، این درحالی است که تعداد گلبول قرمز در زمان ساعت ۲۴ فقط در گروه F4 نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری مشاهده گردید (p<۰/۰۵) (جدول چهار).

غلظت هموگلوبین (HGB)

بررسی آماری مشخص نمود که در زمان نمونه‌گیری ساعت ۱، در تمامی گروه‌ها، نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری غلظت هموگلوبین افزایش یافته بود (p<۰/۰۵). در زمان نمونه گیری مرحله دوم یعنی زمان ساعت ۳ نیزافزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد در گروه‌های F3، F4، F5 و F6 وجود داشت، این درحالی است که تعداد گلبول قرمز در زمان ساعت ۲۴ فقط در گروه F4 نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری مشاهده گردید (p<۰/۰۵) (جدول چهار).

میزان هماتوکریت (HCT)

اندازه‌گیری میزان هماتوکریت نشان داد که در زمان نمونه‌گیری ساعت ۱، در تمامی گروه‌های درمانی، نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافته بود (p<۰/۰۵). در زمان ساعت ۳ نیز افزایش معنی‌داری

جدول ۴- تغییرات میانگین±خطای انحراف معیار گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و شاخص‌های گلبول قرمز در گروه‌ها و زمان‌های مختلف.

گروه	زمان	RBC (m/µl)	Hb (g/dl)	HCT (%)	MCV (fl)	MCH(pg)	MCHC (g/dl)
شاهد	۱ ساعت	٦/٨٦±۰/١٦	١٠/٩٣±۰/٣١	٣٥/٨٦±۰/٨٦	٥٣/٧٣±۰/۰٣	١٦/٦±۰/١١	٣١/۰٣±۰/٢
	٣ ساعت	٦/٦٦±۰/٢١	١٠/٨±۰/٤	٣٥/٣٣±۰/٣٨	٥٣/١±۰/٣	١٦/٣٦±۰/١٣	٣١/۰٨±۰/٣٨
	٢٤ ساعت	٦/٤٤±۰/٢٦	١٠/٧٦±۰/٢١	٣٥/٦٣±۰/٨٤	٥٥/٤٦±۰/٦٦	١٦/٦٦±۰/٣٥	٣۰/٢±۰/٢
سم خام	۱ ساعت	٨/١٩±۰/۰٤ *	١٣/٥٣±۰/٣٣ *	٤٣/١±۰/٩٥ *	٥٥/١٣±۰/٣٥	١٦/٩٦±۰/٦٢	٣۰/٨٦±۰/١٤
	٣ ساعت	٦/٤٩±۰/۰٩	١٠/٦±۰/٤٩	٣٧/٨٦±/٨٧*	٥٥/٤٦±۰/٩٤ *	١٦/٩٣±۰/٣٧	٢٩/٣٦±١/٥٨
	٢٤ ساعت	٦/٥٧±۰٢	١٠/۰٣±۰/١٤	٣٤/٣٣±۰/٤٨	٥٥/۰٣±۰/٢٣	١٥/٥٤±۰/٢٣	٣١/۰١±۰/١٦
F1	۱ ساعت	٧/٥٣±۰/١٤ *	١٤/٩٣±۰/٢٣ *	٤٤/٦٦±۰/٦٩ *	٥٤/١±۰/٤٣	١٦/٧١±۰/۰٩	٣۰/٦١±۰/١
	٣ ساعت	٦/٢٢±۰/٢٤	١٠/٣٣±۰/٣٧	٣٤/٦٦±۰/٩٧	٥٥/٨٣±۰/٧ *	١٦/٥٣±۰/٢٣	٣۰/٧٦±۰/٢٨
	٢٤ ساعت	٦/٦٨±۰/۰٣	١١/١٦±۰/٤٨	٣٤/٨٦±۰/٣٤	٥٤/٦٣±۰/١٧	١٧/١±۰/٤٩	٣١/٩٦±۰/١٤
F2	۱ ساعت	٨/٤٨±۰/۰٧ *	١٣/٤٣±۰/٢٤ *	٤٣/٦±۰/٦٥ *	٥٦/٨٦±۰/٩٥ *	١٦/۰٣±۰/٣٨	٣١/۰٣±۰/٢١
	٣ ساعت	٦/٨٦±۰/١٦	١١/٤±۰/٣٢	٣٦/٨±۰/٣٦	٥٣/٩±۰/٧٢	١٦/٥٣±۰/١٤	٣١/٤٨±۰/٥
	٢٤ ساعت	٦/١٤±۰/٢٣	١٠/۰٣±۰/٤٩	٣٥±۰/٧٥	٥٥/٢±۰/٢٣	١٦/٨٣±۰/٦٥	٣١/٥٦±١/٤٥
F3	۱ ساعت	٨/٤±۰/٢٤ *	١٤/٣٦±۰/٤٣ *	٤٣/٥٣±۰/٥٤ *	٥٥/۰٦±۰/١٨	١٧/٤±۰/٣٩	٣٢/٧±۰/٥٨ *
	٣ ساعت	٧/٥٣±۰/٢٦ *	١٢/٧±۰/٥ *	٤٣/٨±۰/٤٦ *	٥٥/٦٦±۰/٢٩ *	١٧/۰٢±۰/٢٤	٣۰/٩٧±۰/٨٨
	٢٤ ساعت	٦/٩٢±۰/٤١	١١/٤٦±۰/٦٨	٣٤/٨٦±۰/٤٤	٥٤/٦٣±۰/٦١	١٦/٢١±۰/٣١	٣١/٨٤±١/٥٨
F4	۱ ساعت	٨/٢٩±۰/١٥ *	١٤/١٣±۰/٢٦ *	٤٢/٥٣±۰/٩٩ *	٥٥/٥٣±۰/٥٥ *	١٧/٥٧±۰/٥٦	٣٣/٢١±۰/٣١ *
	٣ ساعت	٨/١٣±۰/١٨ *	١٤/۰٣±۰/١٨ *	٤٣/٦±۰/٩٢ *	٥٥/٨٣±۰/٥٢ *	١٧/٢٨±۰/٦١	٣١/٢±۰/٧٢
	٢٤ ساعت	٨/۰٥±۰/١٥ *	١٣/٧٦±۰/٢٨ *	٤٢/١±۰/٨٧ *	٥٧/١±۰/٨٦ *	١٧±۰/٣٤	٣١/٧±۰/٤٨
F5	۱ ساعت	٧/٨٦±۰/٢١ *	١٣/٣±۰/٤ *	٤۰/٨٦±۰/١٢ *	٥٢/٨٣±۰/٢٤	١٦/٨٨±۰/٥٩	٣٣/٥٣±۰/٨٩ *
	٣ ساعت	٨/۰٢±۰/٣٥ *	١٣/٤٦±۰/٨٦ *	٤۰/٧±۰/٢٥ *	٥٥/١±۰/٦ *	١٦/٧٣±۰/٣٥	٣٢/٤٨±۰/٧٧
	٢٤ ساعت	٦/٣١±۰/١٩	١۰/٤٦±۰/٢٤	٣٤/٥٦±۰/٥٢	٥٥/٧٦±۰/١٨	١٧±۰/٢٣	٣٢/٣±۰/٥١
F6	۱ ساعت	٧/٤٣±۰/١١ *	١٣/١±۰/٢٦ *	٤۰/١٦±۰/٤٣ *	٥٦/٥٦±۰/٦٩ *	١٧/٥٧±۰/١٥	٣٣/٥٣±۰/٤٩ *
	٣ ساعت	٧/٣٩±۰/١٨ *	١٣/٢±۰/٤٣ *	٤۰/٤٣±۰/٢ *	٥٤/٨٣±۰/٤٤	١٨/٨±۰/٥٥ *	٣٢/٦±۰/١٥
	٢٤ ساعت	٦/٢١±۰/٥٧	١١/۰٣±۰/٨٦	٣٦/٩٦±۰/٤٢	٥٤/٣٦±۰/٣٨	١٦/٦٣±۰/٤٩	٣١/٥٦±۰/٢٩

(*) در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد است (P<۰/۰۵).

(p<۰/۰۵) در میزان هماتوکریت نسبت به گروه شاهد در گروه‌های F۳، F۴، F۵ و F۶ وجود داشت، این درحالی است که در زمان ساعت ۲۴ فقط در گروه F۴ نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری مشاهده گردید (p<۰/۰۵) (جدول چهار).

شاخص‌های گلبول قرمز

بررسی آماری نشان داد که میزان MCV در زمان ساعت ۱، افزایش معنی‌داری در گروه‌های، F۲، F۴ و F۶ در مقایسه با گروه شاهد وجود داشت (p<۰/۰۵). در نمونه‌های ساعت ۳ نیز در گروه‌های سم خام، F۳،F۱ ، F۴ و F۵ افزایش معنی‌داری (P>۰/۰۵) در مقدار MCV مشاهده گردید. اما در زمان ساعت ۲۴ فقط در گروه F۴ نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری مشاهده گردید (p<۰/۰۵). میزان MCH فقط در زمان ساعت ۳ و درگروه F۶ یک افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵). در مقایسه با گروه شاهد وجود داشت. میزان MCHC نیز فقط در زمان ساعت ۱ افزایش معنی‌داری درگروه‌های F۵، F۴،F۳ و F۶ در مقایسه با گروه شاهد وجود داشت (p<۰/۰۵). در حالی‌که در دیگر زمان‌ها و گروه‌ها، نسبت به گروه شاهد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵) (جدول چهار).

نتایج آزمایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز

نتایج آنالیزشده مربوط به میزان تاثیر سم و فراکسیون‌های آن بر شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز در گروه‌های تحت مطالعه در مقایسه با گروه‌های شاهد نشان می‌دهد که درصد همولیز در گروه‌های

جدول ۵- تغییرات شکنندگی گلبول‌های در گروه‌ها و زمان‌های مختلف بر حسب درصد.

غلظت نرمال سالین / شماره لوله	0.4	0.45	0.5	0.55	0.6	0.65	0.7	0.75	0.8
C-1 h	100	98.25	82.23	7.27	5.9	0	0	0	0
C-3 h	100	99.52	84.89	7.85	8.2	0	0	0	0
C-24 h	100	100	86.27	7.95	9.9	0	0	0	0
V-1 h	100	100	100	89.24	75.63	57.45	52.48	28.17	0
V-3 h	100	100	100	92.58	76.27	59.22	54.54	29.33	0
V-24 h	100	100	100	100	88.26	61.28	56.32	31.22	0
F1-1 h	100	100	66.5	26.25	12.45	1.21	0	0	0
F1-3 h	100	100	69.25	27.66	13.58	1.98	0	0	0
F1-24h	100	100	76.5	28.46	14.3	4.95	0	0	0
F2-1 h	100	100	100	84.74	80.37	60.75	26.61	15.86	0
F2-3 h	100	100	100	86.57	82.25	62.93	27.1	17.52	0
F2-24h	100	100	100	100	83.96	64.24	28.61	18.02	0
F3-1 h	100	100	70.54	41.48	12.47	0	0	0	0
F3-3 h	100	100	78.29	48.32	14.25	0	0	0	0
F3-24h	100	100	80.54	51.48	16.47	0	0	0	0
F4-1 h	100	100	100	56.91	52.02	3.25	0	0	0
F4-3 h	100	100	100	61.25	56.52	4.45	0	0	0
F4-24h	100	100	100	66.91	38.02	4.11	0	0	0
F5-1 h	100	100	80.38	51.84	47.38	2.12	0	0	0
F5-3 h	100	100	82.11	59.22	45.25	2.98	0	0	0
F5-24h	100	100	83.38	61.84	47.38	3.91	0	0	0
F6-1 h	100	100	90.27	70.73	33.8	1.7	0	0	0
F6-3 h	100	100	95.25	74.25	41.25	2.4	0	0	0
F6-24h	100	100	100	76.73	43.8	3.8	0	0	0

دریافت کننده سم و فراکسیون سمی تا غلظت ۰/۷ و ۰/۷۵ درصد (برای سم و فراکسیون F۲) اتفاق افتاده است در حالیکه در همین غلظت گروه‌های دریافت‌کننده سم در زمان‌های ۱ و ۱۲ ساعت پس از تزریق فراکسیون‌های سم میزان همولیز کاهش یافته و در غلظت ۰/۶ درصد همولیز کم و در غلظت ۰/۵۵ درصد همولیز کمی بیشتر مشاهده گردیده است(جدول پنج).

این نتایج نشان می‌دهد که گلبول‌های قرمز متعاقب تزریق سم و فراکسیون دو مقاومت نسبی خود را در برابر تغییرات هیپوتونیک از دست داده و بعلت آسیب‌های وارده بر اثر سم و فراکسیون دو سریعتر دستخوش همولیز گردند، در شرایطی که گلبول‌های قرمز نرمال در گروه شاهد توانسته بودند این رقت را تحمل کرده و دچار لیز و آسیب نشوند.

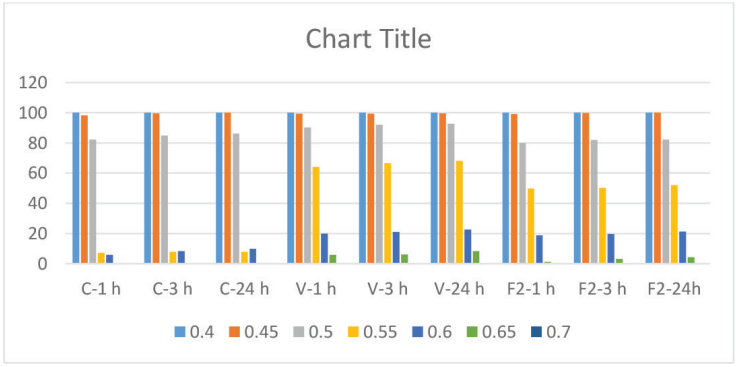
در گروه‌های دریافت کننده آنتی‌ونوم عقرب‌زدگی همزمان با تزریق فراکسیون‌های سمی نشان می‌دهد که اگر چه میزان همولیز گلبول‌های قرمز در رقت ۰/۴۵ درصد در مقایسه با گروه شاهد کمی بالاتر است اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبوده است($P>0/05$) (نمودار یک).

همچنین بر اساس این یافته‌ها همولیز ایجاد شده در مقایسه با گروه دریافت کننده سم و فراکسیون سمی نشان می‌دهد که تجویز آنتی‌ونوم عقرب‌زدگی در زمان‌های مختلف یعنی زمان‌های ۴۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق توانسته است به طور معنی‌داری از افزایش همولیز اریتروسیت‌ها در مقایسه با گروه دریافت کننده سم و فراکسیون سمی بدون استفاده از آنتی‌ونوم جلوگیری نماید(نمودار دو).

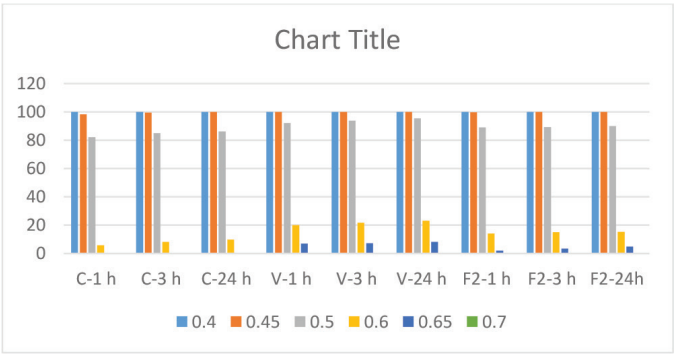
همچنین بر اساس این یافته‌ها همولیز ایجاد شده در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سم و فراکسیون سمی نشان می‌دهد که تجویز دو مرحله آنتی‌ونوم عقرب‌زدگی نیز توانسته است به طور معنی‌داری از افزایش همولیز اریتروسیت‌ها در مقایسه با گروه دریافت کننده سم و فراکسیون سمی بدون استفاده از آنتی‌ونوم جلوگیری نماید(نمودار سه).

بحث و نتیجه‌گیری

سم گونه‌های مختلف عقرب در انسان و حیوانات آزمایشگاهی موجب بروز طیف وسیعی از عوارض همچون اختلالات عصبی، قلبی‌عروقی، کبدی، کلیوی، ریوی، پوستی، هماتولوژیک و ... می‌شود(۵، ۷ ، ۲۰). یکی از سیستم‌های حیاتی بدن که ممکن است به طور مستقیم و یا غیرمستقیم تحت تاثیر عوارض ناشی از سم عقرب قرار گیرد، سیستم قلبی - عروقی است. تظاهرات بالینی افراد دچار عقرب‌زدگی با عقرب



نمودار ۱- میزان شکنندگی گلبول‌های قرمزدر گروه دریافت کننده آنتی‌ونوم همزمان با تزریق سم و فراکسیون دو.



نمودار ۲- میزان شکنندگی گلبول‌های قرمز در گروه دریافت‌کننده آنتی‌ونوم در زمان‌های ۴۰ دقیقه پس از تزریق سم و فراکسیون دو.

همی‌اسکورپیوس لپتوروس بیش از حد انتظار وسیع و متفاوت است. این علایم هم به صورت موضعی و هم به صورت سیستمیک بروز می‌نماید. نکروز وسیع در محل عقرب‌زدگی، رفتارهای غیرطبیعی عصبی، تب، عرق، احساس سرما و لرز، تاکی کاردی، سستی و بیحالی، بی‌اشتهایی، پتشی و راش‌های پوستی، کاهش فشارخون و رنگ پریدگی از علایم بارز مصدومین عقرب‌زده می‌باشد (۳، ۱۵، ۲۳). سم عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس دارای اثرات همولیتیک، نوروتوکسیک و سیتوتوکسیک بوده که بر بافت‌ها و ارگان‌های داخلی بدن و حتی پوست به شکل موضعی و سیستمیک اثر می‌گذارد(۷، ۱۷) همولیز شدید، نارسایی کلیوی، اختلالات سیستم عصبی مرکزی و اختلالات قلبی- عروقی شدید از علائم عقرب‌زدگی همی‌اسکورپیوس لپتوروس می‌باشد. مرگ بیمار ممکن است در اثر نارسایی حاد کلیوی و یا ایست قلبی - تنفسی که همراه با نشانه‌های شدید سیستم عصبی مرکزی باشد، حادث گردد (۱۹، ۲۱).

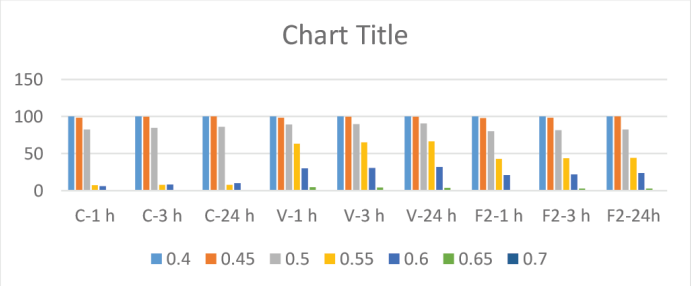
در مطالعه‌ی حاضر، موش‌هایی که سم و فراکسیون‌ها را ،از طریق داخل صفاقی (IP) دریافت کرده بودند، علائمی همچون بیحالی، ضعف، افزایش ترشح بزاق، افزایش ضربان قلب و افزایش تنفس مشاهده شد. این علائم بلافاصله و در مدت چند دقیقه بعد از تزریق سم و فراکسیون‌ها مشاهده گردید. گلبول‌های قرمز به عنوان گروهی از سلول‌ها هستند که به دلیل حساسیت خاص غشاء این سلول‌ها به تغییرات اکسیداتیو، اسمزی به طور مستقیم و یا غیرمستقیم تحت تأثیر سم عقرب قرار می‌گیرند و به سرعت دچارآسیب شده و همولیز اتفاق می‌افتد. طبیعتاً چنانچه همولیز در مقیاس وسیعی اتفاق بیفتد می‌تواند عملکرد سیستم خون‌رسانی و اکسیژن‌رسانی را تحت تأثیر قرار داده و موجب بروز طیف وسیعی از واکنش‌های بالینی وآزمایشگاهی شود. بدین منظور این مطالعه تجربی برای بررسی اثرات سم خام و فراکسیون‌های جدا شده از سم عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس، به‌عنوان یکی از عقرب‌های سمی و کشنده در جنوب‌غربی ایران، بر سیستم هموستاتیک در موش صحرایی انجام شد.

ارزیابی همولیز از چنان ، اهمیتی برخوردار است که جستجوی هموگلوبین آزاد در ادرار به عنوان یک تست تشخیصی اولیه‌ی عقرب‌زدگی به ویژه عقرب همی اسکورپیوس لپتوروس در نظر گرفته می‌شود. این همولیز در برخی موارد مخفی و در برخی دیگر برای ۲ تا ۳ هفته ادامه پیدا می‌کند به‌طوری که گاهی به دلیل کاهش بیش از حد هموگلوبین و هماتوکریت، برای درمان بیماران مزبور، انتقال خون و یا گلبول قرمز فشرده به عنوان درمان تجویز می شود. (۱، ۱۱، ۱۵).

در مطالعه‌ی حاضر همان گونه که انتظار می‌رفت تزریق سم همی‌اسکورپیوس لپتوروس با دوز کمتر از LD۵۰ یعنی ۵/۸ mg/kg آن مشابه حالت گزش این عقرب آستانه‌ی مقاومت گلبول‌های قرمز را به کاهش فشار اسمزی به طور معنی‌داری تغییر داد به گونه‌ای که گلبول‌های قرمز گروه شاهد غلظت .۰/۵۵ درصد محلول نمکی را تحمل نموده و در این شرایط همولیز بسیار جزئی را نشان دادند در حالی که سد مقاومت اسمزی گلبول‌های قرمز در گروهی که سم عقرب یا فراکسیون‌های آن را دریافت نموده‌اند در غلظت ۰/۶۵ درصد شکسته شد. به طور کلی از نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر در مورد بررسی اثر فراکسیون‌های جدا شده از سم عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس بر شکنندگی گلبول‌های قرمز این نتیجه به دست می‌آید که از بین شش فراکسیون تخلیص شده از سم عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس، فراکسیون دو دارای غلظت بیشترین غلظت پروتئینی بوده است و جهت بررسی اثر آنتی‌ونوم استفاده گردید. نتایج نشان داد که فراکسیون دو بیشترین تاثیر را بر روی شکنندگی گلبول قرمز داشته است. همچنین طبق نتایج بهدست آمده، فراکشن‌های سوم و چهارم کمترین تاثیر را روی شکنندگی گلبول قرمز داشته است.

اثرات همولیتیک سم عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس در غلظت‌های مختلف در شرایط in vitro و in vivo به اثبات رسیده است. سم این عقرب قادر است گلبول‌های قرمز تمام گروه‌های خونی انسان را همولیز نماید. همچنین در مقایسه‌ی اثرات همولیتیک سم عقرب بر گلبول‌های قرمز گاو، اسب، گوسفند، بز و جوجه بیشترین حساسیت را گلبول‌های قرمز گاو و کمترین حساسیت را گلبول‌های قرمز جوجه از خود نشان میدهند (۲۳).

بررسی‌های مختلف نشان داده است که سم عقرب با مکانیسم‌های مختلف می‌تواند سبب آسیب به غشای گلبول‌های قرمز و افزایش شکنندگی این سلول‌ها در محیط‌های هایپوتونیک شود. از جمله وجود فسفولیپاز A۲ در سم عقرب‌ها به عنوان یک آنزیم همولیتیک نیرومند، به شیوه‌های مختلفی همچون ایجاد اسیدهای چرب آزاد (FFA) و مهار پمپ سدیم



نمودار ۳- میزان شکنندگی گلبول‌های قرمزدر گروه دریافت‌کننده آنتی‌ونوم در زمان‌های ۴۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق سم و فراکسیون دو.

- پتاسیم می‌تواند در افزایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز مؤثر باشد. از سویی دیگر، نشان داده شده است که pH، دما، هیپرتونیسیتی و ویسکوزیته‌ی خون در عقرب‌زدگی تغییرکرده و در روندی پیچیده بر شکنندگی اسمزی تأثیر می‌گذارند. همچنین وقوع انعقاد داخل عروقی منتشر(DIC)، آسیب عروقی و آنمی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک MHA و مسمومیت کلیوی توأم با هموگلوبینوری، پروتئینوری و سندروم اورمیک همولیتیک (HUS) در افراد دچار عقرب‌زدگی با همی‌اسکورپیوس لپتوروس به ویژه کودکان گزارش شده است که می‌توانند به عنوان عوامل ایجاد آسیب و همولیز گلبول‌های قرمز مطرح باشند (۲۴).

در کشور ما، یکی از درمان‌های اختصاصی در بیماران عقرب‌زده استفاده از آنتی‌ونوم پلی‌والان است که می‌تواند در درمان گزش ناشی از ۶ نوع مهم از عقرب‌های کشور از جمله همی‌اسکورپیوس لپتوروس به کار رود. اکثر محققین، آنتی‌ونوم را به عنوان تنها درمان اختصاصی عقرب‌زدگی می‌دانند(۴). از آن جایی که زمان شروع درمان و یا به عبارت دیگر زمان مراجعه بیماران به مراکز درمانی و دریافت آنتی‌ونوم در بروز عوارض ناشی از عقرب‌زدگی و نتایج درمان نقش کلیدی ایفا می‌کند (۱۴، ۲۲)، لذا در مطالعه‌ی حاضر تأثیرات زمان استفاده از آنتی‌ونوم و حتی دفعات استفاده از آن بر نتایج مربوط به شکنندگی گلبول‌های قرمز و سایر فاکتورهای مورد مطالعه بررسی شد. در مقایسه‌ی گروه‌های درمان شده با آنتی‌ونوم و نحوه‌ی تأثیر آنها برمیزان شکنندگی گلبول‌های قرمز آنالیز آماری دلالت بر این دارد که بین گروه‌های زمانی مختلف درمان شده تفاوت معنی‌داری وجود ندارد، ضمن این که این اختلاف بین گروه‌های درمانی و گروه شاهد نیز مشاهده نمی‌شود. به عبارت دیگر منحنی مربوط به شکنندگی گلبول‌های قرمز در هر سه گروه درمان شده وضعیتی مشابه گروه شاهد دارد که از نظر آزمایشگاهی طبیعی قلمداد می‌شود. بر این اساس می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که استفاده از آنتی‌ونوم به هر یک از اشکال مورد استفاده می‌تواند از همولیزگلبول‌های قرمز به دنبال تزریق سم جلوگیری نماید.

مطالعات سایر محققین نیز نشان داده همراه با سایر درمان‌های حمایتی در بیماران دچار عقرب‌زدگی، تجویز آنتی‌ونوم برای حصول نتایج بهتر و بهبودی سریع‌تر علائم بالینی ضروری است (۱۸، ۲۲). اثر درمان با آنتی‌ونوم در کاهش و پیشگیری از عوارض ناشی از سم گونه‌های مختلف عقرب مورد بررسی قرار گرفته و اغلب با اثرات محافظتی قابل توجهی همراه بوده است. در یک مطالعه‌ی تجربی در سگ تزریق آنتی‌ونوم در۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق سم عقرب مزوبوتوس تامولوس مقاومت گلبول‌های قرمز را نسبت به محلول‌های هایپوتونیک بهبود بخشید و از سویی دیگر از افزایش شکنندگی اسمزی در گروه درمان شده با آنتی‌ونوم همزمان با تزریق سم جلوگیری کرد (۱۴). همچنین تجویز آنتی‌ونوم ویژه‌ی عقرب سیاه هترومتروس فاستیگیوسوس می‌تواند به صورت معنی‌داری پارامترهای بیوشیمیایی تغییر یافته پس از گزش این گونه از عقرب را به حالت نرمال بازگرداند(۴).

تفسیر مکانیسم تأثیر آنتی‌و نوم در کاهش میزان شکنندگی گلبول‌های قرمز به سادگی امکانپذیر نیست، ولی به نظر می‌رسد تجویز این ماده در وهله‌ی اول می‌تواند موجب خنثی‌سازی سم عقرب موجود در خون شده که به تبع آن از عوارض و تأثیرات آن بر گلبول‌های قرمز کاسته می‌شود، ولی باید توجه داشت که زمان دراین ارتباط نقش بسیار کلیدی و مهمی را ایفا می‌کند (۱۷). باتوجه به این که آنتی‌ونوم به تنهایی قادر نیست تغییرات شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز را به حالت طبیعی برگرداند و تنها نقش مهارکننده و پیشگیری کننده برای آن مورد توجه است، لذا چنانچه این دارو در زمان طولانی پس از عقرب‌زدگی و یا تزریق سم عقرب استفاده شود، بعید به نظر می‌رسد که کارایی چندانی در این ارتباط داشته باشد بدین معنی که بهترین زمان استفاده از آنتی ونوم بلافاصله بعد از عقرب‌زدگی وتا قبل از بروز علایم می‌باشد. همچنین پیشنهاد می‌شود علاوه بر استفاده از آنتی‌ونوم ضد عقرب‌زدگی، درمان حمایتی نظیر داروهای ضد درد ضد التهاب جهت بهبودی کامل استفاده شود.

نتایج حاصله از این مطالعه نشان داد که، در گروه‌هایی که سم خام و فراکسیون دو سم عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس را دریافت نموده بودند، میزان مقاومت گلبول‌های قرمز نسبت به غلظت های هیپوتونیک کاهش و منحنی گلبول‌های قرمز دستخوش تغییر شده است. میزان شکنندگی گلبول‌های قرمز در این گروه‌ها و در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش نشان داده است ($P<0/05$). همچنین فراکسیون یک و سه کمترین تغییرات شکنندگی گلبول‌های قرمز بوجود آوردند. این در حالی‌است که میزان شکنندگی گلبول‌های قرمز در گروه‌هایی که آنتی‌ونوم عقرب زدگی را دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد تغییرات معنی‌داری را نشان نداده بود. ($P>0/05$). لذا تجویز آنتی‌ونوم عقرب‌زدگی به هر یک از اشکال مورد استفاده توانسته است از تغییرات منحنی اسموتیک فراجیلیتی گلبول‌های قرمز به طور معنی‌داری جلوگیری به عمل آورد.

پاورقی

1.Hemolysator

منابع مورد استفاده

1. Afzali, N. And N. Pezeshki. 1998. Evaluation of acute renal failure due to gadium bite in children, Scientific, *Medical Journal of Ahvaz University of Medical Sciences* 25: 42 -48.

2. Atyabi, N. 1384. Clinical Veterinary Pathology: Laboratory Methods. First Edition, University of Tehran Press. 99-100.

3. Badhe R. V., A.B. Thomas, A.D. Deshpande, N. Salvin and A. Waghmare. 2007. The action of red scorpion (Mesobuthus tumulus Coconsis, Pocock) venom and its isolated protein fractions on blood sodium level. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 13(1):82-93.

4. Chaubey, M. 2009. Antivenom reversal of biochemical alterations induced by black scorpion Heterometrus fastigiousus venom in mice, *Journal Of venomous Animals and Toxins including tropical Diseases* 15(2): 226-235.

5. Chaubey, M. 2010. Changes in Different Blood Parameters during Mesobuthus tamulus gangeticus Pocock Envenomation. *Asian Journal of Applied Sciences*. 3 (6): 411-416, 2010

6. Chitnis, P., A. Maraghi Sharif and B. Vazirianzadeh. 1372. Epidemiological and laboratory study of scorpion sting in Khuzestan, *Journal of Guilan Medical School* 8: 5-12.

7. Dehghani, R., T. Khamechian, T. Tirgari, S.Vatandoost, H. Rathi, Y. Rafinejad, J. Vousavi. 2005. The effect of gadium scorpion venom on white and red blood cells and rat hematocrit, *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services* 13 (1): 32 -41.

8. Dehghani, R. and N. Valaei. 2005. A Review of the Scorpion Situation and Its Problems in Iran. *Feyz Scientific Research Quarterly* 33: 66-84.

9. Farzan Pey, R. 2004.Scorpion bite and its consequences. *Journal of Research and Construction* 25: 123-125.

10. Godal, H.C., A.T. Elde, N. Nyborg, N. Brosstad. 1980. The normal range of osmotic fragility of red blood cells .*Scand Journal Hematology* 25(2):107-12.

11. Jalali, A., M.H. Pipelzadeh, R. Sayedian and E. Rowan. 2010. A review of epidemiological, clinical and in vitro physiological studies of envenomation by the scorpion Hemiscorpius lepturus (Hemiscorpiidae) in Iran. *Toxicon* 55: 173-179.

12. Kaneko, JJ. 2008. Clinical Biochemistry of Domestic Animal. 6th ed. Academic Press, San Diego 287-330.

13. Possani, L. D., R.C. Rodriguez de la vega, 2006. Scorpion venom peptides. In: Kastin, A.J. (Ed.), In: Hand book of Biologically Active Peptides. Elsevier Inc.339 -354.

14. Radha Krishna Murthy, K., A. Zare. 2001. The use of Antivenom reverses hematological and Osmotic Fragility changes of erythrocytes caused by Indian Red Scorpion Mesobuthus tamulus concanesis Pocock in experimental envenoming. *Journal of Venomous Animimal Toxns*7 (1)

15. Radmanesh, M. 1997. Study of scorpion bites in Khuzestan, Part 3, Bites, Hemiscorpius leptorus and its clinical study. Journal of Medicine - *Treatment* 160: 41-43.

16. Razi Jalali, M., S.M. Jalali, H. Najafzadeh Varzi, and A.A. Shokraian. 2016. Investigation of the protective effect of polyvalent and quercetin antifungal on homogram changes and osmotic fragility of red blood cells after injection of Mesobuthus eupeus in rats - *Journal Iranian Veterinary Medicine*, 12 (1):

17. Razi Jalali, M., S.R. Fatemi Tabatabaei, M. Ahmadizadeh, and H. Mohseni. 1396. Effects of Scorpion venom on Hemiascorpius leptorus on hemogram changes and fragility of red blood cells and the study of the role of polyvalent

18. antinoma in rats - *Iranian Journal of Veterinary Medicine* 131: 41-52.

19. Salama, WM., KM. Sharshar. 2013. Surveillance study on scorpion species in Egypt and comparison of the crude venom protein profiles. *The journal of Basic and Applied Zoology*. 66: 76-86.

20. Shahbazzadeh, D., T. Abdollahi., K. Pooshang Bagheri, M. Hosseini-NejadChafi, F. Sasani, F. Torkashvand, G. Khalili, B. Vaziri. 2012 Purification of Haemolytic/Necrotic Protein from the Venom of Deathful Hemiscorpius lepturus Scorpion in Khuzestan Province. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine* 16: 55.

21. Shirmardi, S.P., M. Shamsaei, M. Gandomkar, E. Saniei, M. Ghannadi, A. Zare. 2010. Comparison of two purified toxic fractions from Mesobuthus eupeus scorpion venom. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*

22. Suleiman, J., J. Zargan, F. Ebrahimi, A. Farahmandnejad, and A. Haji Beigi. 2002. Investigation of the role of Hemiscorpius leptorus scorpion venom in erythrocyte fragility, *Kowsar Medical Journal* 7(3): 185-189

23. Zare Mirkabadi, A. 1385. Scorpion stings (prevention), first aid and treatment; First edition; Teymourzadeh and Tabib Publishing Cultural Institute. 16(4): 639-646.

24. Zare Mirakabbadi, A., H. Zolfagharian, A. Hedayat, A, Jalali. 2007. Clinical and biochemical manifestation produced by scorpion (Hemiscorpius lepturus) venom in experimental animals. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 13 (4)

25. Valavi E., M.J. Alemzadeh Ansari. 2008. Hemolytic uremic syndrome following Hemiscorpius lepturus (scorpion) sting. *Indian J Nephrol*. 18:166-8.