پیش‌بینی پاسخ‌ایمنی هومورال برعلیه گلبول‌قرمز گوسفندی براساس شمار گلبول‌های سفیدخونی در بلدرچین ژاپنی (*Coturnix japonica*)

- **بتول اصغری‌اسفدن***: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸
- **سعید زره‌داران**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، صندوق پستی: ۳۳۱-۹۱۷۳۵
- **یوسف جعفری‌آهنگری**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸
- **سعید حسنی**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸
- **الیاس لطفی**: باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، صندوق پستی: ۷۱۷

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۴

چکیده

تقویت سیستم ایمنی در جلوگیری از تلفات و افزایش راندمان تولید موثر است. راه‌های مختلفی برای بالا بردن کارایی سیستم ایمنی وجود دارد و تحقیقات زیادی هم در این زمینه صورت گرفته است. بدین منظور در تحقیق حاضر با استفاده از اطلاعات مربوط به تعداد سلول‌های خونی از قبیل هتروفیل، لیمفوسیت، منوسیت، بازوفیل و ائوزینوفیل، ۱۹۶ بلدرچین ژاپنی (۹۸ عدد جنس ماده و ۹۸ عدد جنس نر) در ایستگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم‌کشاورزی ومنابع طبیعی‌گرگان، تیترآنتی‌بادی برعلیه گلبول‌قرمز گوسفندی (SRBC) پیش‌بینی شد. پس از تهیه محلول SRBC، در روز ۲۸ دوره پرورش مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد SRBC به عضله سینه تزریق شد و هفت روز بعد در روز ۳۵ دوره پرورش، خون‌گیری از سیاهرگ گردنی جهت شمارش سلول‌های خونی و تیترآنتی‌بادی برعلیه SRBC انجام شد. تیترآنتی‌بادی از روش هماگلوتیناسیون جهت بررسی همبستگی بین میزان پیش‌بینی شده تیترآنتی‌بادی ومیزان اندازه‌گیری شده در واقعیت انجام شد. حدود ۰/۱ میلی‌لیتر خون جهت تهیه گسترش بر روی لام استفاده شد، گسترش با متانول ۹۹/۵ درصد تثبیت و در مجاورت هوا خشک شده و بعد از رنگ‌آمیزی با گیمسای رقیق شده و شستشو، آماده شمارش شد. باتوجه به نتایج حاصل از این تحقیق، افزایش معنی‌داری درنسبت هتروفیل به لیمفوسیت در جنس ماده نسبت به جنس نرمشاهده شد (P<۰/۰۵). برآورد تیترآنتی‌بادی کل، تیتر آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتواتانول (IgG) و تیترآنتی‌بادی حساس به مرکاپتواتانول (IgM) با استفاده از معادله رگرسیونی خطی چندگانه براساس تعداد سلول‌های خونی در جنس نر و در جنس ماده انجام شد. هم‌چنین همبستگی بین میزان برآورد شده و واقعی برای انواع تیتر آنتی‌بادی در دوجنس مثبت و معنی‌دار به‌دست آمد (P<۰/۰۵).

کلمات کلیدی: بلدرچین ژاپنی، سلول‌های خونی، گلبول قرمز گوسفندی (SRBC)، تیترآنتی‌بادی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:batol_asghari@yahoo.com

مقدمه

سیستم ایمنی پرندگان یک شبکه پیچیده از اندام‌ها و بافت‌ها می‌باشد که توسط خون و عروق لنفاوی متصل شده‌اند. خون شامل دو بخش سلولی و غیرسلولی است و عمده سلول‌های موجود در خون شامل دو گروه گرانولوسیت‌ها (هتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و بازوفیل‌ها) و غیرگرانولوسیت‌ها (لیمفوسیت‌ها و منوسیت‌ها) می‌باشند. بخش غیرسلولی خون، مایعی به نام پلاسما است که ترکیبات عمده پلاسما، ایمنوگلوبین‌ها (آنتی‌بادی‌ها) هستند (Gisela، ۱۹۹۷). یکی از شاخص‌های فیزیولوژیکی مهم و قابل اعتماد برای پاسخ جوجه‌ها در برابر استرس، نسبت هتروفیل به لیمفوسیت می‌باشد که این نسبت به‌دلیل در معرض قرار گرفتن عوامل استرس‌زا افزایش می‌یابد (Gross و Siegel، ۱۹۸۳). ائوزینوفیل‌ها قادر به فاگوسیتوز و تشکیل کمپلکس پادگن-پادتن هستند و چون می‌توانند واکنش‌هایی را که به فعال شدن بازوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها منجر می‌شود، تعدیل کنند، به‌عنوان یاخته‌های ضدالتهاب نیز شناخته شده‌اند. بازوفیل‌ها خاصیت جذبه شیمیایی دارند و تا حدی جزئی از خود، بیگانه خواری بروز می‌دهند. گرانول‌های بازوفیل حاوی پراکسیداز، هیستامین و هپارین‌اند و باعث تشدید پاسخ التهابی می‌شوند. منوسیت‌ها نسبت به هتروفیل‌ها مدت زمان بیش‌تری طول می‌کشد که تا به محل عفونت برسند ولی تعداد بیش‌تری از میکروب‌ها را از بین می‌برند و همراه با عفونت‌های ویروسی، قارچی و سایر بیماری‌های مزمن افزایش می‌یابند (ضمیری، ۱۳۸۲).

پادتن‌ها یا ایمنوگلوبین‌ها (lg) مولکول‌های پروتئینی هستند که توسط سلول‌های B که به پلاسموسیت‌ها مبدل شده‌اند، تولید می‌گردند. (لیلوی و رعایایی، ۱۳۸۱). ایمنوگلوبین‌های G (lgG)، ایمنوگلوبین اصلی سرم خون هستند و نقش اصلی را در واکنش‌های هومورال پرندگان بازی می‌کنند. ایمنوگلوبین‌های M (lgM) که به‌نظر می‌رسد در تحریکات ایجاد شده توسط پادگن‌های مختلف این دسته از ایمنوگلوبین‌ها قبل از بقیه ایمنوگلوبین‌ها تولید می‌شوند، به‌طوری‌که lgM تقریباً ۲ تا ۳ روز پس از ورود پادگن به بدن تولید می‌گردند.

روش‌های متعددی برای سنجش پاسخ‌های ایمنی وجود دارد که با مطالعه‌ی این روش‌ها، طرز کار و اثرات آنتی‌بادی در بدن و نقش آن در ایجاد بیماری مشخص می‌شود. یکی از این روش‌ها بررسی تیتر آنتی‌بادی است. تعیین غلظت آنتی‌بادی را در سرم و یا محلول‌های دیگر، تیتر آنتی بادی می‌گویند و این در سرولوژی به معنی تعیین تعداد مولکول‌های آنتی‌بادی در هر واحد از محلول می‌باشد. طرز عمل به این ترتیب است که غلظت‌های مختلف سرم را با میزان معینی از آنتی‌ژن مواجه می‌کنند. کم‌ترین رقتی که در آن آگلوتیناسیون مشاهده می‌شود به‌عنوان تیتر آنتی‌بادی مزبور خواهد بود (لیلوی و رعایایی، ۱۳۸۱).

Demas و همکاران، (۲۰۱۱)؛ Moller و همکاران (1998)؛ Raberg و همکاران (۱۹۹۸)؛ Gustafsson و همکاران (1994) برای بررسی پاسخ ایمنی، از آنتی‌ژن‌های مصنوعی همانند گلبول قرمز خون گوسفندی در طیور استفاده کردند و ارتباط پاسخ ایمنی را با وزن بدن بررسی کردند. Krams و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیق خود در گونه‌ای از پرندگان زینتی (*parus major*) دامنه تیترآنتی‌بادی بر علیه *بروسلا ابرتوس* را با استفاده از نسبت هتروفیل به لمفوسیت پیش‌بینی کردند. به‌طوری‌که افزایش دامنه تیترآنتی‌بادی را با کاهش نسبت هتروفیل به لیمفوسیت گزارش کردند با توجه به وجودارتباط و همبستگی بین سلول‌های تخصص یافته خون و آنتی‌بادی تولید شده در مقابل سایر عوامل بیگانه، هدف از تحقیق حاضر، ارائه یک مدل رگرسیونی جهت پیش‌بینی تیتر آنتی‌بادی بر علیه گلبول قرمز گوسفندی (SRBC: Sheep red blood cell) با استفاده از اطلاعات مربوط به تعداد گلبول‌های‌سفید در جمعیتی از بلدرچین ژاپنی در ایستگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

معرفی اطلاعات مورد استفاده در این پژوهش طی یک دوره پرورشی ۳۵ روزه، در ایستگاه تحقیقاتی پرورش بلدرچین واقع در پردیس دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، در شهریور ماه سال ۱۳۹۲جمع‌آوری شد.

صفات مورد مطالعه: صفات اندازه‌گیری شده در این تحقیق عبارت‌اند از: اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز خون گوسفندی شامل تیتر آنتی‌بادی کل، تیتر مقاوم به مرکاپتواتانول (IgG) و تیتر حساس به مرکاپتواتانول (IgM) ۲، شمارش‌سلول‌های‌خون (هتروفیل، لیمفوسیت، منوسیت، بازوفیل و ائوزینوفیل)

روش تهیه محلول SRBC: برای تهیه محلول SRBC، ابتدا از یک گوسفند نژاد افشاری، خون‌گیری انجام شد و در لوله‌های حاوی EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid) قرار گرفت. سپس با دور ۲۵۰۰ و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. بعد از این مرحله، مایع بالایی

گلبول‌های قرمز (پلاسما) دور ریخته شد و به‌همان میزان سرم فیزیولوژی (محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد) به آن اضافه گردید و دوباره سانتریفوژ گردید و محلول بالایی دور ریخته شد. این عمل ۳ مرتبه انجام گرفت. سپس گلبول‌های قرمز شسته شده با محلول کلرید سدیم رقیق شد و محلول ۵ درصد گلبول قرمز شسته شده به‌دست آمد (Cheema و همکاران، ۲۰۰۳).

تزریق محلول SRBC به بلدرچین‌ها: در روز ۲۸ دوره پرورش مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد SRBC به‌وسیله سرنگ به عضله سینه ۱۹۶ بلدرچین (۹۸ عدد جنس ماده و ۹۸ عدد جنس نر) تزریق شد (Cheema و همکاران، ۲۰۰۳). هفت روز بعد از تزریق (روز ۳۵) خون‌گیری از سیاهرگ گردنی بلدرچین‌ها انجام گرفت و پس از جداسازی سرم‌ها، نمونه‌ها به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت و تا روز اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی در این دما نگه‌داری شد (Cheema و همکاران، ۲۰۰۳).

اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC: برای اندازه‌گیری تیترآنتی‌بادی علیه SRBC از روش هماگلوتیناسیون استفاده شد. ابتدا پنجاه میکرولیتر سرم به‌داخل اولین چاهک پلت ۹۶تایی الایزا (U شکل) اضافه شده و پلت در داخل انکوباتور در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. پس از نیم ساعت، ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین (PBS: Phosphate Buffer Solution) به چاهک اول پلت‌ها اضافه شد و داخل انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از نیم‌ساعت به بقیه چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر PBS اضافه و سپس رقت‌های ۱/۴۹۶- ۱/۲ میکرولیتر تهیه گردید. پس از تهیه این رقت‌ها ۲۵ میکرولیتر محلول SRBC ۱٪ به هر چاهک اضافه شد. پلت به‌مدت ۳۰ دقیقه دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون و پس از آن شماره اولین چاهک لیزشده یادداشت گردید. تیترها براساس $\log_2$، به‌عنوان بیش‌ترین رقتی که آگلوتیناسیون کامل را نشان می‌دهد، بیان شد (Cheema و همکاران، ۲۰۰۳).

اندازه‌گیری تیتر مقاوم به مرکاپتواتانول IgG و حساس به مرکاپتواتانول IgM: ابتدا پنجاه میکرولیتر سرم به‌داخل اولین چاهک پلت ۹۶تایی الایزا (U شکل) اضافه شده و پلت در داخل انکوباتور در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. پس از نیم‌ساعت، ۵۰ میکرولیتر محلول مرکاپتواتانول ۰/۰۱ درصد به‌داخل اولین چاهک پلت‌ها اضافه شد و درانکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از نیم‌ساعت به بقیه چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر PBS اضافه و سپس رقت‌های (۱/۴۹۶-۱/۲ میکرولیتر) تهیه گردید. پس از تهیه این رقت‌ها ۲۵ میکرولیتر محلول SRBC ۱٪ به هر چاهک اضافه شد. پلت به‌مدت ۳۰ دقیقه دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون و پس از آن شماره اولین چاهک لیزشده یادداشت گردید. تیترها براساس $\log_2$، به‌عنوان بیش‌ترین رقتی که آگلوتیناسیون کامل را نشان می‌دهد، بیان شد. IgM از تفاضل بین تیترآنتی‌بادی کل و تیتر مقاوم به مرکاپتواتانول IgG، به‌دست می‌آید (Cheema و همکاران، ۲۰۰۳).

شمارش سلول‌های خونی: حدود ۰/۱ میلی‌لیتر خون کامل پس از خون‌گیری از بلدرچین‌ها در سن ۳۵ روزگی، جهت تهیه گسترش خونی استفاده شد. پس از خشک شدن در مجاورت هوا، لام با متانول ۹۹/۵ درصد ثابت‌شده و سپس به گستره خونی خشک شده رنگ گیمسای رقیق‌شده با آب به نسبت ۱ به ۱۰به میزانی که لام را بپوشاند افزوده شد. رنگ‌آمیزی به‌مدت ۴۵ دقیقه ادامه داشت. بعد از شستشو، شمارش گلبول‌های سفید انجام شد. در یک گستره رنگ‌آمیزی شده، با استفاده از روغن ایمرسیون و عدسی شیئی ۱۰۰، نوع گلبول سفید (هتروفیل، لیمفوسیت، منوسیت، بازوفیل، ائوزینوفیل) در هر بخش شناسایی شده و این کار تا شمارش ۱۰۰ عدد گلبول سفید انجام شد (Lucas و Jamroz، ۱۹۶۱).

روش تجزیه و تحلیل آماری صفات مورد مطالعه: برای اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اثرات ثابت (جنس) بر روی صفات مورد نظر به‌ترتیب از رویه‌های univariate و مدل خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار SAS، استفاده شد. هم‌چنین برای تعیین تابعیت صفات مربوط به تعداد گلبول‌های سفید و تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC از رویه Reg نرم‌افزار SAS ۹/۱ (SAS، ۲۰۰۱) استفاده شد.

نتایج

میانگین و اثر جنس بر روی صفات مورد مطالعه در جدول۱ و ارائه مدل رگرسیونی، مقادیر پیش‌بینی شده برای صفات مربوط به تیتر آنتی‌بادی و همبستگی بین میزان پیش‌بینی شده و واقعیت در جدول۲ نشان داده شده است. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، افزایش معنی‌داری در نسبت هتروفیل به لیمفوسیت در جنس ماده نسبت به جنس نر مشاهده شد ($P<0/05$).

جدول۱ : بررسی اثر جنس برروی سلول‌های خونی و تیترآنتی‌بادی

صفات	تعداد	میانگین		خطای معیار
		ماده	نر	
هتروفیل/ لیفوسیت (درصد)	۹۸	۰/۶۲[a]	۰/۴۷[b]	۰/۰۲
مونوسیت (درصد)	۹۸	۱۳/۰۵	۱۴/۱۸	۰/۶۰
بازوفیل (درصد)	۹۸	۰/۶۵	۰/۸۶	۰/۱
ائوزینوفیل(درصد)	۹۸	۰/۷۶	۰/۶۲	۰/۰۸
تیتر آنتی‌بادی کل (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۹۸	۱/۵	۱/۳	۰/۰۸
تیتر آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتو اتانول (igG) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۹۸	۰/۴۴	۰/۳۷	۰/۰۶
تیتر آنتی‌بادی حساس به مرکاپتو اتانول(igM) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۹۸	۱/۰۶	۰/۹۲	۰/۰۷

حروف نامشابه درهر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

در بررسی اثر جنس بروی تیترآنتی بادی کل، IgM و IgG، تفاوت معنی‌داری بین دو جنس نر و ماده مشاهده نشد (P>۰/۰۵). ولی مقدار عددی آن در جنس ماده بیش‌تر از نر بود.

برآورد تیتر آنتی‌بادی کل، تیتر آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتواتانول (IgG) و تیتر آنتی‌بادی حساس به مرکاپتواتانول (IgM) با استفاده از معادله رگرسیونی خطی چندگانه براساس تعداد سلول‌های خونی در جنس نر به‌ترتیب ۱/۱۶، ۰/۴۴ و ۱/۰۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و در جنس ماده به‌ترتیب ۱/۲۹، ۰/۳۸ و ۰/۹۱میلی‌گرم بردسی‌لیتر به‌دست آمد. هم‌چنین همبستگی بین میزان پیش‌بینی شده و واقعی مثبت و معنی‌دار به‌دست آمد.

جدول۲: ارائه مدل رگرسیونی جهت پیش بینی تیتر آنتی بادی بر علیه گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) با استفاده از سلول‌های خونی

متغیر وابسته	جنس	معادلات	میانگین پیش‌بینی شده	میانگین اندازه‌گیری شده	همبستگی بین پیش‌بینی و واقعیت
تیتر آنتی بادی کل (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	نر	Y=۱/۷۲-۰/۰۰۵a-۰/۹۱b+۰/۱۳ c-۰/۳۱ d	۱/۱۶	۱/۵۱	*۰/۳۲
	ماده	Y=۲/۰۵-۰/۰۶۲a+۰/۱۱b-۰/۰۶ c+۰/۰۳ d	۱/۲۹	۱/۳۰	**۰/۴۵
تیتر آنتی بادی مقاوم به مرکاپتو اتانول (igG) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	نر	Y=۰/۴۹-۰/۰۰۴a-۰/۳۳b+۰/۲۷ c-۰/۱ d	۰/۴۴	۰/۴۴	**۰/۵۰
	ماده	Y=۰/۵۸-۰/۰۲a+۰/۱۵b-۰/۰۹ c+۰/۰۹ d	۰/۳۸	۰/۳۷	*۰/۳۱
تیتر آنتی بادی حساس به مرکاپتو اتانول(igM) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	نر	Y=۱/۲۴-۰/۰۰۲a+۰/۲۴b-۰/۱۴ c-۰/۲۱ d	۱/۰۶	۱/۰۶	*۰/۳۹
	ماده	Y=۱/۴۷-۰/۰۴a-۰/۰۴b+۰/۰۳ c-۰/۰۷ d	۰/۹۱	۰/۹۳	*۰/۳۳

* سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵)

** سطح معنی‌داری (P<۰/۰۱)

a: منوسیت، b: نسبت هتروفیل به لیمفوسیت، c: بازوفیل، d: ائوزینوفیل

بحث

انگل‌ها و عوامل بیماری‌زا تهدیدی گسترده برای موجودات زنده محسوب می‌شوند و مسئول رسیدگی به این چالش‌ها سیستم پیچیده ایمنی است که با تعامل گسترده با یکدیگر، فعالیت‌های بدن را برای تخریب و از بین بردن عوامل بیماری‌زا به‌کار می‌برند (Martin و همکاران، ۲۰۱۱؛ Schulenburg و همکاران، ۲۰۰۹). روش سنتی برای ارزیابی هزینه و قدرت پاسخ ایمنی شامل ایجاد چالش‌هایی در حیوانات آزمایشی با آنتی‌ژن خارجی و اندازه‌گیری پاسخ ایمنی ناشی از این چالش ایجاد شده با استفاده از آنتی‌ژن مصنوعی، جداسازی اثرات فیزیولوژیکی، چالش‌های ایمنی را از اثرات پاتولوژیک انگل‌ها ایجاد می‌کند. یکی از رایج‌ترین آنتی‌ژن‌های به‌کار رفته برای بررسی پاسخ سیستم ایمنی، محلول گلبول قرمز خون گوسفندی

می‌باشد (Lochmiller و Deerenberg، ۲۰۰۰؛ Norris و Evans، ۲۰۰۰؛ Sheldon و Verhulst، ۱۹۹۶). تحریک سیستم ایمنی بر اثر چالش وارده بر بدن موجود زنده براساس جنس متفاوت می‌باشد، به‌طوری‌که Sahin و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقات خود گزارش کردند که در اثر استرس گرمایی، نسبت هتروفیل به لنفوسیت در بلدرچین ماده نسبت به بلدرچین نر بیش‌تر است. این محققین تولید بالاتر گلوکوکورتیکوئیدها در جنس ماده را از سازوکارهای احتمالی اثرات مثبت آن بر نسبت هتروفیل به لیمفوسیت عنوان کردند. علاوه بر این گزارش شده است که عوامل استرس‌زا و تنشها موجب کاهش تولید فاکتورهای موثر بر تکثیر لیمفوسیت‌ها مانند اینترلوکین-۲ (IL-2) می‌شود (Farrar و همکاران، ۱۹۸۰). به‌طورکلی جنس ماده نسبت به نر بیش‌تر تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد (Campo و همکاران، ۱۹۹۱). از این‌رو تولید هتروفیل از مغز استخوان در جنس ماده تحت شرایط محیطی نامطلوب مثل استرس گرمایی یا چالش با سایر عوامل بیماری‌زا افزایش یافته و نسبت هتروفیل به لیمفوسیت نیز افزایش می‌یابد. به‌طورکلی تولید هتروفیل‌ها به‌وسیله سایتوکاین‌هایی به‌نام فاکتور محرک کلونی (CSF: Colony Stimulatig Factors) تحریک می‌شود. این سایتوکاین‌ها به‌وسیله بسیاری از انواع سلول‌ها، در پاسخ به عفونت ترشح می‌شوند و بر سلول‌های مغز استخوان اثر می‌کنند، تا ازدیاد و بلوغ پیش‌سازهای هتروفیلی را باعث شوند.

هم‌چنین در بررسی اثر جنس بروی تیترآنتی‌بادی کل، IgM و IgG، تفاوت معنی‌داری بین دو جنس نر و ماده مشاهده نشد (P>۰/۰۵). ولی مقدار عددی آن در جنس ماده بیش‌تر از نر بود. Sarker و همکاران (۱۹۹۹) و Leitner و همکاران (۱۹۹۲) در تحقیقات خود بر روی مرغ، میزان IgG و IgM را در جنس ماده بیش‌تر از جنس نر گزارش کردند. هم‌چنین نتایج مشابهی در انسان و موش گزارش شده است (Nelson و همکاران، ۱۹۸۷؛ Ahmed و همکاران، ۱۹۸۵) که علت آن را به هورمون‌های جنسی تاثیرگذار بر روی تیموس و ایمنی سلولی نسبت می‌دهند. Boa-Amponsem و همکاران (۱۹۹۷)، بیان کردند که در جوجه‌های گوشتی میانگین تیترآنتی‌بادی، در جنس ماده بیش‌تر از جنس نر است. آن‌ها علت آن‌را قرار گرفتن ژن‌های تأثیرگذار این صفات بر روی کروموزوم جنسی مرغ عنوان کردند.

با توجه به این‌که سلول‌های تولیدکنندهٔ آنتی‌بادی‌ها، لیمفوسیت‌های B نامیده می‌شوند که این سلول‌ها در کبد، کیسهٔ زرده و مغز استخوان تولید شده و به بورس فابریسیوس انتقال می‌یابند. عامل بیماری‌زا بعد از ورود به بدن توسط ماکروفاژها بلعیده می‌شوند و سپس ماکروفاژها میکروب‌ها را به لیمفوستی‌های B عرضه می‌دارند. این سلول‌ها نیز چند روز بعد از عرضه، آنتی‌بادی تولید می‌کنند. این وقفهٔ زمانی به خاطر آماده شدن و تکثیر تعداد مورد نیاز از سلول‌های B می‌باشد. از این‌رو نسبت هتروفیل به لیمفوسیت و تعداد سایر سلول‌های خونی باعث می‌شود تا پرنده بتواند در برابر بیماری‌ها مقاومت نموده و یا به عوامل بیگانه پاسخ مؤثر بدهد. Krams و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیق خود در گونه‌ای از پرندگان زینتی (*parus major*) دامنه تیترآنتی‌بادی برعلیه *بروسلا ابرتوس* را با استفاده از نسبت هتروفیل به لمفوسیت پیش‌بینی کردند. به‌طوری‌که افزایش دامنه تیترآنتی‌بادی را با کاهش نسبت هتروفیل به لیمفوسیت گزارش کردند که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت داشت که دلایل آن‌را می‌توان به گونه مورد استفاده، شرایط پرورش، آب وهوا، عوامل تنش و... اشاره کرد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که با انجام خون‌گیری و شمارش انواع گلبول‌های سفید می‌توان تا حد مطلوبی عملکرد سیستم ایمنی در بلدرچین ژاپنی را تعین کرد.

منابع

۱. **ضمیری، م.ج.، ۱۳۸۲.** فیزیولوژی دام. انتشارات حق شناس. رشت. ۳۸۷ صفحه.

۲. **لیلوی، ه. و رعایایی، م.، ۱۳۸۱.** ایمنی شناسی. انتشارات سایه هور. اهواز. ۱۹۴صفحه.

3. **Ahmed, A.S.; Penhale, W. and Talal, N., 1985.** Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases. Am. J. Pathol. Vol. 125, pp: 531-551.

4. **Boa-Amponsem, K.; Dunnington, E.A. and Siegel, P.B., 1997.** Genetic architecture of antibody responses of chickens to sheep red blood cells. J. Anim. Breed. Genet. Vol. 114, pp: 443-449.

5. **Campo, J.L., 1991.** Use of the sex-linked barring (*B*) gene for chick sexing on a eumelanotic Columbian background. Poult. Sci. Vol. 70, pp: 1469-1473.

6. **Cheema, A.; Bari, F. and Saddique, O., 2003.** Corporate governance in Pakistan: ownership, control and the law. NIPA Journal. Karachi. Vol. 8, pp: 07-18.

7. **Demas, G.E.; Adamo, S.A. and French, S.S., 2011**. Neuroendocrine-immune crosstalk in vertebrates and invertebrates: implications for host defence. Funct. Ecol. Vol. 25, pp: 29-39.

8. **Farrar, J.J.; Mirel, S.B.J.; Fuller-Farrar, F.W.L. and Hilfiker, M.L., 1980.** Effects of different levels of organic and inorganic chromium on growth performance and immunocompetence of broilers under heat stress.J. Anim. sci. Vol. 70, pp: 559-565.

9. **Gisela, F.E., 1997.** Immune System Fundtion and development in broiler. University of Arkansan Fayettville, AR 72701. pp: 109-123.

10. **Gross, W.B. and Siegel, H.S., 1983.** Evaluation of the heterophil/ lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. Avian Dis. Vol. 27, pp: 972-979.
11. **Gustafsson, L.; Nordling, D.; Andersson, M.S.; Sheldon, B.C. and Qvarnström, A., 1994.** Infectious diseases, reproductive effort and the cost of reproduction in birds. Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci. Vol. 346, pp: 323-331.
12. **Krams, I.; Vrublevska, J.; Cirule, D.; Kivleniece, I.; Krama, T.; Rantala, M.J.; Sild, E. and Hõrak, P., 2012.** Heterophil/lymphocyte ratios predict the magnitude of humeral immune response tonovel antigen in great tits (*Parus major*). Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 161, pp: 422-428.
13. **Leitner, G.; Uni, Z.; Cahaner, A.; Gutman, M. and Heller, E.D., 1992.** Replicated divergent selection of broiler chickens for high or low early antibody response to *Escherichia coli* vaccination. Poult. Sci. Vol. 71, pp: 27-37.
14. **Lochmiller, R.L. and Deerenberg, C., 2000.** Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? Oikos. Vol. 88, pp: 87-98.
15. **Lucas, A.M. and Jamroz, C., 1961.** Atlas of Avian Hematology. Atlas of Avian Hematology.Agriculture Monograph 25. USDA, Washington, DC.griculture Monograph 25. USDA, Washington, DC. 362 p.
16. **Martin, L.B.; Hawley, D.M. and Ardia, D.R., 2011.** An introduction to ecological immunology. Funct. Ecol. Vol. 25, pp: 1-4.
17. **Møller, A.P.; Christe, P.; Erritzøe, J. and Mavarez, J., 1998**. Condition, disease and immune defence. Oikos. Vol. 83, pp: 301-306.
18. **Nelson, J.L. and Steinberg, A.D., 1987.** Sex steroids, autoimmunity and autoimmune disease. in: Hormone Immunity. Chapter 6.I. Berczi and K. Kovacs, ed. MTP Press, The Hague, Netherlands. pp: 93-119.
19. **Norris, K. and Evans, M., 2000.** Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. Behav. Ecol. Vol. 11, pp: 19-26.
20. **Råberg, L.; Grahn, M.; Hasselquist, D. and Svensson, E., 1998.** On the adaptive significance of stress-induced immunosuppression. Proc. R. Soc. London B Biol. Sci. Vol. 265, pp: 1637-1641.
21. **Sahin, N.; Akdemir, F.; Tuzcu, M.; Hayirli, A.; Smith, M.O. and Sahin, K., 2010.** Effects of supplemental chromium sources and levels on performance, lipid peroxidation and proinflammatory markers in heat-stressed quails. Anim. Feed Sci. Technol. Vol. 159, pp: 143-149.
22. **Sarker, N.; Tsudzuki, M.; Nishibori, M. and Yamamoto, Y. 1999.** Direct and correlated response to divergent selection for serum immunoglobulin M and G levels in chickens. Poult. Sci. Vol. 78, pp: 1-7.
23. **Sarker, N.; Tsudzuki, M.; Nishibori, M. and Yamamoto, Y., 1999.** Direct and correlated response to divergent selection for serum immunoglobulin M and G levels in chickens. Poult. Sci. Vol. 78, pp: 1-7.
24. **SAS. 2001.** SASUser's Guide, Version 9.1. SAS Institute, Cary, NC. 78 p.
25. **Sheldon, B.C. and Verhulst, S., 1996.** Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. Trends Ecol. Evol. Vol. 11, pp: 317-321.