بررسی الگوی آنالیتیک و الکتروفورتیک پروتئین‌های سرم کاسپین پونی

• **لیلا مدیری***: بخش میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

تاریخ دریافت: آذر ١٣٩٤ تاریخ پذیرش: اسفند ١٣٩٤

چکیده

اسبچه خزری از هزاران سال پیش بومی سواحل دریای خزر بوده است و قدیمی‌ترین اسب موجود در دنیا بوده است. پروتئین‌ها به‌عنوان آنزیم، هورمون، پادتن، عوامل انعقادی نقش دارند. مجموعاً از ٩٤ راس کاسپین پونی به‌ظاهر سالم از نقاط مختلف استان گیلان، مازندران وگلستان خون‌گیری و سرم جدا شد. هدف سنجش و بخش‌بندی پروتئین‌های خون کاسپین پونی است. پروتئین تام سرم با دستگاه بیوشیمی آنالیزر الن ساخت اپندرف به‌روش بیوره مورد سنجش قرارگرفت و برای تفکیک و سنجش میزان اجزاء مختلف پروتئین‌های سرم از دستگاه الکتروفورز سبیا مدل K٢٠ به‌روش ژل آگارز استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌های پروتئین‌های اسبچه‌های نر و ماده از آنالیز واریانس دوطرفه استفاده شد. شش فراکسیون شامل: آلبومین، آلفایک گلوبولین، آلفا دوگلوبولین، بتا یک گلوبولین، بتا دو گلوبولین و گاما گلوبولین به‌دست آمد. میانگین پروتئین تام ٨/٠±٧/٣٤، آلبومین ٠/٠٣± ٣/٦٨، آلفا یک گلوبولین ٠/٠٠٤± ٠/١٩، آلفا دو گلوبولین ٠/٠١± ٠/٧٨، بتا یک گلوبولین ٠/٠٢±٠/٧١، بتا دوگلوبولین ٠/٠١± ٠/٤٦، گاما گلوبولین ٠/٠٢±١/٥٤، گلوبولین تام ٠/٠٥ ± ٣/٦٥ گرم بر دسی‌لیتر و نسبت آلبومین به گلوبولین ٠/٠١±١/٠١ به‌دست آمد.

کلمات کلیدی: الکتروفورز، پرونئین‌های سرم، کاسپین پونی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: leim_clinpathem@yahoo.com

مقدمه

اسبچه خزری که در تاریخ ایران سرگذشتی دیرینه دارد از هزاران سال پیش بومی سواحل دریای خزر بوده است این اسب قدیمی‌ترین اسب موجود در دنیا بوده به‌طوری‌که اصالت آن به دوران ما قبل تاریخ برمی‌گردد اسبچه خزر جد تمامی اسبان موجود در دنیا بوده و حتی اسبان عرب که از قدیمی‌ترین اسبان دنیا می‌باشند از اسبچه خزر به‌وجود آمده‌اند (Blanchard، ۱۹۹۸؛ Ball، ۱۹۹۴). سال‌های زیادی این نژاد منقرض اعلام شده بود تا این‌که در سال ۱۹۶۵ میلادی تعدادی از این اسبچه‌ها را در اطراف آمل یافتند و چون در اطراف سواحل جنوبی دریای خزر یافت شدند به‌نام اسبچه خزر یا کاسپین پونی نامیده شدند (Blanchard، ۱۹۹۸؛ Ball، ۱۹۹۴).

شناخت انواع پروتئین‌های سرم خون در گونه‌های مختلف حیوانی و آگاهی از میزان طبیعی و بررسی و مطالعه تغییرات آن‌ها در شرایط و حالات گوناگون فیزیولوژیک و پاتولوژیک به‌منظور انتخاب شیوه مناسب درمان در برخورد با موارد بیماری و سایر حالات غیرطبیعی ضروری می‌باشد (Kaneko، ۱۹۸۹؛ Irfan، ۱۹۶۷). پروتئین‌ها به‌عنوان آنزیم، هورمون، پادتن، عوامل انعقادی و ترکیبات حاصل در بدن ایفای نقش می‌کنند که هر کدام وظایف مهمی را در بدن بر عهده دارند(Kaneko، ۱۹۸۹؛ Irfan، ۱۹۶۷). عوامل موثر بر میزان پروتئین تام سرم خون دو دسته عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک و یا عوامل افزایش‌دهنده و کاهش‌دهنده پروتئین تام تقسیم می‌شوند که شامل: سن، تغذیه، آبستنی و شیرواری، دما، هیدراسیون و دهیدراسیون، عوامل مصنوعی، سوختگی‌ها، بیماری‌های کلیوی و روده‌ای، بیماری‌های کبدی و اختلال در جذب می‌باشند (Bishop و همکاران، ۲۰۰۰؛ Meyer و Harvey، ۱۹۹۸؛ Barta، ۱۹۹۳).

مواد و روش‌ها

این مطالعه در چهار فصل متوالی از یک‌سال، به‌صورتی‌که پاییز فصل نخست بررسی باشد تا زاده‌های بیش‌تری به‌دست آید انجام شد. با کمک آرشیو اداره کل دامپزشکی و انجمن سوارکاری اداره کل تربیت بدنی سه استان گیلان، مازندران و گلستان جایگاه‌های نمونه‌برداری سنتی (غیرصنعتی) و تحقیقاتی به‌صورت اتفاقی انتخاب شدند و به‌نحوی که مراکز تجمع و تراکم نژادهای بومزاد هریک از استان‌ها را دربرگیرند و همه شهرستان‌ها را پوشش دهند، نمونه‌گیری انجام گرفت. مجموعاً از ۹۴ راس کاسپین پونی به‌ظاهر سالم از نقاط مختلف استان گیلان، مازندران و گلستان خون‌گیری به‌عمل آمد. نمونه‌های خون از ورید وداج جمع‌آوری و در لوله‌های بدون ماده ضدانعقاد تخلیه گردیدند. نمونه‌گیری صبح زود و قبل از تغذیه حیوان انجام شد. در آزمایشگاه نمونه‌های خون به‌مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و سرم آن‌ها جدا شد و در میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. پروتئین تام سرم خون با استفاده از دستگاه بیوشیمی آنالیزر الن ساخت کمپانی اپندرف آلمان به‌روش بیوره مورد سنجش قرار گرفت. برای تفکیک و سنجش میزان اجزاء مختلف پروتئین‌های سرم از دستگاه الکتروفورز سبیا مدل K۲۰ و کیت آزمایشگاهی هر دو ساخت کشور فرانسه به‌روش ژل آگارز استفاده گردید. برای انجام آزمایش، پس از نمونه‌گذاری بر روی شانه اپلیکاتور و انتقال آن به دستگاه اپلیکاتور، نمونه‌گذاری بر روی ژل به‌مدت ۴۰ ثانیه انجام و بلافاصله ژل به تانک الکتروفورز حاوی بافر با pH ۸/۵ ± ۰/۳ انتقال داده شد و جداسازی نمونه به‌مدت ۲۲ دقیقه در ولتاژ ۹۰ و شدت جریان ۳ ± ۱۲ میلی‌آمپر صورت گرفت. سپس ژل حاوی نمونه‌های تفکیک شده از تانک الکتروفورز خارج و به‌مدت ۱۵ دقیقه در محلول فیکساتیو نگه‌داری و سپس در حرارت ۸۰ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۴۵ دقیقه خشک گردیدند و پس از آن به‌مدت ۴ دقیقه با رنگ آمیدوبلاک رنگ‌آمیزی و پس از سه مرحله رنگ‌زدایی، مجدداً در آون ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک و نهایتاً همهٔ ژل‌ها کُدگذاری و به‌طور مقدماتی فایل‌بندی شدند و پس از عملیات رنگ‌آمیزی الکترومتری انجام گردید.

به‌منظور مقایسه میانگین‌های پروتئین‌های مختلف در میان اسبچه‌ها از آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) استفاده شد. هم‌چنین به‌منظور مقایسه میانگین‌های این پروتئین‌ها در میان اسبچه‌ها از آزمون T-Student استفاده شد. سپس نتایج در قالب میانگین‌های درصدها استخراج و گزارش گردید. علاوه بر آن همبستگی بین پروتئین‌های مختلف نیز با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون، اندازه‌گیری و با به‌کارگیری روش فیشر معنی‌دار بودن آن‌ها محاسبه شد.

نتایج

از ۹۴ راس اسبچه خزر سالم خون‌گیری به‌عمل آمد. در اسبچه‌ها پروتئین تام و شش فراکسیون پروتئینی شامل: آلبومین،

آلفایک گلوبولین، آلفادوگلوبولین، بتایک‌گلوبولین، بتادوگلوبولین و گاماگلوبولین به‌دست آمد.

میانگین فراکسیون‌ها در اسبچه‌های خزری: مطابق جدول ۱ در اسبچه خزری میانگین پروتئین تام ۷/۳۴±۰/۸ گرم در دسی‌لیتر، میانگین آلبومین ۳/۶۸±۰/۰۳ گرم در دسی‌لیتر، میانگین آلفایک گلوبولین ۰/۱۹±۰/۰۰۴ گرم در دسی‌لیتر، میانگین آلفادو گلوبولین ۰/۷۸±۰/۰۱ گرم در دسی‌لیتر، میانگین بتایک گلوبولین ۰/۷۱±۰/۰۲ گرم در دسی‌لیتر، میانگین بتادو گلوبولین ۰/۴۶±۰/۰۱ گرم در دسی‌لیتر، میانگین گاماگلوبولین ۱/۵۴±۰/۰۲ گرم در دسی‌لیتر، میانگین گلوبولین تام ۳/۶۵±۰/۰۵ گرم در دسی‌لیتر و نسبت آلبومین به گلوبولین ۱/۰۱±۰/۰۱ به‌دست آمد.

میانگین فراکسیون‌ها در اسبچه‌های خزری نر: براساس جدول ۲ در اسبچه خزری نر، میانگین پروتئین تام ۷/۲۱+۰/۱۲ گرم در دسی‌لیتر، میانگین آلبومین ۳/۶۳±۰/۰۵ گرم در دسی لیتر، میانگین آلفایک گلوبولین ۰/۲۳ ±۰/۰۵ گرم در دسی‌لیتر، میانگین آلفادو گلوبولین ۰/۷۸±۰/۰۲ گرم در دسی‌لیتر، میانگین بتایک گلوبولین ۰/۷۱±۰/۰۳ گرم در دسی‌لیتر، میانگین بتادو گلوبولین ۰/۴۶±۰/۰۳ گرم در دسی‌لیتر میانگین گاما گلوبولین ۱/۴۶±۰/۰۴ گرم در دسی‌لیتر و میانگین گلوبولین تام ۳/۵۹±۰/۰۷ و نسبت آلبومین به گلوبولین ۱/۰۱±۰/۰۱ به‌دست آمد.

میانگین فراکسیون‌ها در اسبچه‌های خزری ماده: مطابق جدول ۳ به‌شرح زیر می‌باشد. میانگین پروتئین تام ۷/۴۴±۰/۱ گرم در دسی‌لیتر، میانگین آلبومین ۳/۷۲±۰/۰۴ گرم در دسی‌لیتر، میانگین آلفایک گلوبولین ۰/۱۹±۰/۰۱ گرم در دسی‌لیتر، میانگین آلفادوگلوبولین ۰/۷۹±۰/۰۱ گرم در دسی‌لیتر، میانگین بتایک گلوبولین ۰/۷۱±۰/۰۲ گرم در دسی‌لیتر، میانگین بتا دو گلوبولین ۰/۴۷±۰/۰۲ گرم در دسی‌لیتر، میانگین گاما گلوبولین ۱/۵۴±۰/۰۳ گرم در دسی‌لیتر، میانگین گلوبولین ۳/۶۹±۰/۰۶ گرم در دسی‌لیتر و نسبت آلبومین به گلوبولین ۰/۰۱±۰/۰۱ بود.

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار (X±SD) پروتئین‌های سرم اسبچه خزری

	Total pro	Alb	α		β		γ	Glu	Alb/Glu
			α_1	α_2	β_1	β_2			
گرم در دسی‌لیتر	۷/۳۴±۰/۰۸	۳/۶۸±۰/۰۳	۰/۱۹±۰/۰۰۴	۰/۷۸±۰/۰۱	۰/۷۱±۰/۰۲	۰/۴۶±۰/۰۱	۱/۵۴±۰/۰۲	۳/۶۵±۰/۰۵	۱/۰۱±۰/۰۱
درصد		۵۲/۰±۰/۰۱	۳/۲±۰/۰۵	۹/۸±۳/۰۲	۱۲/۳±۲/۰۱	۸/۲±۱۰/۱	۲۰/۲±۲/۲۲	۵۱±۶/۳۱	

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار (X±SD) پروتئین‌های سرم اسبچه خزری نر

	Total pro	Alb	α		β		γ	Glu	Alb/Glu
			α_1	α_2	β_1	β_2			
گرم در دسی‌لیتر	۷/۲۱±۰/۱۲	۳/۶۳±۰/۰۵	۰/۲۳±۰/۰۵	۰/۷۸±۰/۰۲	۰/۷۱±۰/۰۳	۰/۴۶±۰/۰۳	۱/۴۶±۰/۰۴	۳/۵۹±۰/۰۷	۱/۰۱±۰/۰۱
درصد		۲/۵۱±۴۵/۲	۱/۸±۰/۲۲	۱۰/۸±۹/۱۹	۱۰/۲±۳/۲۱	۵/۴±۲/۲	۲۰/۲±۴/۵	۴۵/۲±۲/۱۲	

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار (X±SD) پروتئین‌های سرم اسبچه خزری ماده

	Total pro	Alb	α		β		γ	Glu	Alb/Glu
			α_1	α_2	β_1	β_2			
گرم در دسی‌لیتر	۷/۴۴±۰/۱۰	۳/۷۲±۰/۰۴	۰/۱۹±۰/۰۱	۰/۷۹±۰/۰۱	۰/۷۱±۰/۰۲	۰/۴۷±۰/۰۲	۱/۵۴±۰/۰۳	۳/۶۹±۰/۰۶	۱/۰۱±۰/۰۱
درصد		۴۱/۰±۱/۰۴	۳/۱±۰/۸۶	۱/۰۱±۱/۰۳	۰/۹۸±۰/۲۳	۰/۸±۰/۰۱	۱/۲۳±۰/۲۱	۵۳/۰±۶/۳۱	

بحث

بخش‌بندی پروتئین‌های سرم در الکتروفورتوگرام بستگی زیادی به شیوه الکتروفورز، شگرد الکتروفورز و آموختگی پژوهنده دارد. آن‌چه بیش‌تر در روند بخش‌بندی باید بدان چشم داشت پروتئین‌های گردهم‌آمده در هر بخش دیده شده درالکتروفورتوگرام است. هرگونه افت و خیز در نمودار الکتروفورتوگرام را نمی‌توان نشانه‌ای از پیدایش یک بخش پروتئینی و یا نبود آن را نشانه کمبود یک بخش پروتئینی به‌شمار آورد، چنان‌که امروزه ناهمگونی و ناهنجاری‌های الکتروفورتیک در سایه آزمون‌های ایمنولوژیک و ایمنوبیوشیمیایی بررسی و ردیابی می‌گردد و بایستی هر بخش را با پروتئین‌های شناخته شده‌اش دریافت (Coles، ۱۹۸۶؛ Irfan، ۱۹۶۷؛ Hodgson و Rose، ۱۶۶۴). گزارش‌هایی از نخستین تلاش‌ها برای فراهم‌سازی الکتروفورتوگرام هنجار جانوران گوناگون در دسترس است که بیش‌ترین پژوهش‌ها بر دانسته‌های پژوهندگان درباره الکتروفورتوگرام سرم خون انسان استوار است. اگرچه Kaneko (۱۹۸۹) نشان داده است که می‌توان نوارهای گاما یک گلوبولین و گاما دو گلوبولین را نیز در الکتروفورتوگرام سرم سگ دید (Meyer و Harvey، ۱۹۹۸؛ Orsini و Divers، ۱۹۹۸). در علف‌خواران اهلی هم‌چون گاو می‌توان بخش‌های آلبومین، آلفاگلوبولین، بتایک‌گلوبولین، بتادو گلوبولین و گاماگلوبولین را در نمودار الکتروفورتوگرام به‌دست آمده شناسایی نمود. تنها Kaneko (۱۹۸۹) نوارهای بتایک گلوبولین و بتادوگلوبولین را از نمودار الکتروفورتوگرام گاو گزارش نموده است. الگوی الکتروفورتوگرام سرم خون گوسفند از بخش‌های آلبومین، آلفاگلوبولین، بتایک‌گلوبولین، بتادو گلوبولین، گامایک گلوبولین و گامادوگلوبولین پدید می‌آید و الگوی الکتروفورتوگرام سرم خون بز همانند آن است و تنها یک بخش گاماگلوبولینی دارد (Meyer و Harvey، ۱۹۹۸؛ Orsini و Divers، ۱۹۹۸؛ Coles، ۱۹۸۶). الگوی الکتروفورتوگرام اسب را با بخش‌های آلبومین، آلفایک گلوبولین، آلفادو گلوبولین، بتایک گلوبولین، بتادو گلوبولین و گاما گلوبولین می‌شناسد (Tizzard، ۲۰۰۰؛ Pratt، ۱۹۹۶؛ Kirk و همکاران، ۱۹۷۵). در الکتروفورتوگرام به‌دست آمده از در اسبچه خزری بخش‌های آلبومین، آلفایک گلوبولین، آلفادو گلوبولین، بتایک گلوبولین، بتادو گلوبولین و گاما گلوبولین به‌دست آمد که با گزارش Kristensen و Firth (۱۹۹۷) و رشیدی‌نیا (۱۳۷۴) هیچ همانند نیست. Mattheeuws و همکاران (۱۹۶۶) در الکتروفورتوگرام به‌دست آمده از ۸ اسب در محیط سیترات آگار بخش‌های آلفادو ab (α_{2ab})، آلفا دو c (α_{2c})، بتا (β_1) و بتا دو (β_2) گلوبولین را میان دو بخش آلبومین و گاما گلوبولین گزارش نموده‌اند (Mattheeuws و همکاران، ۱۹۶۶). پیگیری Coffman (۱۹۶۹) و Osbaldiston (۱۹۷۲) در بررسی ۲۰ و ۶۲ اسب نشان‌دهنده پیدایش بخش‌های آلفادو، بتایک و بتادو گلوبولین در میان دو بخش آلبومین و گاما گلوبولین می‌باشند (Coffman، ۱۹۹۶). هم‌چنین Massip و Fumiere (۱۹۷۴) در بررسی ۹۸ اسب و نیز Kirk و همکاران (۱۹۷۵) در بررسی ۱۴ اسب و با پیروی از پژوهشگران یاد شده در به‌کارگیری از ژل سیترات آگار بخش‌های آلفایک، آلفادوab (α_{2ab})، آلفادوc (α_{2c})، بتایک، بتادوگلوبولین را یافته‌اند (Kirk و همکاران، ۱۹۷۵). Bierer (۱۹۶۹) در بررسی ۱۰ رأس اسب با شگرد یاد شده بخش‌های آلفایک، آلفادوa (α_{2a})، آلفادوb (α_{2b})، آلفادوc (α_{2c})، بتایک، بتادوa (β_{2a})، بتادوb (β_{2b})، گلوبولین را نیز از یکدیگر جدا نموده است. Kristensen و Firth (۱۹۷۷) با کاربرد محیط ژل آگاروز توان شگرد الکتروفورز را افزوده و توانسته‌اند در ۵۰ رأس اسب بخش‌های آلفایک، آلفادو a (α_{2a})، آلفادوaa (α_{2aa})، آلفادوab (α_{2ab})، آلفادوc (α_{2c})، بتایک و بتادو گلوبولین را در میان دو بخش آلبومین و گاما گلوبولین آشکار سازند (Kristensen و Firth، ۱۹۷۷). ایشان در پژوهش خود دریافتند که الکتروفورتوگرام ۶ رأس اسب عرب دارای بخش‌های آلفادوa (α_{2aa}) و آلفادوab (α_{2ab}) می‌باشد و هیچ‌یک بخش آلفادوa (α_{2a}) ندارد و با دیگر اسب‌های گروه همسان نیستند. Barta و Arnold (۱۹۹۳)، Kaneko (۱۹۸۰)، Bauer و همکاران (۱۹۸۵)، Kaneko (۱۹۸۹) و Barta (۱۹۹۳) نشان داده‌اند که همواره بخش‌های آلفایک، آلفادو، بتایک و بتادوگلوبولین یافتنی هستند که با یافته‌های اخیر در مورد اسبچه خزری مطابقت دارد (Barta و Arnold، ۱۹۹۳؛ Kaneko، ۱۹۸۹). نبود بخش آلفایک گلوبولین در بررسی Mattheeuws و همکاران (۱۹۶۶) و یافتن بخشی با نام آلفادوc (α_{2c})، در مقایسه با آن‌چه Kristensen و Firth (۱۹۷۷) یافته‌اند نشانگر ناهمانندی نگرش پژوهشگران یادشده در نخستین سال‌های کاربرد الکتروفورز و در کنار آن بازتاب کاربرد محیط‌های پایه سیترات آگارو ژل آگاروز می‌باشد اما گزارش Coffman (۱۹۶۹) و Osbaldiston (۱۹۷۲) تنها بخش آلفادو گلوبولین گزارش می‌گردد (Feldman و همکاران، ۲۰۰۰). Massip و Fumiere (۱۹۷۴) همراه با گزارش بخش آلفایک گلوبولین بخش‌های آلفادوc (α_{2c}) و آلفادو گلوبین را نیز جدا می‌کنند که با یافته‌های Kirk و همکاران (۱۹۸۰) هماهنگ است. از دیگر سو Kristensen و Firth (۱۹۷۷) آلفادو گلوبولین را نیافته‌اند و آلفادوc (α_{2c}) را گزارش می‌کنند که نشان از

پافشاری پژوهشگران نامبرده بر آراستگی واحد پروتئین‌های سازنده هر بخش شناخته شده در نمودار الکتروفورتوگرام دارد و نمی‌توان بر درستی آن پافشاری نمود (Radostitis، ۲۰۰۰؛ Papadopoulos و Kintzios، ۱۹۶۹). گزارش پژوهش‌های Kaneko (۱۹۸۰)، Bauer و همکاران (۱۹۸۵)، Kaneko (۱۹۸۹)، Barta و Arnold (۱۹۹۳) که همراه با جداسازی بخش‌های آلبومین، آلفایک، آلفادو، بتایک، بتادو و گاماگلوبولین می‌باشد همانندی بیش‌تری به چشم می‌خورد. تنها گزارش Bierer (۱۹۶۹) در بررسی ۱۰ رأس اسب نشان‌دهنده نوارهای گامایک و گامادو گلوبولین است. بهاری و همکاران (۱۳۸۰) با همین شیوه در بررسی ۳۸ رأس اسب کرد بخش پست آلبومین را در نمودار الکتروفورتوگرام یافته و بر پایه گزارش Cothran (۱۹۹۹) گمان برده‌اند که بیش‌ترین همانندی ژنتیکی میان اسبچه خزری، اسب کرد و اسب عرب می‌باشد. بهاری و همکاران (۱۳۸۰) در جداسازی بخش‌های آلفایک و آلفادو، بتایک و بتادو گلوبولین نیز موفق‌تر از رشیدی‌نیا (۱۳۷۴) بوده‌اند.

میزان پروتئین تام سرم خون اسبچه خزری نر ۷/۲ گرم در دسی‌لیتر و اسبچه خزری ماده ۷/۴ گرم در دسی‌لیتر و در ۹۴ نمونه اسبچه خزری ۷/۳ گرم در دسی‌لیتر به‌دست آمد. Kristensen و Firth (۱۹۷۷) میزان پروتئین تام سرم خون ۵۰ رأس اسب را که ۶ رأس از آن‌ها از نژاد عرب بوده‌اند ۵/۵-۴/۹ گرم در دسی‌لیتر گزارش نموده‌اند.

میزان میانگین آلبومین اسبچه خزری نر ۳/۶۳ و اسبچه خزری ماده ۳/۷۲ گرم در دسی‌لیتر می‌باشد. آشکار شد که روند تغییرات میزان میانگین آلبومین با تغییرات میانگین پروتئین تام همسو می‌باشد ($p<۰/۰۱$) و از آن‌جا که آلبومین بخش بزرگی از پروتئین تام سرم خون را دربر دارد همسویی یاد شده پذیرفتنی است (Meyer و Harvey، ۱۹۹۸؛ Pratt، ۱۹۹۶). روشن شد که میانگین اندازه آلبومین اسبان با افزایش سن کاهش می‌یابد ($p<۰/۰۱$) که با Bauer و همکاران (۱۹۸۵) در بررسی چگونگی میزان آلبومین در سال نخست زندگی کره اسب‌ها و رشیدی‌نیا (۱۳۷۴) همانند است و با گزارش Furr (۱۹۹۴) که از افزایش آلبومین پلاسمای خون اسب همزمان با افزایش سن یاد می‌کند هم‌خوانی ندارد.

میزان میانگین آلفایک گلوبولین سرم خون اسبچه خزری ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر و در اسبچه خزری نر ۰/۲ گرم در دسی لیتر و در اسبچه خزری ماده ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر به‌دست آمد. آن‌چه Kristensen و Firth (۱۹۷۷) در الکتروفورتوگرام بخش آلفا گلوبولین اسبان (۰/۹۷ گرم در دسی‌لیتر، ۱۴/۷ درصد) شناخته‌اند وآلفادو a ($\alpha_{۲a}$)، آلفادو aa ($\alpha_{۲aa}$)، و آلفادو ab($\alpha_{۲ab}$)، آلفادو b ($\alpha_{۲b}$)، نام گذارده‌اند می‌تواند همان بخش آلفایک یافت شده در پژوهش پیش‌رو باشد افزایش میزان آلفایک گلوبولین با کاهش میزان میانگین گامایک گلوبولین همراه است ($p<۰/۰۵$) و دگرگونی میزان میانگین آلفایک گلوبولین اسب‌های نر با میزان میانگین گلوبولین تام همسو است ($p<۰/۰۵$). به آن دلیل که آلفا گلوبولین بخشی از گلوبولین‌ها می‌باشد دستاوردی پذیرفتنی است.

میزان میانگین آلفادوگلوبولین سرم خون اسبچه خزری ماده ۰/۷ گرم در دسی لیتر به‌دست آمد. Kristensen و Firth (۱۹۷۷) میزان آلفا دو گلوبولین اسبان را ۱/۶۷ گرم در دسی‌لیتر (۲۰/۶ درصد) بدست آورده‌اند، ایشان الگوی آلفادو a ($\alpha_{۲a}$)، آلفادو b ($\alpha_{۲b}$) و آلفادو c ($\alpha_{۲c}$) را در اسبان غیرعرب و الگوی آلفادو aa ($\alpha_{۲aa}$)، آلفادو ab ($\alpha_{۲ab}$)، آلفادو b ($\alpha_{۲b}$) و آلفادو c ($\alpha_{۲c}$) را در اسبان عرب نمونه‌برداری شده یافته‌اند. شاید درست‌تر آن باشد که بخش آلفادو c ($\alpha_{۲c}$) ۰/۷ گرم در دسی‌لیتر (۱۰/۴ درصد) نمودار الکتروفورتوگرام اسبان را برابر با بخش آلفادو گلوبولین نمودار الکتروفورتوگرام اسبچه خزری دانست (Kristensen و Firth، ۱۹۷۷). میزان میانگین آلفادو گلوبولین اسبان با افزایش سن کاهش می‌یابد ($p<۰/۰۵$).

دگرگونی اندازه میانگین بتاگلوبولین با دگرگونی اندازه میانگین پروتئین تام و گلوبولین تام هماهنگی دارد ($p<۰/۰۱$) که پذیرفتنی است. زیرا بتا گلوبولین بخشی از پروتئین‌های سرم خون را دربر دارد. میزان میانگین بتا گلوبولین سرم خون اسبچه خزری دو فراکسیون بتایک و بتادو جدا شد که میانگین بتایک گلوبولین ۰/۷ گرم در دسی‌لیتر و میانگین بتادو ۰/۴ گرم در دسی‌لیتر می‌باشد. چنان‌چه در اسبچه‌های خزری نر میانگین بتایک ۰/۷ گرم در دسی‌لیتر و بتادو ۰/۴ گرم در دسی‌لیتر و در اسبچه‌های خزری ماده نیز بتایک ۰/۷ گرم در دسی‌لیتر و بتادو ۰/۴ گرم در دسی‌لیتر می‌باشد. ناهمسانی اندازه به‌دست آمده برای اسب‌های نر و ماده ($p<۰/۰۱$) پدیرفتنی است و نشانه‌ای از بازتاب جنس اسب در میزان بتا گلوبولین سرم خون می‌باشد.

در اسبچه خزری تنها یک بخش گاماگلوبولین مشاهده شده است که در اسبچه خزری ۳/۶ گرم در دسی‌لیتر، در اسبچه خزری نر ۳/۵ و در اسبچه خزری ماده ۳/۶ گرم در دسی‌لیتر می‌باشد. ناهمسانی اندازه به‌دست آمده برای اسب‌های نر و ماده ($p<۰/۰۵$) نمایشگر بازتاب جنس اسب در پروتئین‌های سرم خون می‌باشد. Bierer (۱۹۶۹) بی آن‌که بازتاب سن و جنس اسب را بسنجد تنها اندازه گامایک گلوبولین را ۱۲/۱ درصد

گزارش می‌نماید. Kristensen و Firth (۱۹۷۷) باور دارند که اندازه گاماگلوبین سرم خون اسب تا ۵ سالگی فزونی می‌گیرد و پس از آن میانگینی پایدار را به نمایش می‌گذارد. ایشان هم‌چنین گمان برده‌اند که هیچ‌یک از بخش‌های الکتروفورتیک پروتئینی سرم خون اسب‌ها با افزایش سن اسب وابستگی ندارد. تغییرات میزان میانگین گامایک گلوبولین با تغییرات میزان میانگین گامادو گلوبولین و نیز با میزان میانگین گلوبولین تام همسو می‌باشد ($p<۰/۰۱$) که نشان‌دهنده وابستگی ساختاری نوارهای گاماگلوبولینی که بخش بزرگی از پروتئین‌های گلوبولینی سرم خون را می‌سازند است.

Kristensen و Firth (۱۹۷۷) اندازه میانگین گلوبولین تام اسبان را ۴/۰ گرم در دسی‌لیتر (۵۴/۲ درصد) را گزارش نمودند که نزدیکی بسیاری با آن‌چه در پژوهش پیش‌رو به‌دست آمده است دارد. دگرگونی اندازه میانگین گلوبولین تام با دگرگونی اندازه میانگین پروتئین تام همسو می‌باشد ($p<۰/۰۱$) که‌دستاوردی پذیرفتنی است. میزان میانگین گلوبولین تام با افزایش سن فزونی می‌گیرد. افزایش میزان میانگین گلوبین تام با کاهش میزان نسبت آلبومین به گلوبولین همگام است ($p<۰/۰۱$). میزان میانگین نسبت آلبومین به گلوبولین اسبچه خزری چه اسبچه‌های نر و چه اسبچه‌های ماده ۱/۰۱ به‌دست آمد. بر پایه سنجش وابستگی آماری میان اندازه به‌دست آمده در اسبچه‌های خزری کاملاً همانندی وجود دارد ($p<۰/۰۵$).

میزان میانگین نسبت آلبومین به گلوبولین با افزایش سن کاهش می‌یابد. میزان و گونه پروتئین سرم خون در جانوران گوناگون همانند نبوده و ویژگی خود را دارد. پروتئین سرم خون اسب بستگی زیادی به تندرستی، خوراک، شیوه زندگی و کاربرد اسب، نژاد، سن، جنس، آبستنی و شیرواری، ناهنجاری‌های مادرزادی و ژنتیکی و فیزیولوژیک، پاسخ‌های آماسی و ایمنی، بیماری‌ها و گاه آزمون‌های ایمنی شناختی، مایه‌کوبی و نیز نئوپلازی‌ها دارد گرچه نبایستی روش و شیوه اندازه‌گیری و نیز شگرد کاربرد شیوه‌های آزمایشگاهی و هم‌چنین ویژگی و دامنه کارکرد و کارآیی آزمون‌های گوناگون سنجش پروتئین را فراموش نمود.

اگرچه نژادهای بسیاری از اسب شناخته شده است بسیاری از دانسته‌ها درباره سنجش پروتئین‌های سرم خون اسبان بر پایه دستاورد پژوهش‌هایی بنا شده است که نژاد ویژه‌ای را دستمایه بررسی خود ننموده‌اند و همواره دستاوردهای به‌دست آمده برای گونه «اسب» گزارش شده‌اند و آن دسته از پژوهشگران که به نژادی ویژه پرداخته‌اند اندک می‌باشند. گزارش‌های بسیاری از رهگیری تغییرات اندازه پروتئین‌های گوناگون سرم خون اسب در دست است که نیاز به اندازه‌گیری‌های پروتئین‌های هنجار سرم خون اسب را بایسته‌تر ساخته‌اند چرا که ارزشمندی اندازه‌گیری‌های پاتولوژیک همواره در سایه سنجش با اندازه‌های فیزیولوژیک نمود پیدا می‌کند.

منابع

۱. **بهاری، ع.ا.؛ راهی، ح. و چاله‌چاله، ع.، ۱۳۸۰.** دامنه مرجع برخی از آنزیم‌ها و الکترولیت‌های سرم در اسب‌های کرد. پژوهش و سازندگی. سال ۱۴، شماره ۵۲، صفحات ۷۲ تا ۷۵.

۲. **رشیدی‌نیا، م.ر.؛ مجابی، ع. و عباسعلی‌پورکبیره، م.، ۱۳۷۴.** اندازه‌گیری الکترولیت‌های سرم اسب‌های ایرانی (عرب و ترکمن). سومین گردهمایی دامپزشکان علوم بالینی ایران. مشهد.

3. **Ball, C., 1994.** Horse and pony breeds. Apple Press, London. Vol. 12, 179 p.

4. **Barta, O., 1993**. Veterinary clinical immunology laboratory. Bar-Lab. Inc. Vol. 2, 108 p.

5. **Bauer, J.E.; Harvey, J.W.; Asquith, R.L.; McNulty, P.K. and Kivipelto, J., 1985**. Serum Protein Reference Values in Foals During the First Year of Life: Comparison of Chemical and Electrophoretic Methods. Vet. Clin. Pathol. Vol. 14, pp: 14-22.

6. **Bierer, B.W., 1969.** Electrophoretic analysis of blood serum and plasma proteins of normal horses. Am J Vet Res. Vol. 30, pp: 2237-2240

7. **Bishop, M.L.; Engelkirk, J.L.P. and Fody, E.P., 2000.** Clinical chemistry principles procedures. Correlatios. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. 563 p.

8. **Blanchard, T.L., 1998.** Manual of equine reproduction. Mosby. 115 p.

9. **Coffman, J.R., 1969.** Clinical application of serum protein electrophoresis in the horse. In proceedings 14th Ann Meeting American Assocaition Equine practitioners. Philadelphia. pp: 265-279.

10. **Colahan, P.T.; Mayhew, I.G.; Merritt, A.M. and Moore, J.N., 1999.** Manual of equine medicine and surgery. Mosby. St. Louis. 510 p.

11. **Coles, E.H., 1986**. Veterinary clinical pathology. 4th Ed. W. B. Saunders Co. Philadelphia. pp: 267-278.

12. **Colvin, R., 1994.** Diagnostic immunopathology. 2nd ed. Raven Press. pp: 191-192.

13. **Cothran, E.G., 1999.** Genetic diversity in feral horse and burro populations. Proc. ISAG Conf. Germany. 92 p.

14. **Cowel, R.l. and Tyler, R.D., 2002.** Diagnostic cytology and hematology of the horse. 2nd ed. Mosby. St. Louis. 201 p.

15. **Dhanotiya, R.S., 1999.** Textbook of veterinary biochemistry. Jaypee. Newdelhi. 141 p.

16. **Duncan, R.J., 1994.** Veterinary laboratory medicine clinical pathology. 3rd ed. Iowa State Veterinary Press. 238 p.

17. **Eades, S.C. and Bounous, D.I., 1997.** Laboratory profiles of equine diseases. Mosby. St. Louis. 217 p.

18. **Feldman, B.F.; Zinkl, J.G. and Jain, N.C., 2000.** Schalm's verterinary hematology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. 1270 p.

19. **Frants R.R.; Hooghwinkel, A.W. and Eriksson, M., 1981.** Comparison of the PI patterns of $_{\alpha 1}$--antitrypsin on acid starch gel electrophoresis and isoelectric focusing. Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation. Vol. 41, No. 1, pp: 15-20.

20. **Furr, M.; Taylor, L. and Kronfeld, D., 1994.** The effects of exercise training on serum gastrin responses in the horse. Cornell Vet. Vol. 84, pp: 41-45.

21. **Hodgson, D.R. and Rose, R.J., 1664.** Principles and practice of equine sports medicine the athletic horse. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 432 p.

22. **Hulley, S.B.; Cook, W.S.; Wilson, M.Z.; Nichaman, F.T. and Hatch, F.T., 1971**. Quantitation of serum lipoproteins by electrophoresis on agarose gel: standardization in lipoprotein concentration units (mg/100 ml) by comparison with analytical ultra centrifugation. J of Lipid Research. Vol. 12, pp: 420-433.

23. **Irfan, M., 1967.** Electrophoretic pattern of serum proteins in normal animals. Research in Veterinary Science. Vol. 8, pp: 137-142.

24. **Kaneko, J.J., 1989.** Serum proteins and dysproteinemias, in kaneko, J.J. Ed: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4 th ed. Academic Press. pp: 97-118.

25. **Kaneko, J.J., 1980.** Serum proteins and dysproteinemias, in kaneko, J.J. Ed: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 3 Th Ed Orland, Fla. American press.

26. **Kirk, G.R.; Hutcheson, D.R. and Neats, S., 1975.** Electrophoretic pattern of serum protein in clinically normal horses and ponies with laminitis. Veterinary Medical Small Animal Clinics. Vol. 70, pp: 337-339.

27. **Kristensen, F. and Firt, E.C., 1997.** Analysis of serum proteins and cerebrospinal fluid in clinically normal horses. Using agarose electrophoresis. American Journal of Vaterinary Research. Vol. 38, pp: 1089-1092.

28. **Massip, A. and Fumiere, I., 1974.** Analyse electrophoretique des proteines du serum sanguin de chevaux adultes normaux ages de quatre a dix ans [Serum protein electrophoresis in adult horses (4-10 years old)]. Ann Med Vet. Vol. 118, pp: 221-229.

29. **Mattheeuws, D.R.G.; Kaneko, J.J.; Loy, R.G.; Cornelius, C.E. and Wheat, J.D., 1966.** Compart mentalization and turnover of I-labeld albumin and gamma globulin in horse. American Journal Veterinany Research.Vol. 27, pp: 699-705.

30. **Meyer, D.J. and Harvey, J.W., 1998.** Meyer & harvey veterinary laboratory medicine interpretation and diagnosis. 330 p.

31. **Orsini, J.A. and Divers, T.J., 1998.** Manual of equine emergencies treatment & procedures. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 712 p.

32. **Osbaldiston, G.W., 1972.** Serum protein fractions in domestic animals. British Veterinary J. pp: 386-393.

33. **Papadopoulos, N.M. and Kintzios, J.A., 1969.** Determination of human serum lipoprotein

patterns by agarose gel electrophoresis. Vol. 30, No. 3, pp: 421-422.

34. **Pesce, A.J. and Kaplan, L.A., 1987.** Method in clinical chemistry. C.V. Mosby Company. St. Louis. 1138 p.

35. **Pratt, P.W., 1996.** Laboratory procedures for veterinary technicians. 3rd ed. Mosby. St. Louis. 112 p.

36. **Radostitis, O., 2000.** Veterinary Clinical Examination and Diagnosis. W.B. Saunders. 478 p.

37. **Reed, S.M. and Bayly, W.M., 1998.** Equine internal medicine. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 945 p.

38. **Rose, N.R.; deMacario, E.G.; Folds, J.D.; lane, H.C. and Nakamura, R.M., 1997.** Manual of clinical laboratory immunology. 5th ed, American Society for Microbiology Press. Washington. 840 p.

39. **Tizzard, I.R., 2000.** Veterinary immunology an introduction. 6th ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 228 p.