ارزیابی میزان همبستگی ویتامین E سرم خون با شکنندگی اسموتیک گلبولهای قرمز در گوسفند

دکترسیامک عصری رضایی[1]* دکترعلی قلی رامین[1] دکترمریم کوکلانی فر[2]

دریافت مقاله: ۱۸ آبان‌ماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۴ تیرماه ۱۳۸۴

هدف: ارزیابی وضعیت ویتامین E سرم خون و میزان همبستگی آن با شکنندگی گلبول‌های قرمز و استفاده از این تست به عنوان معیاری برای تخمین سطح سرمی ویتامین E گوسفند.

طرح: مطالعه مشاهده ای.

حیوانات ۲۲۳ راس گوسفند (عمدتا نژادهای قزل و ماکویی).

روش: گوسفندان تحت مطالعه در ۳ گروه سنی کمتر از ۱ سال، بین ۱ تا ۲ سال و بالاتر از ۲ سال طبقه بندی و نمونه‌های خون از ورید وداج آنها اخذ گردید. مقادیر ویتامین E (آلفا توکوفرول) سرم با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کاربرد بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد. حساسیت شکنندگی اسموتیک گلبولهای قرمز با استفاده از آزمایش OFT مورد ارزیابی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: از نرم افزار SPSS و آزمون تجزیه واریانس Duncan، آزمون همبستگی و رگرسیون استفاده گردید.

نتایج: میانگین و انحراف معیار مقادیر ویتامین E در گروههای سنی کمتر از ۱ سال، بین ۱ تا ۲ سال و بالاتر از ۲ سال به ترتیب ۱/۴۶±۲۰/۷۸، ۰/۵۹±۲۲/۵۹ و ۰/۸۲±۲۳/۳۱ میکروگرم در میلی لیتر و برای MCF به ترتیب ۰/۰۱۸±۰/۵۲، ۰/۰۱۴±۰/۴۹ و ۰/۰۱۸±۰/۴۷ گرم در دسی لیتر تعیین گردید. مقایسه نتایج بدست آمده در خصوص ویتامین E و MCF در گروههای سنی تحت مطالعه نشاندهنده اختلاف آماری معنی‌داری در بین گروهها بود ($p<0/001$). بررسی نتایج آنالیز همبستگی بیانگر وجود ارتباط و همبستگی معنی داری بین مقادیر ویتامین E، سن حیوان و MCF بود ($p<0/001$)، بگونه‌ای که با افزایش سن حیوان، مقادیر ویتامین E به صورت معنی‌داری افزایش ($r=0/64$) و در مقابل از مقادیر MCF ($r=-0/70$) کاسته شد. بررسی رابطه بین شکنندگی گلبولهای قرمز (MCF) و مقادیر ویتامین E بیانگر وجود ارتباط منفی در حد $r=-0/91$, $p<0/001$ بود. بعبارتی بهتر با افزایش مقادیر ویتامین E پایداری غشاء گلبولهای قرمز بیشتر شده و شکنندگی اسموتیک آنها بشدت کاهش یافته و مقاومت گلبولهای قرمز در برابر محیط‌های هایپوتونیک افزایش می یابد.

نتیجه‌گیری: با استفاده از نتایج این مطالعه می توان چنین استنباط نمود که کمبود ویتامین E می تواند منجر به افزایش شکنندگی اسموتیک گلبول‌های قرمز در گوسفند گردد. همچنین براساس نتایج این تحقیق می توان نتیجه گیری نمود که تست شکنندگی گلبولهای قرمز می تواند بعنوان یک روش بسیار ارزان قیمت و سهل الوصول و آسان برای ارزیابی سطوح ویتامین E در گوسفند بکار گرفته شود. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۵، دوره ۶۱، شماره ۲، ۱۵۹-۱۵۵.

واژه‌های کلیدی: ویتامین E، شکنندگی اسموتیک گلبول‌های قرمز، MCF، گوسفند.

۱) گروه علوم در مانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.
۲) دانش آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.
*) نویسنده مسؤول: s.asri@urmia.ac.ir

Evaluation of Correlation Between Serum Vitamin E Status and the Erythrocyte Osmotic Fragility in Sheep

Asri Rezaei, S.[1], Ramin, AG.[1], Koukalanifar, M.[2]

[1]Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia-Iran.[2]Graduated student, Faculty of Veterinry Medicine, University of Urmia, Urmian-Iran.

Objective: Evaluation of serum vitamin E status and its Correlation with erythrocyte osmotic fragility in sheep.
Design: Observational study.
Animals: sheep.
Procedure: Blood samples were collected from 223 clinically healthy sheep from different ages of Gezel and Makoei breeds. The animals were assigned into 3 age groups: less than 1year, 1 to 2 years and >2 years old. Serum vitamin E concentrations were determined using HPLC method . Osmotic fragility test (OFT) was carried out by preparing hypotonic saline solution. Mean corpuscular fragility (MCF) was assessed by OFT.
Statistical Analysis: Data was analyzed by SPSS, using one-way analysis of variance (Duncan's test). Regression correlation analysis was used to estimate an appropriate equation.
Results: Mean and standard deviation of serum vitamin E in sheep less than 1 year, between1-2 years and >2 years old were 20.78±1.46, 23.31±0.82 and 23.31±0.82 μg/ml and for MCF were 0.52±0.018, 0.47±0.018 and 0.49±0.014 g/dl, respectively. Comparison of the means among three groups showed significant differences (P<0.001) for both vitamin E and MCF values. Regression correlation analysis showed that rising the age of the animals increased vitamin E Levels (r=0.64, P<0.001) and decreased MCF values (r=-0.70, P<0.001). There was a negative correlation between vitamin E and MCF values (r=-0.91, P<0.001). According to this finding, estimated regression equation for vitamin could be as Y = -48.24X + 46.20 (r2 = 0.83, P<0.001); Y = Vit.E (μg/ml), X = MCF (g/dl)
Clinical implications: According to the results of this study, it can be concluded that OFT (MCF) is a cheap and easy method for evaluation of vitamin E status in sheep.
J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 61,2:155-159,2006.
Keyword: vitamin E, OFT, RBC, MCF, sheep.
Corresponding author's email: s.asri@urmia.ac.ir

با توجه به پیشرفت علم تغذیه در انسان و دام و روشن شدن علت بسیاری از بیماریهای اکتسابی و مادرزادی، نقش مهم و اساسی ویتامینها آشکارتر گردیده

است(۱۹). در این راستا ویتامین هایی با خاصیت آنتی اکسیدانی نظیر ویتامین Eبه خاطر اثرات مهم و حیاتی در سلامتی بدن و جلوگیری از بیماریهایی نظیر بیماری عضله سفید بره‌ها بیشتر مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته‌اند. آنتی اکسیدانت‌ها ترکیباتی هستند که می توانند رادیکال های آزاد را از بین برده و ساختارهای داخل سلولی را در برابر اثرات مخرب آنها محافظت نمایند(۳). رادیکال های آزاد بخصوص رادیکالهای آزاد مشتق از اکسیژن در ارگانیسم‌های هوازی در طی متابولیسم اکسیداتیو فیزیولوژیک و یا فیزیوپاتولوژیک میتوکندریها تولید می‌شوند. این ترکیبات می توانند با طیف وسیعی از بیومولکولها شامل لیپیدها، کربوهیدراتها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و سایر ماکرومولکولها واکنش داده و در نتیجه عملکرد سلولها را متاثر و مختل نمایند(۱۹).

تحت شرایط فیزیولوژیک تعادل بسیار مهمی مابین تولید رادیکالهای آزاد مشتق از اکسیژن و سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی مورد استفاده توسط ارگانیسم‌ها به منظور حذف رادیکالها و محافظت سلول‌ها در برابر سمیت رادیکالهای آزاد وجود دارد. استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل ما بین رادیکالها و سیستم‌های حذف کننده رادیکالها می باشد بعبارتی دیگر افزایش تولید رادیکالهای آزاد یا کاهش فعالیت سیستم‌های آنتی اکسیدانتی و یا هر دو حالت فوق منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. استرس اکسیداتیو امروزه بعنوان یکی از اجزای مکانیسم ایجاد ضایعات مولکولی و سلولی بافتهای بدن ارگانیسم‌های زنده و نیز ایجاد بیماریهای مختلف در انسان و حیوانات محسوب می‌شود (۲۳).

ویتامین E یک آنتی اکسیدانت مهم شکننده زنجیر محلول در چربی بوده و غشاهای بیولوژیک را در برابر پراکسیداسیون لیپید محافظت می نماید(۲۲). کمبود ویتامین E قابلیت انعطاف پذیری و بد شکل شدن اریتروسیت‌ها و نیز بقای آنها را کاهش داده و حساسیت آن‌ها را به ضایعات اکسیداتیو و چسبندگی آن‌ها را به سلولهای اندوتلیال افزایش می دهد(۲۳). Evstigneeva و همکاران در سال ۱۹۹۸ گزارش نمودند که ویتامین E در واکنش‌های دفاعی آنتی اکسیدانی در غشاهای بیولوژیک بخصوص غشا گلبولهای قرمز شرکت و در تمام مراحل ضایعات اکسیداتیو غشا بعنوان اولین سد دفاعی در برابر پراکسیداسیون اسیدهای چرب با چندین پیوند مضاعف (PUFA) وارد می‌شود(۹). بنابر این تنظیم غلظت α توکوفرول در غشاها به منظور حفظ ساختار و عملکرد غشاء اریتروسیت‌ها بسیار مهم و حیاتی می‌باشد. غشاء اریتروسیت‌ها بسیار مستعد به پراکسیداسیون لیپیدها بوده و این امر بدلیل تماس دایمی سلول با میزان بالای اکسیژن و غنی بودن غشا از اسیدهای چرب با چندین پیوند مضاعف می‌باشد، از این رو سیستم‌های دفاعی کارآمد در گلبولهای قرمز هم در سیتوزول و هم در غشا سلول قرار گرفته‌اند(۸).

در غشاء گلبولهای قرمز رابطه بسیار نزدیکی مابین میزان شکنندگی گلبولهای قرمز و غلظت α توکوفرول وجود دارد. بعنوان مثال در افراد مبتلا به لنفوم بدخیم و دیابت ملیتوس تیپ II مقادیر ویتامین E موجود در غشا گلبولهای قرمز بمراتب کمتر از مقدار آن در افراد سالم بوده و همزمان میزان شکنندگی گلبولهای قرمز در این دسته از بیماران بیشتر از گروه کنترل می‌باشد. رابطه مثبت ما بین کمبود ویتامین E و تولید پراکسید لیپیدها و نیز افزایش شکنندگی گلبولهای قرمز توسط نیز گزارش شده است(۸).

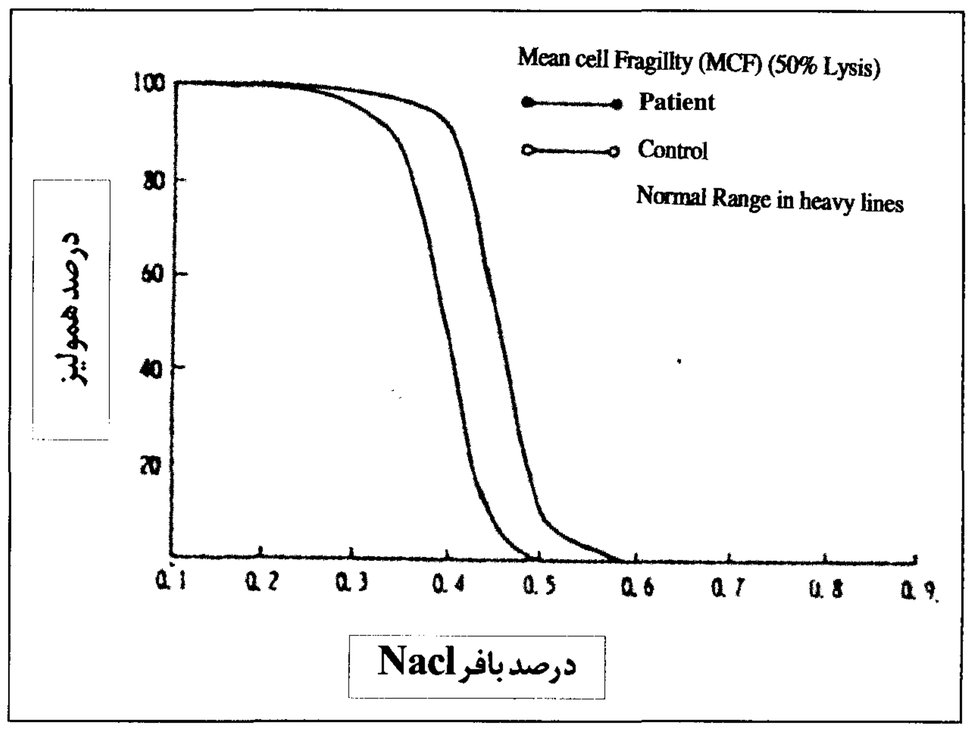
آزمایش شکنندگی اسموتیک، حساسیت گلبولهای قرمز را به تغییرات فشار اسموتیک مورد ارزیابی می‌کند. این حساسیت در حالات پاتولوژیک مختلف تغییر می‌کند. در واقع می توان تمامیت گلبولهای قرمز را با اندازه‌گیری تغییرات شکنندگی اسموتیک اریتروسیت‌ها مورد مطالعه قرارداد. اندازه گیری شکنندگی اسموتیک اریتروسیت‌ها برای تشخیص و مطالعه تغییراتی که منجر به تخریب اریتروسیت‌ها همچون بیماریهای همولیتیک می‌گردد بکار گرفته می‌شود(۱۳). عوامل متعددی بر روی شکنندگی اسموتیک گلبول های قرمز موثر است. از این رو ضروری است عوامل موثر بر روی آن، در هر گونه حیوانی بخوبی شناسایی گردد. این عوامل عبارتند از pH، دمای خون، افزایش جریان خون و رها شدن اریتروسیت‌ها از طحال به گردش خون، افزایش جریان خون و رها شدن اریتروسیت‌ها از طحال به گردش خون، افزایش دمای بدن و خون در طی فعالیت بدنی(۱۲)، مواد ضد انعقاد (EDTA، هپارین)(۱۵)، کمبود روی جیره غذایی(۱۷)، داروهای ضد سرطانی (نظیر تاموکسی فن) سیسپلاتین(۴) و اسید مفنامیک، استامینوفن(۱) (بادزبالا).

با توجه به تاثیر گذاری فاکتورهای تکنیکی و محیطی بر نتایج آزمون OFT محققین توصیه نموده‌اند که هر آزمایشگاهی یک روش استاندارد و ساده را برای تمام نمونه‌های مورد آزمایش اعمال نموده و بایکسان نمودن شرایط آزمایش امکان مقایسه نتایج را فراهم سازند(۱۵).

گزارشات موجود نشاندهنده ارتباط نزدیک ما بین شکنندگی گلبولهای قرمز و مقادیر ویتامین E در سرم خون می‌باشد. به عبارتی بهتر به نظر می‌رسد با کاهش سطوح ویتامین E در غشا گویچه‌های سرخ مقاومت آنها در برابر استرس اکسیداتیو کاهش یافته و در نتیجه تمامیت غشا دستخوش اختلال می‌گردد و بدین ترتیب سلول مستعد لیز و تخریب می‌گردد. استفاده از آزمون شکنندگی اسموتیک گلبول های قرمز علاوه بر سایر مصارف بالینی (نظیر تشخیص اختلالات خونی) امروزه برای تخمین تقریبی مقادیر این ویتامین در خون انسان نیز استفاده می‌شود(۲۶). در این خصوص با توجه به شیوع بیماری عضله سفید در بره‌ها و فقدان منابع و اطلاعات در خصوص وضعیت ویتامین E در گوسفندان منطقه ارومیه و نیز عدم وجود روشی مناسب برای ارزیابی و تخمین مقادیر این ویتامین در سرم خون گوسفندان، مطالعه حاضر صورت پذیرفت.

مواد و روش کار

نمونه گیری: در این مطالعه ۲۲۳ رأس گوسفند عمدتاً از نژادهای قزل و ماکویی نگهداری شده در مرکز دامپروری دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه و دامداری‌های صنعتی اطراف ارومیه بدون در نظر گرفتن جنس انتخاب شده و متعاقب ثبت سن حیوان، نمونه‌های خون از ورید وداج اخذ گردید. از هر گوسفند ۵ میلی لیتر خون با استفاده از لوله‌های و نوجکت گرفته شد. حدود ۲ml از خونهای اخذ شده با ماده ضد انعقاد EDTA مخلوط گشته و بلافاصله



صویر۱- میزان شکنندگی گلبول‌های قرمز در محیط‌های هایپوتونیک.

برای ارزیابی شکنندگی گلبولهای قرمز((Osmotic fragility test (OFT) بکار گرفته شدند. بقیه خون متعاقب لخته شدن برای جدا سازی سرم بکار برده شد. نمونه‌های سرم تا زمان اندازه‌گیری ویتامین E با استفاده از HPLC در دمای $-20^{o}C$ فریز گشته و نگهداری شدند. به منظور ارزیابی سلامتی دام‌های تحت مطالعه، آزمایشات تکمیلی شامل CBC و اندازه‌گیری برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون نظیر پروتئین تام، آلبومین، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، ازت اوره خون (BUN) و کراتینین صورت گرفت. براساس نتایج حاصله دامهای بیمار جمعا ۲۳ راس از مطالعه حذف گردیدند.

اندازه‌گیری ویتامین E با HPLC: به منظور اندازه‌گیری ویتامین E از روش ارایه شده توسط Stevenson و همکاران در سال ۱۹۸۹ با استفاده از دستگاه HPLC از مدل Pharmacia LKB (Sweden) استفاده گردید(۲۴). این دستگاه دارای پمپ مدل ۲۲۴۸، Commander مدل LCC 2252، دتکتور Detector، مدل Pharmacia Uvicord VW 2251، دستگاه injector مدل 7-Valve PV و Recorder مدل (C-R6A- chromatopac, Shimadzu- japan) استفاده گردید. ستون اختصاصی برای اندازه‌گیری ویتامین E در این مطالعه از نوع Hypersil ODS Column (10 mm * 5mm), Particle size 5 ¼mol/l, Chrompack, Netherland انتخاب گردید.

آزمون شکنندگی اسموتیک گلبول‌های قرمز: به منظور ارزیابی شکنندگی اسموتیک گلبول‌های قرمز بر اساس متد Chanarian 1989 محلول‌های هیپوتونیک از بافر سدیم کلراید تهیه و مورد استفاده قرار گرفت(۱۱). میزان همولیز گلبول‌های قرمز با استفاده از اسپکتروفتومتر (UK Comspec - M 330;) مورد سنجش قرار گرفت. منحنی همولیز ترسیم و حداقل و حداکثر همولیز و نیز غلظتی از نمک که منجر به همولیز ۵۰ درصد گلبول‌های قرمز می‌گردد ((Mean corpuscular fragility (MCF)) اندازه‌گیری گردید(تصویر۱).

آنالیز آماری: به منظور ارزیابی آماری نتایج بدست آمده، از نرم افزار SPSS استفاده گردید. در این مطالعه دام‌های مورد مطالعه در ۳ گروه سنی تقسیم و مقادیر ویتامین E و MCF در گروههای تحت مطالعه با استفاده از

جدول۱- مقایسه میانگین ویتامین E (µg/ml)در گروه‌های سنی.

گروههای سنی	تعداد	میانگین	انحراف معیار	خطای استاندارد
کمتر از یک سال	۵۱	۲۰/۷۸	۱/۴۶	۰/۲۰
۱تا۲سال	۵۰	۲۲/۵۹	۰/۵۹	۰/۰۸
بیش از ۲ سال	۹۹	۲۳/۳۱	۰/۸۲	۰/۰۸
تعداد کل	۲۰۰	۲۲/۴۹	۱/۴۳	۰/۱۰

آنالیز واریانس (One way ANOVA) آزمون‌های دانکن و بونفرونی مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین جهت ارزیابی ارتباط ما بین فاکتورهای مورد مطالعه از آنالیز رگرسیون و همبستگی استفاده گردید.

نتایج

مقادیر ویتامین E: میانگین ویتامین E در این مطالعه بر حسب گروههای سنی در جدول۱ درج شده است. بررسی نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way - ANOVA) در گروههای تحت مطالعه نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌داری مابین گروهها بود(P<۰/۰۰۱). همان‌گونه که نتایج نشان می‌دهد با افزایش سن مقادیر سرمی ویتامین E افزایش یافته و مقادیر بیشتر ویتامین E در سنین بالا مشاهده می‌شود (P<۰/۰۰۱).

مقادیر MCF: میانگین و انحراف معیار MCF بر حسب مقادیر NaCl(g/dl) در گروههای سنی در جدول۲ درج شده است. نتایج آنالیز واریانس یک طرفه در گروههای سنی تحت مطالعه نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌داری ما بین گروهها می‌باشد(P<۰/۰۰۱). نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که مقادیر MCF در گوسفندان کمتر از یک سال بیشتر از بقیه بوده و با افزایش سن کاهشی در مقادیر MCF مشاهده می‌شود.

آنالیز همبستگی (رگرسیون): نتایج آنالیز رگرسیون بیانگر وجود همبستگی معنی‌داری ما بین مقادیر ویتامین E، سن حیوان و MCF بوده است(جدول۳). همانگونه که مشاهده می‌شود با افزایش سن دام مقادیر ویتامین E، بصورت معنی‌داری افزایش و به‌طور عکس از مقادیر MCF کاسته می‌شود. این رابطه از نظر آماری معنی دار می‌باشد (P<۰/۰۰۱).

بررسی رابطه ما بین شکنندگی گلبولهای قرمز (MCF) و مقادیر ویتامین E بیانگر وجود ارتباط منفی در حد r = -۰/۹۱ (P<۰/۰۰۱)بود. بعبارتی بهتر هر چه مقادیر ویتامین E سرم خون افزایش می‌یابد، پایداری غشاء گلبولهای قرمز بیشتر شده و حساسیت به شکنندگی اسموتیک آن‌ها به شدت کاهش می‌یابد.

با استفاده از نتایج آنالیز همبستگی می‌توان فرمول زیر را جهت تخمین حدودی ویتامین E با استفاده از میزان MCF در گوسفندان به ظاهر سالم ارایه نمود.

$$Y = -48.24\,X + 46.20$$

$$Y = VitE(\mu g/ml), X = MCF(g/dl), (R2 = 0.83, P<0/001)$$

جدول ۲- مقایسه مقادیر (MCF(g/dl در سه گروه سنی.

گروههای سنی	تعداد	میانگین	انحراف معیار	خطای استاندارد
کمتر از یک سال	۵۱	۰/۵۲	۰/۰۱۸	۰/۰۰۲
۱تا۲سال	۵۰	۰/۴۹	۰/۰۱۴	۰/۰۰۲
بیش از ۲سال	۹۹	۰/۴۷	۰/۰۱۸	۰/۰۰۱
تعداد کل	۲۰۰	۰/۴۹	۰/۰۲۶	۰/۰۰۱

بحث

ویتامین E یکی از ویتامین‌های محلول در چربی بسیار مهم بوده که نقش برجسته‌ای را در سیستم‌های آنتی اکسیدانی در فاز لیپیدی ارگانیسم‌های زنده ایفا می‌نماید. کمبود این ویتامین منجر به ایجاد عوارض و اختلالات بسیار گسترده‌ای در حیوانات اهلی و انسان می‌گردد. لزوم دسترسی به تکنیک و روش‌های آزمایشگاهی به منظور اندازه‌گیری سریع و راحت این ویتامین به عنوان یکی از ضروریات مورد توجه بسیاری از کلینیسین‌ها قرار گرفته است.

مقادیر ویتامین E در سرم خون گوسفندان در این مطالعه (میانگین و خطای استاندارد ۲۲/۴۹±۰/۱μg/ml بود که با مقادیر گزارش شده توسط Al-Senaidy در سال ۱۹۹۶ و McDowell و همکاران در سال ۱۹۹۶ همخوانی کاملی را نشان می‌دهد. این محققین مقادیر کمتر از ۱/۵ میکروگرم در میلی لیتر ویتامین E در خون را بعنوان کمبود و بالاتر از ۴ میکروگرم در میلی لیتر رابعنوان مقادیر کافی ویتامین E در گروههای در دام‌های تحت مطالعه گزارش نموده‌اند. بررسی نتایج بدست آمده در این مطالعه بیانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار در مقادیر ویتامین E درگروههای سنی مختلف در دام‌های تحت مطالعه بود(P<۰/۰۰۱). نتایج آنالیز رگرسیون و همبستگی نشان داد که با افزایش سن به مقادیر ویتامین Eخون افزوده می‌شود (r= ۰/۶۴, P<۰/۰۰۱). این امرمی تواند به نوعی تاثیر کمیت و کیفیت مواد غذایی مصرفی را بر مقادیر ویتامین Eخون نشان دهد. در این رابطه گزارش شده است که ویتامین E از جفت عبور ننموده ولیکن در آغوز تجمع می‌یابد. بدین ترتیب گوساله تازه متولد شده با کمبود ویتامین E مواجه بوده و می‌بایست آنرا از آغوز تامین نماید و نقص در این امر منجربه کمبود و ایجاد عوارض سوء آن در گوساله‌های تازه متولد شده می‌شود(۱۸). با آغاز تغذیه از گیاهان، مقادیر ویتامین Eخون افزوده شده لذا عوارض ناشی ازکمبود آن تخفیف می‌یابد. این امر شاید به نوعی علل بروز کمبود ویتامین E در بره‌ها را توجیه نماید.

نتایج ارزیابی شکنندگی اسموتیک گلبولهای قرمز در گوسفندان (MCF) بطور کامل با نتایج گزارش شده توسط Jain و همکاران در سال ۲۰۰۰ همخوانی دارد. طبق نتایج بدست آمده در گوسفندان جوان تر حساسیت گلبولهای قرمز بالاتر می‌باشد و در حیوانات بالغ میزان حساسیت اریتروسیت‌ها به محیطهای هایپوتونیک کاهش می‌یابد. بررسی میزان

جدول ۳- آنالیز همبستگی (r) مابین مقادیر ویتامین E, MCF و سن.

متغیرها	MCF	ویتامین E
سن	-۰/۷۰ ***	۰/۶۴***
ویتامین E	-۰/۹۱ ***	--

***=(P<۰/۰۰۱).

شکنندگی اسموتیک اریتروسیت‌ها در حیوانات تحت مطالعه مبین وجود اختلاف آماری معنی داری ما بین گروههای سنی در دام‌های تحت مطالعه بود(P<۰/۰۰۱).

نتایج مطالعه حاضر بیانگر وجود همبستگی معنی دار منفی بین مقادیر ویتامین E و شکنندگی اسموتیک گلبول قرمز (MCF) می‌باشد(P<۰/۰۰۱, r = -۰/۹۱) که با گزارشات Stevenson و Jones در سال ۱۹۸۹ همخوانی کاملی را دارد. محققین فوق گزارش نمودند که تجویز ویتامین E به گوسفندان مبتلابه کمبود ویتامین E، غلظت α توکوفرول پلاسما را افزایش داده و فعالیت CK کاهش یافته و حساسیت به همولیز گلبولهای قرمز بشدت کاهش می‌یابد(۲۴). Pillai و همکاران در سال ۱۹۹۲ از شکنندگی اریتروسیتها بعنوان معیاری برای مطالعه وضعیت ویتامین E در سگهای بالغ استفاده نمودند. نتایج حاصل از مطالعه این محققین نشان می‌دهد که با افزایش غلظت α توکوفرول از میزان همولیزگلبولهای قرمز به میزان قابل توجهی کاسته می‌شود(r=-۰/۸۹) که همچنان با نتایج این تحقیق همخوانی کامل را دارد(۲۱).

در نهایت بر اساس نتایج این تحقیق می توان نتیجه‌گیری نمود که شکنندگی گلبولهای قرمز می تواند به عنوان یک روش بسیار ارزان قیمت و سهل الوصول و آسان برای ارزیابی سطوح ویتامین E و میزان و یاشدت استرس اکسیداتیو گلبولهای قرمز در گوسفند مشابه انسان بکار گرفته شود. علیرغم اینکه نتایج این آزمایش خود می تواند متاثر از برخی فاکتورهای محیطی یا بیماریهای مختلف قرار داشته باشد امّا با توجه به اینکه هزینه اندازه‌گیری ویتامین E توسط دستگاه HPLC بسیار بالا می باشد و جز مصارف تحقیقاتی نمی توان از این روش برای تشخیص کمبود ویتامین E در حیوانات استفاده نمود، استفاده از آزمون OFT بعنوان معیاری برای تخمین این ویتامین می تواند مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Ahmad, I., Suhail, M. (2002) Protective role of vitamin E on Mefenamic acid-induced alterations in erythrocytes. Biochemistry (Moscow). 67: 945-948.
2. Al - Senaidy, A.M. (1996) Distribution of alpha and gamma tocopherols within blood fractions of ruminants. Comp Biochemi Physiol. part A, Physiology. 115 A :223-227.
3. Bhagavan, N.V. (1992) Medical Biochemistry. Jones and Bartlett Publishers. USA, PP. 898-899.
4. Bogin, E., Marom, M., Levi, Y.(1994) Changes in serum, liver and kidneys of Cisplatin- treated rats, effects of antioxidants. Israel Med. 32:843-51.
5. Brzezinska, S.E. (2001) Erythrocyte osmotic fragility test as the measure of defense against free radicals in rabbits of different age. Acta Vet Hun. 49: 413-419.
6. Cruz Silva, M.M., Madeira, V.M., Almeida, L.M., Custodio, J.B. (2000) Hemolysis of human erythrocytes induced by Tamoxifen in related to disruption of membrane structure. Biochem Biophys Acta. 1464: 49-61.
7. Cruz Silva, M.M., Madeira, V.M., Almeida, L.M., Custodio, J.B. (2001) Hydroxytamoxifen interaction with human erythrocyte membrane and induction of permeabilization and subsequent hemolysis. Toxicology. 15: 615-22.
8. Evitsland, J.(2000) Safety considerations of PUFA. Am Clin Nutr. 71: 1975-2015.
9. Evstigneeva, R.P., Volkov, I.M., Chudinova, V.V. (1998) Vitamin E as an universal antioxidant and stabilizer of biological membranes. Membrane Cell Biol.12: 151- 172.
11. Chanarin, I. (1989) Laboratory Hematology, an account of laboratory techniques, Churchill Livingstone publisher., London, PP. 94-97.
12. Hanzawa, K., Kai,M., Hiraga, A., Watanabe, S.(1999) Fragility of red cells during exercise is affected by blood pH and temperature. Equ Vet Suppl. 30: 610-611.
13. Jain, S.K., Mohammad A.S, N., Clark, M.R., Shobel, S.B.(1983)The effect of MDA a product of lipid per oxidation on the deformability, dehydration and Cr survival of erythrocytes. Brit Hematol. 53: 247-252.
14. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain,N.C. Schalm's Veterinary Hematology, (2000) Lippincott Williams & Wilkins; USA, PP. 1017; 127; 178.
15. Kafka, M., Yermiahu, T. (1998) The effect of the EDTA as an anticoagulant on the osmotic fragility of erythrocytes. Clin Labo Hematol. 20: 213-6.
16. Kolanjiappan, K., Manoharan, S. (2002) Measurement of erythrocyte lipids, lipid per oxidation, antioxidants and osmotic fragility in cervical cancer patients. Clin Chem Acta. 326: 143-149.
17. Kraus, A., Roth, H.P., Kirchegessner, M.(1997) Supplementation with Vitamin C, Vitamin E or Beta Carotene influences osmotic fragility and oxidative damage of erythrocytes of zinc - deficient rats. J Nutr Med. 127: 1290-6.
18. Mc Dowell, L.R., Williams, S.N., Hidiroglou, N., Njeru, C.A., Hill, G. M., Ochoa, L. and Wilkinson, N.S. (1996) Vitamin E supplementation for the ruminant. Animal Feed Sci Technol. 60: 273-296.
19. Murray,R.K., Granner,D.K, Mayes, P.A., Rodwell, V.W., Harper's biochemistry, (2000) Appelton & lange publishers; 24th ed. USA, PP. 592-593.
20. Lee, G.R., Bithell, T.C., Foerster, J., Athens, J.W., Lukens, J.N., Wintrobe's clinical hematology, (1993) Lea & febiger publisher; 9th ed., Volume II, Philadelphia, USA, PP.172-173; 980-981.
21. Pillai, S.R., Steiss, J.E., Traber, M.G., Kayden, H.J., Wright, J.C. (1992) Comparison of four erythrocyte fragility tests as indicators of vitamin E status in adult dogs. J Comp Pathol. 107:399-410.
22. Scholz, R.W., Reddy, P.V., Wynn, M.K., Graham, K.S., Liken, A.D., Campricht, E. and Reddy, C.C.(1997) Glutathione - dependent factors & inhibition of rat liver microsomal lipid per oxidation. Free Rad Biol Med. 23: 815-828.
23. Shinozaki, K., Takeda, H., Inazu, M., Matesumiya, T., Takasaki, M. (2002) Abnormal incorporation and utilization alpha - tocopherol in erythrocyte membranes of Streptozotocin- induced diabetic rats. Eur J Pharmacol. 456 :133-139.
24. Stevenson, L.M., Jones, D.G. (1989) Relationships between vitamin E status and erythrocyte stability in sheep. J Comp Pathol. 100:359-368.

25. Stockham, S.L., Scott, M.A. (2002) Fundamentals of veterinary clinical pathology, Iowa State Press; A Blackwell Publishing Company, USA, PP.170-175.
26. Williams, W.J., Beutler, E., Erslev, A.J., Lichtman, M.A.(1990) Hematology, Mcgraw-Hill Publishing Company , Volume 1, 4th ed, USA, PP.1726, 1727.