بررسی تجربی اثرات هپارین بر تغییرات هموگرام، فاکتورهای بیوشیمیایی خون و میزان تراوش بیلی روبین صفراوی در گوسفند

●خداداد مستغنی، استاد گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی شیراز
●مهرداد پورجعفر، استادیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد کازرون

✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۳۶، پائیز ۱۳۷۶

چکیده

در این بررسی، اثرات داروی هپارین بر دگرگونیهای ساختار خون، سازه‌های زیست شیمیایی خون و میزان تراوش صفرا و بیلی روبین صفراوی در ۱۰ رأس گوسفند نر نژاد آمیخته ایرانی، با قراردادن کانول در روده دوازدهه و کیسه صفرا مورد ارزیابی قرار گرفت. هپارین به میزان ۲۱۴ واحد برای هر کیلوگرم وزن بدن از راه درون سیاهرگی یکبار، و میزان ۶۴۰ واحد در هر ۱۲ ساعت، برای ۵ روز زیر پوستی تزریق گردید. یافته‌های به دست آمده از بررسی نمونه‌های خون و صفرا در زمان‌های گوناگون نشان می‌دهد که تعداد گویچه‌های قرمز، میزان هماتوکریت و غلظت هموگلوبین در روز دوم پس از تزریق هپارین، در مقایسه با میزان طبیعی آنها کاهش معنی‌داری یافتند ($P<0/01$)، اما تعداد گویچه‌های سفید و شمارش تفریقی و میزان آنزیم‌های ALT و AST و ALP در روزهای پس از تزریق، تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. از سویی، غلظت بیلی‌روبین سرم غلظت بیلی‌روبین صفراوی و میزان تراوش صفرا در روز دوم پس از تزریق هپارین، در مقایسه با میزان طبیعی آنها، افزایش معنی‌داری داشتند. از یافته‌های این بررسی، افزون بر تعیین میزان درمانی هپارین در گوسفند، می‌توان چنین پیشنهاد نمود که، تزریق میزان زیاد هپارین، سبب افزایش همولیز برون رگی می‌گردد. آشکارا، کاهش گویچه‌های قرمز به وسیله سیستم رتیکولوآندوتلیال، کاتابولیسم هِم، افزایش غلظت بیلی‌روبین سرم، افزایش غلظت بیلی‌روبین صفراوی و حجم صفرا بر روی هم می‌تواند این فرضیه را تأیید نماید که هپارین توان فعال نمودن دستگاه رتیکولوآندوتلیال را دارد.

مقدمه

ماده‌ای به نام هپارین با سالها استفاده گسترده درمانگاهی و در پی پژوهشهای فراوانی که در رابطه با ویژگیهای زیست شیمیایی آن صورت پذیرفته، همچنان موضوع گفتگوی زیادی در رابطه با تأثیرات شگفت‌انگیز آن می‌باشد (۹، ۱۳، ۱۴، ۱۷ و ۱۹).

بررسی انجام شده بوسیله پژوهش‌گران آمار سازمان بهداشت جهانی نشان داده است، هنگامی که دو هپارین ساخته شده از دو منبع متفاوت با یکدیگر مقایسه گردند، در جلوگیری از فرآیند انعقاد، تفاوتی نزدیک به ۴۰ تا ۵۰ درصد مشاهده می‌شود. این یافته نشان می‌دهد، اگر چه هر دو نوع هپارین از نظر درمانگاهی ویژگی مشترکی دارند اما تفاوت چشمگیری در دیگر اثرهای زیست شیمیایی هپارین وجود دارد. بررسی هپارین‌های تجارتی نشان داده است که نزدیک به ۱۲۰ نمونه گوناگون هپارین با تعداد زیادی مولکولهای ناهمگون جدا گردیده است. بنابراین تأثیرات زیستی مشاهده شده از هپارین‌های تجارتی (همانند شرکت در واکنشهای ایمیونولوژیک تا جلوگیری از فعالیت هورمونها) را می‌توان از دیدگاه ناهمگونی ساختار شیمیایی هپارینها تفسیر نمود (۱۵).

افزون بر فرآیند ضد انعقادی هپارین، می‌توان به شرکت این دارو در فعال سازی لنفوسیتها، جلوگیری از فرآیند فیزیولوژیک ترکیبهایی مانند هیستامین، برادی کینین و پروستاگلاندین و همچنین کاهش شدت واکنش آنافیلاکسی اشاره نمود (۱، ۲، ۳ و ۹). گزارشهای پراکنده‌ای از اثر گذاری سودمند هپارین بر برخی از اختلالهای خود ایمنی همانند بعضی از انواع میگرن در انسان وجود دارد. همچنین ناسازگاری اثر هپارین که ممکن است ناشی از میزان به کار برده شده و یا نوع هپارین باشد نیز گزارش شده است (۱، ۱۵ و ۱۹). دیگر خواص گزارش شده هپارین را می‌توان حل نمودن سنگ مجرای صفرا و کاهش هماتوکریت نام برد (۷، ۱۱ و ۱۹). در مورد کاهش هماتوکریت چنین بیان شده که این کار ممکن است در اثر افزایش فرآیند بیگانه خواری سیستم رتیکولوآندوتلیال بر روی گویچه‌های قرمز باشد. چنانچه فرضیه یاد شده، درست باشد، می‌باید افزایش متابولیسم هِم نیز آشکار شود. بدینگونه که در روند طبیعی تخریب گویچه‌های قرمز، هِم به وسیله سیستم رتیکولوآندوتلیال به بیلی‌روبین تجزیه می‌گردد.

از سوی دیگر گزارش مبنی بر اثر هپارین در جلوگیری از تراوش آلدوسترون از بخش‌قشری غده فوق کلیوی وجود دارد و بدین ترتیب با کاهش آلدوسترون، افزایش ادرار بوجود می‌آید (۱۵). اما در صورت بروز چنین پدیده‌ای می‌توان انتظار داشت که در اثر کاهش آب بدن میزان هماتوکریت افزایش یابد.

با توجه به ناهمخوانی نتایج گزارش شده و از آنجا که هیچگونه گزارش از اثرهای یاد شده هپارین در نشخوار کنندگان وجود ندارد، در این بررسی با انجام آزمایشهای گوناگون به ارزیابی نگره‌های یاد شده پرداخته و اثرهای این دارو به شکل گسترده بر دگرگونی ساختار خون (هموگلوبین، هماتوکریت، گویچه‌های قرمز و سفید و نسبت آنها به یکدیگر)، تغییرات آنزیم‌های AST، ALT، ALP و بیلی‌روبین سرم خون، میزان تراوش صفرا و غلظت بیلی‌روبین صفراوی گوسفند در میزانهای مختلف بررسی می‌شود.

مواد و روش کار

۱- تعداد ۱۰ رأس گوسفند نر نژاد آمیخته ایرانی به وزن ۶۶ تا ۷۸ کیلوگرم (با میانگین و انحراف معیار ۴/۰۶ ± ۷۱/۹) و سن ۲ تا ۳ سال انتخاب گردیدند. تغذیه گوسفندان با یونجه خشک صورت می‌گرفت. پس از اطمینان از سلامت کامل دام به مدت ۳ روز پی در پی از راه سیاهرگ وداج خونگیری شد و برای آزمایش‌های هماتولوژیک، آنزیم‌های سرم و بیلی‌روبین سرم مورد استفاده قرار گرفت.

در بررسی آغازین، میزان ۱۰۷ واحد هپارین برای هر کیلوگرم وزن بدن برای یک بار از راه درون سیاهرگی و ۳۲۰ واحد برای هر کیلوگرم وزن بدن نیز همزمان با تزریق درون سیاهرگی و در هر ۱۲ ساعت زیر پوستی، برای ۵ روز تزریق شد و نمونه‌گیری از خون ۳ روز پیش از تزریق، در روزهای تزریق و ۳ روز پس از آن ادامه داشت. از آنجایی که هپارین در میزان یاد شده و همچنین ۱/۵ برابر آن تغییرات چندانی در ساختار خون ایجاد ننمود، بنابراین می‌توان میزانهای یاد شده را به عنوان حداکثر میزان درمانی هپارین در گوسفند در نظر گرفت. برای تعیین اثر نابهنجار هپارین بر سازه‌های مورد نظر در بررسی، میزان ۲۱۴ واحد هپارین برای هر کیلوگرم وزن بدن برای یک بار از راه درون سیاهرگی و ۶۴۰ واحد برای هر کیلوگرم وزن بدن در هر ۱۲ ساعت زیرپوستی، برای ۵ روز استفاده گردید.

برای انجام بررسی، پس از بیهوشی گوسفندان با تزریق درون سیاهرگی تیوپنتال سدیم به میزان ۱۶ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن، روده دوازدهه و کیسه صفرا برای اندازه‌گیری حجم تراوشی صفرا و غلظت

بیلی‌روبین صفراوی کانول‌گذاری گردید (۱۸).

جمع‌آوری صفرا و تزریق دوباره آن به روده دوازدهه برای برقراری جریان روده‌ای کبدی املاح صفراوی در زمان بررسی ادامه داشت و پیش از تزریق هپارین نیز تا سه روز نمونه‌گیری از خون و صفرا برای اندازه‌گیری دوباره ساختار خون، آنزیمها و بیلی‌روبین سرم و میزان تراوش صفرا و بیلی‌روبین صفراوی به عنوان شاخص طبیعی صورت پذیرفت. آنگاه به گوسفندان هپارین به میزان یاد شده (۲۱۴ واحد) تزریق و نمونه‌گیری از خون گوسفندان در هر یک ساعت از زمان تزریق و ۳ روز پس از پایان تزریق ادامه یافت. افزون بر آن، نمونه‌های صفراوی نیز همزمان، در هر ۳۰ دقیقه جمع‌آوری و پس از اندازه‌گیری حجم و نمونه‌برداری، باقیمانده صفرا به روده دوازدهه برگردانده می‌شد. از نمونه‌های خون، آزمایشهای تعیین میزان هموگلوبین، هماتوکریت، شمارش گویچه‌های قرمز و سفید و شمارش تفریقی گویچه‌های سفید به روش رایج آزمایشگاهی و با استفاده از Coulter Counter صورت پذیرفت. سنجش آنزیم‌های AST و ALT سرم خون به روش Frankel-Reitman، آنزیم ALT به روش Bassey-Loury و بیلی‌روبین سرم خون و صفرا به روش Ehrlich اندازه‌گیری شدند (۱۶، ۲۰ و ۲۲).

نتایج

برای بررسی تغییرات فراسنجه‌های مورد نظر از روش آماری آزمون مقایسه زوجها با مقدار α، ۰/۰۱ استفاده شد. نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری سازه‌های خونی و زیست شیمیایی سرم در روزهای پیش از عمل جراحی (کنترل)، پس از عمل، تزریق هپارین و پس از پایان تزریق در جدول شماره ۱ و اندازه‌گیریهای میزان تراوش صفرا و غلظت بیلی‌روبین صفراوی در جدول شماره ۲ آمده است.

۱- گویچه‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت

تعداد گویچه‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در روزهای اندازه‌گیری شده پس از عمل جراحی، تفاوت معنی‌داری را نسبت به میانگین روزهای پیش از جراحی نشان نمی‌دهند. پس از تزریق هپارین، در روز نخست تزریق، هیچگونه تغییر معنی‌داری نسبت به زمان کنترل در تعداد گویچه‌های قرمز رخ نداد. اما در دومین روز گویچه‌های قرمز کاهش یافته و نسبت به زمان کنترل تغییر معنی‌داری ($P<0/01$) به دست آمد. این تفاوت معنی‌دار در روزهای تزریق هپارین نیز ادامه یافت و تا دو روز پس از پایان تزریق نیز همچنان این تفاوت مشاهده گردید. در روز سوم پس از پایان تزریق، میزان گویچه‌های قرمز نسبت به زمان کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P<0/01$).

۲- گویچه‌های سفید، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل

نتایج ارائه شده در جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که تعداد گویچه‌های سفید، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، و ائوزینوفیل در روزهای اندازه‌گیری شده پس از عمل جراحی و همچنین تزریق هپارین، تفاوت معنی‌داری را نسبت به زمان کنترل نشان نمی‌دهند.

۳- بیلی‌روبین سرم

نتایج ارائه شده در جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که غلظت بیلی‌روبین سرم در روزهای پس از جراحی تفاوت معنی‌داری نسبت به زمان پیش از جراحی وجود ندارد. همچنین در نخستین روز تزریق هپارین نیز تغییر معنی‌داری در میزان غلظت بیلی‌روبین سرم در مقایسه با زمان کنترل مشاهده نمی‌گردد. اما روز دوم پس از تزریق، تفاوت معنی‌داری میان غلظت بیلی سرم نسبت به زمان کنترل به چشم می‌خورد، تا آخرین روز تزریق و تا دو روز پس از پایان تزریق، غلظت بیلی‌روبین به میزان طبیعی بازگشته و تفاوت معنی‌داری در مقایسه با زمان کنترل وجود ندارد.

۴- غلظت آنزیم‌های AST، ALT و ALP

بر طبق نتایج جدول شماره ۱، غلظت آنزیم‌های یاد شده پس از عمل جراحی و همچنین پس از تزریق هپارین تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با زمان کنترل در سطح یک درصد نشان نمی‌دهند.

۵- میزان تراوش صفرا

همان گونه که نتایج به دست آمده در جدول شماره ۲ نشان می‌دهد، میزان تراوش صفرا از روز دوم پس از تزریق هپارین افزایش می‌یابد و در مقایسه با زمان کنترل تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد نشان می‌دهد. دو روز پس از پایان تزریق همچنان میزان تراوش صفرا در مقایسه با زمان کنترل معنی‌دار می‌باشد اما در روز سوم پس از تزریق، میزان تراوش صفرا در مقایسه با زمان کنترل تفاوت معنی‌داری ندارد.

۶- غلظت بیلی‌روبین صفراوی

غلظت بیلی‌روبین صفرا در روز نخست پس از

جدول شماره ۱- میانگین و انحراف معیار تغییرات ساختار خون و غلظت‌های بیلی روبین سرم، AST، ALT و ALP پیش از جراحی (کنترل) در مقایسه با زمانهای پس از جراحی، هنگام تزریق هپارین و پس از پایان تزریق هپارین در گوسفندان مورد آزمایش

آزمایش	کنترل	پیش از تزریق هپارین (روز)			تزریق هپارین (روز)					پس از پایان تزریق (روز)		
		۳	۲	۱	۱	۲	۳	۴	۵	۱	۲	۳
گویچه‌های قرمز $N\times10^6/mm^3$	۱۰/۰۶± ۰/۹۲	۱۰/۲۷± ۰/۱۳	۱۰/۰۶± ۱/۱۹	۱۰/۰۲± ۱/۰۶	۹/۸۳± ۰/۸۲	۷/۳۸± ۰/۵۲*	۶/۰۸± ۰/۶۴*	۵/۷۱± ۰/۲۶*	۵/۶۷± ۰/۳۶*	۵/۷۴± ۰/۳۵*	۷/۹۱± ۰/۴۶*	۱۰/۰۴± ۰/۹۵
هموگلوبین g/dl	۱۰/۰۵± ۰/۹۵	۱۰/۷۵± ۰/۹۴	۱۰/۷۳± ۱/۰۹	۱۰/۷± ۱/۰۶	۱۰/۴± ۱/۰۵	۷/۲± ۰/۳۲*	۵/۶۳± ۰/۴۶*	۵/۲۲± ۰/۱۹*	۵/۱۱± ۰/۱۴*	۵/۲۷± ۰/۱۷*	۷/۸۲± ۰/۷۳*	۱۰/۴۴± ۰/۹۱*
هماتوکریت درصد	۳۱/۶۱± ۱/۴۳	۳۲/۶۷± ۱/۳۳*	۳۲/۵± ۱/۱۷*	۳۲/۱۹± ۱/۱۱*	۳۱/۰۹± ۱/۸۸*	۲۰/۶۳± ۱/۵۶*	۱۵/۹۳± ۱/۱۲*	۱۴/۶± ۰/۴۶*	۱۴/۶± ۰/۱۷*	۱۵/۱۵± ۱/۱*	۱۰/۹۴± ۱/۲۸*	۳۱/۱۹± ۱/۰۵
گویچه‌های سفید $N\times10^3/mm^3$	۱۳/۱۲± ۰/۹۳	۱۳/۳۹± ۱	۱۳/۱۶± ۰/۸۶	۱۳/۱۹± ۰/۸۶	۱۳/۱۵± ۰/۸۱	۱۳/۰۳± ۰/۷۲	۱۳/۱± ۰/۷۲	۱۲/۹۴± ۰/۶۹	۱۳/۱۲± ۰/۷۱	۱۳/۱۸± ۰/۷	۱۳/۰۸± ۰/۸۸	۱۳/۲۹± ۰/۹۶
نوتروفیل ٪	۵۵/۷۲± ۲/۰۷	۵۶/۱۱± ۳/۱۱	۵۵/۸۸± ۳/۰۵	۵۳/۳± ۲/۶۲	۵۳/۵۸± ۱/۶۲	۵۳/۹۷± ۳/۵۵	۵۴/۸۳± ۲/۶۷	۵۴/۵± ۳/۲۶	۵۴/۳± ۱/۲۴	۵۴/۳۶± ۱/۷۶	۵۳/۴۷± ۱/۵۳	۵۳/۷۵± ۱/۳۶
لنفوسیت ٪	۴۲/۶۱± ۱/۷۶	۴۱/۹۴± ۲/۸	۴۱/۶۹± ۲/۱۳	۴۴/۵۵± ۲/۸۲	۴۴/۳۸± ۲/۳	۴۴/۴۱± ۳/۴۶	۴۳/۲۷± ۲/۶۷	۴۳/۸۸± ۲/۷۷	۴۳/۶۸± ۱/۰۳	۴۳/۶۱± ۱/۸۵	۴۴/۶۳± ۱/۵۴	۴۴/۱۹± ۱/۶۱
مونوسیت ٪	۱/۶۶± ۱/۳۴	۱/۳۶± ۰/۶	۱/۳۶± ۰/۵۳	۱/۳۳± ۰/۴۱	۱/۲۵± ۰/۶۷	۱/۱۹± ۰/۴۱	۱/۳۸± ۰/۴۱	۱/۰۸± ۰/۴۳	۱/۲۷± ۰/۶۳	۱/۲۵± ۰/۵۵	۱/۲۵± ۰/۴۵	۱/۳± ۰/۳۷
ائوزینوفیل ٪	۰/۵± ۰/۴۳	۰/۵۸± ۰/۲۵	۰/۷۷± ۰/۴۲	۰/۷۷± ۰/۳۶	۰/۷۷± ۰/۵۶	۰/۵۵± ۰/۳	۰/۵± ۰/۳۳	۰/۵۲± ۰/۳۴	۰/۸۸± ۰/۵۷	۰/۷۷± ۰/۲۳	۰/۷۵± ۰/۳	۰/۷۵± ۰/۳۵
غلظت بیلی‌روبین سرم mg/dl	۰/۲۳± ۰/۰۵	۰/۳۵± ۰/۰۶	۰/۲۴± ۰/۰۶	۰/۲۴± ۰/۰۶	۰/۲۴± ۰/۰۶	۰/۷۶± ۰/۰۸*	۱/۱۱± ۰/۰۷*	۱/۲۷± ۰/۰۷*	۱/۲۷± ۰/۰۸*	۱/۲۲± ۰/۰۹*	۰/۶۶± ۰/۰۴*	۰/۲۶± ۰/۰۴
AST lu/L	۲۹۷/۷۱± ۲۳/۷۹	۳۰۴/۰۷± ۲۳/۱۶	۳۰۳/۷۵± ۲۱/۵۴	۲۹۷/۱۶± ۲۲	۲۹۶/۰۴± ۲۱/۵۹	۲۹۳/۸۶± ۲۱/۴۶	۲۹۸/۵۶± ۲۳/۶۸	۲۹۵/۴۵± ۲۱/۵۹	۲۹۷/۰۱± ۲۳/۸	۲۹۶/۱۴± ۲۳/۷۹	۲۹۴/۴۲± ۲۴/۳۱	۲۹۷/۲± ۲۲/۴۷
ALT lu/L	۳۸/۷۶± ۱/۸۷	۳۹/۴۷± ۲/۱۳	۳۹/۶۳± ۲/۱۶	۳۹/۱۳± ۱/۸۴	۳۸/۶۱± ۱/۱۶	۳۹/۸۸± ۱/۳۹	۳۹/۷۵± ۰/۹۱	۳۸/۵۵± ۱/۹۴	۳۹/۳± ۱/۶	۳۹/۸۸± ۲/۱	۳۹/۵۸± ۰/۹۵	۳۹/۶۶± ۱/۶۴
ALP lu/L	۱۱۹/۷۸± ۱۸/۸۶	۱۲۳/۱۱± ۱۹/۳۱	۱۲۲/۹۳± ۲۰/۴۶	۱۲۲/۱۲± ۱۹/۴۱	۱۲۰/۳۳± ۲۰/۶۸	۱۲۲/۱۴± ۱۷/۰۲	۱۹۹/۶۴± ۲۰/۶۶	۱۲۱/۷۸± ۲۰/۶۶	۱۲۱/۶۳± ۱۸/۸۵	۱۲۱/۳± ۱۸/۶۵	۱۲۲/۱۴± ۱۸/۳۹	۱۲۰/۷۱± ۱۸/۲۱

* اختلاف در سطح ۰/۰۱ = α معنی‌دار است.

تزریق هپارین، تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با زمان‌کنترل نشان نمی‌دهد (P> ۰/۰۱). روز دوم پس از تزریق غلظت بیلی‌روبین در صفرا افزایش می‌یابد (P< ۰/۰۱). حتی پس از پایان تزریق و تا دو روز پس از آن نیز غلظت بیلی‌روبین صفرا در مقایسه با زمان کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. اما روز سوم پس از پایان تزریق غلظت بیلی‌روبین صفرا نزدیک به میزان کنترل می‌شود (جدول شماره ۲).

بحث

تعداد گویچه‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و میزان هماتوکریت

نتایج به دست آمده در این بررسی نشان می‌دهد که تعداد گویچه‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و میزان هماتوکریت پس از عمل جراحی در مقایسه با پیش از عمل جراحی تغییر معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. این یافته، نشانگر این واقعیت است که پس از طبیعی شدن وضعیت حیوان، در پی عمل جراحی، روند فیزیولوژیک بدن برای خونسازی، دچار دگرگونی نشده است. اما از روز دوم پس از تزریق هپارین، میزان سازه‌های یاد شده به آرامی رو به کاهش گذاشته است. نتایج این بررسی با نتایج بدست آمده توسط Duncan و همکاران (۱۹۸۳) در اسب، بطور کلی موافقت دارد (۷). اما تفاوت موجود بدین شکل است که در بررسی انجام شده بوسیله پژوهش‌گران یاد شده میزان تزریقی هپارین برابر ۴۰، ۱۶۰، ۲۴۰ و ۳۲۰ واحد برای هر کیلوگرم وزن بدن در هر ۱۲ ساعت زیرپوستی و تزریق نخستین درون سیاهرگی برابر یک سوم میزان زیرپوستی، همزمان با نخستین تزریق زیرپوستی بوده است. همگی میزانهای تزریقی یاد شده بجز میزان ۴۰ واحد، کاهش گویچه‌های قرمز، مشاهده گردیده است (۷).

در بررسی انجام شده کنونی کاهش گویچه‌های قرمز، در میزان تزریقی هپارین برابر ۲۱۴ واحد برای هر کیلوگرم وزن یکبار تزریق درون سیاهرگی و پس از آن به میزان ۶۴۰ واحد برای هر کیلوگرم وزن بدن از راه زیرپوستی در هر ۱۲ ساعت مشاهده گردید. در این مورد علت دگرگونی یاد شده در تعداد گویچه‌های قرمز در نتیجه میزان هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون را می‌توان به گونه زیر تفسیر نمود.

بررسی انجام پذیرفته در مورد اثرات هپارین بر فعالیت بیگانه خواری سیستم رتیکولو آندوتلیال، نشانگر افزایش روند بیگانه خواری در این سیستم می‌باشد (۹). همچنین برخی بر این باورند که هپارین به عنوان یک اپسونین برای سیستم رتیکولوآندوتلیال فعالیت می‌نماید. از سویی، هپارین فعالیت بیگانه خواری یاخته‌های ستاره‌ای شکل سیستم رتیکولوآندوتلیال یعنی یاخته‌های کوپفر را افزایش می‌دهد (۷).

با توجه به گزارشهای یاد شده می‌توان چنین پنداشت، که کاهش تعداد گویچه‌های قرمز، در رابطه با افزایش فعالیت بیگانه خواری سیستم رتیکولوآندوتلیال، بوسیله هپارین باشد. اینچنین افزایش فعالیت را می‌توان در توانایی هپارین برای افزایش اپسونیزه کردن گویچه‌های قرمز دانست و به این سبب تخریب گویچه‌های قرمز، پس از تزریق هپارین به تندی صورت می‌پذیرد (۷).

Gerhardds H. (۱۹۹۱)، به نقش طحال، به عنوان یک عضو سیستم رتیکولر آندوتلیال اهمیت فراوانی قائل است و چنین بیان می‌کند که در پونی‌هایی که طحال آنها بوسیله جراحی برداشته شده اشت، تنها کاهش‌اندکی در تعدادگویچه‌های‌قرمز ایجادمی‌شود(۱۱).

افزون بر آن Ishiura و همکاران (۱۹۸۸)، یک پروتئین سیتولیتیک به نام پرفورین را از لنفوسیتهای T سیتوتوکسیک در موش مجزا نموده‌اند. این پژوهش‌گران مشاهده نمودند که پرفورین، بوسیله هپارین فعال گردیده و باعث شکسته شدن گویچه‌های قرمز می‌گردد. بنابراین پیشنهاد شده است که هپارین، فعالیت لیتیک پرفورین را تقویت می‌نماید (۱۴). از سوی دیگر، اثر مخرب هپارین بر گویچه‌های قرمز پرندگان نیز گزارش شده است (۱۰). بنابراین، با توجه به جمع‌بندی گزارشهای آمده در این مورد می‌توان کاهش گویچه‌های قرمز و در پی آنها کاهش غلظت هموگلوبین و میزان هماتوکریت را، برآیندی از اثر ساز و کارهای یاد شده دانست. شاید، برخی بر این باور باشند که کاهش تعداد گویچه‌های قرمز در اثر خونریزی بوجود آید. در این مورد باید چنین گفت که در گوسفندان مورد آزمایش به هیچ وجه خونریزی به طور آشکار رخ نداد و از سوی دیگر هیچگونه هماتومی در دیگر بخشهای بدن، مشاهده نگردید. همچنین، آزمایش مدفوع برای بررسی وجود خون مخفی، منفی بود. بدین ترتیب در صورتی که علت کاهش گویچه‌های قرمز خونریزی باشد، می‌بایستی کاهش گویچه‌ها با تندی بیشتری رخ دهد و پس از پایان مصرف هپارین نیز، دیرتر به حالت طبیعی برگردد.

پندار دیگری که به عنوان علت کاهش گویچه‌های قرمز وجود دارد، کاهش فعالیت مغز استخوان در اثر هپارین می‌باشد، که در نتیجه کاهش تولید گویچه‌ها و پس از آن کاهش هماتوکریت مشاهده می‌گردد. در صورتی که این باور واقعیت داشته باشد، نیاز به زمان بیشتری برای کاهش و افزایش گویچه‌ها می‌باشد، در حالی که، همانطور که در نتایج بررسی کنونی نیز آشکار است، کاهش و بازگشت گویچه‌ها و هماتوکریت به میزان طبیعی در زمان نسبتاً کوتاهی پس از بکارگیری هپارین و پایان مصرف آن ایجاد شده است. این یافته، نشانگر آن است که سیستم خونسازی دارای فعالیت طبیعی بوده و دچار ضعف نگردیده است. در رابطه با دو فرضیه یاد شده (امکان خونریزی و کاهش فعالیت مغز استخوان)، می‌توان به یافته دیگری در این بررسی توجه نمود که در گوسفندان مورد آزمایش، افزایش بیلی‌روبین، ناشی از متابولیسم هم، بوسیله سیستم رتیکولوآندوتلیال رخ داده است. این یافته، آشکارا با دو نکره یاد شده، همخوانی ندارد.

فرضیه دیگری در این رابطه وجود دارد، بدین ترتیب که هپارین می‌تواند از ساخته شدن آلدوسترون، بوسیله غدد فوق کلیوی در انسان جلوگیری نماید (۱۲). چنانچه این نکره درست باشد می‌بایستی که با کاهش آلدوسترون، افزایش ادرار و در پی آن افزایش هماتوکریت نیز بوجود آید. همانگونه که در یافته‌های بررسی کنونی آمده است، نه تنها افزایش هماتوکریت در اثر تزریق هپارین مشاهده نگردید، بلکه کاهش هماتوکریت نیز بوجود آمده است که آشکارا با پیامدهای نگره یاد شده همخوانی ندارد. در این مورد، برخی، اثر هپارین بر آلدوسترون را وابسته به اثر مواد آنتی سپتیک موجوددربعضی‌محلولهای‌تجارتی‌هپارین‌دانسته‌اند(۱۵).

گویچه‌های سفید

تعداد گویچه‌های سفید در زمان نمونه گیری پس از جراحی و همچنین پس از تزریق هپارین تفاوت معنی‌داری را با زمان کنترل نشان ندادند.این یافته نشانگر آن است که از یک سو عمل جراحی تأثیری بر تعداد گویچه‌های سفید نداشته و وضعیت حیوان پس از عمل جراحی طبیعی بوده و نیز به هیچگونه عفونتی دچار نگردیده است (زیرا در صورت بروز عفونت حاد یا مزمن تعداد گویچه‌های سفید و شمارش تفریقی‌آن می‌بایستی،دستخوش تغییرات گردد). در این مورد Filkins و Diluzio (۱۹۶۸) اشاره‌ای به افزایش تعداد گویچه‌های سفید در اثر تزریق هپارین در موش صحرایی دارند (۹)،امادر بررسی‌های دیگر پژوهش‌گران، اشاره‌ای به تغییر در تعداد گویچه‌های سفید دراثر هپارین نشده است (۶، ۱۲ و ۱۵).

جدول شماره ۲- میانگین و انحراف معیار تغییرات تراوش صفرا و غلظت بیلی‌روبین صفراوی پیش از تزریق هپارین (کنترل)، در مقایسه با زمانهای تزریق هپارین و پس از پایان تزریق هپارین در گوسفندان مورد آزمایش

آزمایش	کنترل	هنگام تزریق (روز)					پس از پایان تزریق (روز)		
		۱	۲	۳	۴	۵	۱	۲	۳
تراوش	۷/۸۷ ±	۷/۸۲ ±	۱۳/۵۲ ±	۱۶/۳۲ ±	۱۶/۸ ±	۱۷/۱۲ ±	۱۶/۸۲ ±	۱۲/۵۴ ±	۷/۹۵ ±
صفرا ml	۰/۴۸ *	۰/۵۶ *	۰/۷۲ *	۰/۵۴ *	۰/۷ *	۱/۱۹ *	۰/۹۷ *	۰/۷۲ *	۰/۳۴ *
غلظت بیلی‌روبین	۲۶۷/۶۹ ±	۲۷۱/۴۴ ±	۷۶۰/۰۱ ±	۹۶۴/۸۳ ±	۱۰۱۹/۰۷ ±	۱۰۱۹/۰۲ ±	۹۸۸/۶۷ ±	۵۹۹/۱۹ ±	۲۶۷/۱۲ ±
صفراوی mg/dl	۴۱/۷۳ *	۴۰/۴۵ *	۶۴/۸۵ *	۲۴/۰۱ *	۵۳/۳۷ *	۴۷/۵۱ *	۷۳ *	۲۹/۰۴ *	۳۸/۷۹ *

* اختلاف در سطح $\alpha = ۰/۰۱$ معنی‌دار است.

این اختلاف را می‌توان ناشی از میزان و مدت زمان مصرف هپارین و تفاوتهای گونه‌ای دانست.

شمارش تفریقی گویچه‌های سفید

شمارش تفریقی گویچه‌های سفید در روزهای نمونه‌گیری پس از عمل جراحی و نیز پس از تزریق هپارین تفاوت معنی‌داری را با زمان کنترل نشان نمی‌دهد.

این یافته می‌تواند نشانگر طبیعی بودن وضعیت حیوان پس از عمل جراحی و عدم بروز عفونت در گوسفندان و از سوی دیگر بی‌تأثیر بودن هپارین بر شمارش تفریقی گویچه‌های سفید باشد. در گزارشهای بررسی شده در رابطه با تأثیر هپارین بوسیله دیگر پژوهش‌گران نیز اشاره‌ای، به تغییر شمارش تفریقی گویچه‌های سفید در اثر تزریق هپارین، نگردیده است (۶، ۹، ۱۲ و ۱۵).

بیلی‌روبین سرم

همانگونه که در نتایج امده است، غلظت بیلی‌روبین سرم از روز دوم پس از تزریق هپارین رو به افزایش گذاشت و سه روز پس از تزریق هپارین، غلظت بیلی‌روبین سرم به میزان طبیعی خود بازگشت.

پیش از این در رابطه با تغییر تعداد گویچه‌های قرمز و نقش فعالیت بیگانه خواری سیستم رتیکولو آندوتلیال و افزایش فعالیت این سیستم به وسیله هپارین و نیز نقش پرفورین در شکستن گویچه‌های قرمز و تقویت اثر پرفورین اشاره گردیده است. با توجه به اینکه در روند طبیعی تخریب گویچه‌های قرمز، هِم بوسیله سیستم رتیکولوآندوتلیال به بیلی‌روبین تجزیه می‌گردد در این مورد نیز، هم موجود در گویچه‌های قرمز تجزیه شده و در پایان به بیلی‌روبین تبدیل خواهد گردید. با توجه به سازوکار یاد شده، می‌توان افزایش غلظت بیلی‌روبین سرم را ناشی از تخریب گویچه‌های قرمز به وسیله سیستم رتیکولوآندوتلیال و نیز پرفورین فعال شده به وسیله هپارین دانست.

غلظت آنزیم‌های AST، ALT و ALP

آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز در زمان اندازه‌گیری شده پس از عمل جراحی، در مقایسه با زمان کنترل تغییر معنی‌داری را نشان نمی‌دهند. این یافته، نشانگر این واقعیت است که روند فعالیت طبیعی کبد به طور معمول ادامه دارد. همچنین پس از تزریق هپارین نیز تغییر معنی‌داری در غلظت آنزیم‌های یاد شده بوجود نیامد. این یافته نیز می‌تواند، نشانگر آن باشد که هپارین بر یاخته‌های پارانشیم کبد اثر سمی نداشته و در نتیجه میزان آنزیم‌های یاد شده در سرم، تغییر نداشته است. از سوی دیگر Sanders و همکاران (۱۹۸۴) گزارش نموده‌اند که، هپارین بر کشت یاخته‌های کبدی موش صحرایی اثرات سمی داشته و شاید افزایش ترانس آمینازهای سرم نیز بوجود آید (۱۸). در این مورد باید گفت که در دیگر حیوانات، گزارشی از اثرات سمی هپارین بر یاخته‌های کبدی وجود ندارد و از سوی دیگر، ترانس آمینازها، بویژه آسپارتات آمینوترانسفراز، در پی مردگی بافت کبدی در گوسفند دارای نیمه عمری بیش از ۱۸ ساعت می‌باشد (۴ و ۸). با توجه به موارد یاد شده، احتمال بروز آسیب یاخته‌های کبدی گوسفند در اثر تزریق هپارین در بررسی کنونی، تأیید نمی‌گردد، چراکه در صورت وجود آزردگی در کبد در زمان آزمایش، افزایش آنزیم‌های یاد شده، بویژه آسپارتات آمینوترانسفراز مشاهده می‌شد.

غلظت بیلی‌روبین صفراوی گوسفند

غلظت بیلی‌روبین موجود در صفرا در دومین روز پس از تزریق هپارین، افزایش معنی‌داری را نسبت به زمان کنترل نشان می‌دهد. این یافته را می‌توان به افزایش غلظت بیلی‌روبین خون، در پی افزایش فعالیت سیستم رتیکولوآندوتلیال و اثر آن بر گویچه‌های قرمز دانست.

میزان تراوش صفرا

افزایش میزان تراوش صفرا، در دومین روز پس از تزریق هپارین نسبت به زمان کنترل را می‌توان با توجه به افزایش غلظت‌بیلی‌روبین‌موجوددر صفرا تفسیر نمود.

یکی از سازوکارهای تشکیل صفرا، ناشی از تراوش مواد محلول در آن و در نتیجه ایجاد فشار اسمزی لازم برای کشیدن آب به درون صفرا و در پایان تراوش صفرا می‌باشد. افزون بر اسیدهای صفراوی، برخی از مواد محلول آلی (بیلیروبین، گلوتاتیون و اسیدهای آمینه) نیز می‌توانند در صفرا تراوش گردند و گرایش اسمزی لازم، برای ایجاد صفرا و تراوش آن را فراهم نمایند (۵).

اگر چه بیلی‌روبین در غلظت‌های فیزیولوژیک و معمول، نقش چندانی در میزان تراوش صفرا ندارد، اما با تزریق میزان زیادی از بیلی‌روبین، این چنین نقشی گزارش شده است (۵).

در بررسی کنونی نیز با توجه به افزایش شدید غلظت بیلی‌روبین در صفرا، حجم تراوش صفرا افزایش یافته است و با یافته یاد شده، همخوانی دارد.

نتیجه گیری کلی

۱- میزان درمانی هپارین در گوسفند در این بررسی تا میزان ۱۶۰ واحد برای هر کیلوگرم وزن برای یک بار از راه درون سیاهرگی و تا میزان ۴۸۰ واحد برای هر کیلوگرم وزن از راه زیر پوستی می‌باشد.

۲- تزریق هپارین به میزان ۲۱۴ واحد برای هر کیلوگرم وزن از راه درون سیاهرگی و ۶۴۰ واحد برای هر کیلوگرم وزن از راه زیرپوستی در هر ۱۲ ساعت، سبب افزایش فعالیت سیستم رتیکولوآندوتلیال و در نتیجه هموليز برون رگی گویچه‌های قرمز در گوسفندان می‌گردد، که در پی آن کاهش چشمگیری در تعداد گویچه‌های قرمز، میزان هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون و همچنین افزایش غلظت بیلی‌روبین سرم، افزایش تراوش‌وغلظت بیلی‌روبین صفرا،نمایان می‌شود.

۳- افزون بر یافته‌های یاد شده، با توجه به افزایش غلظت بیلی‌روبین صفراوی، می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت کاتابولیک سیستم رتیکولوآندوتلیال موجود در کبد (کاتابولیسم هِم) نیز افزایش یافته است، بدون آنکه توانایی کبد برای تراوش بیلی‌روبین دچار اختلالی گردد. در این رابطه تغییر نکردن غلظت آنزیم‌های AST، ALT، ALP، در سرم نیز می‌تواند تأییدی در طبیعی بودن فرآیند کبدی باشد.

به طور کلی از یافته‌های این بررسی، افزودن بر تعیین میزان درمانی هپارین در گوسفند، می‌توان چنین پیشنهاد نمود که، میزان زیاد تزریق هپارین، سبب افزایش هموليز برون رگی می‌گردد. آشکارا، کاهش گویچه‌های قرمز به وسیله سیستم رتیکولو آندوتلیال، کاتابولیسم هِم، افزایش غلظت بیلی‌روبین سرم، افزایش غلظت بیلی‌روبین صفراوی و حجم صفرا بر روی هم می‌تواند این نکره را تأیید که هپارین،توان فعال بودن سیستم رتیکولوآندوتلیال‌را دارد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از شورای پژوهشی دانشگاه شیراز به جهت در اختیار گذاشتن امکانات مالی، آقای طالب واثقی در کمک به انجام کارهای آزمایشگاهی، خانم مرضیه شریف‌پور در تایپ گزارش و نیز کارگران واحد پرورش دام دانشکده تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

1- Ahmad, T.; W. M. D. Abraham; and J. Brot, 1992. Effects of inhaled heparin on immunologic and nonimmunologic bronchoconstrictor responses in sheep. Am Rev. Resp. Dis. 145: 655-570.

2- Balestra, B.; P. Quadri; B. F. Demarmmels; M. Furlan; and B. Lammle, 1994. Low molecular weight heparin - induced thrombo-cytopenia and skin necrosis distant from injection sites. Europ. J. Haem. 53: 61-63.

3- Baxter. G. M., 1991. Intraabdominal adhesions in horses. Comp. Contin. Educ. Pract. Vet. 13: 1587-1596.

4- Coles, E. H., 1980. Vetrinary Clinical Pathology. 3rd ed. W. B. Saunders co. philadelphia. PP: 183-212.

5- Cornelius, C. E., 1993. Animal Models in liver Research. Vol. 37. Academic press. SanDiego. PP: 1-29.

6- Darien, B. J., 1993. Heparin Therapy. Rational and Clinical indications. Compen. contin. Educ. Pract. Vet. 15: 1273-1276.

7- Duncan, S. C., Meyers, K. M. and Reed, S. M. 1983. Reduction of red blood cell mass of horses: Toxic effect of heparin anticoagulant therapy. Am. Vet. Res. 44: 2271-2276.

8- Ducan, J. R.; and K. W. Prasse 1986. Veterinary Laboratory Medicine, Clinical Pathology. 2nd ed. Iowa state university Press. Ames. PP: 127-144.

9- Filkins, J. P. and Diluzio W. R. 1968. Heparin protection in endotoxic shock. Am. J. Physiol. 214: 1074-1076.

10- Freidlin, P. J., 1985. Destructive effect of heparin on avian erythrocytes. Avian path. 14: 531-536.

11- Gerhards, H., 1991. Low dose calcium heparin in horses: Plasma heparin concentrations, effects on red blood cell mass and on coagulation variables. Eq. Vet. J. 23: 37-43.

12- Goodman Gilman, A., T. W. Rull.; A. S. Niess and P. Taylor, 1991. The pharmacological Basis of therapeutics. 8th ed. Maxwell Macmillan International Editions. New York. PP: 1313-1317.

13- Hyslop. S.; and G. Denucci, 1993. Heparin polycations and atherosclerosis. Semin. Thromb. Hemos. 19: 86-95.

14- Ishiura, S., Koizumi, H., Tsukahara, T., and Sugita, H., 1988. Effects of heparin and other acid mucopolysaccharides on the activity of the cytolytic pore-forming protein (Perforin) from cytotoxitc T-lymphocytes. J. Biochem. 103: 11-13.

15- Jaques, L. B., 1985. The new understanding of the drug heparin. Chest. 88: 751-754.

16- Kessler, G.; and frankel 1970. Transaminases. IN: Gradwahl's clinical lab. Methods and Diagnosis. Frankel, S.; S. Reitman; and A.C. Sonnenwirth. Vol 1; 7th ed. Mosby Co. Landon. PP: 120 and 359.

17- Lucio, J. D.; J. Brot; C. B. Gue.; W. M.Abraham; L. M. Lichtenstein; A. Kajey. Sobota; and T. Ahmed, 1992. Immunologic mast - Cell mediated responses and histamine release are attenuated by heparin. J. Appl. Physiol. 73: 1093-1101.

18- Mostaghni, K., 1985. A study of bile secretions in conscious sheep. Zbl. Vet. Med. 32: 75-79.

19- Quick, D. and A. A. Trowbridge, 1985. Heparin; applications and future prospects. Chest. 88: 755-759.

20- Rendia, G., 1971. Experimental methods in modern Biochemistry. W. B. Saunders. Philadelphia. PP: 437.

21- Sanders, S. W.; G. E. Dukes; P. Gray and K. G, Tolman, 1984. Tomicity of heparin in isoated rat hepatocytes. Biochem. Pharma. 33: 2223-2226.

22- Tietz, I; and W. Norbert, 1986. Textbook of clinical chemistry. 1st ed. W. B. Saunders Co. Philadelphia.