مقایسه برخی فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما و سرم خون در فیل‌ماهی (*Huso huso*)، تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و کلمه خزری (*Rutilus rutilus caspicus*)

- **رقیه صفری*:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: **49138-15739**
- **فاطمه خانی:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: **49138-15739**
- **مریم حقی‌پور:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: **49138-15739**

تاریخ دریافت: آذر 1393 تاریخ پذیرش: اسفند 1393

چکیده

خون ابزار مهمی در بررسی وضعیت فیزیولوژیکی یک ارگانیسم می‌باشد. تحقیق حاضر با هدف تعیین و ثبت تفاوت‌های موجود بین فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما و سرم خون دوگونه‌ی غضروفی-استخوانی، فیل‌ماهی (*Huso huso*) و تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با یک گونه استخوانی، کلمه خزری (*Rutilus rutilus caspicus*) ، انجام گردید. جهت دستیابی به این هدف، ماهیان خاویاری و کلمه به‌ترتیب با میانگین وزنی 5-3 و 3-2 گرمی، از مراکز تکثیر و پرورش شهید مرجاني و سیجوال (استان گلستان) تهیه و در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان نگهداری شدند. کلیه شرایط محیطي، براي همه تانک‌ها کاملاً یکسان (دمای آب طی دوره پرورش 23 درجه سانتی‌گراد، pH 7/5 و اکسیژن 7/9 میلی‌گرم در لیتر و 2 بار در روز تغذیه با غذای تجاری) در نظر گرفته شد. جهت مطالعه پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما و سرم خون ماهیان خون‌گیری انجام و بررسی پارامترهای بیوشیمیایی خون (آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، آلبومین ، پروتئین کل و گلوکز) طبق روش‌های استاندارد صورت گرفت. تفاوت معنی‌داری در مقادیر به‌دست آمده از بررسی فاکتورهای آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، آلبومین سه گونه (فیل‌ماهی، تاس‌ماهی و کلمه خزری) مشاهده نشد ($P\geq0/05$). هرچند در این مقایسه مقادیر آلبومین پلاسما در هر سه گونه کم‌تر از مقادیر آلبومین سرم بود، درحالی‌که مقادیر ALT پلاسما علی‌رغم عدم معنی‌داری ($P>0/05$) در هر سه گونه بیشتر از مقادیر ALT سرم بود. مقادیر گلوکز سرم و پلاسمای خون تفاوت معنی داری را نشان

دادند (P≤0/05) که در تمامی نمونه‌ها مقادیر گلوکز در پلاسمای خون بیشتر از سرم بود. در مورد فاکتور AST نیز در هر سه گونه مقادیر به‌دست آمده از پلاسما بیشتر از مقادیر به‌دست آمده از سرم بود. پروتئین کل سرم در هر سه گونه بیشتر از پروتئین کل پلاسما به‌دست آمد که این تفاوت در ماهی کلمه معنی‌دار بود (P ≤0/05). از آن‌جاکه در مطالعه حاضر در برخی فاکتورها در پلاسما و سرم تفاوت‌هایی دیده شد، به‌نظر می‌رسد با توجه به تشابه بیشتر وضعیت پلاسمای خون به محیط طبیعی خون، استفاده از پلاسما در گونه‌های مورد بررسی ارجح‌تر باشد.

کلمات کلیدی: پلاسما، سرم خون، فیلماهی، تاسماهی ایرانی، کلمه خزری

مقدمه

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: roghi_safari@yahoo.com

اهمیت پارامترهای خون‌شناسی برای دستیابی به وضعیت فیزیولوژی مناسب به‌منظور ارتقا، توسعه و بهبود پرورش، بهداشت، سلامت و فیزیولوژی تولیدمثل و تکثیر آبزیان و به‌ویژه ماهیان بسیار واضح و مبرهن می‌باشد (کاظمی و همکاران، 1389). در حقیقت فاکتورهای خون-شناسی و بیوشیمیایی خون به‌عنوان اولین تغییرات قابل اندازه‌گیری می‌توانند اطلاعات زیادی در رابطه با وضعیت سلامت آبزیان، اثر مواد سمی بر آبزیان، ارزیابی اثرات مواد مغذی و مکمل‌های تغذیه‌ای و دارویی در اختیار قرار دهند (Rose و همکاران، 2006) و به‌عنوان بخش اصلی بسیاری از مطالعات علوم شیلاتی محسوب گردند. بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون در زمینه‌های مختلف علوم شیلاتی با استفاده از آنالیز پلاسما و یا سرم خون صورت می‌گیرد (Koaud و همکاران، 2011؛ Kim و همکاران، 2008). پلاسما مایعی بین سلولی است که عناصر سلولی را به‌صورت شناور در خود جای داده است. حدود 90% از پلاسما را آب و مابقی را مواد معدنی و آلی محلول تشکیل می‌دهد. مواد آلی پلاسما شامل پروتئین‌ها (آلفا، بتا، گاما گلوبولین‌ها و ایمونوگلوبین‌ها، آلبومین‌ها، فاکتورهای انعقاد خون، آنتی‌بادی‌ها، آنزیم‌ها)، کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و هورمون‌ها هستند و مواد معدنی پلاسما نیز متشکل از الکترولیت‌ها و سایر نمک‌های معدنی است. ویتامین‌ها نیز از دیگر مواد تشکیل‌دهنده پلاسما به‌شمار می‌روند (Nordlie، 2009؛ ستاری و همکاران، 1385؛ Hurbec و Smith، 1999). سرم بخش مایع بدون فیبرینوژن خون یا همولنف است که مواد تشکیل‌دهنده آن مشابه پلاسماست با این‌تفاوت که عاری از فاکتورهای انعقاد خون است. برای جداسازی سرم خون در مهره‌داران پس از لخته شدن خون بر اثر تبدیل فیبرینوژن به فیبرین نامحلول، به‌وسیله سانتریفوژ، سلول‌های خونی فیبرینوژن جدا می‌گردند (کاظمی و همکاران، 1389). در مطالعات خون‌شناسی انتخاب نوع ماده ضد انعقادی که کم‌ترین اثر سو را بر شکل و ساختار یاخته‌های خون بگذارد از اهمیت بالایی برخوردار است، معمولاً برای جلوگیری از انعقاد خون در ماهی، 2 گروه ماده ضدانعقاد اکسالات و سیترات استفاده می‌گردد. نحوه عمل بسیاری از مواد ضد انعقاد، پیوستن به یون کلسیم است، در این میان فقط ماده ضدانعقاد هپارین است که از قاعده فوق طبیعیت نکرده و به‌جای پیوستن به کلسیم و خارج کردن آن از محیط خون، مانع از فعالیت پروتئین ترومبین می‌گردد (Mohri و همکاران، 2009؛ کاظمی و همکاران، 1389). در مورد تفاوت آنالیت‌های خونی بین سرم و پلاسما در ماهیان مطالعات زیادی انجام نشده است و تنها محدود به مطالعاتی نظیر Hurbec و همکاران (1996) در مقایسه یون‌های پتاسیم و فسفر سرم و پلاسما که به‌ترتیب میزان بالاتر و پایین‌تری را در سرم نسبت به پلاسما گزارش شده است و مطالعه‌ای که توسط Hurbec و Smith (1999) در مقایسه فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما و سرم گونه‌های قزل‌آلا و گربه‌ماهی راه راه، تیلاپیا و هیبرید باس راه راه صورت پذیرفت و تفاوت برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی را بین پلاسما و سرم نشان داد، می‌باشد.

گلوکز یکی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون است که می-تواند به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم در تعیین وضعیت فیزیولوژیک ماهی به‌کار رود (Saera-Vila و همکاران، 2009). با افزایش مصرف گلوکز و متابولیت‌های دیگر در بعضی گونه‌ها ذخایر گلیکوژن و چربی‌ها کاهش یافته و در مرحله بعد پروتئین‌ها برای تامین انرژی شکسته می‌شوند (Iwama و همکاران، 1999).

آنزیم کراتین فسفوکیناز (CPK enzyme) نیز یکی از عوامل موثر بر دستگاه ایمني بدن است که در توليد انرژي در شرايط بي‌هوازي دخالت دارد. اين آنزيم در اكثر سلول‌ها يافت مي‌شود، اما ايزوفرم‌هاي مختلفي از آن در بافت‌هاي مختلف وجود دارد كه در سلول‌هاي عضلاني ايزوفرم CPK-MM حضور بيش‌تري دارد. بررسي‌هاي محققين به افزايش آنزيم كراتين فسفوكيناز در اثر فعاليت شديد بدني اشاره داشته و گزارش شده است كه افزايش اين آنزيم در خون، نشان‌دهنده آسيب‌هاي بافتي و شرايط التهابي مي‌باشد.

آمینوترانسفرازها انتقال یک گروه آمین از یک اسید-آمینه را به ملکول دیگر بدون آزاد شدن آمونیاک کاتالیز می‌نمایند، به همین دلیل به آن‌ها آمینوترانسفراز می‌گویند. آنزیم آسپارتات آمینوترانس‌فراز (AST) به‌نام ترانس‌آمیناز گزالو استیک سرم (SGOT) و آلانین آمینوترانس-

فراز (ALT) نیز به‌نام آمیناز پیرویک گلوتامیک سرم (SGPT) مشهور است (Haschek و همکاران، 2010). از آن‌جا که واکنش‌های انتقال آمین برگشت پذیر می‌باشند و اسیدهای کتو به‌دست آمده از واکنش مذکور در سنتز کربوهیدرات جدید مورد استفاده قرار می‌گیرند (گلوکونئوژنز) بنابراین آنزیم‌های ترانس‌آمیناز در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها نقش دارند (Bacankas و همکاران، 2004).

تقریباً بین 5 تا 10 درصد پلاسمای خون را پروتئین-های خون تشکیل می‌دهند که شامل آلبومین، گلوبولین و فیبرینوژن، هورمون‌ها، آنزیم‌ها، کمپلمان‌ها و سایر عوامل انعقادی خون هستند. اغلب پروتئین‌ها توسط کبد و برخی نیز همچون آنتی بادی‌ها توسط سیستم ایمنی ساخته می‌شوند (کاظمی و همکاران، 1389). آلبومین نیز یکی از عمده-ترین پروتئین‌های سرم خون می‌باشند (Kumar و همکاران، 2005). آلبومین که در کبد ساخته می‌شود سبک‌ترین پروتئین پلاسمای خون است و بیش از 50% پروتئین پلاسما را تشکیل می‌دهد. این پروتئین هر روز به میزان 7% تجدید می‌شود و نیم عمر آن هفت تا ده روز است. آلبومین پروتئینی کروی به‌طول 15 و عرض 3/8 نانومتر با وزن مولکولی 6600 دالتون است. این زنجیره پلی‌پپتیدی از 500 اسیدآمینه تشکیل شده است. سرم آلبومین به‌راحتی تغییر ماهیت نمی‌دهد و تا 60 درجه سانتی‌گراد هم مقاوم است. آلبومین دارای دو نقش مهم نگه‌داری و حفظ فشار اسمزی و انتقال‌دهنده بعضی از ترکیبات از قبیل برخی هورمون‌ها، مواد رنگی، بیلی‌روبین، برخی از عناصر معدنی کمیاب، بسیاری از داروها و اسیدهای چرب آزاد در جریان خون است (کاظمی و همکاران، 1389).

ماهیان خاویاري (*Acipenseridae*) و ماهی کلمه خزری از با ارزش‌ترین گونه‌های دریای خزر می‌باشند که در سال‌های اخیر نسل آن‌ها به‌جهت تخریب زیستگاه‌هاي تکثیر طبیعي این ماهیان، صید بي‌رویه و آلودگي‌هاي محیطي کاهش یافته و هرساله چند میلیون لارو حاصل از تکثیر مصنوعی آن‌ها جهت بازسازی ذخایر وارد دریای خزر می‌گردند (گروبی و همکاران، 1387). به‌جهت ارزش بالای شیلاتی و اقتصادی این ماهیان بسیاری از مطالعات شیلاتی روی این گونه‌ها صورت می‌گیرد، اما همواره این سوال وجود دارد که آیا اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون با استفاده از سرم و یا پلاسما در ماهیان نتایج متفاوتی را نشان خواهد داد یا خیر؟ از آن‌جاکه تاکنون مطالعه‌ای روی امکان تفاوت فاکتورهای بیوشیمیایی اندازه-گیری شده در پلاسما و سرم خون گونه‌های مورد بررسی صورت نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی تفاوت مقادیر مواد شیمیایی موجود در پلاسما و سرم در ماهیان با ارزش شیلاتی و اقتصادی همچون فیل‌ماهی (*Huso huso*)، تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و کلمه خزری (*Rutilus rutilus caspicus*) در شرایط پرورشی می-باشد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورشی: بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی، فیل‌ماهی و کلمه خزری که در وزن رهاسازی (به-ترتیب 5-3 گرمی در ماهیان خاویاری و 3-2 گرمی در ماهی کلمه) در سال 1391 از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجاني و ماهیان استخوانی سیجوال (استان گلستان) تهیه و در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی دانشکده شیلات و محیط‌زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در شرایط نور طبیعي و تعویض مداوم آب و تغذیه با غذای تجاری به‌مدت یک‌سال نگه‌داري شده بودند، جهت انجام آزمایش انتخاب شدند. کلیه شرایط محیطي، براي همه تانک‌ها کاملاً یکسان و دمای آب طی دوره پرورش به‌طور متوسط 23 درجه سانتی‌گراد، pH برابر 7/5 و اکسیژن ppm 7/9 بود و طی زمان مطالعه ماهیان از غذای تجاری 2 بار در روز تغذیه می‌شدند. تعویض آب نیز به‌صورت یک روز در میان انجام می‌گرفت.

نمونه‌گیری از خون: جهت مطالعه پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما و سرم خون ماهیان خون‌گیری با استفاده از سرنگ 2 سی‌سی حاوی از طریق ورید دمی ماهیان در آزمایشگاه شهید ناصر فضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان انجام گرفت و خون هر ماهی به‌طور مساوی در 2 تیوب اپندورف یکی حاوی ماده ضدانعقاد هپارین و دیگری بدون هپارین که قبلاً مشخصات نمونه روی آن ثبت شده بود تقسیم شد. نمونه‌ها در مجاورت یخ به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده منتقل و نمونه‌ها با دور g ×3300 به‌مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ شدند، پلاسما و سرم‌خون جداسازی شد و تا بررسی پارامترهای بیوشیمیایی خون شامل آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، آلبومین ، پروتئین کل و گلوکز در 20- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی: آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و کراتین فسفوکیناز(CPK) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (پرستیژ 24i) و کیت تشخیص پارس آزمون (TS.M.91.8.4) با روش آنزیمی IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) مطابق دستورالعمل (Reitman وFrankel، 1957) سنجش شد.

سنجش گلوکز: سنجش کمی گلوکز سرم با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (پرستیژ- 24i) و کیت آزمایشگاهی تشخیص پارس آزمون (15000178) براساس روش اصلاح شده Trinder (1969) صورت پذیرفت.

سنجش آلبومین و پروتئین کل: آلبومین طبق روش ذکر شده توسط Doumas و همکاران (1977) و پروتئین کل طبق روش ذکر شده توسط Tietz (1986) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: نرمال بودن داده‌ها با استفاده آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد و تفاوت بین جفت داده‌های مربوط به AST، ALT، CPK، آلبومین، پروتئین کل و گلوکز سرم و پلاسما با استفاده از آزمون t-

جفتی با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ورژن 16) (Dytham، 1999) انجام شد.

نتایج

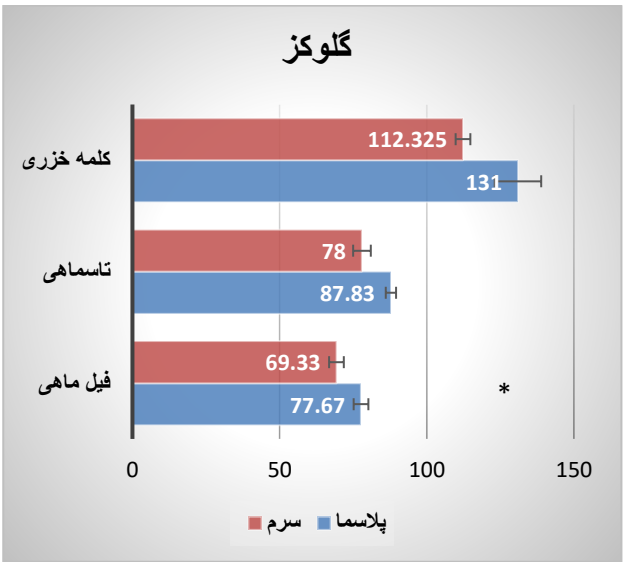
نتایج حاصل از بررسی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای هپارینه و سرم خون ماهیان (آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، آلبومین، پروتئین کل و گلوکز) در جدول 1 (فاکتورهای فاقد تفاوت معنی‌دار) و شکل 1 (فاکتورهای دارای تفاوت معنی‌دار) نشان داده شده است.

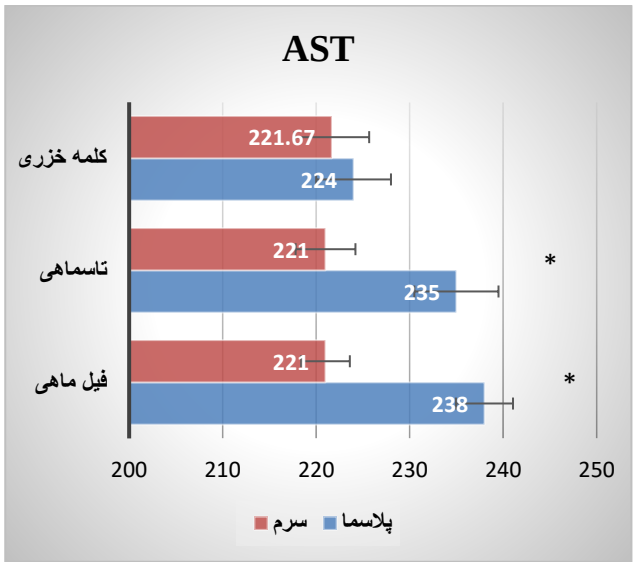
جدول1: برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم و پلاسمای خون فیل‌ماهی، تاس‌ماهی ایرانی و کلمه خزری بدون هرگونه تفاوت معنی‌دار

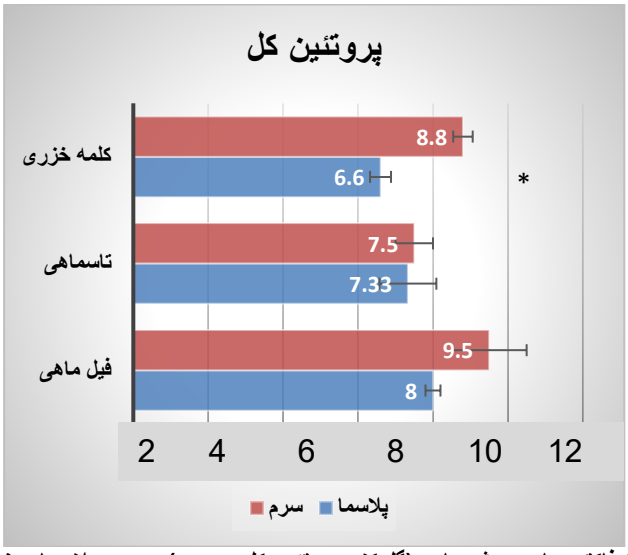
فاکتور/گونه	فیل‌ماهی (*Huso huso*)			تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)			کلمه خزری (*Rutilus rutilus caspicus*)		
	پلاسما	سرم	*P*	پلاسما	سرم	*P*	پلاسما	سرم	*P*
آلبومین (گرم بردسی‌لیتر)	3/83±0/76	4/83±0/57	0/074	4/60±0/55	5/50±0/50	0/077	3/3±0/49	3/70±0/26	0/111
ALT (واحد در لیتر)	9/30±1/50	7/00±1/00	0/073	10/00±1/00	7/00±1/00	0/095	12/33±2/50	8/30±1/50	0/225
CPK (واحد در لیتر)	1926/00±15/00	1924/00±22/00	0/742	1930/00±12/87	1933/00±12/50	0/726	/00±12/76 1924	1928/00±10/00	6/09

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد و معنی‌داری در سطح 0/05 می‌باشد.

همان‌طور که در جدول 1 نشان داده شده است تفاوت معنی‌داری در مقادیر به‌دست آمده در آلبومین، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و کراتین فسفوکیناز (CPK) از سرم و پلاسمای خون سه گونه (فیل‌ماهی، تاس‌ماهی و کلمه خزری) مشاهده نشد ($P\geq0/05$)، هرچند در این مقایسه مقادیر آلبومین پلاسما در هر سه گونه کمتر از مقادیر آلبومین سرم، درحالی‌که مقادیر ALT پلاسما علی‌رغم عدم معنی‌داری در هر سه گونه بیش‌تر از مقادیر ALT سرم بود. شکل 1 نیز تفاوت‌های موجود در سرم و پلاسمای خون ماهیان را نشان می‌دهد:







شکل 1: برخی تفاوت‌های معنی‌دار (*) فاکتورهای بیوشیمیایی (گلوکز، پروتئین کل و AST) سرم و پلاسمای خون فیل‌ماهی، تاس‌ماهی ایرانی و کلمه خزری

همان‌طورکه در شکل 1 نشان داده شده است، مقادیر گلوکز سرم و پلاسمای خون تفاوت معنی‌داری را نشان دادند که در تمامی نمونه‌ها مقادیر گلوکز در پلاسمای خون بیش‌تر از سرم بود. در مورد فاکتور AST نیز در هر سه گونه مقادیر به‌دست آمده از پلاسما بیش‌تر از مقادیر به‌دست آمده از سرم بود. پروتئین کل سرم در هر سه گونه بیش‌تر از پروتئین کل پلاسما به‌دست آمد که این تفاوت در ماهی کلمه معنی‌دار بود ($P\leq0/05$).

بحث

از آن‌جایی‌که خون مستقیماً در بسیاري از فرآیندهاي متابولیك نقش داشته و منعکس‌کننده تغییرات بدن جاندار است، ارزیابي‌هاي خوني و هورموني در امر تشخیص وضعیت فیزیولوژیك ماهیان از اهمیت بالایی برخوردار است (فلاحتکار و پورحسین‌سارمه، 1392). این احتمال وجود دارد که مقدار آنالیت‌ها در سرم و پلاسما در جاندارانی که گلبول‌های قرمز هسته‌دار دارند (از قبیل ماهیان)، مشابه نباشند (Mohri و همکاران، 2009؛ Hurbec و Smith، 1999). همچنین مطالعات صورت‌گرفته بر روي پارامترهاي بیوشیمیایي سرم خون در برخي بیماري‌ها نشانگر بروز تغییرات معني‌دار در برخي پارامترهاي بیوشیمیایي سرم خون ماهي مي‌باشد. به‌همین دلیل نیز ضرورت ارائه مقادیر طبیعي پارامترهاي خون‌شناسي و بیوشیمیایي سرم خون در گونه‌هاي مختلف آبزیان مورد تاکید بسیاری از متخصصین بیماری‌های آبزیان می‌باشد.

Sano (1960) پارامترهاي بیوشیمیایي سرم خون ماهي قزل‌آلاي رنگین‌کمان را در يك‌دوره يك‌ساله مورد بررسي و میزان گلوکز، اوره، کراتینین و کلسیم را به‌ترتیب 11/18±139، 0/62±3/7، 0/118±0/99، 2/31±14/6 میلي‌گرم در دسي‌لیتر و پروتئین تام و آلبومین را به‌ترتیب 0/26±7/9 و 0/24±5/92 گرم در دسي‌لیترگزارش نموده است.

Svetina و همکاران (2002) اثر سن را بر برخي پارامترهاي بیوشیمیایي سرم خون کپور مورد مطالعه و افزایش ۵۰ درصدي گلوکز و ۸۰ درصدي لیپید تام را در سال سوم پرورش گزارش نموده است درحالي‌که تغییرات معني‌داري در رابطه با کلسترول و پروتئین تام مشاهده ننمودند.

در این تحقیق مقادیر گلوکز سرم و پلاسمای خون تفاوت معنی‌داری را نشان دادند ($P<0/05$) که در تمامی نمونه‌ها مقادیر گلوکز در پلاسمای خون بیش‌تر از سرم بود که با نتایج Hurbec و Smith، 1999) همخوانی دارد. احتمالاً در سرم خون به‌علت عدم استفاده از مواد ضدانعقاد سلول‌های خونی دیرتر تخریب شده (کاظمی و همکاران، 1389) و از آن‌جاکه گلبول‌های قرمز در مکانیسم سوخت و ساز از گلوکز استفاده می‌نمایند (Tiihonen و Nikinmaa، 1991) میزان گلوکز در سرم خون کم‌تر از پلاسمای خون می‌باشد.

در مورد فاکتور AST در هر سه گونه مقادیر به‌دست آمده از پلاسما بیش‌تر از مقادیر به‌دست آمده از سرم بود. میزان فاکتور AST (Iu/L) در تاس‌ماهی ایرانی و کلمه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$)، اما در فیل‌ماهی میزان این فاکتور در سرم و پلاسما اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$) و میزان این فاکتور در پلاسما بیش‌تر از سرم بود که با نتایج Hurbec و Smith، 1999) هم‌خوانی دارد. برخلاف یافته‌های Hurbec و Smith، (1999) مقادیر ALT موجود در سرم و پلاسما نیز در سه گونه فیل‌ماهی (*Huso huso*)، تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و کلمه (*Rutilus caspicus*) تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P>0/05$) ولی مقادیر ALT پلاسما علی‌رغم عدم معنی‌داری در هر سه گونه بیش‌تر از مقادیر ALT سرم بود. بالا

بودن میزان این آنزیم‌ها در پلاسما نسبت به سرم می‌تواند به نقش این آنزیم‌ها متابولیسم سلولی نسبت داده شود و احتمالاً به‌علت تخریب دیرتر سلول‌های خونی در سرم، سوخت و ساز و متابولیسم به‌مدت طولانی‌تر و بیش‌تر انجام می‌گیرد. آنزیم‌های مذکور به‌طور مستقیم و غیرمستقیم در چرخه کربس و فرایند تنفس سلولی و متابولیسم دخالت دارند (ربانی چادگانی، 1390).

آنزیم CPK در شرایطي که فعالیت به سمت بي‌هوازي بودن تمایل پیدا کرده باشد ، افزایش پیدا مي‌کند (Ferrer و همکاران، 2010). برخلاف یافته‌های Hurbec و Smith(1998) در این تحقیق CPK موجود در سرم و پلاسما در سه گونه فیل‌ماهی (*Huso huso*)، تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و کلمه (*Rutilus caspicus*) تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$).

آلبومین موجود در سرم و پلاسما در سه گونه فیل-ماهی (*Huso huso*) ، تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و کلمه (*Rutilus caspicus*) تفاوت آماری را نشان ندادند ($P>0/05$) که با نتایج حاصل از تحقیق (Hurbec و Smith، 1998) هم‌خوانی ندارد. با این‌حال در این مقایسه مقادیر آلبومین پلاسما در هر سه گونه کم‌تر از مقادیر آلبومین سرم بود که می‌تواند به تخریب سریع سلول‌های خونی و به‌هم خوردن فشار اسمزی نسبت داده شود. در حقیقت استفاده از مواد ضدانعقاد با انتقال یون‌ها و آب بین پلاسما و یاخته‌ها در ارتباط است (کاظمی و همکاران، 1389).

در تحقیق جاری پروتئین کل سرم در هر سه گونه بیش‌تر از پروتئین کل پلاسما به‌دست آمد که این تفاوت در ماهی کلمه معنی‌دار بود ($P\leq0/05$) و میزان پروتئین در سرم ماهی کلمه بیش‌تر از پلاسما بود که با نتایج (Hurbec و Smith، 1998؛ Woerpel و Rosskopf، 1984) هم‌خوانی دارد. این اختلاف احتمالاً می‌تواند به الگوهای متفاوت متابولیکی در گونه‌ها نسبت داده شود، زیرا ماهی کلمه از گروه ماهیان استخوانی و قره‌برون و فیل‌ماهی هر دو از تاس‌ماهیان به‌حساب می‌آیند. تفاوت‌های مشاهده شده مذکور بین پلاسما و سرم می‌تواند به فرایند متابولیک بدن (NCCLS، 1990) و یا خطاهای نمونه‌برداری نیز نسبت داده شود. در ماهی به‌علت تغیرات متابولیکی ظاهراً به‌طور معمول لخته شدن سریع‌تر از پستانداران و پرندگان است و بنابراین باید نمونه‌ها را به‌سرعت جدا کرد.

مکانیسم سوخت و ساز برای تفاوت مشاهده شده در آنالیت‌ها بین پلاسما و سرم در ماهیان ناشناخته است ولی می‌تواند به هسته‌دار بودنشان نسبت داده شود (Tiihonen و Nikinmaa، 1991؛ Walsh و همکاران، 1990)، علاوه براین، گلبول قرمز ماهی فعالیت متابولیک بالاتری نسبت به پستانداران دارند (Walsh و همکاران، 1990) و در سوخت و سازشان غالباً هوازی عمل کرده و از چرخه کربس برای تولید انرژی استفاده می‌کنند (Tiihonen و Nikinmaa، 1991؛ Walsh و همکاران، 1990). همچنین در رابطه با تفاوت‌ها در آنالیت‌های در سرم و پلاسما در سه گونه ماهی استفاده شده، به‌نظر می‌رسد گونه‌های متفاوت از لحاظ تاکسونومی و اکولوژیکی که الگوهای متابولیکی و سرعت متابولیکی یکسانی دارند، تفاوت‌های یکنواختی در میان آنالیت‌های بیوشیمیایی خون نشان دهند.

به‌طورکلی به‌نظر می‌رسد که هر چند در فاکتورهایی نظیر آلبومین، CPK و ALT در پلاسمای هپارینه شده و سرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و تفاوتی در سنجش آن‌ها در سرم و پلاسما نمی‌باشد، اما میزان فاکتورهایی نظیر AST، ALT، گلوکز در پلاسما بیش‌تر از سرم بود که با توجه به مشابه بودن محیط خون حاوی ماده ضدانعقاد به محیط داخلی بدن، نتایج استفاده از پلاسما نسبت به سرم به داده‌های واقعی نزدیک‌تر باشد، البته تعداد نمونه بیش‌تر و استفاده از مواد ضدانعقاد مختلف می‌تواند نتایج دقیق‌تری را در اختیار قرار دهد.

منابع

1. **احمدنیای‌مطلق فلاحتکار، ب. و پورحسین‌سارمه، س.، 1392.** تغییرات بیوشیمیایي، استروئیدهاي جنسي و پارامترهاي هماتولوژیك در قبل و پس از تخمریزي ماهي سوف سفید *Sander lucioperca*. . مجله زیست‌شناسي ایران. جلد 26، شماره 3، صفحات 333 تا 343.
2. **بهمنی، م.؛ کاظمی، ر.؛ حلاجیان، ع.؛ محسنی، م.؛ پوردهقانی، م.؛ جمالزاده، ف.؛ یوسفی، ا. و دژندیان، س.، 1387.** گزارش نهایی پروژه بررسی امکان تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون پرورشی، مولدسازي، تکثیر مصنوعی و تولید بچه ماهی از مولدین تاس‌ماهیان پرورشی .انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. 86 صفحه.
3. **کاظمی، ر.؛ پوردهقانی، م.؛ یوسفی‌جوردهی، ا.؛ یارمحمدی، م. و نصری‌تجن، م.، 1389.** فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون‌شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. 194 صفحه.
4. **ستاری، م.؛ شاهسونی، د.؛ شعبانی‌پور، ن. و شفیعی، ش.، 1385.** ماهی شناسی 1(تشریح و فیزیولوژی). انتشارات حق شناس. 662 صفحه.
5. **ربانی‌چادگانی، ع.، 1390.** مبانی بیوشیمی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ ششم. 303 صفحه.
6. **گروبی، ح.؛ جمیلی، ش. و رستمی، م.، 1387.** اثر سمیت حاد سولفات مس بر بافت آبشش ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*). پژوهش و سازندگی. سال 21، شماره 1، صفحات 193 تا 196.
7. **مهری، م.،** 1387. آزمون‌هاي بیوشیمیائي خون: مروري بر اثر مواد ضدانعقاد مختلف و مقایسه پلاسما با سرم خون در حیوانات گروه علوم درمانگاهي. دانشکده دامپزشکي، دانشگاه فردوسي مشهد، پانزدهمین کنگره دامپزشکی ایران. تهران. 4 صفحه.
8. **Bacankas, L.R.; Whitaker, J. and Giulio, R.T.D., 2004.** Oxidative stress in two populations of killifish (*Fundalus fundalus*) with differing contaminant exposure histories. Marine Environment Research. Vol. 56, pp: 2-5.
9. **Billard, R. and Lecointre, G., 2001.** Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. Reviews in Fish Biology and Fisheries. Vol. 10, pp: 355-392.
10. **Doumas, B.T.; Watson, W.A. and Biggs, H.G., 1977.** Albumin standards and the measurement of serum

albumin with bromcresol green. Clinica Chimica Acta. Vol. 258, pp: 21-30.

11. **Dytham, C., 1999.** Choosing and Using Statistics: a Biologist GUIDE. Blackwell Science Ltd. London. 16 p. **Ferrer, M.D.; Sureda, A.; Tauler, P. and Palacı´n, C., 2010**. Impaired lymphocyte mitochondrial antioxidant defences in variegate porphyria are accompanied by more inducible reactive oxygen species production and DNA damage. British Journal of Haematology. Vol. 149, pp: 759-767.
12. **Flickinger, E.A.; Van Loo, J. and Fahey, G.C., 2003.** Nutritional response to the presence of Inulin and Oligofuctose in diet of domesticated animal, A Review. Journal of Critical review in Food Science and nutrition. Vol. 43, No. 1, pp: 19-60.
13. **Haschek, W.M.; Walling, M.A. and Rousseax, C., 2010**. Fundamental of Toxicological pathology. New York, NY: Academic Press. pp: 211-686.
14. **Houston, H., 1997.** Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? Transactions of the American Fisheries Society. Vol. 126, pp: 879-894.
15. **Hrubec, T.C. and Smith, S.A., 1999.** Differences between plasma and serum sample for the evaluation of blood chemistry value in Rainbow trout, Channel catfish, Hybrid tilapia, and hybrid striped bass, Journal of Aquatic Animal Health. Vol. 11, pp: 116-122.
16. **Iwama, G.K.; Takemura, A. and Takano, K., 1999.** Oxygen consumption rates of tilapiain fresh water, sea water, and hypersaline sea water. Jouranl of Fish Biology. Vol. 51, pp: 886-894.
17. **Kasumyan, A.O., 1994.** Olfactory sensitivity of the sturgeon to free amino acids. Journal of Ichthyology. 77 p.
18. **Kiabi, B.H.; Abdoli, A. and Naderi M., 1999.** Status of the fish fauna in the South Caspian Basin of Iran. Zoology in the Middle East. Vol. 18, pp: 57-65.
19. **Kim, S.G.; Park, D.K.; Jange, S.W.; Lee, J.S.; Kim, S.S. and Chung, M.H., 2008.** Effects of dietary benzo[a]pyrene on growth and hematological parameters in juvenile rockfish (*Sabates schlegeli*). Bulltin of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 81, pp: 470-474.
20. **King, E.J. and Armstrong, A.R., 1965.** A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. Canadian Medical Association Journal. Vol. 31, pp: 376-381.
21. **Koaud, H.A.; Zaki, M.M.; EI-Dahshan, A.R.; Saeid, S.H. and EL Zorba, H.Y., 2011**.Amelioration the toxic effects of cadmium exposure in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by using (*Lemna gibba*). Vol. 8, No. 1, pp: 185-195.
22. **Kumar, S.; Sahu, N.P.; Pal, A.K.; Choudhury, D.; Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C., 2005.** Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in (*Labeo rohita*) juveniles. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 19, pp: 331-344.
23. **Makris, M.; Veen, J. J.; Tait, C.R.; Mumford, A.D, and Laffan, M., 2012.** Guideline on the management of bleeding in patients on antithrombotic agents. British Journal of Haematology. Vol. 160, pp: 35-46.
24. **Mohri, M.; Narenji Sani, R. and Masoodi, R., 2009.** Plasma biochemistry of ostrich (*Struthio camelus*): effects of anticoagulants and comparison with serum. Trop Anim Health Prod. Vol. 41, pp: 845-849.
25. **NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). 1990.** Procedures for the handling and processing of blood specimens. NCCLS, document H18 A., approved guideline, Villanova, Pennsylvania. 350 p.
26. **NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). 1991.** Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture, 2nd edition. NCCLS, document H3-A3, approved standard, Villanova, Pennsylvania. 420 p.
27. **Nevin Atalay, G., 2007.** Effects of different resistance exercise protocols on nitric oxide, lipid peroxidation and creatine kinase activity in sedentary males. Journal of Sports Science and Medicine. Vol. 6, pp: 417-422.
28. **Nordlie, F.G., 2009.** Environtal influences on regulation of blood/ plasma component in teleost fishes .a review. Rev Fish Biol Fisheries. Vol. 19, pp: 481-564.
29. **Reitman, S. and Frankel, A.S., 1957.** A colorimetric method for the determination of serum glutatmic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. American Journal of Clinical Pathology. Vol. 28, pp: 56-63.
30. **Rose, W.L.; Nisbet, R.M.; Green, P.G.; Norris, S.; Fan, T.; Smith, E.H.; Cherr, G.N. and Anderson, S.L., 2006.** Using an integrated approach to link biomarker responses and physiological stress to growth impairment of cadmium-exposed larval topsmelt. Aquatic Toxicology. Vol. 80, pp: 298-308.
31. **Saera-Vila, A.; Calduch-Giner, j.; Prunet, P. and Perez-Sanchez, J., 2009.** Dynamic of liver GH/IGF axis and selected stress markers in juvenile gilhead sea bream (*Sparus aurata*) exposed to acuted confinement differntial stress response of growth hormone receptors. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 154, pp: 197-203.
32. **Sano, T., 1960.** Haematological studies of the culture fishes in Japan. Journal of the Tokyo University of Fisheries. Vol. 46, pp: 98-87.
33. **Siest, G., 1985.** References values: their concept and application**.** Pages 3-25 in G. Siest, J. Henry, F. Schiele, and D. Young, editors. Interpretation of clinical laboratory tests. Biomedical Publications, Foster City. California. 247 p.
34. **SPSS. 1998.** SPSS for Windows. SPSS Inc, Headquarters, Chicago. 87 p.
35. **Stewart, C.E. and Koepke, J.A., 1987.** Basic quality assurance practices for clinical laboratories. Lippincott. Philadelphia. 138 p.
36. **Sudagar, M. and Hoseinifar, S.H., 2004.** The use of Optiman in diet of grand sturgeon Huso huso fry and its effects on growth factors and survival rate. 5th International sturgeon fishes symposium. Extended Abstract. AQ3pp .: 5-14.
37. **Svetina, A.; Matasin, Z.; Tofant A.; Vucemilo, M. and Fkjan, N., 2002.** Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. Acta Veterinary Hungarica. Vol. 50, No. 4, pp: 459-467.
38. **Tietz, N.W., 1986.** Textbook of clinical chemistry. WB Saunders, London.189 p.
39. **Tiihonen, K. and Nikinmaa. M., 1991.** Substrate utilization by carp (*Cyprinus carpio*) erythrocytes. Journal of Experimental Biology. Vol. 161, pp: 509-514.
40. **Trinder, P., 1969.** Determination of glucose concentration in the blood. Annual Clinical Biochemistry. Vol. 6, p: 24.

41. **Walsh, P.J.; Wood, C.M.; Thomas, S. and Perry, S.F., 1990**. Characterization of red blood cell metabolism in rainbow trout. Journal of Experimental Biology. Vol. 154, pp: 475-498.

42. **Woerpel, R.W. and Rosskopf, W.J., 1984.** Clinical experience in avian laboratory diagnostics. Vet Clin North Am Small Anim Pract. Vol. 14, pp: 249-286.