بسم الله الرحمن الرحيم

مدیریت تحصیلات تکمیلی
دانشکده کشاورزی
گروه علوم دامی
پایان نامه درجه کارشناسی ارشد
(فیزیولوژی دام)

عنوان:

تعیین ارتباط بین هورمون‌های تیروئید و پروفایل چربی در اواخر آبستنی شترهای یک‌کوهانه بالغ

نگارش:

ژیلا ساجدی سلطان آباد

اساتید راهنما:

دکتر محمد باقر منتظر تربتی

دکتر آرش امیدی

تابستان ۱۳۹۲

تقدیم به:

آن نگاه جویای نور در دور دستها،

که مقهور چیرگی گشاده دستان نگشت،

تا سرانجام در آرزوی نور، خود به نور پیوست.

با تقدیر و تشکر از اساتید محترم

گروه علوم دامی

به ویژه اساتید راهنمای بزرگوار و متواضعم

آقای دکتر محمد باقر منتظر تربتی

و آقای دکتر آرش امیدی

و همه ی عزیزان

که در تهیه و تدوین این پایان نامه با نهایت توان

مرا یاری نمودند.

ژیلا ساجدی سلطان آباد

شهریور ۱۳۹۲

چکیده

در این آزمایش به منظور بررسی ارتباط بین هورمون‌های تیروئید و پروفایل چربی خون در سه ماه آخر آبستنی از سرم خون ۲۰ نفر شتر یک‌کوهانه (۱۰ نفر آبستن - ۱۰ نفر غیرآبستن) با میانگین سنی ۳ تا ۵ سال استفاده شد. میانگین داده‌ها با نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون آماری Kruskal-Wallis مقایسه شدند. وجود همبستگی بین هورمون‌های تیروئیدی و پروفایل چربی در گروه‌های آبستن و غیر آبستن به روش همبستگی اسپیرمن محاسبه شد. داده‌ها به صورت میانگین و خطای استاندارد ارائه گردید. چندشکلی احتمالی موجود در ژن TSHb شترهای یک‌کوهانه و فراوانی آللی و ژنوتیپی جایگاه-های ژنی TSHb در شترهای یک‌کوهانه نیز انجام شد. محاسبه فراوانی آللی و ژنوتیپی و آزمون کای مربع برای ژن TSHb توسط نرم افزار PopGen 32 صورت گرفت نتایج مربوط به این بررسی نشان داد که در شترهای سه ماه آخر آبستنی، میانگین غلظت سرمی تیروکسین آزاد به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کمتر از غلظت این هورمون در شترهای غیرآبستن بود. بین شترهای آبستن و غیرآبستن تفاوت معنی-داری برای غلظت هورمون‌های T3، T4 و TSH وجود نداشت. هر چند که غلظت این هورمون‌ها در شترهای غیر آبستن به طور عددی بیشتر از شترهای آبستن بود. غلظت تری یدوتیرونین آزاد در شترهای آبستن بالاتر از شترهای غیر آبستن بود؛ اما تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود نداشت. غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین‌ها در شترهای آبستن افزایش عددی داشت. نتایج بدست آمده حاکی از وجود همبستگی بالا و مثبت بین هورمون‌های تیروئیدی در شترهای آبستن بود. همبستگی معنی‌دار غلظت سرمی T4 با fT4 و TSH به ترتیب ($r=۰/۶۳۸، p<۰/۰۵$)؛ ($r=۰/۸۰۲، p<۰/۰۱$) و همبستگی T3 و fT3 نیز برابر با ($r=۰/۸۰۲، p<۰/۰۱$) بود. همبستگی بین غلظت پروفایل چربی و هورمون‌های تیروئید در شترهای آبستن و غیرآبستن معنی‌دار نبود). در شترهای آبستن بین غلظت تری‌گلیسرید با LDL-کلسترول و VLDL-کلسترول همبستگی معنی‌دار گزارش شد ($r= -۰/۵۰۲، p<۰/۰۵$)؛ ($p<۰/۰۱$، $r=۰/۸۹۰$). همبستگی معنی‌دار بین کلسترول با HDL-کلسترول در شترهای آبستن مشاهده شد ($r=۰/۵۴۲، p<۰/۰۵$). همچنین کلسترول و چربی کل در شترهای آبستن و غیرآبستن همبستگی معنی-دار نشان دادند ($r=۰/۶۳۹، p<۰/۰۵$)؛ ($r=۰/۸۴۵، p<۰/۰۱$). در این بررسی در سرم خون شترهای آبستن همبستگی معنی‌دار منفی بین لیپوپروتئین‌های LDL-کلسترول و HDL-کلسترول مشاهده شد ($r=-۰/۶۵۹؛ p<۰/۰۵$). نتایج به دست آمده نشان داد که چندشکلی‌های مشاهده شده در سطح قطعه ۷۰۶ جفت بازی تکثیر شده ژن زیر واحد بتای هورمون محرک تیروئید، اثر معنی‌داری با غلظت هورمون-های تیروئید و پروفایل چربی نداشت. بر اساس نتایج این پژوهش مکانیسم‌های قوی هومئوستاتیک در شترهای یک‌کوهانه با آبستنی سنگین مانع از تغییر متابولیت‌های خونی و هورمونی در طی تغییرات فیزیولوژیکی شدید این مرحله شده است.

کلمات کلیدی: آبستنی، شتر یک‌کوهانه، کلسترول، هورمون‌های تیروئیدی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

مقدمه و اهداف

مقدمه و اهداف ۱
اهداف کلی ۴
فصل اول: کلیات و بررسی منابع ۵
۱-۱ تاریخچه شتر ۶
۱-۲ خصوصیات شتر ۷
۱-۳ اهمیت شتر ۸
۱-۴ جایگاه شتر در طبقه بندی جانوری ۹
۱-۴-۱ جنس لاما ۹
۱-۴-۲ جنس کاملوس (کوهان‌دار) ۹
۱-۵ جمعیت و پراکنش شتر در جهان ۱۰
۱-۶ نژاد و پراکنش شتر در ایران ۱۲
۱-۷ انواع شترهای ایران ۱۲
۱-۷-۱ اکوتیپ شتر کلکوهی ۱۳
۱-۷-۲ اکوتیپ شتر ترکمنی ۱۳
۱-۷-۳ اکوتیپ شتر بلوچی ۱۳
۱-۷-۴ اکوتیپ شتر جمازه ۱۴
۱-۸ محصولات و موارد استفاده از شتر ۱۴
۱-۸-۱ گوشت شتر ۱۵
۱-۸-۲ شیر شتر ۱۶
۱-۸-۳ کرک و موی شتر ۲۰
۱-۸-۴ پوست شتر ۲۲
۱-۹ آناتومی و بافت شناسی دستگاه تناسلی ماده ۲۲
۱-۹-۱ اختصاصات بافت شناسی ۲۲
۱-۹-۲ رحم ۲۳

۱-۹-۳ خون رسانی رحم و تخمدان ۲۴
۱-۹-۴ جفت و بند ناف ۲۵
۱-۹-۵ مجرای تخم بر(اویداکت) ۲۶
۱-۹-۶ عروق اویداکت ۲۶
۱-۹-۷ گردن رحم ۲۷
۱-۹-۸ مهبل ۲۷
۱-۹-۹ دالان مهبلی و فرج ۲۸
۱-۱۰ فیزیولوژی تولیدمثل در شتر ماده (آروانه) ۲۸
۱-۱۰-۱ مورفولوژی تخمدان‌ها ۲۸
۱-۱۰-۲ دینامیک فولیکولی ۲۹
۱-۱۰-۳ بلوغ جنسی ۳۱
۱-۱۰-۴ فحلی و علایم آن در شترهای ماده ۳۲
۱-۱۱ آشنایی با غده‌ی تیروئید شتر ۳۳
۱-۱۲ فیزیولوژی غده‌ی تیروئید در شتر یک‌کوهانه ۳۴
۱-۱۲-۱ ساختار ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک ۳۴
۱-۱۲-۲ سنتز هورمون‌های تیروئیدی ۳۷
۱-۱۲-۳ مکانیسم سنتز T3 و T4 ۳۷
۱-۱۲-۴ تنظیم ترشح هورمون‌های تیروئیدی ۳۷
۱-۱۳ اعمال فیزیولوژیک هورمون‌های تیروئید ۳۸
۱-۱۳-۱ اثر هورمون‌های تیروئید بر مکانیسم‌های خاص بدن ۳۹
۱-۱۴ متابولیت‌های خونی بررسی شده ۴۳
۱-۱۴-۱ کلسترول ۴۴
۱-۱۴-۲ تری‌گلیسرید ۴۴
۱-۱۴-۳ لیپوپروتئین‌ها ۴۵
۱-۱۵ انتخاب ژن مناسب ۴۶
۱-۱۵-۱ ژن هورمون محرک تیروئید (TSHb) ۴۶
۱-۱۶ انتخاب به کمک نشانگر ۴۸
۱-۱۷ انواع نشانگرها ۵۰
۱-۱۷-۱ نشانگرهای ریخت شناسی ۵۰

۱-۱۷-۲ نشانگرهای پروتئینی ۵۰
۱-۱۷-۳ نشانگرهای فیزیولوژیکی ۵۱
۱-۱۷-۴ نشانگرهای سیتوژنتیکی ۵۱
۱-۱۷-۵ نشانگرهای مولکولی ۵۱
۱-۱۸ کاربرد نشانگرهای DNA ۵۲
۱-۱۹ تقسیم بندی نشانگرهای DNA ۵۲
۱-۱۹-۱ نشانگرهای DNA مبتنی بر PCR ۵۲
۱-۱۹-۲ نشانگرهای DNA غیر مبتنی بر PCR ۵۸
۱-۲۰ واکنش زنجیره ای پلی‌مراز (PCR) ۵۹
۱-۲۰-۱ عوامل مهم در توسعه موفقیّت PCR ۶۱
۱-۲۰-۲ تأثیراجزای واکنش PCR ۶۱
۱-۲۰-۳ عوامل موثر در موفقیت برنامه واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۶۲
۱-۲۱ هدف از طرح و ضرورت انجام آن ۶۲
فصل دوم: مواد و روش ها ۶۵
۲-۱ جمع آوری نمونه‌ها ۶۶
۲-۲ آنالیز بیوشیمیایی سرم خون ۶۷
۲-۳ روش‌های اندازه‌گیری ۶۷
۲-۳-۱ روش فتومتری ۶۷
۲-۳-۲ فلورومتری ۶۷
۲-۴ سیستم‌های اتوآنالایزر بیوشیمیایی آزمایشگاهی ۶۸
۲-۵ آزمایشات هورمونی ۶۸
۲-۵-۱ هورمون تیروئیدی تری یدوتیرونین (T3) ۶۸
۲-۵-۲ هورمون تیروئیدی تترایدوتیرونین (T4) ۶۸
۲-۵-۳ هورمون تیروئیدی (FT3) ۶۸
۲-۵-۴ هورمون تیروئیدی (fT4) ۶۹
۲-۵-۵ هورمون محرک تیروئید (TSH) ۶۹
۲-۶ آزمایشات پارامترهای بیوشیمیایی ۶۹
۲-۶-۱ کلسترول ۶۹
۲-۶-۲ تری‌گلیسرید ۶۹

۲-۶ لیپوپروتئین‌ها ۷۰
۲-۷ آنالیز آماری ۷۰
۲-۸ محل آزمایش و سال اجرا ۷۰
۲-۹ خون‌گیری ۷۱
۲-۱۰ عملیات آزمایشگاه ۷۱
۲-۱۰-۱ استریل کردن وسایل و مواد ۷۱
۲-۱۰-۲ استخراج DNA ۷۱
۲-۱۰-۳ تعیین مقدار خصوصیات کیفی DNA ۷۳
۲-۱۰-۴ انجام واکنش زنجیره ای پلی‌مراز (PCR) ۷۴
۲-۱۰-۵ آغازگرهای ژن زیر واحد بتای هورمون محرک تیروئید (TSHb) ۷۵
۲-۱۰-۶ برنامه واکنش زنجیره ای پلی‌مراز (دما و زمان) ۷۶
۲-۱۰-۷ انتقال نمونه های حاصل از PCR بر روی ژل آگارز ۷۶
۲-۱۱ بررسی ساختار ژنتیکی جمعیّت مورد مطالعه ۷۹
۲-۱۱-۱ تعادل هاردی- وینبرگ ۷۹
۲-۱۱-۲ معیارهای اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی ۸۰
۲-۱۱-۳ معیارهای چندشکلی ۸۲
۲-۱۲ تجزیه و تحلیل آماری ۸۲
فصل سوم: نتایج و بحث ۸۳
۳-۱ متابولیت‌های سرم خون ۸۴
۳-۱-۱ هورمون‌های تیروئید ۸۴
۳-۱-۲ تریگلیسرید ۸۸
۳-۱-۳ کلسترول ۹۰
۳-۱-۴ کلسترول لیپوپروتئین‌ها ۹۰
۳-۲ کیفیت استخراج DNA ۹۲
۳-۳ محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز ۹۲
۴-۴ تعیین شاخص‌های ژنتیکی ۹۳
۴-۴-۱ ژنوتیپ ۹۳
۳-۴-۲ فراوانی ژنی و ژنوتیپی ۹۳
۳-۴-۳ تنوع ژنتیکی ۹۵

۳-۵ ارتباط چندشکلی ژن سازندهی زیر واحد بتای هورمون محرک تیروئید (TSHb) با فاکتورهای متابولیک..... ۹۶
فصل چهارم: نتیجه‌گیری و پیشنهادات..... ۹۸
۴-۱ نتیجه‌گیری..... ۹۹
۴-۲ پیشنهادات..... ۱۰۰
فهرست منابع و مآخذ..... ۱۰۱

فهرست جداول

۱-۱ جمعیت شتر جهان در سال‌های مختلف..... ۱۱
۱-۲ جمعیت شتر و پراکنش آن در برخی کشورهای دنیا..... ۱۱
۱-۳ نام‌های بومی شتر ایرانی در سنین مختلف..... ۱۲
۱-۴ تجزیه و تحلیل شیمیایی گوشت تازه‌ی شتر..... ۱۵
۱-۵ متوسط ترکیبات گوشت دام‌های مختلف در مقایسه با شتر..... ۱۶
۱-۶ محتویات شیر شتر یک‌کوهانه در مقایسه با شیر حیوانات اهلی دیگر و انسان..... ۱۷
۱-۷ متوسط شیر در گاوهای بومی کشورهای عربی..... ۱۷
۱-۸ قدرت تولید شیر شتر یک کوهانه در شرایط مرتعی..... ۱۸
۱-۹ متوسط اندازه‌ی طول، عرض، قطر و وزن تخمدان‌های شتر یک‌کوهانه در بعضی منابع..... ۲۹
۱-۱۰ ابعاد و وزن لوب‌های راست و چپ غده‌ی تیروئید در دو جنس نر و ماده شتر یک‌کوهانه..... ۳۶
۱-۱۱ غلظت بعضی از متابولیت‌های خون شتر یک‌کوهانه..... ۴۳
۲-۱ روش انجام آزمایش..... ۶۹
۲-۲ مواد تشکیل دهنده‌ی بافر A در حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر..... ۷۱
۲-۳ مواد تشکیل دهنده‌ی بافر B در حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر..... ۷۱
۲-۴ مواد تشکیل دهنده‌ی بافر TE در حجم۲۰۰ میلی‌لیتر..... ۷۲
۲-۵ مقدار و غلظت مواد استفاده شده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز..... ۷۴
۲-۶ برنامه واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ژن TSHb..... ۷۵
۲-۷ مواد تشکیل دهنده بافر TBE 5X..... ۷۶
۲-۸ مواد تشکیل دهنده بافر بارگذاری محصولات PCR بر روی ژل آگارز..... ۷۷
۳-۱ میانگین (± خطای استاندارد) غلظت هورمون‌های تیروئید در شترهای آبستن و غیرآبستن..... ۸۴
۳-۲ ضریب همبستگی بین هورمون های تیروئیدی در شترهای آبستن و غیرآبستن..... ۸۷
۳-۳ میانگین (±خطای استاندارد) چربی‌ها و کلسترول لیپوپروتئین‌های سرم خون شترهای آبستن و غیرآبستن..... ۸۸
۳-۴ ضریب همبستگی بین پروفایل چربی و کلسترول لیپوپروتئین‌ها در شترهای آبستن و غیرآبستن..... ۸۹

۳-۵ فراوانی ژنی و ژنوتیپی مربوط به ژن TSHb ۹۳
۳-۶ نتایج آزمون کای مربع برای جایگاه ژنی TSHb ۹۳
۳-۷ پارامترهای تنوع ژنتیکی برای جایگاه ژنی TSHb ۹۴
۳-۸ مقایسه میانگین و خطای استاندارد برای هورمون‌های تیروئید بر اساس SNP ژنوتیپ‌های ژن TSHb ۹۶
۳-۹ مقایسه میانگین و خطای استاندارد برای پروفایل چربی بر اساس SNP ژنوتیپ‌های ژن TSHb ۹۶

فهرست اشکال

۱-۱ رحم شتر یک کوهانه در فصل تولید مثلی ۲۴
۱-۲ ارگان‌های تولیدمثلی شتر ماده ۲۴
۱-۳ غده تیروئید و پاراتیروئید شتر ۳۵
۱-۴ اگزون‌ها و اینترون‌های ژن TSHb در انسان ۴۶
۱-۵ محل ژن TSHb روی کروموزوم یک انسان ۴۷
۱-۶ ژن TSHb خوکی و پنج جایگاه پلی‌مورفیسم مشاهده شده ۴۸
۱-۷ مراحل انجام واکنش PCR در سه چرخه اول ۵۹
۱-۸ نحوه تصاعدی تکثیر قطعه مورد نظر، بااستفاده از عمل PCR ۶۰
۲-۱ دستگاه نانودراپ متصل به رایانه ۷۳
۲-۲ دستگاه ترموسایکلر ۷۴
۲-۳ دستگاه الکتروفورز افقی ۷۶
۳-۱ غلظت DNA استخراج شده بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر توسط خروجی نرم افزار نانودراپ ۹۱
۳-۲ باندهای حاصل از نتایج ژل آگارز برای برنامه دمایی و مخلوط PCR ژن TSHb ۹۲
۳-۳ باندهای حاصل از هضم آنزیمی ژن TSHb ۹۲

مقدمه و اهداف

مقدمه و اهداف

تولید مواد غذایی (گیاهی و دامی) خصوصاً در نواحی گرم و خشک ایران امری دشوار است. با توجه به نیاز روز افزون جوامع بشری به پروتئین حیوانی و روند روبه رشد جمعیت در کشورهای در حال توسعه و همچنین محدود بودن منابع تغذیه ای باید چاره‌ای اساسی و عملی در جهت رفع این مشکل اندیشید تا بتوان سلامت و رشد جسمانی و روانی افراد را تضمین کرد. لذا در این شرایط راه فائق آمدن بر این مشکلات و رسیدن به خودکفایی غذایی، استفاده بهینه از امکانات خدادادی موجود می‌باشد.

قسمت اعظم استان‌های قم، تهران، خراسان، سمنان، سیستان و بلوچستان، فارس، کرمان، یزد، اصفهان، قزوین، مرکزی و گلستان در شرایط اکوسیستم خشک و نیمه خشک واقع شده‌اند. طبق گزارشات بین المللی و تجربیات کارشناسی کشور، شتر مهم ترین دامی است که می‌تواند در چنین نواحی (مراتع فقیر) توان زیست و تولید داشته و با توجه به عادات چرایی خود باعث حفظ و احیاء این مراتع گردد. زیرا شتر قادر است از انواع خاصی از گیاهان مرتعی استفاده نماید که سایر دام‌ها قادر به استفاده از آن نمی‌باشند (مقدسی و پیش‌نمازاده، ۱۳۷۶). علاوه بر برتری شتر به شرایط سخت محیطی نسبت به سایر دام‌ها، این دام قادر است در شرایط تغذیه دستی نیز با دام‌های پرتولید هم وزن (مانند گاو) رقابت کرده و افزایش وزن روزانه بالایی داشته باشد (خدایی، ۱۳۸۶). از آنجایی که مصرف فرآورده های گوشتی شتر سالیان متمادی جایگاه ویژه‌ای در تغذیه افراد، به خصوص در ممالک اسلامی پیدا کرده است و همچنین در شرایط امروزی که با توجه به از بین رفتن نقش شتر در حمل بار و جایگزینی وسایل نقلیه موتوری به جای آن، می‌بایست پرورش شتر را در جهت استفاده از تولیدات پروتئینی آن (گوشت، شیر و غیره) رواج داد تا بتوان علاوه بر عهده گرفتن سهم اعظمی از پروتئین مورد نیاز و مصرفی کشور، ذخیره-ای مطمئن از نظر تأمین گوشت برای کشور در مواقع بروز قحطی‌ها و خشکسالی‌ها باشد (امینی‌فرد، ۱۳۷۸) بر همین اساس امروزه شتر در رأس انجام برخی مطالعات در زمینه دام قرار گرفته است. با توجه به این که اطلاعات موجود در زمینه خصوصیات و صفات تولید مثلی شتر بسیار محدود می‌باشد لذا لازم

است تحقیقاتی در این زمینه به عمل آید و سپس به تدریج در جهت بهبود بخشیدن این صفات اقدامات اساسی صورت گیرد.

زندگی تولید مثلی شتر به صورت فصلی بوده و فصلی بودن آن بستگی به طول و عرض جغرافیایی و محل زندگی این حیوان دارد. به طور مثال، شترهایی که در ایران زندگی می‌کنند، بین ماه‌های آذر، دی، بهمن و اسفند جفت‌گیری کرده و در این ماه‌ها در اوج فعالیت جنسی هستند. برای شترهای پاکستانی فصل جفت‌گیری بین ماه‌های دی، بهمن و اسفند می‌باشد. با این حال در مصر، آمیزش شترها بین ماه-های دی، بهمن و اسفند و تا حدودی در فروردین ماه صورت می‌گیرد و پس از آن تا پایان تابستان سیکل‌های تولیدمثلی ناقص بوده و فحلی رخ نمی‌دهد. البته طولانی شدن فصل جفت‌گیری شتر بستگی به تغذیه‌ی مناسب نیز دارد (امینی‌فرد، ۱۳۷۸). تولیدمثل و باروری در حیوانات تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله وراثت، محیط زندگی، هورمون‌ها، بیماری‌ها و تغذیه می‌باشد. بنابراین تغییر در ترکیبات شیمیایی خون شاخص مهمی برای نشان دادن وضعیت فیزیولوژیکی هر حیوان می‌باشد. از آنجائی‌که ترکیبات بیوشیمیایی خون در طول مراحل مختلف تولیدمثلی تغییر می‌کند به نظر می‌رسد مطالعه غلظت متابولیت‌های خونی، مواد معدنی و هورمون‌های درون‌ریز بویژه هورمون‌های تیروئیدی برای درک بهتر نحوه عملکرد سیستم تولیدمثل بدن، حیاتی و مهم است. تغییرات در متابولیت‌های سرم خون و مواد معدنی به ویژه ید می‌تواند به صورت غیر مستقیم روی تخمک‌گذاری و باروری نیز تأثیر بگذارد. اختلال در تنظیم و کنترل هورمونی، فعالیت تخمدانی نشخوارکنندگان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. همچنین به علت نقش مهمی که هورمون‌ها در باروری و سلامت بافتی دارند ممکن است در کنترل رشد و تمایز فولیکول‌های تخمدانی و در نتیجه باروری اثر مساعدی داشته باشند. اختلالات هورمونی ممکن است سبب شود که رشد فولیکولی به خوبی صورت نگرفته و ممکن است حیوان مبتلا به آنستروس[1] و ناباروری شود.

کاهش فعالیت تولید مثلی به طور غیر طبیعی ممکن است در نتیجه عوامل متعددی ایجاد شود که اختلال در کنترل هورمونی را می‌توان جزء یکی از مهمترین این عوامل دانست (سیلان[2] و همکاران، ۲۰۰۸). از بین این عوامل نقش غدد درون ریز من جمله غده‌ی تیروئید در فعالیت‌های متابولیکی بدن واقعیتی انکارناپذیر است. در حال حاضر پیشرفت‌های جدید در فیزیولوژی غده تیروئید و هورمون‌های تأثیرگذار مرتبط با این غده، محققین را به مطالعات و پژوهش‌های بسیار در زمینه عملکردهای غده تیروئید در گونه‌های مختلف دام‌های اهلی تشویق کرده است. در میان حیوانات اهلی عملکرد هورمون‌های تیروئیدی و بیماری‌های مرتبط با غده تیروئید کمتر در دام‌ها شناخته شده است و عملکردهای مناسب غده تیروئید و فعالیت‌های هورمونی آن برای حفظ راندمان تولیدمثلی در دام‌ها حیاتی است. هورمون‌های تیروئیدی به عنوان یکی از مهمترین هورمون‌های متابولیکی، دارای نقشی مهم در فرآیند رشد و تکامل

[1]. Anestrus
[2]. Ceylan

جانداران می‌باشند. این هورمون‌ها در عملکرد بسیاری از آنزیم‌های مهم و کارساز در واکنش‌های متابولیکی بدن، دخالت دارند. کاهش یا افزایش عیار سرمی هورمون‌های تیروئیدی سبب تضعیف گوای دفاعی بدن، افزایش حساسیت در برابر عفونت‌ها، کاهش رشد، کاهش و اختلال در فعالیت‌های جنسی و باروری می‌گردند (محمدپور و همکاران ۱۳۹۱).

از آنجایی که آبستنی یک پدیده فیزیولوژیک و نرمال است؛ تغییرات هورمونی و نیازهای متابولیکی متعددی در زمان آبستنی رخ می‌دهند. در شترهای آبستن به علت ایجاد تغییرات مختلف هورمونی تغییراتی هم در هورمون‌های تیروئید اتفاق می‌افتد که بر عملکرد تیروئید و باروری مادر تأثیرات پیچیده-ای می‌گذارند. به منظور درک بیشتر روندهای پاتولوژیک که غده‌ی تیروئید را درگیر می‌کند، آگاهی از روندهای فیزیولوژیک از جمله تغییر در آزمون‌های عملکرد تیروئید، حجم تیروئید، تغییر سیستم ایمنی و اکونومی ید در دوران آبستنی ضرورت دارد. بر این اساس بررسی عوامل مؤثر و مرتبط با تغییرات این هورمون‌ها در القای هرچه بهتر آبستنی اهمیت خواهد داشت. از جمله عواملی که بر روی آبستنی تأثیر قابل ملاحظه‌ای دارند غلظت چربی‌های خون می‌باشد که تحت تأثیر هورمون‌های تیروئید قرار دارند. غلظت چربی‌ها و لیپوپروتئین‌ها (LDL، HDL و VLDL) در سرم خون گونه‌های مختلف و حتی در بین حیوانات یک گونه متغیر است. عوامل مختلفی بر روی غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، چربی کل و لیپوپروتئین‌های پلاسما مؤثرند این عوامل عبارت‌اند از سن، جنس، نژاد، فصل، آبستنی و غیره (نظیفی و همکاران، ۲۰۰۳). سطوح پایین گلوکز و کلسترول سرم خون باعث ایجاد اثرات منفی در باروری گاو (العزب[1] و همکاران، ۱۹۹۳) و گاومیش (کواریشی[2]، ۱۹۹۸) می‌شود. اثرات تغییر در هورمون‌های تیروئید بر روی سیستم تولید مثلی در حیوانات به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است و به طور کلی نشان داده شده است که تغییر عملکرد طبیعی تیروئید منجر به کاهش فعالیت جنسی و باروری می‌شود. مکانیسم‌های زیر بنایی، با این حال، در تمام گونه‌ها ثابت نیستند، و نتایج حاصل از مطالعات مختلف با هم اختلاف نظر دارند.

میزان کلسترول سرم خون معمولاً تحت تأثیر هورمون‌های تیروئید می‌باشد. این هورمون‌ها باعث افزایش کاتابولیسم کلسترول می‌شوند. بنابراین سطح کلسترول سرم خون کاهش می‌یابد در صورتی که کم‌کاری تیروئید باعث افزایش سطح کلسترول سرم می‌شود (نظیفی و همکاران، ۲۰۰۳). به هر حال این سؤال مطرح می‌شود که آیا غلظت هورمون‌های تیروئید در فصل تولیدمثلی در شترهای آبستن و غیرآبستن نوسان دارد؟ و آیا میزان این هورمون‌ها در خون محیطی با میزان پروفایل چربی ارتباط دارد یا خیر؟ لذا این تحقیق به منظور بررسی غلظت هورمون‌های تیروئید (T3، T4، fT3، fT4 و TSH) و غلظت متابولیت‌ها (کلسترول، تری‌گلیسرید، چربی کل، LDL، HDL و VLDL) در اواخر آبستنی و تعیین ارتباط این هورمون‌ها با پروفایل چربی پلاسمای خون در شترهای یک کوهانه آبستن انجام گرفت.

[1]. El-Azab
[2]. Qureshi

همچنین از آنجائیکه تحقیقات ژنتیکی انجام شده در مورد شترها بسیار اندک می‌باشد در انجام این پروژه سعی بر این بود که در مورد ژن هورمون محرک تیروئید تحقیقاتی صورت گیرد، لذا از این‌رو که هورمون-های تیروئید مسیر تولید و متابولیسم خاصی دارند و توسط ژن‌های مشخصی در بدن کد می‌شوند، شتر-های مورد آزمایش در این تحقیق برای ژن هورمون تحریک کننده‌ی تیروئید- زیرواحد بتا[1] تعیین ژنوتیپ شده و درصد پلی‌مورفیسم این ژن در شترهای یک‌کوهانه شناسایی و در نهایت رابطه‌ی ژنوتیپ‌های مشاهده شده با متابولیت‌های خونی ارزیابی گردید.

اهداف کلی

۱) بررسی تغییر غلظت هورمون‌های تیروئیدی (T3، T4، fT3، fT4 و TSH) و پروفایل چربی (کلسترول تام، تری‌گلیسرید، LDL ، HDL، VLDL و چربی کل) در سه ماه آبستنی شترهای یک‌کوهانه

۲) مقایسه غلظت هورمون‌های تیروئیدی در پلاسمای خون دو گروه شترهای یک‌کوهانه آبستن و غیرآبستن

۳) مقایسه غلظت متابولیت‌های پلاسمای خون دو گروه شترهای یک‌کوهانه آبستن و غیرآبستن

۴) بررسی همبستگی بین هورمون‌های تیروئیدی و متابولیت‌های سرم خون در دو گروه شترهای یک‌کوهانه آبستن و غیرآبستن

۵) تعیین چندشکلی احتمالی موجود در ژن TSHb شترهای یک کوهانه

۶) تعیین فراوانی آللی و ژنوتیپی جایگاه‌های ژنی TSHB در شترهای یک کوهانه

۷) بررسی ارتباط بین چندشکلی‌های موجود در طول قطعه مورد نظر از این ژن با متابولیت‌های خونی انتخابی و هورمون‌های تیروئید

[1] .Thyroid Stimulating Hormone subunit beta (TSHb)

فصل اول: کلیات و بررسی منابع

فصل اول: کلیات و بررسی منابع

أَفَلَا يَنظُرُونَ إِلَى الْإِبِلِ كَيْفَ خُلِقَتْ {۱۷}

(آیا به شتر نمی‌نگرند که چگونه خلق شده است؟!) سوره‌ی الغاشیه

۱-۱ تاریخچه شتر

شتر از زمان‌های بسیار قدیم اهلی و مورد استفاده بشر قرار گرفته است. در مورد مبدأ و منشاء پیدایش شتر عقاید مختلفی ابراز شده ولی بر طبق منابع علمی، موطن اصلی شتر آمریکای شمالی است که از آنجا به سایر نقاط جهان انتقال یافته است. شترهای اولیه جانورانی به اندازه‌ی خرگوش صحرایی بودند که از نیمه دوم آئوسن[1] در دوران سوم تا آغاز دوره‌ی پلاستوسن[2] به مدت ۴۰ میلیون سال حیات داشته و در اثر تکامل تدریجی به صورت شترهای خیلی بزرگ آمریکایی پدیدار گردیدند. از آن به بعد موطن اصلی خود را ترک کردند و در سطح کره‌ی زمین پراکنده شدند به طوری که دیگر اثری از آن‌ها در آمریکای شمالی به چشم نمی‌خورد. شاید بتوان یکی از دلایل تنوع در تیپ و نژاد شتر را سازگاری این حیوان با محیط‌های گوناگون در دوران‌های تکاملی دانست.

شتر بیشتر از هفت هزار سال پیش اهلی گردیده و از دو هزار سال پیش تا کنون هیچ گونه شتر یک-کوهانه وحشی در دنیا دیده نشده است. شتر دوکوهانه تا پیش از ۵۰۰۰ سال پیش اهلی بود و هنوز نوع وحشی آن در صحرای گبی در مغولستان وجود دارد. در مورد مبدأ و منشاء و زمان دقیق اهلی شدن شتر یک کوهانه عقاید و نظریه‌های متفاوتی وجود دارد. بعضی موطن اصلی شتر یک‌کوهانه را عربستان دانسته و معتقدند که این حیوان از عربستان به آسیای صغیر و آفریقا و سپس به سایر نقاط جهان رفته است و بعضی دیگر موطن اصلی شتر را ایران دانسته‌اند. اما در مورد مکان اهلی شدن شترهای دوکوهانه بیشتر پژوهشگران معتقدند که شتر دوکوهانه در منطقه خراسان بزرگ، مغولستان، چین، افغانستان و آسیای میانه بوده است و گروهی معتقدند که واژه‌ی (*Bactrian*) که در زبان انگلیسی به شتر دوکوهانه اطلاق می‌شود از ریشه‌ی (*BACTAR*) یا باختر است.

[1]. Eocene
[2]. Pleistocen

تاریخچه حضور شتر دوکوهانه در ایران روشن نیست، هر چند که در کتاب اوستا کتاب مقدس زرتشتیان که بین سال‌های ۵۳۰ تا ۵۷۰ پیش از میلاد نوشته شده اشاره‌ی فراوان به شتر شده است اما مشخص نیست که منظور از شتر کدام گونه‌ی آن است. برخی معتقدند که منظور از شتر در اوستا شتر دوکوهانه است و شتر تک‌کوهانه سال‌ها بعد همزمان با فتوحات ایرانیان در بین‌النهرین، فلسطین و مصر به ایران وارد شده است. این فرضیه مبتنی بر نقش‌هایی است که بر روی دیوارهای تخت جمشید، که در فاصله‌ی زمانی بین قرن شش یا هفت پیش از میلاد ساخته شده، می‌باشد. در جاده‌ی ابریشم که نقش مهمی را در تجارت دنیای قدیم بازی می‌کرد، از شتر دوکوهانه جهت حمل و نقل ابریشم و سایر محصولات تجاری استفاده می‌شد. استفاده‌ی وسیع از شتر یک‌کوهانه برای مقاصد عمومی، بارکشی و میزان تولید سریع گوشت و شیر منجر به عقب نشینی تدریجی شتر دوکوهانه به طرف مناطق شمالی و کشورهایی نظیر قزاقستان، ازبکستان و مغولستان گردید؛ جایی که شرایط آب و هوایی و دیگر شرایط اقلیمی برای شتر یک‌کوهانه بسیار بسیار دشوار بوده و ناچار بوده‌اند که از شتر دوکوهانه استفاده کنند. زیرا شترهای دوکوهانه دارای سم‌های مقاومی برای راه رفتن در زمین‌های سنگلاخی بوده‌اند و همچنین به علت پشم و کرک زیادی که در بدن داشته‌اند در هوای سرد و باد و طوفان‌هایی که معمولا در مناطق سرد و خشک مغولستان و دامنه‌ی کوه‌های هیمالیا وجود داشته، حفاظت می‌شدند. بنابراین احتمال می-رود نسل شترهای دوکوهانه موجود در ایران از نسل شترهای فوق باشد (مقدس و پیش‌نمازززاده، ۱۳۷۶).

۱-۲ خصوصیات شتر

لب‌های شتر دارای وسعت حرکتی خوبی است و لب بالایی به دو بخش تقسیم شده است و ملاحظه می‌گردد که لب پایینی در شترهای مسن به وضوح آویزان است. همانند سایر نشخوارکنندگان، فک پایینی فقط دارای دندان‌های پیشین بوده و این دندان‌ها در فک بالایی وجود ندارد. دهان شتر همیشه باز است حیوان صداهای بلند و آزار دهنده‌ای از خود در می‌آورد و هنگامی که حیوان چنین صداهایی از خود در می‌آورد اگر به دهان او بنگریم در موخره‌ی دهان می‌توانیم توده‌ای سرخ رنگ را ببینیم که احیاناً تا بخش جلویی دهان می‌رسد و به نظر می‌رسد که وظیفه‌ی این توده مرطوب کردن ناحیه انتهایی حنجره است که باعث می‌شود حیوان در برابر تشنگی مقاومت کند (این توده بالاخص در هنگام فصل جفت گیری، که شتر نر مست است بیشتر مشاهده می‌گردد). در ناحیه مفصل پاها، پوست شتر کلفت و خشن می‌گردد که به آن پینه گفته می‌شود. این پینه‌ها بیشتر در جاهایی از بدن مشاهده می‌گردد که شتر بر روی آن می‌نشیند تا باقی بدن خود را از اصطکاک با زمین محافظت کند و همچنین شتر در ناحیه‌ی جناغ سینه هم پینه‌ی بزرگی دارد که به شتر در هنگام نشستن بر روی زمین در حفظ تعادل کمک می-کند. کوهان شتر یک توده‌ی چربی است که حجم آن بر حسب نوع، سن و سلامتی یا بیماری شتر تغییر می‌یابد. پاهای شتر به گونه‌ای آفریده شده است که حیوان را در هنگام راه رفتن بر روی شن‌های نرم یاری کند، ولی به هر حال این پاها با هر گونه زمینی به جز زمین‌های گل آلود مناسب است. اما سم‌های

حیوان واضح و آشکار نبوده و در داخل بافت کراتینه‌ی کف پا قرار گرفته است. کف پا محکم بوده و دارای ناخن‌های سخت و کوتاهی در قسمت جلویی است و هنگامی که پا بر روی زمین گذاشته می‌شود به خوبی منبسط می‌گردد و باعث تثبیت پا بر روی شن‌ها می‌گردد. این در حالی است که شتر با سختی فراوان بر روی زمین‌های گلی و لغزنده راه می‌رود.

دستگاه گوارش شتر مانند سایر نشخوارکنندگان دارای معده‌ی چهارگانه است، هر چند که هزارلای شتر، رشد و توسعه چندانی نیافته است. این حیوان با وجود اینکه حیوان آرام و بردباری است، اما گاهی و به صورت ناگهانی، مهاجم می‌گردد (به ویژه در فصل جفت‌گیری). به همین جهت بهتر است که در هنگام کار، شتران نر و ماده از هم جدا گردند. در فصل غیر تولیدمثلی، شترها معمولاً مطیع و آرام هستند. علی-رغم اینکه در هنگام گرفتن افسار و یا نهادن بار، از خود صداهای بلند آزار دهنده در می‌آورند، اما خطر جدی نخواهند داشت. معمولاً شتران اخته شده در مقایسه با شتران نر غیر طبیعی، آرامتر هستند. شتر نسبت به تحمل درد و در قبال بیماری‌ها تا حدودی مقاوم‌تر از سایر دام‌ها می‌باشد و هیچ گونه علایم خستگی و ناراحتی از خود بروز نمی‌دهند. به همین جهت باید با دقت آنها را تحت نظر داشت زیرا در هنگام بیماری نیز بدون هیچ گونه اظهار ناراحتی به کار خود ادامه می‌دهند (ایبرلین[1] و همکاران، ۲۰۰۷).

۱-۳ اهمیت شتر

سازگاری جانور با محیط زیستش به نحوی است که تعادل مایعات بدن در هماهنگی کامل با عمل دیگر یاخته‌ها در شرایط سخت خشکی می‌باشد، کوهان برجسته‌ی شتر نیز یکی از بخش‌های مهم بدن اوست که با شرایط محیطی هماهنگی کامل دارد. امتیاز شتر بر دیگر جانوران به طور کلی این است که شتر نقش عمده‌ای در بازرگانی و حمل کالای گران‌بها در راه‌های بیابانی بی آب و آبادانی داشته که همان مسیرها در حال حاضر شهرهای فراوانی ساخته شده است. شتر در مقایسه با دیگر جانوران، مانند اسب کاملاً استثنایی است. چون نیاز بسیار کمی به آب در مسافت‌های طولانی و شرایط سخت بیابان دارد. در ضمن شکل بدن این جانور بسیار مناسب برای آب و هوای گرمسیری است. بدن این جانور در قسمت بالای کمر باریک است که باعث می‌شود در گرم‌ترین ساعات روز که آفتاب کاملاً عمودی می‌تابد، سطح کمی از بدن آن در تماس با پرتو مستقیم خورشید قرار می‌گیرد. قبلاً تصور می‌شد که کوهان محل اندوختن آب است، در حالی که امروزه می‌دانیم که کوهان محلی برای اندوختن حدود پنجاه کیلوگرم چربی با دو عملکرد متفاوت می‌باشد، یکی به عنوان عایق گرما در پرتو سوزان خورشید و دیگری اندوخته‌ای از انرژی و آب است. زمانی که چربی می‌سوزد، هیدروژن آزاد می‌گردد که با اکسیژن موجود در هوا ترکیب شده و تولید آب می‌نماید (چیزی حدود ۲۱ لیتر آب از ۲۰ کیلوگرم چربی) که این آب تولید شده برای رفع تشنگی به خصوص در شتر به عنوان حیوانی بارکش بسیار حایز اهمیت است (قره باش و همکاران، ۱۳۸۷).

[1]. Eberlein