

دانشگاه تهران

دانشکده دامپزشکی

شماره پایان نامه ۹۸۳

سال تحصیلی ۱۳۵۲-۵۳

پایان نامه :

برای دریافت دکترای دامپزشکی از دانشگاه تهران

موضوع :

اندازه گیری پروتئین تام و نسبت فراکسیونهای مختلف پروتئین های

سرم اسب به روش الکتروفورز بر اساسات سلولوز

نگارش :

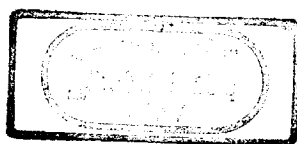
ناهید اطمینانی

هیئت داوران :

آقای دکتر محمد حسینیون استاد دانشکده دامپزشکی راهنما و رئیس هیئت داوران

آقای دکتر جعفر نهانی دانشیار دانشکده دامپزشکی داور

آقای دکتر پرویز حکمتی دانشیار دانشکده دامپزشکی داور



تقدیم بہ :

پدر و مادر عزیزم

۷۲۴

تقدیم به :

استادان ارجمند

— آقای دکتر محمد حسینیون

— آقای دکتر جعفر نهانی

— آقای دکتر پرویز حکمتی

<u>صفحه</u>	<u>موضوع</u>
۲	پیش‌گفتار
۳	خون
۵	خواص عمومی خون
۶	ترکیب شیمیائی خون
۶	A - مواد شکل دار خون
۶	الف - گویچه های سرخ
۷	۱ - هموگلوبین
۸	۲ - خواص هموگلوبین
۹	ب - گویچه های سفید
۱۱	ج - گویچه ها
۱۳	B - پلاسمای خون
۱۵	پروتئین های پلاسما
۱۸	ساخت و ساز پروتئین های پلاسما
۲۶	خصوصیات و اعمال پروتئین های پلاسما در حالت طبیعی
۳۳	آلبومین
۳۴	گلوبولین ها

فهرست مطالب

صفحه	موضوع
۳۵	الف - آلفا ویروس گوبولین ها
۳۶	ب - گاما گوبولین ها و آنتی بادیها
۳۷	ج - ارتباط گوبولین ها با آنتی بادیها
۴۲	فیبریوزن
۴۳	گلیکوپروتئین ها
۴۵	لیپوپروتئین ها
۴۵	پروتئین های متفرقه
۴۷	ارتباط پروتئین سرم با نیروی بدنی اسب
۴۹	تأثیر عوامل جنسی و هورمونی روی پروتئین های پلاسما
۵۴	ارتباط پروتئین های پلاسما با بیماری ورم مفصل
۵۶	ارتباط پروتئین های پلاسما با بیماریهای عفونی و پدید آمده ایمنولوژیکسی
۶۲	تأثیر عفونت های ویروسی بر پروتئین های پلاسما
۶۵	تأثیر عفونت های انگلی بر پروتئین های پلاسما
۶۷	تأثیر بیماریهای کبدی روی پروتئین های پلاسما
۶۸	استفاده از الکتروفورز پروتئین های پلاسما در درمانگاه
۷۳	الکتروفورز بر پروتئین های پلاسما

فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>موضوع</u>
۷۵	الکتروفورز و پراستات سلولز
۷۶	روش کار
۸۹	اندازه گیری پروتئین تام سرم
۸۹	الف - روش بیوره
۹۲	ب - روش رفراکتومتریک
۹۳	مشاهدات
۱۰۵	نتیجه
۱۰۷	منابع فارسی
۱۰۸	منابع خارجی

پیش‌گفتار

بی شک یکی از قسمت‌های مهم بدن حیوانات پلاسما و ترکیبات مختلف شیمیایی آن است که می‌توان گفت با همه اطلاعات موجود در این زمینه هنوز بدرستی کم و کیف آن روشن نگشته و یکی از منابع تحقیقاتی جالبی را در امر شیعی حیاتی و بیماری‌شناسی تشکیل می‌دهد .

اطلاع از کمیت پروتئین‌های پلاسما و تغییرات آن در مواردی می‌تواند بعنوان وسیله‌ای در شناخت بیماری بکار رود . ولی این در صورتی است که قبلاً از مقدار طبیعی پروتئین تام سرم و فراکسیون‌های مختلف آن در حیوانات مختلف مطلع باشیم .

شناخت مقادیر نسبت‌های فراکسیون‌های مختلف پروتئین‌های سرم اسب در حالت نرمال، این امکان را بوجود می‌آورد که در آینده چنین طرحی در دست باشد و احتمالاً " تغییرات بوجود آمده در بیماری‌های مختلف را می‌توان با آن مقایسه نمود، زیرا تاکنون در مورد اسب‌های موجود در ایران چنین اندازه‌گیری‌هایی انجام نشده بود .

در این پایان‌نامه جستجوی فراکسیون‌های پروتئین سرم اسب باروش، (الکتروفورز بر اساس سلولز) انجام گرفته و فراکسیون‌های بیشتر از آنچه در نشخوارکنندگان بدست می‌آید بدست آمده است .

خون

خون مایع متحرکی است که در آن عناصر تشریحی موسوم به گویچه ها شناورند و میتوانیم آنرا در زمره بافتهای بدن بشمار آوریم. پلاسما بمنزله مایع بین یاخته‌ای این یافت است. وزن خون $\frac{1}{11}$ تا $\frac{1}{12}$ وزن کلی بدن را تشکیل

می‌دهد (۲) .

مقدار خون اسب در اسبهای کورس ۶/۲۱ درصد وزن حیوان زنده را تشکیل می‌دهد و در اسبهای نژاد پرشورن (pershorn) ۴/۱۹ درصد وزن حیوان زنده را شامل میشود (۱) .

مقدار خون هنگام جذب مواد غذایی زیاد میشود برخلاف، بعضی عوامل مانند، پرهیز غذایی، اسهال، عرق کردن فراوان مقدار آنرا کم می‌کند، قلب، ریه‌ها، مغز و دیگر احشاء بدن قسمت اعظم خون را در خود گرفته‌اند و بطور کلی اندامهایی که در حال فعالیت هستند بیشتر از آنهایی که در حال استراحت میباشند خون دارند .

مواد شیمیایی موجود در خون متعدد و متفاوت هستند و بی شک ترکیبات شیمیایی دیگری در آن وجود دارد که تاکنون شناخته نشده‌اند. به برکت وجود این ترکیبات مختلف شیمیایی اعمال فیزیولوژیک همه جانبه و متعددی

بوسیله خون انجام گیرد . که مهمترین آنها عبارتند از :

- ۱ - انتقال اکسیژن از ریه به بافتها .
- ۲ - انتقال ایندريد كربونيك (CO_2) از بافت به ریه ها .
- ۳ - انتقال مواد غذای جذب شده از دستگاه گوارشی به بدن .
- ۴ - انتقال مواد زائد از بافتها به اندامهای ترشحي .
- ۵ - انتقال کاتالیزرهای حیاتی .
- ۶ - دستگاه تامین خون بكمك ریه ها و کلیه ها تعادل اسیدی و قلیائی بدن را حفظ می کند .
- ۷ - پروتئین ها و الکترولیت های خون عمل تقسیم آب را در بافتها تنظیم می کنند .
- ۸ - خون بكمك کلیه ها و بافت پوششی تعادل اسمزی مایعات بدن را ثابت نگه میدارد .
- ۹ - تنظیم حرارت بدن .
- ۱۰ - بسبب خاصیت انعقاد از خونریزی جلوگیری می کند .
- ۱۱ - گویچه های سفید خون نیروی دفاعی بدن را در برابر میکروبها تشکیل می دهند .

۲- بعضی از مواد شیمیایی خون مانند آگلوتینین‌ها (agglutinins)

پارتن‌ها (antibody) و پادزهرها (antitoxins) و رسوب دهنده‌ها

ی (precipitins) پدیده‌های زنده‌اری و مقاومت بدن را در برابر عوامل بیماری‌زا

میکروبی و سمی ایجاد می‌کند (۲) .

خواص عمومی خون :

خون مایعی است لزج که با آسانی کف می‌کند ، و سبب وجود گویچه‌ها

کدر می‌باشد .

خون شریانی که اکسیژن دارد سرخ درخشان است . برخلاف ، خون

وریدی که اکسیژن آن کمتر است قرمز تیره است . واکنش خون کمی قلیائی است و

PH آن برابر با $7/4$ است و وزن مخصوص آن 1.05 است که در بعضی بیماریها

تغییر می‌کند . و این تغییرات ، به موازات کم و زیاد شدن هموگلوبین خون می‌باشد .

طعم خون کمی شور است .

بوی خون حیوانات با هم تفاوت دارد . در انسان شبیه بوی عرق بدن است (۲) .

ترکیب شیمیائی خون
~~~~~

خون از دو قسمت ۱ - مواد شکل دار خون ۲ - پلاسمای خون تشکیل

شده است . از ۱۰۰ گرم خون تقریباً ۴۰ درصد آن را سلولها و ۶۰ درصد بقیه

را پلاسما تشکیل می دهد ( ۱۵ ) .

۱ - مواد شکل دار خون :

این مواد شامل گویچه های خون هستند که عبارتند از :

الف - گویچه های سرخ ( erythrocytes )

ب - گویچه های سفید ( leukocytes )

ج - گویچه ها ( thrombocyte ) یا ( platelets )

الف = گویچه های سرخ

این گویچه ها را اریتروسیت یا نورموسیت نیز می گویند . گویچه های

سرخ فقط از پروتوپلاسم یاخته ای تشکیل شده اند و هسته خود را هنگام بلوغ از

دست داده اند . محل تولید آنها مغز استخوان است ، و در آنجا ابتدا

بشکل یاخته های بزرگ هسته داری هستند که ( megaloblast ) نامیده

میشوند . مگالوبلاستها در مغز استخوان تکامل یافته و به گویچه سرخ هسته دار

(normoblast) تبدیل میگردند. بتدریج هسته نورموبلاستها از بین میرود و بقایای آن درون گویچه شکل توری مانند ایجاد می کند که بآن رتیکولوسیت (reticulocyte) می گویند. سرانجام رتیکولوسیت ها به گویچه سرخ بالغ تبدیل میگردند و وارد جریان خون میشوند. گویچه های سرخ بالغ بشکل دیسک هستند و دکناره های آن مقعر است. تعدادشان در هر میلی متر مکعب خون حدود ۵ میلیون گویچه است. گویچه های سرخ حدود ۲۰ (روز در خون باقی مانده و سپس زهدم شده و بقطعات کوچکی تقسیم میشوند که این قطعات به دستگاه تورینه درون پوششی بدن بخصوص طحال رفته و از بین میروند— دو هموگلوبین آنها آزاد میشود (۲) .

گویچه های سرخ شامل آب و مواد آلی و مواد معدنی هستند.

آب ۶۸/۸ درصد و مواد جامد ۳۱/۲ درصد (برحسب گرم در لیتر)

و ۹۰ تا ۹۵ درصد از مواد جامد را هموگلوبین تشکیل می دهد و بقیه شامل پروتئین

ها و چربی ها و مواد معدنی است (۱۵) .

### هموگلوبین:

هموگلوبین که عمل انتقال اکسیژن مولکولی از ریه بمفاصل را انجام

می دهد، کروموپروتئینی است که وزن ملکولی آن در پستانداران ۶۴۰۰۰ تا

۶۷۰۰۰ میاشد و از دو قسمت متمایز ساخته شده است.

۱ - ریشه پروستتیک که به "هم" (heme) موسوم است . و از یک حلقه

چهار پیرولی باریشه های جانبی که در وسط آن یک اتم آهن قرار دارد ساخته

شده است . ساختمان پروستتیک در هموگلوبین همه پستانداران و همچنین در

انواع هموگلوبین های طبیعی و غیرطبیعی انسان یکسان است و تغییری در آن

مشاهده نمی گردد ( ۲ ) .

۲ - قسمت پروتئینی هموگلوبین که به گلوبین (globin) موسوم است

ترکیب ساختمانی آن در انواع هموگلوبین پستانداران و هموگلوبین های طبیعی

و غیرطبیعی انسان تغییری کند . ( ۲ ) و ( ۱۵ )

#### خواص هموگلوبین :

هموگلوبین در خون سرخرگی بحالت اکسی هموگلوبین و در خون سیاهرگی

بحالت هموگلوبین ساده یا احیاء شده وجود دارد . هر گرم از هموگلوبین حدود

۱ / ۳۴ سانتی متر مکعب اکسیژن جذب می کند و باکسی هموگلوبین تبدیل میشود .

اگر هموگلوبین را مدتی در مجاورت هوا و روشنائی آفتاب قرار دهیم رنگ آن

تغییر می کند و در اثر تبدیل به متهموگلوبین قهوه ای رنگ میشود . بعضی از اکسید

کننده های قوی زودتر این عمل را انجام می دهند . و در نتیجه استعمال این

مواد ممکن است، مقدار متهموگلوبین بدن افزایش یافته و قسمتی وارد ادرار شود .

• ( متهموگلوبینوری )

هموگلوبین در اثر نئیدرولیز به یکذره گلوبین و یکذره همتین تبدیل میشود .

هموگلوبین با گاز زکربونیک به کربوکسی هموگلوبین که سرخ آلبالوئی است تبدیل میشود . تنها ۲ تا ۱۰ درصد ایندرید کربونیک بحالت ترکیب با هموگلوبین ازیافت

ها ، بریبه ها منتقل میشود وبقیه آن بشکلی بیکربنات ها و ترکیب با مواد پروتئینی دیگر

خون و سرانجام قسمتی از آن بحالت محلول در پلاسما انتقال مییابد ( ۲ ) .

منشاء هموگلوبین در بالفین ، مغز استخوان است و با هموگلوبین جنینی

که احتمالاً " بیشتر در کبد ساخته میشود اختلاف دارد ( ۳ ) .

پس از آنکه دوران فعالیت گویچه های سرخ خون بپایان رسید قطعه <sup>تغذیه</sup>

شده و در دستگاه های رتیکولواند و تلیال بخصوص طحال تغییراتی مییابند و

هموگلوبین به بیلیروبین ( bilirubin ) تبدیل میشود ( ۲ ) .

ب - گویچه های سفید

گویچه های سفید یاخته حقیقی هسته دار هستند و عناصر اختصاصی خون

نیستند بلکه بعلت دارا بودن حرکت آمیبی میتوانند از جدار رگها عبور کنند و عناصر

خارجی از جمله میکروبها را احاطه و جذب نمایند، این عمل لکوسیت بیگانه خواری

( Phagocytosis ) نامیده میشود و از نظر دفاع بدن بینهایت ارزش دارد .

وزن مخصوص لکوسیتها از گویچه های سرخ کمتر و از پلازما بیشتر است

به همین جهت هنگامیکه خون حاوی مواد ضد انعقاد را بحال خود گذارند ابتداء

گویچه های سرخ و روی آنها گویچه های سفید رسوب کرده و پلازما در قسمت فوقانی

قرار میگیرد . حجم گویچه های سفید مانند گویچه های سرخ در محلولهای هیپرتونیک

کم و در محلولهای هیپوتونیک زیاد میشود .

هسته گویچه های سفید از نوکلئوپروتئین ها تشکیل یافته و در پروتوپلاسم

نیز مقدار قابل توجهی نوکلئوپروتئین وجود دارد . به همین جهت هر عاملی که

سبب اضمحلال سریع گویچه های سفید بدن شود مقدار زیادی از بازهای پورین

و سرانجام اسید اوریک تولید میگردد . علاوه بر نوکلئوپروتئین ها در گویچه های

سفید آلبومین ، گلوبولین های انعقادناپذیر در حرارت ۴ تا ۵۰ درجه ، لیپیدها

( کلسترول - لسیتین ) ، گلیکوژن ، بازهای پورین ، املاح معدنی ، ویتامینها

بخصوص ( B<sub>1</sub> و C ) و هورمونها مشاهده میشود .

گویچه های سفید بر حسب رنگ پذیری دانه های موجود در سیتروزول

( cytosole ) ساختمانشان انواع متعددی دارند . این دانه ها لیزوزومی