



دانشگاه شهید چمران اهواز

شماره: ۸۹۵۸۷۸۵

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دکتری عمومی دامپزشکی

عنوان:

بررسی تأثیر اکسی تتراسایکلین بر روی مقادیر سرمی

کلسیم، فسفر و منیزیم در گاو

نگارش

علیرضا مسعودی

اساتید راهنما

دکتر محمدرحیم حاجی حاجیکلائی

دکتر آریا رسولی

بهمن ۱۳۸۹



بسمه تعالی

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی

(نتیجه ارزشیابی پایان نامه دوره دکترای حرفه ای دامپزشکی)

بدینوسیله گواهی می شود پایان نامه آقای **علیرضا مسعودی** دانشجوی رشته دکترای عمومی دامپزشکی از دانشکده دامپزشکی به شماره دانشجویی **۸۳۵۸۲۴** تحت عنوان:

«بررسی تأثیر اکسی تتراسایکلین بر روی مقادیر سرمی کلسیم، فسفر و منیزیم در گاو»

جهت اخذ درجه دکترای عمومی دامپزشکی در تاریخ **۸۹/۱۱/۲۴** توسط هیأت داوران مورد ارزشیابی قرار گرفت و با **درجه عالی** تصویب گردید.

امضاء	مرتبه علمی	۱- اعضای هیأت داوران
	استاد	الف- استاد راهنمای اول: دکتر محمد رحیم حاجی حاجیکلائی
	استادیار	ب- استاد راهنمای دوم: دکتر آریا رسولی
	دانشیار	ج- استاد مشاور اول: دکتر حسین نجف زاده ورزی
	دانشیار	د- استاد مشاور دوم: دکتر محمد راضی جلالی
	استاد	ه- داور اول: دکتر محمد نوری
	استاد	و- داور دوم: دکتر غلامحسین خواجه
	استاد	ز- نماینده تحصیلات تکمیلی دانشگاه (استاد ناظر):
	استاد	دکتر مسعود رضا صیفی شاپور آبادی
	دانشیار	۲- مدیر گروه علوم درمانگاهی: دکتر علیرضا غدیری
	استادیار	۳- معاون پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده:
	استاد	دکتر سید رضا فاطمی طباطبایی
	استاد	۴- مدیر تحصیلات تکمیلی دانشگاه: دکتر رحیم پیغان



با تشکر فراوان از اساتید محترم

**دکتر محمد رحیم حاجیکلایی و دکتر آریا رسولی**

که در طول انجام این مطالعه زحمات زیادی را متقبل شدند.

**دکتر حسین نجف زاده ورزی و دکتر محمد راضی جلالی**

که در طول انجام این پایانامه از مشورتشان بهرمنند بودم

**دکتر محمد نوری و دکتر غلامحسین خواجه**

که با دقت و حوصله در جهت هر چه بهتر شدن نتیجه‌ی مطالعه داوری پایانامه را به عهده گرفتند.

**دکتر مسعود رضا صیفی شاپور آبادی**

که مسئولیت نظارت بر حسن اجرای جلسه‌ی دفاع پایانامه را بر عهده داشتند.

**دکتر مهدی پورمهدی** که در انجام مطالعات آماری دلسوزانه مرا راهنمایی نمودند.

و کلیه اساتید محترمی که در طول دوران تحصیل از وجود پر برکتشان بهرمنند بودم.



## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۲	فصل اول.....
۳	مقدمه و هدف.....
۵	فصل دوم: مروری بر منابع موجود.....
۶	الف- ۱ - کلسیم و فسفر.....
۶	الف-۲- اعمال کلسیم و فسفر در بدن.....
۷	الف-۳- جذب کلسیم و فسفر.....
۱۰	الف-۴- دفع کلسیم و فسفر.....
۱۱	الف-۵- میزان کلسیم و فسفر خون.....
۱۳	الف-۶- عوامل مؤثر بر کلسیم و فسفر سرم خون.....
۱۳	الف-۶-۱ پاراتورمون.....
۱۳	الف-۶-۲- کلسیتونین (تیروکلسیتونین).....
۱۴	الف-۶-۳- ویتامین D.....
۱۵	ب-۱- منیزیم و عملکرد آن.....
۱۵	ب-۲- جذب و دفع منیزیم.....
۱۷	ب-۳- میزان منیزیم سرم خون.....
۱۷	ج- فارماکولوژی تتراسایکلین ها.....
۱۸	ج-۱- طیف ضد باکتریایی.....
۱۹	ج-۲- مکانیسم عمل.....
۱۹	ج-۳- فارماکوکینتیک.....
۱۹	ج-۳-۱- جذب.....

ج-۳-۲- پخش	۲۰
ج-۳-۳- متابولیسم	۲۰
ج-۳-۴- دفع	۲۱
ج-۴- راه های تجویز	۲۲
ج-۵- تعیین مقدار لازم دارو	۲۳
ج-۵-۱- داخل وریدی	۲۳
ج-۵-۲- داخل عضلانی	۲۳
ج-۵-۳- خوراکی	۲۳
ج-۵-۴- موضعی	۲۴
ج-۶- سمیت	۲۴
ج-۷- مقاومت باکتریایی	۲۴
ج-۸- موارد مصرف	۲۵
ج-۸-۱- گاو، گوسفند و بز	۲۵
ج-۹- موارد منع مصرف	۲۶
ج-۱۰- تداخل دارویی	۲۶
ج-۱۱- عوارض جانبی	۲۶
د- ردیابی باقی مانده های دارویی با کروماتوگرافی	۲۷
ه- کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا	۲۸
ه-۱- کلیات	۲۸
ه-۲- سیستم توزیع حلال	۲۹
ه-۲-۱- مخازن حلال	۳۰
ه-۲-۲- هوازدا	۳۰
ه-۲-۳- دستگاه تشکیل دهنده گرادیان حلال	۳۰
ه-۳- دریچه تزریق	۳۱
ه-۴- فاز ثابت	۳۱
ه-۵- فاز متحرک	۳۲
ه-۶- ستون	۳۳



۳۳	ه-۷- آشکار ساز.....
۳۴	ه-۸- دستگاه کنترل و پردازشگر داده‌ها.....
۳۵	فصل سوم مواد و روش کار.....
۳۶	الف- مواد و وسایل.....
۳۶	الف-۱- مواد.....
۳۷	الف-۲- وسایل.....
۳۷	ب- روش کار.....
۳۷	ب-۱- تزریق داخل عضلانی اکسی‌تتراسایکلین.....
۳۸	ب-۲- تزریق داخل وریدی اکسی‌تتراسایکلین.....
۳۸	ب-۳- چگونگی آماده‌سازی نمونه‌ها.....
۳۹	ب-۴- روش اندازه‌گیری.....
۳۹	ب-۴-۱- اندازه‌گیری میزان کلسیم توتال سرم.....
۳۹	ب-۴-۲- اندازه‌گیری میزان کلسیم یونیزه سرم.....
۴۰	ب-۴-۳- اندازه‌گیری میزان فسفر سرم.....
۴۰	ب-۴-۴- اندازه‌گیری میزان منیزیم سرم.....
۴۱	ج- اندازه‌گیری اکسی‌تتراسایکلین سرم با HPLC.....
۴۱	ج-۱- تهیه محلول بافر مک ایوان.....
۴۱	ج-۲- استخراج و مشتق سازی.....
۴۲	ج-۳- کالیبره کردن دستگاه HPLC.....
۴۲	ج-۴- تزریق نمونه‌ها به دستگاه HPLC و اندازه‌گیری اکسی‌تتراسایکلین.....
۴۳	د- تجزیه و تحلیل نتایج.....
۴۴	فصل چهارم: نتایج.....
۴۵	الف- نتایج تعیین مقدار اکسی‌تتراسایکلین در سرم.....
۴۸	ب- نتایج تعیین مقادیر کلسیم تام و یونیزه سرم در روش داخل وریدی.....
۵۰	ج- نتایج تعیین مقادیر کلسیم تام و یونیزه سرم در روش داخل عضلانی.....
۵۳	د- نتایج تعیین مقادیر فسفر سرم در روش داخل عضلانی.....
۵۴	ه- نتایج تعیین مقادیر فسفر سرم در روش داخل وریدی.....

۵۵	..... و- نتایج تعیین مقادیر منیزیم سرم در روش داخل عضلانی
۵۵	..... ز- نتایج تعیین مقادیر منیزیم سرم در روش داخل وریدی
۵۹	..... فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری
۶۴	..... نتیجه گیری
۶۵	..... پیشنهادات
۶۷	..... منابع
۷۲	..... چکیده انگلیسی

## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲: نیمه عمر تعدادی از تتراسایکلین‌ها در سرم خون	۲۱
جدول ۱-۴: مقادیر مختلف سرمی اکسی‌تتراسایکلین، فسفر، منیزیم، کلسیم یونیزه و کلسیم تام در زمان‌های نمونه‌گیری در روش تزریق عضلانی	۵۷
جدول ۲-۴: مقادیر مختلف سرمی اکسی‌تتراسایکلین، فسفر، منیزیم، کلسیم یونیزه و کلسیم تام در زمان‌های نمونه‌گیری در روش تزریق وریدی	۵۸

## فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
نمودار ۴-۱: منحنی استاندارد مقدار اکسی تتراسایکلین بهمراه معادله خط و ضریب همبستگی	۴۵
نمودار ۴-۲: میانگین اکسی تتراسایکلین سرم گاوها در زمانهای مختلف قبل و بعد از تزریق در روش تزریق داخل عضلانی	۴۶
نمودار ۴-۳: میانگین اکسی تتراسایکلین سرم گاوها در زمانهای مختلف قبل و بعد از تزریق، در روش تزریق داخل وریدی	۴۷
نمودار ۴-۴: میانگین $\pm$ خطای استاندارد کلسیم تام در زمانهای مختلف قبل و بعد از تزریق اکسی تتراسایکلین، در روش تزریق داخل وریدی	۴۹
نمودار ۴-۵: میانگین $\pm$ خطای استاندارد کلسیم یونیزه در زمانهای مختلف قبل و بعد از تزریق اکسی-تتراسایکلین، در روش تزریق داخل وریدی	۵۰
نمودار ۴-۶: میانگین $\pm$ خطای استاندارد کلسیم تام در زمانهای مختلف قبل و بعد از تزریق اکسی-تتراسایکلین، در روش تزریق عضلانی	۵۱
نمودار ۴-۷: میانگین $\pm$ خطای استاندارد کلسیم یونیزه در زمانهای مختلف قبل و بعد از تزریق اکسی-تتراسایکلین، در روش تزریق عضلانی	۵۲
نمودار ۴-۸: میانگین $\pm$ خطای استاندارد فسفر در زمانهای مختلف قبل و بعد از تزریق اکسی تتراسایکلین، در روش تزریق عضلانی	۵۳

نمودار ۹-۴: میانگین  $\pm$  خطای استاندارد فسفر در زمان‌های مختلف قبل و بعد از تزریق اکسی‌تتراسایکلین، در روش تزریق داخل وریدی ..... ۵۴

نمودار ۱۰-۴: میانگین  $\pm$  خطای استاندارد منیزیم در زمان‌های مختلف قبل و بعد از تزریق اکسی‌تتراسایکلین، در روش تزریق عضلانی ..... ۵۵

نمودار ۱۱-۴: میانگین  $\pm$  خطای استاندارد منیزیم در زمان‌های مختلف قبل و بعد از تزریق اکسی‌تتراسایکلین، در روش تزریق وریدی ..... ۵۶

## چکیده پایان نامه

نام خانوادگی: مسعودی	نام: علیرضا
عنوان پایان نامه: بررسی تأثیر اکسی تتراسایکلین بر روی مقادیر سرمی کلسیم، فسفر و منیزیم در گاو	
استاد راهنمای اول: دکتر محمدرحیم حاجی حاجیکلاهی استاد راهنمای دوم: دکتر آریا رسولی	
درجه تحصیلی: دکترای عمومی      رشته: دامپزشکی      گرایش: دامپزشکی	
دانشگاه: دانشگاه شهید چمران	
دانشکده: دامپزشکی	
تاریخ فارغ التحصیلی: ۱۳۸۹/۱۱/۲۴      تعداد صفحه: ۷۲	
واژه های کلیدی: کلسیم، فسفر، منیزیم و گاو	
<p>اکسی تتراسایکلین آنتی بیوتیک مهمی در طب داخلی دامهای بزرگ می باشد. این دارو به یون‌هایی از قبیل کلسیم و منیزیم متصل می شود این تداخل ممکن است از نظر کلینیکی در درمان برخی از بیماری‌ها مهم باشد. به منظور بررسی تأثیر اکسی تتراسایکلین بر روی غلظت سرمی کلسیم، منیزیم و فسفر در گاو این دارو با دوز <math>10\text{mg/kg}</math> به صورت داخل وریدی و داخل عضلانی تزریق شد. در روش داخل وریدی نمونه خون در زمان‌های صفر (قبل از تزریق) ۱، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق اخذ شد، اما در روش داخل عضلانی نمونه خون در زمان‌های صفر، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق اخذ گردید. کلسیم (یونیزه و تام)، منیزیم و فسفر به روش‌های بیوشیمیایی با استفاده از کیت‌های تجاری و اکسی تتراسایکلین با روش HPLC اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مقدار کلسیم (یونیزه و تام)، منیزیم و فسفر به طور معنی داری تغییر پیدا کرد به جزء مقدار کلسیم تام و منیزیم در روش داخل عضلانی که تغییر معنی داری نداشته است. بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه گیری کرد که اکسی تتراسایکلین بر روی مقادیر سرمی کلسیم و منیزیم تأثیر می‌گذارد باید مقدار این کاتیون‌ها در بیماران، در هنگامی که اکسی تتراسایکلین استفاده می‌شود مورد توجه قرار گیرد.</p>	

# فصل اول

مقدمه و هدف



اکسی تتراسایکلین که از مشتقات تتراسایکلین می باشد از /ستریتومایسس ریموزوس<sup>۱</sup> بدست می آید و در درمان تعداد زیادی از بیماری‌ها در دامپزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از جمله خصوصیات این آنتی بیوتیک آن است که یون‌های دو ظرفیتی و سه ظرفیتی را شلاته می‌نماید و حضور این یون‌ها مانع از جذب آن به خصوص از طریق خوراکی می‌شود (۲۰، ۸، ۲).

تتراسایکلین‌ها مانع سنتز پروتئین باکتری‌هایی می‌شوند که در حال رشد و تولید مثل سریع هستند. این آنتی بیوتیک‌ها مانع متابولیسم سلول باکتری از طریق جلوگیری از اتصال آمینواسیل ترانسفر ریوئوکلیتیک اسید بر روی ریبوزوم (واحد ۳۰S ریبوزوم‌ها) و بدین ترتیب در سنتز پروتئین مداخله می‌نماید و جزء آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف و باکتریوستاتیک هستند (۲۰، ۹، ۵).

حدود ۵۰ درصد کلسیم موجود در خون بصورت یون کلسیم ( $Ca^{++}$ ) و بقیه آن در اتصال با پروتئین‌ها و سایر عناصر خون می‌باشد. میزان کلسیم موجود در خون بیشتر از کلسیم موجود در داخل سلول‌ها است (۱۸).  
مطالعات صورت گرفته در مورد مکانیسم اثر اکسی تتراسایکلین حکایت از باند شدن آن با کلسیم و منیزیم می‌باشد ولی تأثیر آن بر روی میزان کلسیم، فسفر و منیزیم سرم خون مورد مطالعه قرار نگرفته است. گرچه بیان شده است که تزریق سریع داخل وریدی آن باعث مرگ ناگهانی دام به دلیل کاهش شدید کلسیم و متعاقب آن ایست قلبی می‌شود (۹، ۲). جانگ و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که خوردن تتراسایکلین همراه با قهوه و چای مخلوط با شیر باعث کاهش جذب تتراساکلین می‌گردد (۱۹).

از آنجائی که این آنتی بیوتیک بطور وسیع در گاو استفاده می‌شود و از مشکلات عمده دام‌های ارجاع شده به بیمارستان دانشکده دامپزشکی مرتبط با کمبود کلسیم، فسفر و منیزیم می‌باشد و در بعضی مواقع جهت





درمان این دام‌ها به ناچار استفاده همزمان اکسی‌تتراسایکلین و ترکیبات حاوی کلسیم، فسفر و منیزیم می‌باشیم. از طرفی در برخی موارد به دلیل باند شدن مقدار زیاد کلسیم خون با اکسی‌تتراسایکلین تزریق شده در ورید موجب شوک قلبی-عروقی می‌گردد. لذا این مطالعه به منظور تأثیر تزریق اکسی‌تتراسایکلین بر روی میزان کلسیم، فسفر و منیزیم خون گاو انجام گرفت تا تداخل کینیتیکی این دارو با یون‌های مهم سرم از جمله کلسیم که قابلیت باند شدن با تتراسایکلین‌ها را دارند، ارزیابی شود.

## فصل دوم

مروری بر منابع



از آنجای که در مطالعه حاضر عوامل سرمی کلسیم، فسفر، منیزیم و اکسی تتراسایکلین مورد سنجش قرار گرفتند، ابتدا کلیاتی در باره عوامل فوق بیان می شود.

### الف- ۱ - کلسیم و فسفر

بیش از ۷۰ درصد خاکستر بدن حاوی کلسیم و فسفر است. افزون بر ۹۸ درصد از کلسیم تام و ۸۰ تا ۸۵ درصد فسفر در اسکلت و دندانها به شکل هیدروآپاتیت و  $10/8$  درصد در احشاء، ۹ درصد عضلات اسکلتی و  $0/1$  درصد در فضاهاى خارج سلولی است. قسمت ناچیزی از کلسیم و فسفر در مایعات بدن وجود دارد که گرچه مقدار آن ناچیز است، اما نقش آنها در حفظ کارکرد طبیعی بدن بسیار مهم می باشد. ۸۰ درصد از کلسیم زمین به صورت سنگ آهک می باشد ولی چون فسفر غیرفعال و غیر پایدار است به صورت آزاد در طبیعت یافت نمی شود (۱۸).

کلسیم خارج سلولی به سه شکل دیده می شود: ۴۵ درصد به صورت یونیزه، ۴۵ درصد به صورت باند با پروتئین که قابل دفع به وسیله کلیه ها نیست و ۱۰ درصد متصل به آنیونهایی همچون بیکربنات، سترات، فسفات و لاکتات است و بیشترین بخش متصل به پروتئینها با آلبومین و کمترین به گلبولین است (۳۴، ۱۸).

### الف- ۲- اعمال کلسیم و فسفر در بدن

کلسیم عنصری است که در تحریک پذیری عضلات و اعصاب، انتقال امواج عصبی و انقباض عضلانی نقش بسیار مهمی را ایفا می کند. وجود این عنصر برای عمل انعقاد خون نیز ضروری می باشد. همچنین کلسیم با افزایش قابلیت نفوذپذیری جدار عروق خونی نقش بسیار مهمی را در نظم و تداوم گردش خون بعهده دارد. (۳۴، ۲۷، ۶).



فسفر خارج سلولی نقش مهمی در حیات موجود دارد. این عنصر در ساختمانهای حیاتی سلول سهیم است و در ساخت و تجزیه تعداد زیادی از ترکیبات مهم بدن شرکت دارد. پیوندهای پر انرژی فسفات‌دار نقش اساسی در ذخیره، رهایی و انتقال انرژی دارند. سرانجام تامپون‌های فسفردار در توازن اسید - باز مؤثرند. در واقع مهمترین عمل این عنصر انتقال بیولوژیکی انرژی بصورت ATP است (۹، ۴).

فسفر در ساختمان کوآنزیم‌ها و ترکیب با اسیدهای نوکلئیک و نوکلئوتیدها در داخل گلبول‌های قرمز شرکت دارد. فسفر بصورت فسفات‌ها ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ،  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) در ایجاد و حفظ و تعادل حجم تامپون‌های خون در بدن نقش بسیار مهمی به عهده دارد (۳۴). این عنصر به همراه کلسیم و منیزیم در استخوان‌ها، دندان‌ها و فعالیت بافت‌های عضلانی نقش عمده‌ای را ایفا می‌کند (۱۸).

### الف - ۳ - جذب کلسیم و فسفر

ورود و خروج کلسیم و فسفر از بدن کاملاً تحت تنظیم هورمونی و همچنین غلظت کلسیم و فسفر مایع برون یاخته‌ای و یاخته‌ها می‌باشد و وابسته به مقادیر جذب شده از روده و مقادیر دفع شده از کلیه‌هاست. هنگامی که دریافت کلسیم از طریق جیره‌ی غذایی کم باشد، با برداشت مجدد این عنصر از استخوان‌ها میزان آن در سرم حفظ و نگهداری می‌شود. هنگامی که دریافت فسفات از طریق جیره‌ی غذایی کم و ناکافی باشد، میزان فسفات غیرآلی سرم کاهش می‌یابد. قابلیت استخوان‌ها برای تأمین فسفات مورد نیاز محدود است. در صورتی که تأمین کلسیم و فسفر متناسب باشد، روده ورود کلسیم را با جذب انتخابی کنترل می‌کند. در حیوانات، موازنه دفع کلسیم معادل مقادیر جذب شده از این عنصر است (۹).