



دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دکترای حرفه‌های دامپزشکی

شماره ثبت: ۳۷۸

ارزیابی همبستگی بین مقادیر سرمی تروپونین I، مس، روی، آهن و سلنیوم
با برخی از شاخصهای استرس اکسیداتیو در گوسفند

به کوشش:

فاطمه دهقان‌شهرضا

استاد راهنما

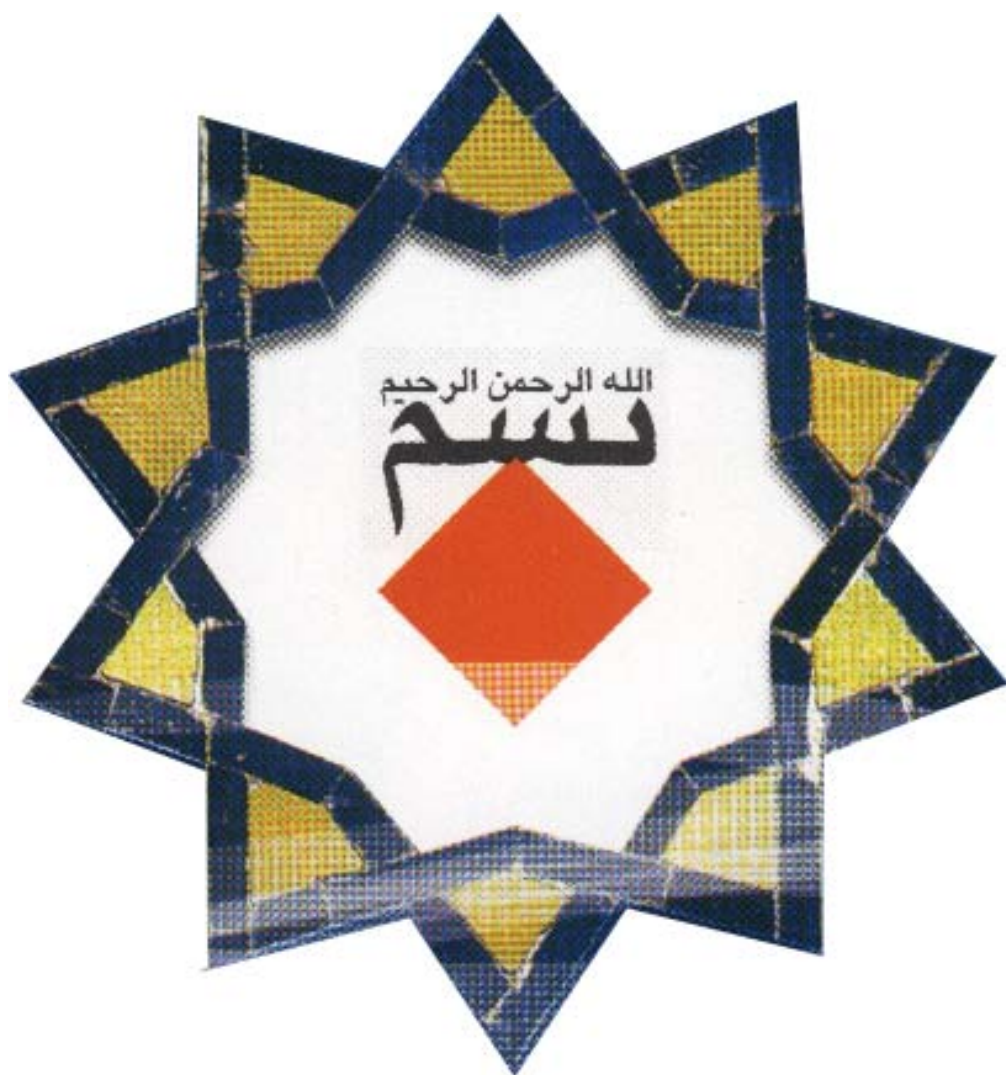
دکتر مهرداد مهری

دکتر حسام‌الدین سیفی

استاد مشاور

دکتر محمد حیدرپور بمی

آذر ماه ۱۳۹۰



تعهدنامه

- اینجانب فاطمه دهقان‌شهرضا دوره دکتری حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، عنوان پایان‌نامه: **ارزیابی همبستگی بین مقادیر سرمی تروپونین ا، مس، روی، آهن و سلنیوم با برخی از شاخصهای استرس اکسیداتیو در گوسفند تحت راهنمایی آقایان دکتر مهرداد مهری و حسامالدین سیفی‌متعهد میشوم:**
- تحقیقات در این پایان‌نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
 - در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
 - مطالب مندرج در پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
 - کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد میباشد و مقالات مستخرج با نام «دانشگاه فردوسی مشهد» و یا «Ferdowsi University of Mashhad» به چاپ خواهد رسید.
 - حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان‌نامه تأثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت شده است.
 - در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
 - در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است، اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ و

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم‌افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد میباشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمیشود.

به نام خدا

گواهی اعضای کمیته ی پایان نامه

ارزیابی همبستگی بین مقادیر سرمی تروپونین I، مس، روی، آهن و سلنیوم با برخی از شاخصهای استرس اکسیداتیو در گوسفند
به کوشش:

فاطمه دهقان شهرضا

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه فردوسی مشهد به عنوان بخشی از فعالیتهای تحصیلی
لازم جهت اخذ درجه دکتری حرفهای دامپزشکی

در رشته دامپزشکی

از دانشگاه فردوسی مشهد

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته ی پایان نامه، با درجه: عالی و نمره: ۲۰

استاد راهنما: دکتر مهرداد مهری (استاد گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد راهنما: دکتر حسامالدین سیفی (استاد گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد مشاور: دکتر محمد حیدرپور بمی (استادیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی
مشهد)
داور پایان نامه: دکتر حسن باغیشنی (استادیار گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)
داور پایان نامه: دکتر مهدیه زعیمی (استادیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)

آذرماه

این پایان‌نامه را تقدیم میکنم به:

خانواده عزیزم به ویژه پدر و مادر مهربانم

که معنای واقعی گذشت و صبراند

به پاس عمری که به پای نهال وجودم صبر کرده اند تا قد بگیرم...

باساس و شکر فراوان

از اساتید راهنمایم جناب آقای دکتر مهرداد مهری و دکتر حسامالدین سیفی که نه تنها با

راهنمایی‌های دلسوزانه و مدبرانه‌شان در امر این پیماننامه از دریایی بی‌دینخ کرم خویش برخوردارم نمودند

بلکه همیشه و همواره شرمنده الطاف ایشان در دوره‌ی تحصیل بودم

از استاد مشاور بزرگوارم جناب آقای دکتر حیدر پور

نیز که بارها همیای خویش این کترین را از رهنمودهای سودمند و پربارشان بهره‌مندم ساختند کمال شکر و

سپاس را دارم.

از جناب آقای دکتر باغشینی و سرکار خانم دکتر زعمی با خاطر قوی داورى این

پایان نامه شکر میکنم.

از آقای دکتر مسعود مصطفوی به خاطر همکاری ایشان در امر این پایان نامه صمیمانه تشکر میکنم و

برای ایشان آرزوی موفقیت میکنم.

از همه ی همکلاسیهای عزیزم در دوره **84** و دوستانم در خوابگاه

که محظت شادی را با آنان سپری کردم کمال تشکر و سپاس را دارم و برایشان بهترین ها را آرزو میکنم

چکیده

ارزیابی همبستگی بین مقادیر سرمی تروپونین I، مس، روی، آهن و سلنیوم
با برخی از شاخصهای استرس اکسیداتیو در گوسفند

به کوشش:

فاطمه دهقان شهرضا

مطالعه حاضر به قصد بررسی هر نوع ارتباطی بین غلظت آهن، مس، روی و سلنیوم با غلظت
تروپونین I قلبی، مالوندیآلدهید، ظرفیت تامآنتیاکسیدانی، آلبومین، بیلروبین و اسیداوریک
انجام شده است.

از ۱۷۸ بره با رنج سنی یک روز تا یک سال از مناطق مختلف استان خراسان رضوی نمونهگیری
انجام شد. غلظت آهن، مس، روی، سلنیوم، تروپونین I قلبی، مالوندیآلدهید، ظرفیت تامآنتی -
اکسیدانی، آلبومین، بیلروبین و اسیداوریک در نمونههای سرمی اندازهگیری شد. براساس توزیع
غیرپارامتریک دادهها، از روشهای غیرپارامتریک برای شناسایی تفاوتهای بین گروههای تعیین
شده و همچنین برای شناسایی همبستگی بین پارامترهای اندازهگیری شده استفاده شده است.

غلظت تروپونین I قلبی بهطور معنیداری در برههای دچار کمبود سلنیوم بالاتر بود. در برههای با
میزان آهن پایینتر نسبت به میزان طبیعی آهن، میزان بیلروبین و آلبومین به ترتیب، به
- طور معنیدار نسبت به گروه آهن طبیعی بالاتر و پایینتر بود. همبستگی منفی معنیدار بین
سلنیوم با تروپونین I قلبی مشاهده شده است. همبستگی منفی مشابهی همچنین بین آهن با
سلنیوم، روی با بیلروبین، آهن با مس، آهن با بیلی روبین، مالوندیآلدهید با بیلروبین و

آلبومین با بیلیروبین شناسایی شده است. همبستگی مثبت معنی‌دار بین غلظت تروپونین I با اسیداوریک، روی با آهن، روی با مس، روی با مالون‌دی‌آلدهید، روی با آلبومین، آهن با آلبومین، ظرفیت تام‌آنتیاکسیدانی با اسیداوریک و بیلیروبین، مالون‌دی‌آلدهید با آلبومین و اسیداوریک با بیلیروبین مشاهده شده است.

به نظر می‌رسد که غلظت ریزمغزیه‌ها یک نقش مهم در سیستم دفاع آنتیاکسیداتیو در برهه‌ها بازی میکند.

فهرست مطالب

ارزیابی همبستگی بین مقادیر سرمی تروپونین I، مس، روی، آهن و
سلنیوم با برخی از شاخصهای استرس اکسیداتیو در گوسفند

مقدمه..... ۱

فصل اول : مروری بر تحقیقات انجام شده

| | | |
|-------|---|----|
| ۱ 1 | تروپونین..... | ۵ |
| ۱ + ۱ | انواع تروپونین..... | ۶ |
| ۱ + ۴ | سیکل انقباض عضله..... | ۸ |
| ۱ + ۳ | بیماریهایی که باعث افزایش غلظت تروپونین میشوند..... | ۹ |
| ۱ + ۴ | روشهای اندازهگیری تروپونین..... | ۱۵ |
| 1 2 | استرس اکسیداتیو..... | ۱۷ |
| ۱-۲-۱ | مبانی استرس اکسیداتیو..... | ۱۷ |
| ۱-۲-۲ | آنتیاکسیدان..... | ۱۹ |
| ۱-۲-۳ | روشهای ارزیابی استرس اکسیداتیو..... | ۲۱ |

| | |
|----|--|
| ۲۲ |۳-۱-شاخصهای استرس اکسیداتیو..... |
| ۲۵ |۴-۱-ریزمغزیهها..... |
| ۲۵ |۱-۴-۱-مس..... |
| ۲۵ |۴ ۱ + - جذب مس..... |
| ۲۶ |۴ ۱ + ۴ - انتقال مس در بدن..... |
| ۲۷ |۴ ۱ + ۴ - انتشار و پراکندگی بافتی مس..... |
| ۲۸ |۴ ۱ + ۴ - دفع مس از بدن..... |
| ۲۸ |۴ ۱ + ۵ - نقش مس در واکنشهای اکسیداتیو..... |
| ۲۹ |۲-۴-۱-روی..... |
| ۳۰ |۱-۲-۴-۱- جذب روی در بدن..... |
| ۳۱ |۲-۲-۴-۱- انتقال روی در بدن..... |
| ۳۲ |۳-۲-۴-۱- انتشار و پراکندگی روی در بدن..... |
| ۳۳ |۴-۲-۴-۱- دفع روی از بدن..... |
| ۳۳ |۵-۲-۴-۱- نقش روی در واکنشهای اکسیداتیو..... |
| ۳۳ |۳-۴-۱-آهن..... |
| ۳۴ |۱-۳-۴-۱- جذب آهن در بدن..... |
| ۳۴ |۲-۳-۴-۱- انتقال آهن در بدن..... |
| ۳۵ |۳-۳-۴-۱- نقش آهن در واکنشهای اکسیداتیو..... |
| ۳۵ |۴-۴-۱- سلنیوم..... |
| ۳۵ |۱-۴-۴-۱- جذب سلنیوم در بدن..... |

۳۶ ۱-۴-۴-۲- میزان سلنیوم در بدن.....

۳۷ ۱-۴-۴-۳- نقش سلنیوم در واکنشهای اکسیداتیو.....

فصل دوم : مواد و روش کار

۴۰ ۱-۲- نحوه‌ی نمونه‌گیری.....

۴۱ ۲-۲- جداسازی سرمها.....

۴۱ ۲-۳- اندازه‌گیری تروپونین.....

۴۱ ۲-۳-۱- مراحل انجام الایزا.....

۴۳ ۲-۴- اندازه‌گیری عناصر کمیاب.....

۴۳ ۲-۵- اندازه‌گیری مالوندیآلدهید.....

۴۴ ۲-۵-۱- روش کالر.....

۴۵ ۲-۶- آنالیز دادهها.....

فصل سوم : نتایج

۴۷ ۳-۱- دستهبندی نمونهها.....

۴۸ ۳-۲- توزیع دادهها.....

۵۱ ۳-۳- ارتباط پارامترها.....

فصل چهارم : بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهاد

۵۴ ۴- بحث و نتیجه‌گیری.....

۵۵ ۴-۱- تفسیر نتایج مربوط به تروپونین.....

۵۹ ۴-۲- تفسیر نتایج مربوط به همبستگی تروپونین با ریزمغزیهها.....

| | |
|----|---|
| ۵۹ | ۴-۲-۱- همبستگی تروپونین و سلنیوم |
| ۶۱ | ۴-۲-۲- همبستگی تروپونین با مس و آهن |
| | ۴-۳- تفسیر نتایج مربوط به همبستگی تروپونین با شاخصهای استرس |
| ۶۲ | اکسیداتیو |
| | ۴-۴- تفسیر نتایج مربوط به همبستگی شاخصهای استرس اکسیداتیو و ریزمغزی - |
| ۶۴ | ها |
| ۷۱ | ۴-۵- نتیجه‌گیری |

منابع و

مراجع ۷۳

فهرست جدولها

شماره صفحه

عنوان و شماره

جدول شماره ۱: مقادیر کمبود، نرمال و حاشیه

۳۷ سلنیوم

جدول شماره ۲: مقادیر میانه و صدکهای ۷۵ و ۲۵ در گروه کمبود سلنیوم و گروه سلنیوم

۴۸ طبیعی

جدول شماره ۳: مقادیر میانه و صدکهای ۷۵ و ۲۵ در گروه کمبود مس و گروه مس

۴۹ طبیعی

جدول شماره ۴: مقادیر میانه و صدکهای ۷۵ و ۲۵ در گروه کمبود آهن و گروه آهن

۵۰ طبیعی

۵۱ جدول شماره ۵: ارتباط بین پارامترها

﴿مقدمه﴾

رادیکالهای آزاد مانند گونه‌های اکسیژن فعال طی یک واکنش بیوشیمیایی و عملکرد سلولی به طور مثال متابولیسم میتوکندریایی شکل می‌گیرند. در شرایط نرمال همواره تشکیل رادیکالهای آزاد و مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها در یک تعادل قرار دارد و استرس اکسیداتیو حاصل عدم تعادل بین تشکیل و خنثی شدن پرواکسیدان‌ها می‌باشد. پروسه‌های پاتولوژیکی مختلفی این بالانس را با افزایش میزان رادیکالهای آزاد در مقایسه با میزان آنتی‌اکسیدان‌ها مختل می‌کنند. افزایش تشکیل رادیکالهای آزاد حاصل فعالیت سلولهای ایمنی، التهاب، ایسکمی، عفونت و سرطان و امثال اینها می‌باشد. تشکیل رادیکالهای آزاد و تاثیر این مولکولها بر عملکرد سلولی (که میتواند منجر به مرگ سلولی شود) را به طور کلی استرس اکسیداتیو گویند. این مولکولهای ناپایدار عموماً شامل انواع اکسیژن و نیتروژن میشوند که در ایجاد بسیاری از بیماریها مثل آلزایمر، بیماریهای قلبی مزمن، بیماریهای کبدی و کلیوی و نواحی التهابی و... نقش دارند (۱). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که از طریق جاروب کردن رادیکالهای آزاد سیستمهای بیولوژیک را در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت میکنند. از آنزیمهای آنتیاکسیداتیو میتوان سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتیونپر اکسیداز و گلوکاتیونر دوکتاز را نام برد. از سلنیوم، روی و مس نیز می‌توان به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غذایی نام برد اما این عناصر خودشان به تنهایی فعالیت آنتی‌اکسیداتیو ندارند بلکه به عنوان یک کوفاکتور در آنزیمهای آنتیاکسیدانت عمل میکنند مانند Se-GPX و Zn-Cu SOD و به هر دو ساختار خاص می‌بخشد. حدس زده شده که هر تغییری در میزان trace elements باعث تغییراتی در فعالیت آنزیمی و اثر مهمی بر مستعد شدن بافت به استرس اکسیداتیو می‌گردد (۲).

مس عنصری است که به عنوان کوفاکتور در ساختار آنزیمهایی مانند سیتوکروم اکسیداز، تیروزیناز، سوپراکسید دیس موتاز و فرواکسیداز شرکت دارد. آنزیم فرواکسیداز آهن فریک را به فرو تبدیل می‌کند که در عدم حضور این آنزیم، آهن فریک منجر به تولید رادیکالهای آزاد هیدروکسیل می‌شود. از طرفی افزایش میزان سرمی مس میتواند به عنوان یک عامل اکسیدان عمل کند مثلاً در خون با اثر بر غشا گلبولهای قرمز باعث آسیب اکسیداتیو غشا و همولیز میشود. به خاطر وجود مس در ساختار آنزیمهای مختلف کمبود آن به اشکال بالینی متنوعی نمایانگر میشود مانند: کاهش وزن، آنمی، ضایعات عصبی در برهه‌ها، تغییر رنگ پوشش خارجی و تغییرات فیزیکی پوشش خارجی، عوارض قلبی و... (۳).

روی در عملکرد بیش از ۳۰۰ نوع آنزیم، بسیاری از عوامل بیولوژیک دیگر چون هورمون‌ها، پپتیدها، سیتوکین‌ها، ساخت اسیدهای نوکلئیک و پروتئینها نقش دارد. وجود روی برای فعالیت غشای سلولی مهم است. روی در تصحیح فرایندهای استرس اکسیداتیو دارای نقش است. خواص آنتی‌اکسیدانی روی در سیستم‌های بیوشیمیایی مشخص می‌باشد و به نظر می‌رسد بخشی از این فعالیت مستقل از فعالیت متالو آنزیمی روی باشد. اثرات مزمن آنتی‌اکسیدانی روی مرتبط به القای موادی مثل متالوتیونین‌ها می‌باشد. اما اثرات حاد آن

احتمالاً ناشی از حفاظت گروه‌های سولفیدریل پروتئینی و کاهش تشکیل رادیکالهای هیدروکسیل از اکسیژن و هیدروژن پراکسید است (۴).

آهن از فراوان ترین عناصر در کره زمین است که تمام موجودات به جز لاکتو باسیل ها برای حیات به آن نیاز دارند. کم خونی ناشی از فقر آهن از فراوانترین انواع کم خونی است که در انسان از اهمیت بیشتری برخوردار است. آهن در بافت خون ساز در ساختار هموگلوبین شرکت کرده و در بافتهای دیگر در ساختار آنزیم هایی چون پراکسیداز، کاتالاز و تریپتوفان اکسیژناز. در سیتوکرومها و میوگلوبین به صورت مشتقات هم وجود دارد. آهن در سندروم حاد کرونر در انسان طی واکنشهای ایسکمیک آزاد شده و میزان سرمی آن افزایش می یابد. شواهدی وجود دارد که آهن در طول ایسکمی بافتی قادر به تولید رادیکالهای آزاد مثل: سوپر اکسید، هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید است و به این طریق به آسیبهای ناشی از ایسکمی شدت می بخشد (۳).

سلنیوم از ریز مغزیهای ضروری برای بدن است. شناخته شدهترین وظیفه آن شرکت در ساختمان آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز است. این آنزیم باعث تبدیل پراکسید هیدروژن به آب می شود و لذا از مهمترین اجزای سیستم آنتی اکسیدان سلولی است. وظیفه مهم دیگر سلنیوم که نسبتاً به تازگی شناخته شده است شرکت آن در ساختمان آنزیم دیویدیناز تیپ ۱ می باشد (iodothyronin -5' deiodinas). این آنزیم در تبدیل هورمون تیروکسین (T4) به تری یودوتیرونین (T3) که فرم فعال می باشد شرکت میکند. سلنیوم در متابولیسم اسید آراشیدونیک شرکت می کند و این ارتباط در عمل نوتروفیلها در جهت کشتن باکتریها و لذا ایمنی غیراختصاصی بدن اهمیت دارد. در گوسفند مهمترین اختلال حاصل از کمبود سلنیوم بیماری عضله سفید است که با علایمی همچون ضعف پاها، خم شدن مفصل خرگوشی و لرزش عضلانی مشخص می شود. نکرور مشخص عضله قلب و عضلات اسکلتی از نشانههای مشخص پاتولوژیک این بیماری است و اغلب بیماران به علت نارسایی قلب می میرند. کمبود مرزی و کوتاه مدت سلنیوم با کاهش رشد و اسهال مشخص می شود. در حال حاضر اندازه گیری مقادیر آنزیم گلوکوتایونپراکسیداز در گلبولهای قرمز و یا پلاسما و نیز سلنو پروتئین P و نیز اندازه گیری میزان سلنیوم سرم جهت تشخیص بیماری استفاده میشوند که در اغلب موارد در کشور در دسترس نبوده یا به طور روتین استفاده ندارند. برای مثال سلنو پروتئین P موجود نیست و نیز کیت های گلوکوتایون پراکسیداز استفاده روتین در آزمایشگاهها ندارد و باید از خارج به طور سفارشی وارد شود و یا اندازه گیری سلنیوم با روش جذب اتمی در آزمایشگاههای محدودی در دسترس می باشد (۵).

تروپونینها (troponin) پروتئینهای تنظیم کنندهای هستند که بخشی از اسباب انقباضی عضلات اسکلتی و قلبی را تشکیل می دهند. این پروتئینها در عضلات صاف وجود ندارند و همراه با پروتئینهای اکتین و میوزین بخشی از فیلامنتهای نازک میو فیبریلها بوده و نقش اساسی در تنظیم با واسطه کلسیم انقباض عضلات را بر عهده دارند. کمپلکس تروپونین متشکل از ۳ پروتئین جداگانه از نظر عملکردی در عین حال با اثرات متقابل با یکدیگر میباشد (تروپونینهای I, T, C). آسیب به میوسیتهای قلبی منجر به از دست رفتن یکپارچگی غشای سلولی شده و منجر به نشت تروپونینها به داخل خون میشود. بعد از آسیبهای حاد

قلبی تروپونینهای سیتوزولی رها شده و افزایش اولیه در خون ایجاد می شود. این رخداد با رها شدن آهسته تروپونینهای متصل به میوفیبریلها ادامه مییابد. نیمه عمر آنها در خون ۲ ساعت تخمین زده می شود. در انسان بعد از آسیب حاد قلبی ۴ تا ۲۴ ساعت بعد شروع به افزایش کرده و حداکثر میزان ۱۲ تا ۴۸ ساعت بعد ایجاد می شود و برای ۷ تا ۱۰ روز بالا می ماند. روندی مشابه در آسیب های تجربی قلبی در سگ نیز گزارش شده است. اندازه گیری تروپونینهای قلبی I امروزه به عنوان روشهایی بسیار مناسب جهت تشخیص ضایعات قلبی مورد استفاده قرار گرفته و در اکثر بیمارستانهای انسانی به طور روتین در دسترس می باشند. نکته مهم دیگر اینکه به واسطه شباهت ساختمانی موجود بین تروپونینها در حیوانات مختلف کیت‌های موجود در بازار به خوبی می توانند جهت اندازه‌گیری و تشخیص ضایعات عضلانی قلب حیوانات مختلف مورد استفاده قرار گیرند (۶،۷،۸).

با توجه به مطالب فوق مطالعه حاضر سعی خواهد کرد ارتباط میان مقادیر مس، روی، آهن و سلنیوم سرم خون را با شاخصهای اختصاصی و غیراختصاصی استرس اکسیداتیو و تروپونین I قلبی که به عنوان یک شاخص در تشخیص و پیش بینی و شدت ضایعات میوکارد امروزه استفاده میشود بر قرار نموده تا نقش ریز مغزیها و واکنشهای اکسیداتیو در پاتوژنز و ارزش تشخیصی آنها در ضایعات میوکارد شناسایی شود.

فصل اول

مروری بر تحقیقات انجام شده