دانشگاه تهران
دانشکده دامپزشکی

**پایان نامه:**
برای دریافت درجه دکتری دامپزشکی (عمومی)
از دانشگاه تهران

**موضوع:**
# پارامترهای لیپید و لیپوپروتئینی سرم در اسبهای عرب، تروبرد و اسبچه خزر

**نگارش:**
علی کاظمی

سال تحصیلی ۸۶-۱۳۸۵ شماره: ۳۱۱۰

**استاد راهنما:**
دکتر فرزاد اسدی

دانشگاه تهران
دانشکده دامپزشکی

**پایان نامه:**
برای دریافت درجه دکتری دامپزشکی (عمومی)
از دانشگاه تهران

**موضوع:**
پارامترهای لیپید و لیپوپروتئینی سرم در اسبهای عرب، تروبرد و اسبچه خزر

**نگارش:**
علی کاظمی

سال تحصیلی ۸۶-۱۳۸۵ شماره:۳۱۱۰

# هیات داوران

| | | |
|---|---|---|
| **راهنما و رئیس هیات داوران** | **دکتر فرزاد اسدی** | **استادیار** |
| **مشاور** | **سرکار خانم دکتر عباسعلی پورکبیره** | **دانشیار** |
| **داور** | **سرکارخانم دکتر خضرائی نیا** | **دانشیار** |
| **داور** | **سرکارخانم دکتر اطیابی** | **استادیار** |

بسم الله الرحمن الرحيم

**تقدیم به پدر ومادر عزیزم که مهر و ماه زندگیم هستند و همسر فداکارم و فرزندان دلبندم. امیدوارم در پناه لطف یزدان پیروز و سربلند باشند.**

## تقدیر وتشکر:

از خانواده عزیزم، که همواره خود را مرهون حمایت و زحمات ایشان می‌دانم کمال تشکر را دارم، امیدوارم در پناه الطاف یزدان، شاد و سربلند باشند.

از استاد گرانمایه و ارجمندم ،جناب آقای دکتر فرزاد اسدی که راهنمایی این پایان نامه را بر عهده داشتند و بدون توصیه‌های ارزنده و کمکهای بی‌دریغ ایشان این پایان نامه هرگز به انجام نمی‌رسید، بسیار سپاسگزارم؛ همچنین مراتب قدردانی قلبی خود را از استاد ارجمندم سرکار خانم دکتر ملیحه پورکبیره استاد مشاور که صمیمانه مرا در این راه یاری نمودند، اعلام می‌دارم. امیدوارم در پناه حق سالم و سرافراز باشند و هرچه سریع تر سلامتی خود را بازیابند.

از استاد ارجمندم سرکارخانم دکتر اطیابی استاد محترم داور، که علاوه بر حق استادی برگردن بنده دارند، در مطالعه و راهنمایی این پایان‌نامه از هیچگونه بذل و عنایتی دریغ نورزیده و همواره من را مشمول لطف بیکران خویش ساخته‌اند، بی‌نهایت سپاسگزارم.

از سرکارخانم دکتر خضرائی نیا که همواره از محضر ایشان کسب فیض نموده‌ام و با قبول داوری این پایان نامه بر من منت نهاده و مرا مشمول توصیه‌های گرانبار خویش ساختند، خالصانه و صمیمانه تشکر می‌نمایم.

# فهرست مطالب

عنوان صفحه


خلاصه فارسی ----------۱

بخش اول:پیشگفتار ----------۲

بخش دوم:بررسی منابع ---------- - -- ----- ---۴

۱ـ کلسترول ----------۵

۱ ـ۱جذب کلسترول ----------۵

۱-۲-سنتز کلسترول ----------۷

۱-۳- استریفیه شدن کلسترول----------۱۰

۱-۴- کاتابولیسه کلسترول----------۱۱

۲- آپولیپوپروتئین ها----------۱۲

۲-۱-طبقه بندی آپولیپو پروتئینها ----------۱۳

۲-۱-۱- آپولیپوپروتئین*A(apoA)* ----------۱۳

۲-۱-۲- آپولیپوپروتئین*B(apoB)* ----------۱۳

۲-۱-۳- آپولیپوپروتئین*C(apoC)* ----------۱۴

۲-۱-۴-اپولیپوپروتئین*D(apoD)* ----------۱۵

۲-۱-۵- آپولیپوپروتئین*E(apoE)* ----------۱۵

۲-۱-۶- پروتئین*(a)* ----------۱۶

۳-لیپوپروتئین ها ----------۱۷

۳-۱-طبقه بندی لیپوپروتئین ها ----------۱۷

۱-۱-۳-شیلو میکرونها ---------- ۱۸
۲-۱-۳-لیپو پروتئین های با دانسیته بسیار پائین *(VLDL)* ---------- ۱۹
۳ -۱-۳-لیپو پروتئین های با دانسیته متوسط *(IDL)* ---------- ۲۱
۴-۱-۳-لیپوپروتئین های با دانسیته پائین *(LDL)* ---------- ۲۲
۵-۱-۳- لیپوپروتئین با دانسیته بالا *(HDL)* ---------- ۲۸
۶-۱-۳-اپیدمیولوژی بیماریهای مرتبط با لیپو پروتئین‌ها ---------- ۳۱
۷-۱-۳-ارتباط تغیرات آپولیپوپروتئینها با بیماریهای قلبی ---------- ۳۳
بخش سوم :مواد و روش کار ---------- ۳۴
۱-۳-مواد ---------- ۳۵
۲-۳- روش کار ---------- ۳۶
۱-۲-۳-اندازه گیری تری گلیسیرید سرمی ---------- ۳۶
۲-۲-۳- اندازه‌گیری کلسترول سرمی ---------- ۳۶
۳-۲-۳- حیوان ---------- ۳۷
بخش چهارم :نتایج ---------- ۳۸
بخش پنجم :بحث و نتیجه‌گیری ---------- ۴۰
منابع ---------- ۴۲
خلاصه انگلیسی ---------- ۴۷

# فهرست جداول و نگاره ها

**عنوان** **صفحه**


تصویر۱-۲ ساختمان کلسترول ----- ۵
تصویر۲-۲ هضم لیپید ها A- مروری بر هضم لیپید هاB -کنترل متابولیسم لیپیدها در روده کوچک ----- ۶
تصویر ۳- ۲تنظیم سنتز کلسترول توسط آنزیم- HMG-COA ردوکتاز ----- ۷
تصویر ۴-۲ سنتز کلسترول از اسید ما لونیک ----- ۸
تصویر۵-۲ مکانیسم های محتمل در تنظیم سنتز کلسترول ----- ۹
تصویر ۶-۲ مکانیسم کنترل متابولیسم کلسترول ----- ۹
تصویر ۷-۲ سنتز استر کلسترول در داخل سلول ----- ۱۰
تصویر ۸-۲ بیوسنتز و تجزیه اسید های صفراوی کولیک شده و اسید کتودزوکسی کولیک به اسید لیتوکولیک متابولیزه می شود ----- ۱۱
جدول ۱-۲ آپولیپیو پروتئین های موجود در لیپو پروتئین ----- ۱۲
تصویر ۹-۲ نمای یک مولکول لیپو پروتئین ----- ۱۲
جدول ۲-۲ مقادیر تقریبی آپولیپو پروتئین های پلاسما ----- ۱۴
جدول ۳-۲ انواع لیپازها ----- ۱۵
جدول ۴-۲ آپولیپو پروتئین های اصلی و فرعی ----- ۱۶
جدول ۵-۲ ترکیب لیپو پروتئین ها ----- ۱۷
تصویر ۱۰-۲ متابولیسم لیپو پروتئین های پلاسما ----- ۱۸
تصویر ۱۱-۲ متابولیسم شیلومیکرون ها ----- ۱۹
تصویر ۱۲-۲ کاتابولیسم VLDL ----- ۲۰
تصویر ۱۳-۲ کاتابولیسم VLDL و تولید LDL ----- ۲۰
تصویر ۱۴-۲ متابولیسم VLDL و تولید LDL ----- ۲۱
تصویر ۱۵-۲ نمای شماتیک LDL ----- ۲۲
تصویر ۱۶-۲ حرکت الکترو فورتیک لیپو پروتئین های پلاسما ----- ۲۲
تصویر ۱۷-۲ برداشت سلولی و تجزیه LDL ----- ۲۳
تصویر ۱۸-۲ کاتابولیسم LDL با واسطه رسپتورهای با میل ترکیبی بالا ----- ۲۴
جدول ۶-۲ طبقه بندی خصوصیات و ترکیب لیپو پروتئین های سرم انسان ----- ۲۴
تصویر ۱۹-۲ مکانیسم های تنظیمی هموستاز کلسترول ----- ۲۵
تصویر ۲۰-۲ ساختمان گیرنده LDL ----- ۲۶
تصویر ۲۱-۲ نقش لیپو پروتئین های اکسید شده در تولید پلاک آتروما در دیواره عروق ----- ۲۷
تصویر ۲۲-۲ فاکتورهای موثر بر تعادل کلسترول در سلول ----- ۲۸
تصویر ۲۳-۲ خلاصه متابولیسم لیپو پروتئین ها ----- ۳۰
تصویر ۲۴-۲ متابولیسم HDL ----- ۳۰
تصویر ۲۵-۲ انتقال استرهای کلسترولی از HDL به VLDL ----- ۳۱
تصویر ۲۶-۲ متابولیسم HDL ----- ۳۱
جدول ۱-۴ پارمترهای لیپیدی سرم خون اسب های تاروب رد، عرب و اسبچه خزر ----- ۳۹
تصویر ۱-۴ روش های رنگ آمیزی لیپو پروتئین ----- ۳۹
جدول ۲-۴ در صدغلظت آلفا و بتا لیپو پروتئین سرمی در اسب های تاروب رد،عرب و اسبچه خزر ----- ۳۹

# خلاصه:

بررسی وضعیت انتقال لیپیدهای سرمی در دامها از دو دیدگاه حائز اهمیت است. نخست اینکه مدل تجربی مناسبی را برای ارزیابی متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین در انسان طراحی می‌کند و همچنین میتوان نگاه عمیقی به متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین در آن گونه حیوانی داشت. در حال حاضر اطلاعات اندکی در خصوص وضعیت لیپید و لیپوپروتئین اسب عرب، اسب تروبرد و همچنین اسبچه خزردردست است. ازاین رو هدف از مطالعه فعلی، ارزیابی غلظت پارامترهای لیپید و لیپوپروتئین در این سه گونهٔ اسب در وضعیت سلامت است. در این رابطه غلظت پارامترهای تری گلیسیرید (TG)، کلسترول تام (TC)، کلسترول HDL(HDL-C)، کلسترول-LDL(LDL-C) و کلسترول-VLDL(VLDL-C) وهمچنین الکتروفورز لیپوپروتئین‌های سرمی تعیین گردید.

نتایج با استفاده از آنالیز ANOVA یک طرفه آنالیز گردید. مقادیر TC و TC سرمی اختلافات معنی‌داری را در بین گونه‌ها نشان داد. درصد نسبی فراکسیون‌های آلفا و بتا - لیپوپروتئین در الکتروفورز آگار - آگارز اختلافات معنی‌داری را در بین این اسب‌ها نشان نداد. در مجموع به نظر می‌رسد اگرچه پارامترهای لیپید و لیپوپروتئین در این سه گونه اسب تا حدودی متفاوت می‌باشد. این یافته‌ها می‌تواند اطلاعات فنوتیپی مفیدی برای این گونه‌های دامی باشد.

# بخش اول

# پیشگفتار

# بخش اول: پیش گفتار

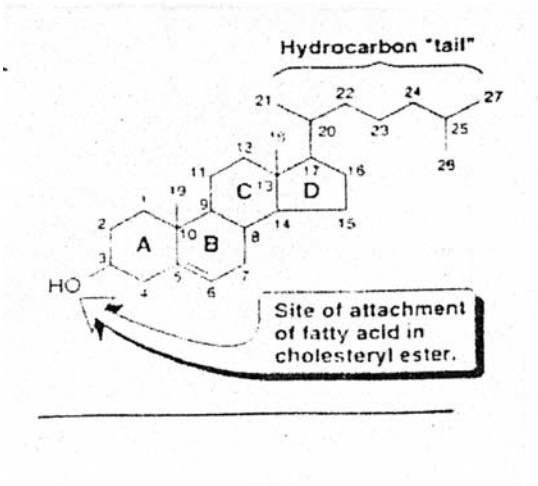
بررسی وضعیت پارامترهای لیپید و لیپوپروتئین علاوه بر اهمیتی که در جوامع انسانی دارد از دیدگاه بهداشت دامی نیز حائز اهمیت است. در این راستا مطالعه پارامترهای لیپید و لیپوپروتئین در حیوانات علاوه بر اینکه می‌تواند به شناخت بیماریهای متابولیسمی در آنها کمک کند ، می‌تواند در یافتن یک مدل حیوانی مناسب جهت ارزیابی وضعیت بیماریهای متابولیکی در انسان نیز راهگشا باشد. تاکنون در مطالعات متعددی پارامترهای لیپیدی و در برخی موارد پارامترهای لیپوپروتئینی اسب‌ها توسط محققین مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است ولی تاکنون مطالعه‌ای در زمینه ارزیابی وضعیت پارامترهای لیپوپروتئینی جهت نشان دادن وضعیت فنوتیپی لیپوپروتئین‌ها در اسبچه خزر بعمل نیامده است. از اینرو در مطالعه حاضر الگوی الکتروفورزی لیپوپروتئین‌های سرمی در اسبچه خزر مطالعه می‌شود. به‌علاوه جهت نشان دادن وضعیت سایر اسب‌های مقیم ایران وضعیت الکتروفورزی لیپوپروتئین‌های سرمی در اسب‌های عرب و تارو برد نیز مورد مطالعه قرار می‌گیرد .امید است این یافته‌ها بتواند گامی در جهت مطالعات هرچه بیشتر گونه‌های دامی اصیل ایرانی باشد و به شناخت بیماریها در این گونه‌های دامی کمک کند.

# بخش دوم

# بررسی منابع

# ۲- کلسترول

در زندگی هر ارگانیسم زنده‌ای که مورد بررسی قرار گرفته است ترکیبات استرولی یافت شده است (۱۰۹ و ۱۰۵) کلسترول انحصاراً در انسان و حیوان یافت شده و استرول اصلی آنها می‌باشد و در واقع همه سلولها و مایعات بدن دارای مقداری کلسترول می‌باشند. مشابه بقیه استرولها، کلسترول نیز ماده‌ای الکلی با وزن مولکولی بالا بوده و دارای ساختمانی تتراسیکلیک پرهیدروسیکلوپنتانوفنانترون می‌باشد. هر مولکول کلسترول شامل ۲۷ اتم کربن بوده که به ترتیبی که در تصویر (۱-۲) نشان داده شده است شماره گذاری می‌گردد. آشنایی با ساختمان این استران و سیستم شماره گذاری آن نه تنها برای بیوشیمیست‌ها بلکه برای کسانی که در زمینه‌های بالینی فعالیت می‌نمایند مهم است، زیرا کلسترول نقطه آغازین بسیاری از راهها و مسیرهای متابولیکی می‌باشد که از جمله آنها می‌توان به سنتز ویتامین D، سنتز هورمون‌های استروئیدی و نیز به متابولیسم اسیدهای صفراوی اشاره نمود(۴۹)

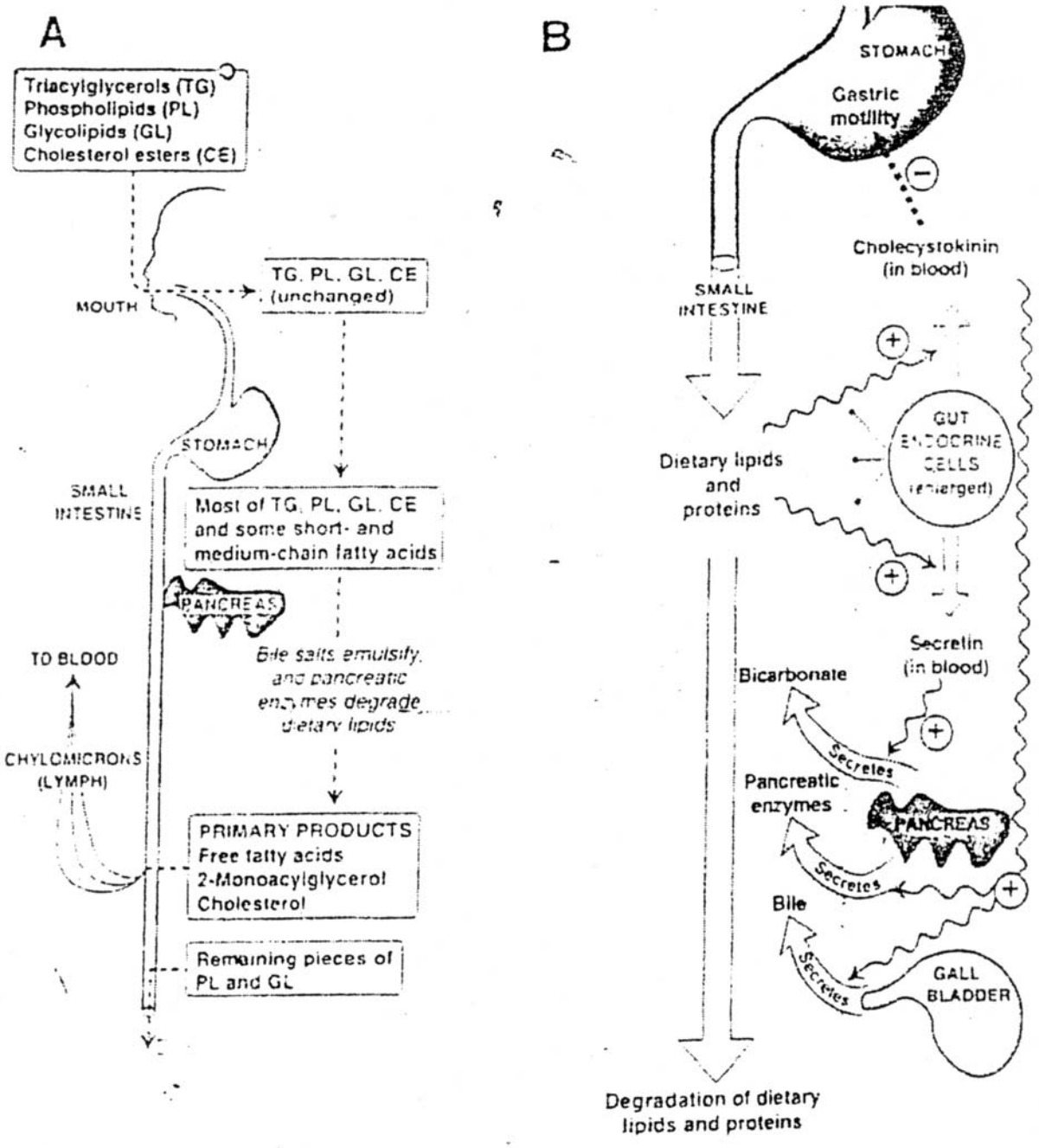



**تصویر (۱-۲) ساختمان کلسترول**

## ۲-۱- جذب کلسترول

کلسترولی که در دیواره روده حضور دارد از سه منشاء می‌باشد: غذا، صفرا و ترشحات روده‌ای خود سلولها. محصولات حیوانی بخصوص گوشت قرمز، زرده تخم مرغ، غذاهای دریایی و محصولات حاصل از چربی شیر، منبع اصلی کلسترول مواد غذایی می‌باشند. (۱) در این میان میزان دریافت کلسترول بستگی به میزان مصرف محصولات غذایی با منشاء حیوانی دارد، بطوریکه متوسط کلسترول موجود در غذای روزانه آمریکائیان برابر ۴۰۰ تا ۷۰۰ میلی گرم می‌باشد و به همین مقدار کلسترول از طریق ترشحات صفراوی و سلولهای مخاطی موجود در روده باز جذب می‌گردد (۴۸) عملاً تمام کلسترول موجود در روده بصورت غیراستریفیه (آزاد) می‌باشد که در روده به سرعت توسط آنزیم‌های کلسترول استرازهای اختصاصی (موجود در روده و ترشحات پانکراسی) از شکسته شدن کلسترول استریفینه حاصل می‌گردند(۴۹-۷).

کلسترول غیر استریفیه جهت جذب می‌بایست ابتدا به شکل قابل حل درآید. این توانایی بوسیله تشکیل میسل‌هایی متشکل از کلسترول غیر استریفیه، اسیدهای چرب، منوآسیل گلیسرول، فسفولیپیدها بهمراه اسیدهای صفراوی بدست می‌آید(تصویر۲-۲). خاصیت آمفی پاتیکی اسیدهای صفراوی نقش مهمی در شکل گیری میسل‌ها و جذب کلسترول ایفا می‌نماید، بطوریکه در غیاب اسیدهای صفراوی، هضم و جذب کلسترول و تری گلیسیریدها به شدت دچار اختلال می‌گردد.میزان جذب کلسترول مواد غذایی بستگی به میزان حلالیت کلسترول که بوسیله میسل‌ها ایجاد می‌گردد، دارد. بطور متوسط ۳۰ تا ۶۰ درصد کلسترول مواد غذایی موجوددرروده روزانه جذب می‌گردد.اگر میزان دریافت روزانه کلسترول از طریق مواد غذایی به ۳ گرم در روز افزایش یابد، میزان جذب حداکثر به یک گرم در روز افزایش می‌یابد. جذب کلسترول تحت تاثیر فرمی از کلسترول که وارد دستگاه گوارش می‌شود نیز قرار دارد. بطوریکه روشن شده است، فرم کریستالین کلسترول دارای حداقل جذب می‌باشد، پس از آن فرم طبیعی (موجود در زرده تخم مرغ) و کلسترول حل شده در روغن قرار دارند.




**تصویر (۲-۲) هضم لیپیدهای *A* - مروری بر هضم لیپیدهای *B* - کنترل هورمونی متابولیسم لیپیدها در روده کوچک.**

توانایی کلسترول در ورود به میسل‌ها تحت تأثیر مقدار چربی موجود در مواد غذایی قرار دارد و به درجه اشباع بودن این چربیها بستگی ندارد. افزایش مقادیر چربی وجود در غذا (۹۸٪ تری گلیسیرید) باعث توسعه میسل‌ها شده که به حلالیت و جذب کلسترول کمک می‌کند(۲۴). حداکثر جذب کلسترول در روده کوچک (در قسمت میانی و انتهایی ایلئوم) انجام می‌گیرد. میسل‌های جذب شده حاوی مقادیر زیادی از اسیدهای چرب و منوگلیسریدها می‌باشد. تشکیل میسل‌ها از ۲ طریق به جذب کلسترول کمک می‌کند: یکی از طریق افزایش قابلیت حل آن و دیگری کمک کردن به انتقال آن از میان سطح سلولهای روده. اگر چه نقش اختصاصی میسل‌ها در انتقال کلسترول از میان غشا سلول به خوبی روشن نیست، اما ممکن است این عمل با واسطه اسیدهای صفراوی صورت گیرد(۴۹).

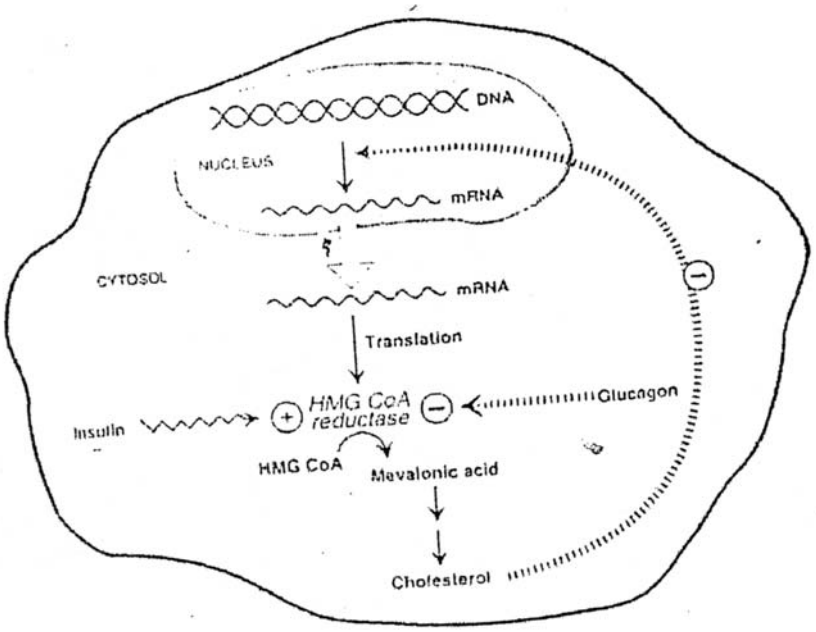
استرولی که در بیشتر گیاهان وجود دارد، بتاسیتوسترول می‌باشد که در قیاس با استرولهای گیاهی به میزان اندکی جذب می‌گردد(۵۷-۲). وقتی که روزانه ۵-۱۵ گرم استرول گیاهی تجویز گردد، به میزان زیادی از جذب کلسترول جلوگیری می‌کند. اگر چه مکانیسم این عمل بخوبی روشن نشده

است، لیکن امروزه از استرولهای گیاهی در درمان بیماران با سطوح بالای کلسترول پلاسما استفاده می‌گردد(۲۶).

متعاقب جذب و ورود کلسترول بداخل سلولهای مخاطی روده، کلسترول مجدداً همراه با تری گلیسیریدها، فسفولیپیدها و آپوپروتئین‌های اختصاصی گردهم آمده و تشکیل میسل‌های بزرگ را می‌دهند که شیلومیکرون نامیده می‌شوند. ترکیبات آپولیپوپروتئین در شکل‌گیری شیلومیکرون‌ها حیاتی می‌باشند. شیلومیکرون‌ها وارد عروق لنفاوی شده و از طریق مجرای توراسیک وارد سیستم گردش خون وریدی می‌گردند(۵۷-۴۹-۲).

## ۲-۲- سنتز کلسترول

اگر چه بخشی از کلسترول بدن از طریق غذا دریافت می‌گردد، قسمت عمده کلسترول بافتها و پلاسما در داخل بدن بوسیله کبد و بافتهای دیگر از مولکولهای ساده بخصوص استات (در قالب استیل کوانیزم A) سنتز می‌گردد. اگر چه همه سلوهای بدن توانایی سنتز از استیل کوانزیم A را دارند، اما بیش از ۹۰٪ سنتز در کبد و روده صورت می‌گیرد و سلولهای محیطی و دیگر ارگانل‌ها، کلسترول مورد نیاز را از طریق گردش خون بدست می‌آورند. سنتز کبدی بوسیله کلسترول‌هایی که از طریق روده جذب می‌شوند مهار می‌گردد (۴-۵) و مکانیسم این فیدبک بر اساس تغییر در فعالیت HMG-COA ردوکتاز صورت می‌گیرد. (تصویر ۳-۲)




**تصویر (۳-۲) تنظیم سنتز کلسترول توسط آنزیم *HMG-COA* ردوکتاز**

این مکانیسم فیدبک بوسیله تنظیم سنتز داخلی کلسترول در مقابل میزان جذب از طریق غذا به کنترل میزان کلسترول بدن کمک می‌کند. تصور بر این است که بیوسنتز کلسترول در ۳ مرحله صورت می‌گیرد:

۱- در مرحله اول استیل کوانزیم A که از کربوهیدراتها، آمینواسیدهاواسیدهای چرب منشا می‌گیرد و در غالب یک تیواستر ۵ کربنه بنام هیدروکسی متیل گلوتاریل کوآنزیم A(HMG-COA) متراکم می‌گردد. (تصویر ۴-۲)

۲- در مرحله دوم HMG-COA احیا شده و با عمل کربوکسیلاسیون به واحدهای ۵ کربنه و موسوم به ایزوپرون (مالونیک اسید) تبدیل می‌شود. (تصویر ۵-۲)