



دانشگاه علوم پزشکی و
خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل

دانشکده داروسازی
پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی

عنوان:

بررسی اثرات تری بوتیل تین و بتا استرادیول در جزایر لانگرهانس موش صحرائی

اساتید راهنما:

دکتر سارا مصطفی لو

دکتر محمد عبداللهی

نگارش:

فائزه قائم ملکی



دانشگاه علوم پزشکی و
خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل

دانشکده داروسازی
پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی

عنوان:

بررسی اثرات تری بوتیل تین و بتا استرادیول در جزایر لانگرهانس موش صحرائی

اساتید راهنما:

دکتر سارا مصطفی لو
دکتر محمد عبداللهی

مشاور:

دکتر پرهام محمدی

نگارش:

فائزه قائم ملکی

تعهد دانشجو در قبال نتایج حاصل از پایان نامه

اینجانب فائزه قائم ملکی دانشجوی رشته داروسازی که پایان نامه خود را با عنوان بررسی اثرات تری- بوتیل تین و استرادیول در جزایر لانگرهانس موش صحرایی در شورای پژوهشی دانشکده داروسازی به تصویب رسانیده‌ام، متعهد می‌شوم بدون در نظر گرفتن حقوق مادی و معنوی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل و بدون هماهنگی و موافقت کتبی تمامی اساتید راهنما و مشاور نسبت به انتشار نتایج حاصل از پایان نامه خود (در قالب کتاب، مقاله، طرح تحقیقاتی، اختراع، اکتشاف و ...) اقدام ننمایم.

نام و امضای دانشجو:

تاریخ:

تقدیم به:

پدرم که چون کوه استوار است و حامی
مادرم که الفبای زندگی را به من آموخت
رفیق که بر همه چیز مقدم است
و به هر که امید را زنده نگه می‌دارد.

تشکر و قدردانی:

اکنون که به یاری پروردگار و راهنمایی اساتید ارجمند موفق به پایان رساله‌ام شده‌ام خود را موظف می‌دانم که نهایت سپاس را از تمامی عزیزانی که در این راه به من کمک کرده‌اند به جای آورم:

استاد بزرگوارم سرکار خانم دکتر سارا مصطفی‌لو برای تمامی حمایت‌ها و زحمات بی‌دریغ‌شان؛
استاد گرامی جناب آقای دکتر محمد عبدالهی که بدون الطاف ایشان اتمام این پایان‌نامه بسیار مشکل می‌نمود؛

سرکار خانم دکتر مریم بعیری و سرکار خانم دکتر مونا نوایی که راهنمایی‌های بی‌چشم‌داشت ایشان بسیاری از سختی‌ها را برایم آسان‌تر نمود؛

جناب آقای دکتر پرهام محمدی استاد مشاور گرامی و اساتید ارجمند جناب آقای دکتر شهاب بهلولی و جناب آقای دکتر احمد سلیمی که زحمت تصحیح و داوری این پایان‌نامه را بر عهده داشتند؛

و پدر و مادر عزیزم که در تمامی مراحل زندگی یار و یابوری بی‌چشم‌داشت برای من بوده‌اند.

چکیده فارسی

مقدمه: شیوع کمتر دیابت در خانم‌ها باعث ایجاد فرضیه‌ی اثرات حفاظتی استروئیدهای جنسی زنانه بر سلول‌های بتای پانکراس شد و با کشف گیرنده‌های استروژن در سلول‌های بتا این فرضیه به اثبات رسید. مطالعات نشان می‌دهد که استرادیول می‌تواند باعث افزایش زنده‌مانی آیلتهای پانکراس و بهبود ترشح انسولین شده و همچنین قادر است مانع آپوپتوز سلول‌ها شود.

طبق بررسی‌ها برخی فلزات سنگین مانند قلع و کادمیوم از طریق تداخل با گیرنده‌های استروژن باعث اختلال در سیستم اندوکرین می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهد تماس مزمن با یکی از مشتقات قلع به نام تری‌بوتیل-تین باعث القای آپوپتوز در آیلتهای پانکراس شده، اختلال در هموستاز گلوکز را در پی دارد و در نتیجه باعث دیابت و مقاومت به انسولین می‌شود. هدف از مطالعه‌ی کنونی پی بردن به این نکته می‌باشد که آیا تری‌بوتیل‌تین اثر سمی بر آیلتهای پانکراس دارد و آیا تداخل با گیرنده‌های استروژن توسط استرادیول به عنوان آگونیست اندوژن قادر به مقابله با سمیت تری‌بوتیل‌تین می‌باشد یا خیر.

روش: آیلتهای جدا شده از پانکراس موش صحرایی نر به گروه‌های ۱۰ تایی تقسیم و تست‌های زنده‌مانی، ترشح انسولین، میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن و میزان آپوپتوز/نکروز بر روی آنها انجام شد.

نتایج: مواجهه با تری‌بوتیل‌تین ($LC_{50}=10\mu M$) باعث کاهش زنده‌مانی، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش ترشح انسولین آیلتهای پانکراس و افزایش آپوپتوز سلول‌ها شد، استرادیول ($EC_{50}=1\mu M$) در برابر سمیت تری‌بوتیل‌تین از آیلتهای محافظت نموده و در مقایسه با گروه درمان شده با تری‌بوتیل‌تین زنده‌مانی را افزایش ($p\text{ value}<0.05$)، میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن ($p\text{ value}<0.05$)، ترشح انسولین ($p\text{ value}<0.05$) و آپوپتوز را کاهش داده است.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان می‌دهد که استرادیول قادر است از آیلتهای پانکراس در برابر سمیت تری‌بوتیل‌تین با افزایش زنده‌مانی، کاهش میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن، کاهش ترشح انسولین و کاهش آپوپتوز سلول‌ها محافظت نماید. نقش گیرنده‌های استروژن در سلول‌های بتای پانکراس می‌تواند هدف خوبی برای مطالعات فارماکولوژیکی و سم‌شناسی به منظور کشف ابعاد تازه‌ای از پاتوفیزیولوژی و استراتژی‌های درمانی دیابت باشد.

کلیدواژه‌ها: آیلتهای پانکراس، استرادیول، گیرنده‌های استروژن، تری‌بوتیل‌تین

فصل ۱: مقدمه

Error! Bookmark not defined. کلیات تحقیق ۱-۱-۱-۱-۱

Error! Bookmark not defined. پانکراس ۱-۱-۱-۱-۱

Error! Bookmark not defined. آناتومی پانکراس ۱-۱-۱-۱-۱

Error! Bookmark not defined. بافت شناسی پانکراس ۲-۱-۱-۱-۱

Error! Bookmark not defined. شیرهای پانکراس ۳-۱-۱-۱-۱

Error! Bookmark not defined. انواع سلول‌ها در آیلتهای پانکراس ۴-۱-۱-۱-۱

Error! Bookmark not defined. انسولین، گلوکاگون و دیابت قندی ۲-۱-۱-۱-۱

Error! Bookmark not defined. اثرات متابولیک آن ۱-۲-۱-۱-۱

Error! Bookmark not defined. ساختار و بیوسنتز انسولین ۲-۲-۱-۱-۱

Error! Bookmark not defined. استرس اکسیداتیو ۲-۱-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. گونه‌های فعال ۱-۲-۱-۱-۱

Error! Bookmark not defined. تعریف گونه‌های فعال ۱-۱-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. انواع گونه‌های فعال ۲-۱-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. منابع گونه‌های فعال ۳-۱-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. منابع اندوژن گونه‌های فعال اکسیژن ۱-۳-۱-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. منابع اگزوژن گونه‌های فعال اکسیژن 1-2-1-3-2

Error! Bookmark not defined. عملکرد فیزیولوژیک گونه‌های فعال ۴-۱-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. اعمال زیستی گونه‌های فعال ۵-۱-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. استرس اکسیداتیو 1-2-2-1-1

Error! Bookmark not defined. تعریف استرس اکسیداتیو ۱-۲-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. پیامدهای استرس اکسیداتیو ۲-۲-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. مرگ سلول ۱-۲-۲-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. آپوپتوز ۱-۱-۲-۲-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. استرس اکسیداتیو و دیابت ۳-۲-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. آیا استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث دیابت شود؟ ۱-۳-۲-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به دیابت ۲-۳-۲-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. نقش گونه‌های فعال اکسیژن در عملکرد طبیعی انسولین و مقاومت انسولینی ۳-۳-۲-۲-۱-۱

Error! Bookmark not defined. بخش سوم: استرادیول و تری‌بوتیل‌تین ۳-۱-۳-۱-۱

Error! Bookmark not defined. نگاهی مختصر به استرادیول ۱-۳-۱-۱

Error! Bookmark not defined. نگاهی مختصر به تری‌بوتیل‌تین ۲-۳-۱-۱

Error! Bookmark not defined. بخش چهارم: طرح تحقیقاتی ۴-۱-۴-۱-۱

Error! Bookmark not defined. بیان مسئله ۱-۴-۱-۱

Error! Bookmark not defined. بررسی متون ۲-۴-۱-۱

Error! Bookmark not defined. اهداف و فرضیات ۳-۴-۱-۱

۲-۲-۱۴-۲-۲-۲ - روش انجام تست آپوتوز/نکروز به روش تغییرات غشای پلاسمایی. Error! Bookmark not defined.

۲-۲-۱۵-۲-۲ - آنالیز آماری. Error! Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined.

فصل ۳: نتایج

۳-۱-۳ - محاسبه LC₅₀ تری بوتیل تین. Error! Bookmark not defined.

۳-۲-۳ - تعیین EC₅₀ استرادیول. Error! Bookmark not defined.

۳-۳-۳ - نتایج تست MTT غلظت‌های نهایی استرادیول و تری بوتیل تین. Error! Bookmark not defined.

۳-۴-۳ - نتایج تست ROS. Error! Bookmark not defined.

۳-۴-۱-۳ - نتایج سنجش پروتئین. Error! Bookmark not defined.

۳-۴-۲-۳ - نتایج محاسبه ROS. Error! Bookmark not defined.

۳-۵-۳ - نتایج تست انسولین. Error! Bookmark not defined.

۳-۶-۳ - نتایج فلوسایتومتری. Error! Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined.

فصل ۴: نتیجه گیری

۴-۱-۱ - بحث. Error! Bookmark not defined.

۴-۲-۲ - نتیجه گیری. Error! Bookmark not defined.

۴-۳-۳ - پیشنهادات. Error! Bookmark not defined.

فهرست جدول‌ها

جدول ۱-۱ گونه‌های فعال نیتروژن. Error! Bookmark not defined.

جدول ۲-۱ گونه‌های فعال اکسیژن. Error! Bookmark not defined.

جدول ۳-۱ تغییرات سلول هنگام نکروز و آپوتوز. Error! Bookmark not defined.

جدول ۴-۱ برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ۱۷ تا-استرادیول. Error! Bookmark not defined.

جدول ۵-۱ برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی تری بوتیل تین. Error! Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined. جدول ۱-۲ دستگاه‌های مورد استفاده

Error! Bookmark not defined. جدول ۲-۲ مواد و کیت‌های مورد نیاز

Error! Bookmark not defined. جدول ۳-۲ اجزای مورد نیاز برای تهیه بافر کربس

Error! Bookmark not defined. جدول ۴-۲ اجزای مورد نیاز برای تهیه بافر استخراج

Error! Bookmark not defined. جدول ۵-۲ اجزای مورد نیاز برای تهیه بافر واکنشگر

Error! Bookmark not defined. جدول ۶-۲ غلظت‌های لازم از BSA برای تهیه‌ی استاندارد پروتئین

Error! Bookmark not defined. .. جدول ۷-۲ ماکزیمم جذب و نشر کیت مورد استفاده برای سنجش آپوپتوز و نکروز

Error! جدول ۱-۳ میزان زنده‌مانی سلول‌ها در مواجهه با غلظت‌های لگاریتمی تری‌بوتیل‌تین برای تعیین LC_{50}

Bookmark not defined.

Error! جدول ۲-۳ میزان زنده‌مانی آیلت‌های پانکراس در مواجهه با LC_{50} تری‌بوتیل‌تین و غلظت‌های استرادیول

Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined. جدول ۳-۳ میزان زنده‌مانی آیلت‌های پانکراس در مواجهه با تری‌بوتیل‌تین و استرادیول

Error! Bookmark not defined. جدول ۴-۳ سنجش میزان پروتئین به روش بردفورد

Error! جدول ۵-۳ میزان گونه‌های فعال اکسیژن در آیلت‌های پانکراس در مواجهه با تری‌بوتیل‌تین و استرادیول

Bookmark not defined.

جدول ۶-۳ میزان ترشح انسولین آیلت‌های پانکراس در پاسخ به قند پایه و تحریکی در مواجهه با تری‌بوتیل‌تین و استرادیول

Error! Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined. جدول ۷-۳ میزان سلول‌های زنده، آپوپتوز و نکروز شده در گروه‌های مختلف به تفکیک درصد

defined.

فهرست اشکال و نمودارها