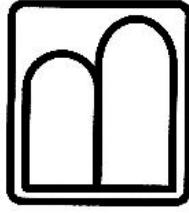


بہ نام خدایی کہ در این مرد
سے ایک است



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشکده پزشکی

گروه فیزیولوژی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی پزشکی

عنوان پایان نامه:

بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (*Scrophularia Striata*) بر

پارامترهای تخمدانی در موش صحرایی ماده مواجهه با دیازینون

استاد راهنما:

دکتر علی عابدی

استاد مشاور:

دکتر حکیمه سعادت

نگارش:

هیلدا یعقوبی شهیر

زمستان ۹۸

شماره پایان نامه : ۰۴۳

تقدیم به مهربان فرشتگانی که:

لحظات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن، عظمت رسیدن و تمام تجربه‌های یکتا و زیبای زندگی، مدیون حضور سبز آنهاست

تقدیم به پدر فداکار و مادر مهربانم

همسرم، اسطوره زندگی و امید بودنم

پشتوانه‌های زندگی، خواهر و برادر عزیزم

و بویژه خواهر زاده گلم که وجودش شادی بخش زندگی من است.

در اینجا بر خود لازم می‌دانم که از زحمات بی دریغ، تلاش‌های بی وقفه و راهنمایی‌های حکیمانه استاد راهنمای محترم جناب آقای دکتر علی عابدی کمال تشکر و قدردانی را داشته

باشم.

همچنین از استاد گرامی سرکار خانم دکتر حکیمه سعادت‌تی که مشاوره این پژوهش را پذیرا شدند و در این مسیر از هیچ همکاری و کمکی به اینجانب دریغ نفرمودند؛ صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از استاد و مدیر گروه محترم که در طول دوران تحصیل افتخار کسب علم را در محضرشان داشته‌ام، جناب آقای دکتر حمداله پناهپور نهایت سپاسگزاری را دارم.

در خاتمه از هم‌کلاسی‌ها و دوستان عزیزم خصوصاً خانم راضیه دهقانی دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی و تمام کسانی که در این مسیر کنارم بودند، به غایت اظهار قدردانی می‌کنم.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	فصل اول (طرح تحقیق)
۲	۱-۱ مقدمه
۲	۲-۱ بیان مسئله
۶	۳-۱ تعریف واژه های کلیدی
۹	۴-۱ اهداف
	پژوهش
۹	۱-۴-۱ هدف کلی
۹	۲-۴-۱ اهداف اختصاصی
۱۱	۳-۴-۱ اهداف کاربردی
۱۱	۵-۱ فرضیات یا سؤالات تحقیق
۱۴	فصل دوم (پیشینه تحقیق)
۱۵	۱-۲ حشره کش های ارگانو فسفات (OP)
۱۵	۱-۱-۲ مقدمه
۱۶	۲-۱-۲ دیازینون
۱۷	۱-۲-۱-۲ فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک
۱۹	۲-۲-۱-۲ پاتوفیزیولوژی
۱۹	۱-۲-۲-۱-۲ سمیت کبد و پانکراس
۱۹	۲-۲-۲-۱-۲ سمیت کلیه
۱۹	۳-۲-۲-۱-۲ سمیت متابولیسم پایه
۲۰	۴-۲-۲-۱-۲ سمیت سیستم تولید مثل و آندوکرینی
۲۱	۵-۲-۲-۱-۲ سمیت سیستم قلبی عروقی
۲۲	۶-۲-۲-۱-۲ سمیت سیستم ایمنی
۲۲	۷-۲-۲-۱-۲ سمیت سیستم عصبی
۲۳	۲-۲ هورمون های جنسی
۲۳	۱-۲-۲ گنادوتروپین ها
۲۴	FSH ۱-۱-۲-۲

۲۵LH ۲-۱-۲-۲
۲۵۲-۲-۲-۲-هورمون های استروئیدی.
۲۵۱-۲-۲-۲-استروژن.
۲۶۲-۲-۲-۲-پروژسترون.
۲۶۳-۲-غدد جنسی.
۲۷۱-۳-۲-تخمندان.
۲۷۲-۳-۲-فولیکول های تخمدانی.
۲۷۱-۲-۳-۲-تکامل فولیکول ها.
۲۸۱-۱-۲-۳-۲-فولیکول بدوی.
۲۸۲-۱-۲-۳-۲-فولیکول اولیه.
۲۹۳-۱-۲-۳-۲-فولیکول ثانویه.
۳۰۴-۱-۲-۳-۲-فولیکول گراف.
۳۱۳-۳-۲-جسم زرد.
۳۱۴-۲-گیاهان دارویی.
۳۱۵-۲-مخلصه.
۳۲۱-۵-۲-ترکیبات شیمیایی مخلصه.
۳۲۱-۱-۵-۲-فنل ها.
۳۳۲-۱-۵-۲-فلاونوئیدها.
۳۴۲-۵-۲-اثرات بیولوژیکی و فارماکولوژیکی.
۳۴۱-۲-۵-۲-فعالیت ضد میکروبی.
۳۵۲-۲-۵-۲-فعالیت ضد توموری.
۳۵۳-۲-۵-۲-اثرات پوستی.
۳۵۴-۲-۵-۲-فعالیت ضد التهابی.
۳۵۵-۲-۵-۲-فعالیت آنتی اکسیدانی.
۳۶۶-۲-۵-۲-فعالیت نوروپروتکتیوی.
۳۶۷-۲-۵-۲-اثرات ضد اضطراب و افسردگی.
۳۶۸-۲-۵-۲-فعالیت ضد دردی.
۳۶۶-۲-ویتامین E.
۳۸۷-۲-مطالعات انجام شده.

۴۴ فصل سوم (شیوه ی اجرای تحقیق)
۴۵ ۱-۳ مواد مورد استفاده در این تحقیق
۴۶ ۲-۳ تجهیزات مورد استفاده در این تحقیق
۴۷ ۳-۳ نوع مطالعه در این تحقیق
۴۷ ۴-۳ مکان و زمان انجام مطالعه
۴۷ ۵-۳ ملاحظات اخلاقی
۴۸ ۶-۳ حیوانات مورد مطالعه
۴۸ ۷-۳ معیار ورود
۴۸ ۸-۳ معیار خروج
۴۸ ۹-۳ روش گردآوری اطلاعات
۴۹ ۱-۹-۳ گروه بندی حیوانات و روش انجام آزمایش
۵۰ ۲-۹-۳ نحوه ایجاد آسیب
۵۱ ۳-۹-۳ تهیه نمونه گیاهی
۵۱ ۱-۳-۹-۳ تهیه عصاره گیاهی
۵۲ ۴-۹-۳ رت ماده استروسی و تهیه اسمیر واژینال
۵۴ ۵-۹-۳ اندازه گیری هورمون های جنسی
۵۴ ۱-۵-۹-۳ نحوه انجام آزمایش براساس اصول اندازه گیری کیت هورمونی
۵۵ ۱-۱-۵-۹-۳ مراحل ارزیابی استروژن
۵۷ ۲-۱-۵-۹-۳ مراحل ارزیابی پروژسترون
۵۹ ۳-۱-۵-۹-۳ مراحل ارزیابی LH و FSH
۶۱ ۶-۹-۳ جراحی جهت خارج نمودن بافت تخمدان
۶۲ ۱-۶-۹-۳ مراحل تهیه نمونه بافتی
۶۳ ۱۰-۳ روش تجزیه و تحلیل داده ها و بررسی آماری
۶۴ ۱۱-۳ جدول متغیرهای مطالعه
۶۶ فصل چهارم (نتایج)
۶۹ ۱-۴ ارزیابی وزن رت ها
۶۹ ۱-۱-۴ ارزیابی وزن رت ها در شروع آزمایش
۶۹ ۲-۱-۴ ارزیابی وزن رت ها ۷ روز پس از تزریق
۷۰ ۳-۱-۴ ارزیابی وزن رت ها ۱۴ روز پس از تزریق

۷۲ ۲-۴ ارزیابی وزن تخمدان ها.
۷۲ ۱-۲-۴ وزن تخمدان راست در گروههای مختلف.
۷۴ ۲-۲-۴ وزن تخمدان چپ در گروههای مختلف.
۷۷ ۳-۴ ارزیابی شمارش فولیکول ها.
۷۷ ۱-۳-۴ ارزیابی تعداد فولیکول های بدوی در گروه های مختلف.
۷۹ ۲-۳-۴ ارزیابی تعداد فولیکول های اولیه در گروه های مختلف.
۸۱ ۳-۳-۴ ارزیابی تعداد فولیکول های ثانویه در گروه های مختلف.
۸۳ ۴-۳-۴ ارزیابی تعداد فولیکول های بالغ در گروه های مختلف.
۸۶ ۴-۴ ارزیابی اندازه جسم زرد در گروه های مختلف.
۸۸ ۵-۴ ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیک تخمدان.
۹۴ ۶-۴ ارزیابی غلظت هورمون های جنسی.
۹۴ ۱-۶-۴ اندازه گیری غلظت LH.
۹۶ ۲-۶-۴ اندازه گیری غلظت FSH.
۹۸ ۳-۶-۴ اندازه گیری غلظت استرادیول.
۱۰۰ ۴-۶-۴ اندازه گیری غلظت پروژسترون.
۱۰۲ فصل پنجم (بحث و نتیجه گیری)
۱۰۳ ۱-۵ بحث.
۱۱۳ ۲-۵ نتیجه گیری.
۱۱۴ ۳-۵ پیشنهادات.
۱۱۵ منابع.

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۵۵	جدول ۳-۱: غلظت های استاندارد های اصلی بر اساس β -۱۷ استرادیول.....
۵۶	جدول ۳-۲: مراحل تهیه نمونه بر طبق بروشور کیت.....
۵۷	جدول ۳-۳: غلظت های استاندارد های اصلی بر اساس پروژسترون.....
۵۸	جدول ۳-۴: مراحل تهیه نمونه بر طبق بروشور کیت.....
۵۹	جدول ۳-۵: غلظت های استاندارد های اصلی بر اساس LH و FSH.....

فهرست شکل ها

صفحه	عنوان
۱۷	شکل ۲-۱: ساختار شیمیایی دیازینون.....
۱۸	شکل ۲-۲: مسیر متابولیسمی ارگانوفسفره دیازینون.....
۲۴	شکل ۲-۳: مسیر هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادها.....
۲۸	شکل ۲-۴: فولیکول بدوی.....
۲۹	شکل ۲-۵: فولیکول اولیه.....
۳۰	شکل ۲-۶: فولیکول ثانویه.....
۳۰	شکل ۲-۷: فولیکول بالغ.....
۳۲	شکل ۲-۸: گیاه مخلصه.....
۳۴	شکل ۲-۹: ساختار شیمیایی برخی از محصولات استخراج شده از مخلصه.....
۳۷	شکل ۲-۱۰: ساختار شیمیایی ویتامین E.....
۵۰	شکل ۳-۱: تزریق داخل صفاقی.....
۵۲	شکل ۳-۲: عصاره گیری (فیلتراسیون با کاغذ صافی).....
۵۳	شکل ۳-۳: تهیه اسمیر واژینال.....
۵۴	شکل ۳-۴: خونگیری مستقیم از قلب از بطن چپ.....
۶۱	شکل ۳-۵: برداشتن تخمدان ها.....
	شکل ۴-۱: مرحله استروس سیکل جنسی رت ماده زیر میکروسکوپ نوری ($\times 40$) دارای
۶۸	سلول های شاخی و چندوجهی و بدون هسته.....
۸۸	شکل ۴-۲: عکس های میکروسکوپی فولیکول های ثانویه نرمال از بافت تخمدان.....
۸۹	شکل ۴-۳: عکس های میکروسکوپی فولیکول های ثانویه در حال تخریب از بافت تخمدان.....
۹۱	شکل ۴-۴: عکس های میکروسکوپی فولیکول های آترتیک از بافت تخمدان.....
۹۳	شکل ۴-۵: عکس های میکروسکوپی از جسم زرد.....

فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
۷۱	نمودار ۱-۴: ارزیابی وزن رت ها.....
۷۳	نمودار ۲-۴: میانگین وزن تخمدان راست در گروههای مختلف.....
۷۵	نمودار ۳-۴: میانگین وزن تخمدان چپ در گروههای مختلف.....
۷۶	نمودار ۴-۴: ارزیابی وزن تخمدان ها.....
۷۸	نمودار ۵-۴: ارزیابی تعداد فولیکول های بدوی در گروه های مختلف.....
۸۰	نمودار ۶-۴: ارزیابی تعداد فولیکول های اولیه در گروه های مختلف.....
۸۲	نمودار ۷-۴: ارزیابی تعداد فولیکول های ثانویه در گروه های مختلف.....
۸۴	نمودار ۸-۴: ارزیابی تعداد فولیکول های بالغ در گروه های مختلف.....
۸۵	نمودار ۹-۴: مقایسه بین فولیکول های بدوی، اولیه، ثانویه و بالغ در گروه های مختلف.....
۸۷	نمودار ۱۰-۴: تاثیر عصاره هیدروالکلی مخلصه بر اندازه جسم زرد پس از چهارده روز.....
۹۵	نمودار ۱۱-۴: تاثیر عصاره هیدروالکلی مخلصه بر سطح LH خون پس از چهارده روز.....
۹۷	نمودار ۱۲-۴: تاثیر عصاره هیدروالکلی مخلصه بر سطح FSH خون پس از چهارده روز.....
۹۹	نمودار ۱۳-۴: تاثیر عصاره هیدروالکلی مخلصه بر سطح استروژن خون پس از چهارده روز.....
۱۰۱	نمودار ۱۴-۴: تاثیر عصاره هیدروالکلی مخلصه بر سطح پروژسترون خون پس از چهارده روز.....

فهرست علايم و اختصارات

3βH3D	3 β Hydroxysteroid Dehydrogenase
ACH	Acetylcholine
ACHE	Acetylcholinesterase
ACTH	Adrenocorticotropic Hormones
ALP	Alkaline Phosphatase
ALT	Alanine Transaminase
AST	Aspartate Aminotransferase
ATP	Adenosine Triphosphate
BUN	Blood Urea Nitrogen
CNS	Central Nervous System
CYPS	Cytochromes P450
DEP	Diethyl Phosphate
DETP	Diethyl Dithiophosphate
DMSO	Dimethyl Sulfoxide
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DPPH	2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl
DZN	Diazinon
E2	17 β Estradiol
FSH	Follicle-Stimulating Hormone
GNRH	Gonadotropin-Releasing-Hormone

GNRHR	Gonadotropin-Releasing-Hormone Receptor
G-PRT	Guanine Nucleotide-Binding Proteins
GPX	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione
H&E	Hematoxylin And Eosin
H2O2	Hydrogen Peroxide
H2SO4	Sulfuric Acid
HPG	Hypothalamus-Pituitary-Gonadal
HRP	Horseradish Peroxidase
HSP70	70 Kilodalton Heat Shock Proteins
IMHP	Z-Isopropyl-4-Methyl-4-Hydroxypyrimidine
LH	Luteinizing Hormone
MDA	Malondialdehyde
NO	Nitric Oxide

چکیده

بررسی تاثیر عصاره هیدروآلکلی گیاه مخلصه (*Scrophularia Striata*) بر پارامترهای

تخمدانی در موش صحرایی ماده مواجهه با دیازینون

سابقه و هدف: بسیاری از گیاهان دارویی بومی ایران دارای خواص دارویی از جمله خواص آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی، ضد میکروبی و ضد سرطانی می باشند. گیاه مخلصه سال هاست که به صورت سنتی در درمان بیماری های مختلف استفاده می شود، با این وجود مطالعات زیادی روی آن بر روی تولید مثل صورت نگرفته است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات احتمالی محافظت از تغییرات هورمونی و تخمدانی گیاه مخلصه و در مقایسه با اثرات اثبات شده ویتامین E در موش های صحرایی ماده دریافت کننده سم دیازینون انجام گردید.

مواد و روش ها: ۴۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار بالغ ۲ ماهه بعد از تطابق و دوره معکوس سیکل شبانه (۱۲ ساعته)، با وزن تقریبی ۱۸۰-۲۰۰ گرم در ۶ گروه بطور تصادفی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد، به گروه شام حلال دی متیل سولفوکساید (۰.۱٪) تزریق گردید، گروه سوم دیازینون با دوز ۳۰mg/kg/day، گروه چهارم گیاه مخلصه با دوز ۲۰۰mg/kg/day، گروه پنجم دیازینون با دوز ۳۰mg/kg/day به همراه گیاه مخلصه ۲۰۰mg/kg/day و به گروه ششم دیازینون ۳۰mg/kg/day به همراه ویتامین E ۲۰۰mg/kg/day به شکل داخل صفاقی تزریق شدند. طول دوره تزریق ها برای همه گروه ها برطبق سیکل استروس رت ماده به مدت ۱۴ روز بود.

یافته ها: تزریق دیازینون به موش های صحرایی ماده در طول ۱۴ روز سبب کاهش وزن رت ها نسبت به گروه کنترل گردید اما از نظر آماری معنادار نبود این در حالی است که عصاره مخلصه و ویتامین E هر دو باعث افزایش وزن شده اند که تنها در گروه ویتامین E این افزایش معنادار است. همچنین دیازینون با افزایش رادیکال های آزاد و استرس اکسیداتیو سبب دژنراسیون سلولی شده که به کاهش وزن تخمدان، افزایش فولیکول های آترتیک، کاهش تعداد فولیکول ها و اندازه جسم زرد و مهار متابولیسم هورمون های

استروئیدی به صورت معنی دار شد که در مقابل عصاره مخلصه همانند ویتامین E به شکل معنی داری این تغییرات را به حد نرمال رساند، ولی این تغییرات در تعداد فولیکول های گراف معنادار نبود، در مقابل اثر محافظتی ویتامین E نسبت به تغییرات فولیکول گراف در برابر دیازینون بصورت معنی دار بود. دیازینون و همچنین عصاره مخلصه مانند ویتامین E بر روی گنادوتروپین ها اثرات قابل توجهی نداشتند.

نتیجه گیری: یافته های این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی مخلصه مانند ویتامین E می تواند از تغییرات بافت تخمدان و هورمون های جنسی در مقابل آپوپتوز سلولی، التهابات و رادیکال های آزاد تولید شده در نتیجه متابولیسم دیازینون محافظت کند.

کلید واژه: مخلصه - دیازینون - FSH-LH - استروژن - پروژسترون - تخمدان