

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل
دانشکده داروسازی
پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی

بررسی فعالیت پاراکسوناز سرم در ارتباط با کولین استراز در بیماران مبتلا به سندروم تخمدان
پلی کیستیک

اساتید راهنما:
دکتر سارا مصطفی لو
دکتر شروین تبریزیان

اساتید مشاور:
دکتر فیروز امانی
دکتر پرهام محمدی
دکتر سمیه زینی زاده

نگارش:
سونیا یونسی

سال تحصیلی: ۱۳۹۹
شماره پایان نامه: د-۵۱-۹۹/۰۶

تقدیم به:

پدر و مادر عزیز و برادر مهربانم که همواره دلسوزانه و صبورانه در راه تحصیل علم، از کودکی تا به امروز، نهایت همراهی را با فرزند خود مبذول داشتند و هیچ اتفاقی جز موفقیت نمی تواند در برابر حمایت های بی دریغ ایشان قد علم نماید و تا ابد نیازمند دعای خیرشان خواهم بود.

همسر صبورم، شریک خوشی ها و ناخوشی ها و خانواده محترم ایشان که با بردباری های خود، اینجانب را در به سرانجام رسانیدن وظیفه علمی خود همراهی نمودند.

از اساتید راهنمای ارجمند، سرکار خانم دکتر مصطفی لو و سرکار خانم دکتر تبریزیان که راهنمایی‌هایشان کمک شایانی در انجام وظیفه اینجانب محسوب می‌شوند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از سرکار خانم دکتر زینی زاده و آقای دکتر امانی به جهت مشاوره‌ها و یاری‌رسانی‌هایشان در امر پژوهش، سپاس فراوان می‌نمایم.

مقدمه: سندروم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) یکی از رایج ترین اختلالات اندوکرینی در زنان در سنین باروری می باشد. بیماری زایی PCOS پیچیده و هنوز نامشخص است. مقاومت انسولینی هم که از عوامل مرتبط با سندروم متابولیک می باشد در بیماران مبتلا به PCOS نسبت به جمعیت عمومی شیوع بیشتری دارد. در بیشتر مطالعات اخیر، نشان داده شده است که PCOS تنها یک اختلال اندوکرینی و تولید مثلی نیست، بلکه یک اختلال متابولیکی مرتبط با ریسک فاکتورهای فراوان قلبی-عروقی مانند مقاومت انسولینی، دیابت، اختلال پروفایل لیپیدی و افزایش فشارخون می باشد. این سندروم با پیامدهای متفاوت بالینی شامل عوارض تولیدمثلی، متابولیکی، روانی و بعضی سرطان ها همراه است. آنزیم پاراکسوناز ۱ (PON1) یک آنزیم آنتی اکسیدان است که طی مطالعات انجام شده، کاهش فعالیت آنزیم PON1 سرمی ممکن است به افزایش استعداد ابتلا به مقاومت انسولینی و بیماری قلبی آترواسکلروتیک (AHD) در خانم های مبتلا به PCOS کمک کند. آنزیم های بوتیریل کولین استراز (BuChE) و پاراکسوناز ۱ (PON1)، آنزیم های پاک کننده زیستی در سرم هستند و فعالیت های ضد التهابی و آنتی اکسیدانی از خود نشان می دهند. آنزیم PON1 در ارتباط با بیماری هایی است که توسط استرس اکسیداتیو بالا ایجاد می شوند و آنزیم BuChE در پاتوفیزیولوژی سندروم متابولیک و اختلالات مرتبط با آن دخیل است.

هدف: هدف از انجام این پژوهش، پاسخ به این سوال است که آیا فعالیت آنزیم PON1 در زنان مبتلا به PCOS بیشتر از گروه شاهد می باشد یا خیر و آیا بین فعالیت آنزیم های BuChE و PON1 در بیماری PCOS، ارتباط معناداری وجود دارد یا خیر و همچنین این که می توان ارتباط این دو آنزیم را وابسته به مقاومت انسولینی دانست یا خیر.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۵۶ نفر از زنانی که طبق معیار روتردام ۲۰۰۳ مبتلا به PCOS تشخیص داده شدند به عنوان گروه مورد و ۶۲ نفر از افراد سالم به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. پارامترهایی همچون وضعیت قاعدگی، گلوکز پلازما ناشتا (FPG)، انسولین سرمی ناشتا (FIns)، شاخص توده بدنی (BMI)، مدل ارزیابی هوموستازی مقاومت به انسولین (HOMA-IR) و فعالیت آریل استرازی آنزیم PON1 (با استفاده از روش Beltowski) اندازه گیری شدند.

یافته ها: نتایج به دست آمده از آنالیز داده ها نشان دادند که پارامترهای بی نظمی قاعدگی ($P=0.001$)، غلظت انسولین ناشتا ($P=0.008$)، مقاومت به انسولین ($P=0.014$) به طور معناداری در گروه مورد بیشتر اما فعالیت آنزیم PON1 ($P=0.006$) در گروه مورد کمتر از گروه شاهد شده اند. در زنان دارای مقاومت به انسولین، میان دو گروه مورد و شاهد از لحاظ فعالیت آنزیم PON1 ($P=0.056$) تفاوت معنی داری به دست نیامد. همچنین میان فعالیت آنزیم های BuChE و PON1 در گروه مورد ($P=0.07$)، ارتباط معناداری یافت نشد.

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهند که کاهش فعالیت آنزیم PON1 در بیماری زایی PCOS نقش داشته و آنزیم PON1 با مقاومت انسولینی نیز مستقل از PCOS می تواند ارتباط داشته باشد. به احتمال زیاد مقاومت به انسولین منجر به اختلال در سطوح گونادوتروپین ها و اختلال در تخمدان و اختلال در نظم قاعدگی شده و فعالیت آنزیم PON1 را تحت تأثیر قرار می دهد. اما تعیین ارتباط بین آنزیم های BuChE و PON1 در بیماری PCOS نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

واژه های کلیدی: سندروم تخمدان پلی کیستیک، آنزیم پاراکسوناز ۱، آنزیم کولین استراز سرم، مقاومت به انسولین

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱- تخمدان :
۲	۱-۱-۱- آناتومی و ساختار تخمدان :
۳	۱-۱-۲- فیزیولوژی و عملکرد تخمدان :
۵	۱-۱-۳- بیماری ها و اختلالات مربوط به تخمدان :
۵	۱-۲- سندروم تخمدان پلی کیستیک (PCOS):
۵	۱-۲-۱- تاریخچه کشف سندروم تخمدان پلی کیستیک (PCOS):
۷	۱-۲-۲- تفاوت PCOS با PCO:
۷	۱-۲-۳- علت شناسی و بیماری زایی:
۸	۱-۲-۴- مکانیسم های مربوط به بیماری زایی سندروم تخمدان پلی کیستیک
۹	۱-۴-۲-۱- اختلال در آزادسازی گونادوتروپین و افزایش آزادسازی آندروژن ها:
۹	۱-۴-۲-۲- اختلال در عملکرد تخمدان:
۱۰	۱-۴-۲-۳- مقاومت به انسولین (IR):
۱۱	۱-۴-۲-۴- التهاب:
۱۲	۱-۲-۵- شیوع سندروم تخمدان پلی کیستیک:
۱۳	۱-۲-۶- فنوتیپ های مربوط به سندروم تخمدان پلی کیستیک:
۱۳	۱-۲-۷- سیر تحول معیارهای تشخیصی:
۱۴	۱-۲-۸- تظاهرات بالینی:
۱۵	۱-۲-۸-۱- اختلال در تخمک گذاری:
۱۵	۱-۲-۸-۲- آکنه:
۱۵	۱-۲-۸-۳- آلوپسی:
۱۵	۱-۲-۸-۴- پرمویی:
۱۶	۱-۲-۸-۵- آکانتوزیس نیگریکانس:
۱۶	۱-۲-۸-۶- هایپراندرژنیسمی:
۱۶	۱-۲-۸-۷- چاقی:
۱۶	۱-۲-۹- ویژگی تخمدان ها با مورفولوژی پلی کیستیک:
۱۶	۱-۲-۹-۱- افزایش فولیکول های تخمدانی:
۱۷	۱-۲-۹-۲- اندازه تخمدان در مورفولوژی پلی کیستیک:
۱۸	۱-۲-۱۰- مدیریت و درمان:

- ۱۸-۲-۱-۱۰-۱-مدیریت ناباروری ناشی از عدم تخمک گذاری: ۱۸
- ۱۸-۲-۱-۱۰-۱-کلومیفن: ۱۸
- ۱۹-۲-۱-۱۰-۲-متفورمین: ۱۹
- ۱۹-۲-۱-۱۰-۳-مهار کننده‌های آروماتاز: ۱۹
- ۱۹-۲-۱-۱۰-۴-گوناوتروپین ها: ۱۹
- ۲۰-۲-۱-۱۰-۵-جراحی‌های تخمدان: ۲۰
- ۲۰-۲-۱-۱۰-۲-کنترل اختلال در نظم قاعدگی: ۲۰
- ۲۰-۲-۱-۱۰-۳-کنترل علائم هایپرآندروژنیسمی: ۲۰
- ۲۱-۲-۱-۱۰-۴-کنترل خطرات قلبی عروقی و متابولیکی: ۲۱
- ۲۱-۲-۱-۱۰-۵-کنترل اختلال پروفایل لیپیدی: ۲۱
- ۲۲-۲-۱-۱۰-۶-کنترل فشار خون: ۲۲
- ۲۲-۲-۱-۱۱-پیامدها و مشکلات ثانویه مرتبط با سندروم تخمدان پلی کیستیک: ۲۲
- ۲۳-۲-۱-۱۱-۱-مشکل قلبی-عروقی: ۲۳
- ۲۳-۲-۱-۱۱-۲-عدم تحمل به گلوکز: ۲۳
- ۲۴-۳-۱-مقاومت انسولینی: ۲۴
- ۲۵-۳-۱-۱-روش‌های ارزیابی مقاومت انسولینی: ۲۵
- ۲۶-۳-۱-۱-۱-مارکرهای شناسایی مقاومت انسولینی: ۲۶
- ۲۷-۳-۱-۲-روابط مقاومت انسولینی ۲۷
- ۲۸-۳-۱-۳-۱-مارکرهای جدید و در حال توسعه برای ارزیابی مقاومت انسولینی: ۲۸
- ۲۹-۴-۱-سندروم متابولیک ۲۹
- ۲۹-۴-۱-۱-معیارهای تشخیص سندروم متابولیک ۲۹
- ۳۰-۴-۱-۲-شیوع سندروم متابولیک ۳۰
- ۳۰-۴-۱-۳-بیماری زایی سندروم متابولیک ۳۰
- ۳۱-۵-۱-استرس اکسیداتیو: ۳۱
- ۳۱-۵-۱-۱-تعریف ۳۱
- ۳۲-۵-۱-۲-مکانیسم‌های محافظتی در استرس اکسیداتیو ۳۲
- ۳۲-۵-۱-۳-منابع ROS ۳۲
- ۳۳-۵-۱-۴-نقش استرس اکسیداتیو در بیماری زایی PCOS ۳۳
- ۳۳-۵-۱-۴-۱-اثرات متنوع گونه‌های فعال اکسیژن بر عملکرد سلول: ۳۳
- ۳۳-۵-۱-۴-۱-۱-فعال کردن فاکتورهای رونویسی حساس به اکسایش - کاهش: ۳۳
- ۳۴-۵-۱-۴-۱-۲-باز کردن کانال‌های یونی: ۳۴
- ۳۴-۵-۱-۴-۱-۳-اکسیداسیون پروتئین: ۳۴

- ۳۴ ۱-۴-۵-۴-پراکسیداسیون لیپیدها:
- ۳۵ ۱-۴-۵-۵-اکسیداسیون DNA:
- ۳۵ ۱-۵-۵-۵-ارتباط استرس اکسیداتیو با سایر عوامل
- ۳۶ ۱-۵-۵-۱-استرس اکسیداتیو، چاقی و PCOS:
- ۳۷ ۱-۵-۵-۲-استرس اکسیداتیو، مقاومت انسولینی و PCOS:
- ۳۸ ۱-۵-۵-۳-استرس اکسیداتیو، هایپر آندروژنیسمی و PCOS:
- ۳۸ ۱-۵-۵-۴-استرس اکسیداتیو ، سرطان و PCOS :
- ۳۹ ۱-۶-۱-آنزیم پاراکسوناز (PON)
- ۳۹ ۱-۶-۱-معرفی آنزیم پاراکسوناز
- ۳۹ ۱-۶-۲-آنزیم پاراکسوناز ۱
- ۳۹ ۱-۶-۲-۱-ساختار و عملکرد پاراکسوناز
- ۴۰ ۱-۶-۲-۲-اهمیت HDL در ترشح، پایداری و فعالیت PON1:
- ۴۰ ۱-۶-۲-۳-فاکتورهای غیر ژنتیکی مؤثر بر فعالیت PON1:
- ۴۱ ۱-۶-۲-۴-پلی مورفیسمها در کد کردن ناحیه ژن PON1:
- ۴۲ ۱-۶-۲-۵-ارتباط آنزیم PON1 با دیابت نوع دو:
- ۴۲ ۱-۶-۲-۶-ارتباط بالینی
- ۴۲ ۱-۶-۲-۷-آنزیم پاراکسوناز ۱ در اختلالات نورولوژیکی:
- ۴۳ ۱-۶-۲-۸-پایداری طولانی مدت آنزیم PON1 در سرم انسانی:
- ۴۴ ۱-۶-۲-۹-اندازه گیری PON1 در سرم:
- ۴۵ ۱-۶-۲-۹-۱-شناسایی سوپستراها:
- ۴۵ ۱-۶-۲-۹-۱-سمیت:
- ۴۵ ۱-۶-۲-۹-۲-تاثیر پلی مورفیسم:
- ۴۵ ۱-۶-۲-۹-۲-جنبه‌های تکنیکی روش‌ها:
- ۴۵ ۱-۶-۲-۹-۲-واکنش دهنده‌ها و شرایط واکنش:
- ۴۶ ۱-۶-۲-۹-۲-۲-غلظت سوپسترا:
- ۴۶ ۱-۶-۲-۹-۲-۳-دما:
- ۴۶ ۱-۶-۲-۹-۲-۴-تداخل با سایر استرازاها:
- ۴۷ ۱-۶-۲-۹-۳-توصیه‌های عمومی در ارتباط با ارزیابی‌های فعالیت PON1:
- ۴۷ ۱-۷-۱-آنزیم کولین استراز:
- ۴۷ ۱-۷-۱-معرفی آنزیم:
- ۴۸ ۱-۷-۲-نقش AChE و BuChE در بیماریهای آلزایمر و دیابت نوع دو:
- ۴۹ ۱-۷-۳-مطالعات در زمینه نقش AChE و BuChE در بیماری زای دیابت نوع دو

۴۹	۸-۱-بیان مسئله و ضرورت انجام تحقیق:
۵۱	۹-۱-بررسی متون:
۵۲	۱۰-۱-اهداف پژوهش
۵۲	۱-۱۰-۱-هدف کلی
۵۲	۲-۱۰-۱-اهداف اختصاصی
۵۳	۳-۱۰-۱-هدف کاربردی
۵۳	۱۱-۱-سوالات پژوهش
۵۵	۱۲-۱-مشخصات دموگرافیک
۵۶	فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها
۵۷	۱-۲-جامعه آماری
۵۷	۲-۲-روش جمع آوری نمونه‌ها
۵۸	۱-۲-۲-معاینات بالینی
۵۸	۲-۲-۲-سونوگرافی
۵۸	۳-۲-ملاحظات اخلاقی در جمع آوری نمونه‌ها
۵۸	۴-۲-تست‌های بیوشیمیایی
۵۸	۱-۴-۲-مواد مورد نیاز
۵۹	۲-۴-۲-دستگاه‌ها و وسایل مورد نیاز
۶۰	۳-۴-۲-سنجش غلظت گلوکز خون ناشتا
۶۰	۴-۴-۲-سنجش غلظت انسولین خون ناشتا
۶۱	۵-۴-۲-سنجش فعالیت آریل استراز آنزیم پاراکسوناز ۱
۶۱	۱-۵-۴-۲-روش سنجش فعالیت آنزیم
۶۱	۲-۵-۴-۲-سنجش فعالیت آریل استراز آنزیم پاراکسوناز ۱
۶۲	۶-۴-۲-سنجش فعالیت آنزیم بوتیریل کولین استراز
۶۲	۱-۶-۴-۲-روش مورد استفاده برای سنجش فعالیت آنزیم بوتیریل کولین استراز
۶۲	۲-۶-۴-۲-تهیه سوپسترا
۶۲	۳-۶-۴-۲-تهیه بافر فسفات
۶۲	۴-۶-۴-۲-تهیه معرف رنگی
۶۳	۵-۶-۴-۲-سنجش فعالیت آنزیم بوتیریل کولین استراز
۶۳	۵-۲-روش تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی آماری
۶۴	فصل سوم: نتایج
۶۵	۱-۳-توزیع فراوانی شغل در نمونه‌های مورد مطالعه در دو گروه
۶۵	۲-۳-توزیع فراوانی وضعیت تاهل در نمونه‌های مورد مطالعه در دو گروه

۳-۳-توزیع فراوانی پاریده در بین زنان مورد مطالعه در دو گروه	۶۶
۳-۴-توزیع فراوانی وضعیت قاعدگی در بین زنان دوگروه مورد مطالعه	۶۷
۳-۵-توزیع فراوانی وضعیت BMI در بین زنان دوگروه مورد مطالعه	۶۷
۳-۶-توزیع فراوانی مقاومت به انسولین در زنان دوگروه مورد مطالعه	۶۸
۳-۷-شاخص‌های آماری متغیرهای کمی اندازه گیری شده بین دوگروه مورد مطالعه	۶۹
۳-۸-شاخص‌های آماری مطالعه‌های کمی مورد مطالعه در زنان دوگروه مورد مطالعه	۷۰
۳-۹-مقایسه شاخص‌های آماری متغیرهای اندازه گیری شده در زنان دارای قاعدگی منظم	۷۱
۳-۱۰-مقایسه شاخص‌های آماری متغیرهای اندازه گیری شده در زنان دارای قاعدگی نامنظم	۷۲
۳-۱۱-مقایسه شاخص‌های آماری متغیرهای اندازه گیری شده در زنان دارای مقاومت به انسولین (محدوده شاخص مقاومت انسولینی بالای ۱/۹)	۷۳
۳-۱۲-مقایسه شاخص‌های آماری متغیرهای اندازه گیری شده در زنانی که مقاومت به انسولین ندارند (محدوده شاخص مقاومت انسولینی زیر ۱/۹)	۷۴
۳-۱۳-همبستگی بین متغیرهای کمی در زنان دارای PCOS	۷۵
۳-۱۴-همبستگی بین متغیرهای کمی در زنان گروه شاهد	۷۶
فصل چهارم: نتیجه گیری و پیشنهادات	۷۷
۴-۱-بحث و نتیجه گیری:	۷۸
۴-۲-پیشنهادات:	۸۶
۴-۳-محدودیت‌های مطالعه:	۸۶
پیوست:	۹۳

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۵۵	جدول ۱-۱- مشخصات دموگرافیک نمونه ها
۵۹	جدول ۲-۲: دستگاهها و وسایل مورد نیاز
۶۵	جدول ۳-۱: توزیع فراوانی شغل در نمونه‌های مورد مطالعه در دو گروه
۶۵	جدول ۳-۲: توزیع فراوانی وضعیت تاهل در نمونه‌های مورد مطالعه در دو گروه
۶۶	جدول ۳-۳: توزیع فراوانی پاریته در بین زنان مورد مطالعه در دو گروه
۶۷	جدول ۳-۴: توزیع فراوانی وضعیت قاعدگی در بین زنان دوگروه مورد مطالعه
۶۷	جدول ۳-۵: توزیع فراوانی وضعیت BMI در بین زنان دوگروه مورد مطالعه
۶۸	جدول ۳-۶: توزیع فراوانی مقاومت به انسولین در زنان دوگروه مورد مطالعه
۶۹	با استفاده از آزمون t مستقل مشخص شد که بین دو گروه از لحاظ سنی، تفاوت معنی دار بوده ولی از لحاظ سایر متغیرها بین دو گروه تفاوت معنی داری وجود نداشت (جدول ۳-۷).
۶۹	جدول ۳-۷: شاخص‌های آماری متغیرهای کمی اندازه گیری شده بین دو گروه مورد مطالعه
۷۰	جدول ۳-۸: شاخص‌های آماری مطالعه‌های کمی مورد مطالعه در زنان دوگروه مورد مطالعه
۷۲	جدول ۳-۱۰: مقایسه شاخص‌های آماری متغیرهای اندازه گیری شده در زنان دارای قاعدگی نامنظم
۷۵	جدول ۳-۱۳: همبستگی بین متغیرهای کمی در زنان دارای PCOS
۷۶	جدول ۳-۱۴: همبستگی بین متغیرهای کمی در زنان گروه شاهد

فهرست اشکال

صفحه	عنوان
۲	شکل ۱-۱-اندام های تولید مثلی زنان در حفره لگن (۱).....
۳	شکل ۱-۲-مراحل توسعه فولیکول تخمدانی (۱).....
۴	شکل ۱-۳-هورمون های تولید مثلی زنان و بافت های هدف آن ها (۱).....
۱۱	شکل ۱-۴-پاتوفیزیولوژی سندروم تخمدان پلی کیستیک (۸).....

فهرست علائم، نشانه‌ها و اختصارات

AChE: Acetylcholinesterase
AES: Androgen Excess Society
AHD: Atherosclerotic Heart Disease
AMH: Anti Mullerian Hormone
ATP: Adenosine Triphosphate
BMI: Body Mass Index
BuChE: Butyrylcholinesterase
CRP: C-Reactive Protein
DHEA: DeHydroEpiAndrosterone
DTNB: 5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoic Acid)
OCPs: Oral Contraceptives
ECL: Electrochemiluminescence
EDTA: EthylenDiamineTetraAcetic acid
FBS: Fasting Blood Sugar
FIns: Fasting Insulin
FIRI: Fasting Insulin Resistance Index
FPG: Fasting Plasma Glucose
FSH: Follicle Stimulating Hormone
GnRH: Gonadotropin-Releasing Hormone
GPX: Glutathion Peroxidase
HDL-C: High-Density Lipoprotein Cholesterol
HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment-Insulin Resistance
IDF: International Diabetes Federation
IGF-1: insulin-like growth factor 1
IGI: Insulin Glucose Index
IR: Insulin Resistance
ISI: Insulin Sensitivity Index
IVF: In Vitro Fertilization
JIS: Joint Interim Statement
LDL-C: Low-Density Lipoprotein Cholesterol
LH: Luteinizing Hormone
MDA: MalonDeAldehyd
NCEP ATPIII: National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel
NIH: National Institutes of Health
NO: Nitric Oxide
OGTT: Oral Glucose Tolerance Test
OS: Oxidative Stress
PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor-1
PCO: Polycystic Ovarian
PCOS: Polycystic Ovarian Syndrome
PON1: Paraoxonase 1
QUICKI: Quantitative Insulin Sensitivity Check Index
RNS: Reactive Nitrogen Species

ROC: Receiver Operating Characteristic curve
ROS: Reactive Oxygen Species
SHBG: Sex Hormone Binding Globulin
SOD: Super Oxide Dismutase
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences
TAC: Total Antioxidant Capacity
TBBL: TiroButylButyroLactone
TNF: Tumor Necrosis Factor
VLDL: Very Low Density Lipoprotein
WC: Waist Circumference
WHO: World Health Organization