



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجهٔ دکترای حرفه ای رشته پزشکی
عنوان:

اثر کلسیتریول بر بیان miR-21 در آسیب کلیه ناشی از ایسکمی

رپرفیوژن در موش های صحرایی نر

نگارش:

زهرا آذین

استاد راهنما:

دکتر محمد قاسم گل محمدی

دکتر شکوفه بنائی

بهمن ماه ۱۴۰۰

شماره پایان نامه: پ/پ/۳۷-۰

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



گواهی اصالت پایان نامه

اینجانب زهرا آذین دانشجوی مقطع دکتری رشته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تایید می‌نمایم که :

- این پایان نامه بر اساس نتایج بررسیها/ تحقیقات انجام یافته توسط اینجانب تحت راهنمای خانم دکتر شکوفه بنائی بوده و بوسیله **خودم** انشا گردیده است و در صورت استفاده از نتایج پژوهش ها و یا آثار دیگران بلافاصله به مرجع مورد استفاده استناد شده است و در قسمت منابع و مآخذ مشخصات مرجع به طور کامل ذکر گردیده است.

- مسئولیت صحت مطالب مندرج در این پایان‌نامه به طور کامل با اینجانب است.

- این پایان نامه قبلاً برای دریافت هیچ مدرک تحصیلی (هم سطح، پایین تر یا بالاتر) در سایر دانشگاه ها و موسسات آموزش عالی ارائه نشده است.

- کلیه حقوق مادی و معنوی این پایان‌نامه و هر گونه محصول مستخرج از آن اعم از مقالات، چاپ کتاب و ثبت اختراع به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تعلق دارد و هرگونه استفاده از اطلاعات و یا نتایج، واگذاری اطلاعات به افراد دیگر، چاپ، تکثیر، نسخه برداری، ترجمه و اقتباس از این پایان‌نامه بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه علوم پزشکی اردبیل ممنوع است.

- کلیه مقالات مستخرج از این پایان‌نامه تحت نام دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (Ardabil University of Medical sciences) به عنوان وابستگی نویسنده اول یا مسئول و با اطلاع و اجازه تمامی اساتید راهنما و مشاور به چاپ رسیده یا خواهد رسید.

- چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن را می پذیرم و دانشگاه مجاز است با اینجانب مطابق با ضوابط و مقررات رفتار نموده و در صورت برخورد قانونی، هیچ گونه ادعایی نخواهم داشت.

نام و نام خانوادگی دانشجو

امضا و تاریخ

- بدینوسیله **اصال و صحت** نتایج این پایان نامه مورد تأیید اینجانب، دکتر شکوفه بنائی استاد راهنما می باشد.

نام و نام خانوادگی استاد راهنما

امضا و تاریخ

تقدیم

به نام آنکه جان را فکرت آموخت خدای
را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و
مادری فداکار نصیب ساخته تا در سایه ی
درخت پر بار وجودشان بیاسایم و از
ریشه ی آن ها شاخ و برگ گیرم.
والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر
سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم چرا
که این دو موجود مقدس پس از پروردگار
، مایه ی هستی ام بوده اند، دستم را گرفتند و
در این وادی پر از فراز و نشیب زندگی
، چگونه راه رفتن را به من آموختند.

آموزگارانی که برایم زندگی و انسان بودن
را معنا کردند.

حال این برگ سبزی است تحفه ی درویش
تقدیم به آستان آنان...

تشکر و قدردانی

سپاس خدای را که سخنوران، درستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. اکنون که باید آغازی بر یک پایان بنگارم، بر خود لازم می دانم که از اساتید راهنمای محترم جناب آقای دکتر محمد قاسم گل محمدی و سرکار خانم دکتر شکوفه بنائی به خاطر راهنمایی های ارزشمند نهایت تشکر و قدردانی را نمایم.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱.....	زمینه
	فصل اول مقدمه
۴.....	۱-۱- مقدمه و بیان مسئله
۸.....	۱-۲- اهداف
۸.....	۱-۲-۱- هدف کلی مطالعه
۸.....	۱-۲-۱-۲- اهداف اختصاصی
۸.....	۱-۲-۳- فرضیات
۹.....	۱-۳- تعریف واژه ها
	فصل دوم بررسی متون
۱۲.....	۱-۲- مبانی نظری
۱۲.....	۱-۲-۱- آناتومی کلیه
۱۳.....	۱-۲-۲- فیزیولوژی کلیه
۱۴.....	۱-۲-۳- اعمال کلیه
۱۶.....	۱-۲-۴- اعمال متابولیکی کلیه
۱۷.....	۱-۲-۵- پاتوفیزیولوژی و بیماری های کلیوی
۱۷.....	۱-۲-۶- کلیه ایسکمیک
۲۰.....	۱-۲-۷- بررسی عملکرد کلیه
۲۱.....	۱-۲-۸- نارسایی کلیه
۲۲.....	۱-۲-۹- شاخص های کلیوی
۲۳.....	۱-۲-۱۰- کلسیتریول (Vitamin D3)
۲۴.....	۱-۲-۱۱- miRNA-21

فصل سوم مواد و روش کار

۳۳	۱-۳-نوع مطالعه
۳۳	۲-۳-مکان و زمان مطالعه
۳۳	۳-۳-مواد و محلول های مورد استفاده
۳۴	۴-۳-تجهیزات مورد استفاده
۳۵	۵-۳-ملاحظات اخلاقی
۳۵	۶-۳-معیار ورود
۳۵	۷-۳-معیار خروج
۳۶	۸-۳-روش گردآوری اطلاعات
۳۷	۹-۳-گروه بندی حیوانات و روش انجام آزمایش
۳۸	۱۰-۳-خونگیری و انجام آزمایشات بیوشیمیایی
۳۹	۱۱-۳-اندازه گیری فاکتورهای سرمی
۳۹	۱۲-۳-اندازه گیری اوره
۴۰	۱۳-۳-تست PCR کمی real-time
۴۲	۱۴-۳-آنالیز آماری
فصل چهارم نتایج	
۴۵	۱-۴-تاثیر ایسکمی-رپر فیوژن بر فاکتورهای بیوشیمیایی
۴۵	۲-۴-تاثیر کلسیتریول بر آسیب ایسکمی-رپر فیوژن کلیه
فصل پنجم بحث و نتیجه گیری	
۵۲	۱-۵-بحث
۵۸	۲-۵-محدودیت های مطالعه:
۵۹	۳-۵-نتیجه گیری
۶۰	۴-۵-پیشنهادات
۶۳	منابع

فهرست جداول

جدول ۱-۳: توالی آغازگرهای مورد استفاده برای RT-PCR ۴۲

جدول ۴-۱: نشان دهنده تاثیر کلسیتریول بر روی بیان miR-21 و سطح سرمی اوره و کراتینین ۴۹

فهرست اشکال

- شکل ۱-۲: ساختار کلیه..... ۱۴
- شکل ۲-۲: آسیب ناشی از ایسکمی کلیه ۱۹
- شکل ۲-۳: مسیرهای سیگنالینگ ایسکمی - رپرفیوژن که منتهی به مرگ سلولی می شود..... ۲۰
- شکل ۲-۴: نحوه فعال شدن دی هیدروکسی کوله کلسیفرول (ویتامین د) در کلیه..... ۲۴
- شکل ۲-۵: miR-21 در آسیب کلیه ناشی از ایسکمی رپرفیوژن ۲۷
- شکل ۲-۶: شکل شماتیک نشان گر بیان miR-21..... ۲۸
- شکل ۲-۷: نشان گر تنظیم آپوپتوز توسط miR-21..... ۳۰
- شکل ۳-۱: اعمال ایسکمی-رپرفیوژن بر بافت کلیه ۳۷
- شکل ۳-۲: خونگیری از قلب حیوان..... ۳۹
- شکل ۵-۱: مسیر سلولی و مولکولی اثرات ایسکمی -رپرفیوژن..... ۵۳

فهرست نمودارها

- نمودار ۴-۱: سطح کراتینین در گروه کنترل و گروه IR و گروه Vit D3..... ۴۶
- نمودار ۴-۲: بیان نسبی miR-21 در گروه کنترل و گروه IR و گروه Vit D3..... ۴۷
- نمودار ۴-۳: میزان بیان miR-21..... ۴۸

فهرست علائم اختصاری

AKT: Protein kinase B

ATN: Acute tubular necrosis

ATP: Adnosin Triphosphate

BUN: Blood urea nitrogen

Cr: Creatinine

ESRD: End Stage Renal Disease

GFR: Glomerular filtration rate

IR: Ischemia-Reperfusion

MiR-21: MicroRNA-21

RT-qPCR: Reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction

TGF- β : Transforming growth factor beta

TLR: Toll like receptor

اثر کلسیتریول بر بیان *miR-21* در آسیب ایسکمی-رپرفیوژن کلیه در موش های صحرائی نر

زمینه: آسیب ایسکمی-رپرفیوژن کلیه به ایجاد آسیب حاد کلیه کمک می کند. شرایط هیپوکسیک در آسیب ایسکمیک منجر به استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی آپوپتوز می شود.

هدف: تعیین اثر کلسیتریول بر بیان *miR-21* در آسیب ایسکمی-رپرفیوژن کلیه در موش های صحرائی نر

مواد و روش کار: در این مطالعه ۱۸ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار بالغ در ۳ گروه ۶ تایی به طور تصادفی انتخاب شدند. گروه ۱ (کنترل): رت های این گروه فقط نفرکتومی راست شدند. گروه ۲: ایسکمی - رپرفیوژن. گروه ۳: کلسیتریول + ایسکمی - رپرفیوژن (کلسیتریول با دوز 10 mg/kg به صورت داخل صفاقی قبل از ایسکمی تزریق شد. کلسیتریول در اتانول رقیق شد و با نرمال سالین حل شد و غلظت نهایی 10 mg/kg آماده گردید). حیوانات به صورت یک طرفه نفرکتومی راست شده و تحت ۴۵ دقیقه انسداد ساقه پدیکل کلیه چپ قرار گرفتند و ۲۴ ساعت مجدداً رپرفیوژن انجام شد. پس از ۲۴ ساعت نمونه های خون و بافت جهت بررسی پارامترهای بیوشیمیایی و بیان *MicroRNA-21 (miR-21)* جمع آوری شد.

نتایج: ایسکمی کلیه، باعث اختلال عملکرد کلیه شد. ایسکمی-رپرفیوژن به شکل معنی داری اوره و کراتینین را افزایش داد. در حالیکه درمان با کلسیتریول باعث کاهش این پارامترها شده و عملکرد کلیه را بهبود بخشید. افزایش بیان *miR-21* در بافت کلیوی بعد از آسیب ایسکمی-

رپرفیوژن مشاهده گردید. رت های درمان شده با کلسیتریول تغییراتی از نظر miR-21 نسبت به گروه با آسیب ایسکمی -رپرفیوژن نشان ندادند ولی بیان آن نسبت به گروه کنترل به طور قابل توجهی بیشتر بود.

نتیجه گیری: به نظر می رسد که تجویز کلسیتریول می تواند کلیه را در برابر آسیب ایسکمی -رپرفیوژن محافظت کند. احتمالاً این اثرات حفاظتی کلسیتریول در کلیه می تواند به علت اثر آنتی اکسیدانی آن باشد.

کلمات کلیدی

کلسیتریول ، ایسکمی -رپرفیوژن ، کلیه، میکرو آرنای-۲۱