



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتراى حرفه ای رشته پزشکی
عنوان

بررسی اثر کلسیتریول بر بیان **3 caspase** و **HSP 70** در آسیب کلیه ناشی از

ایسکمی /رپرفیوژن در موش صحرایی نر

نگارش:

مهسا ضیغمی

استاد راهنما:

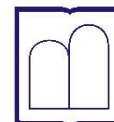
دکتر شکوفه بنائی

دکتر محمد قاسم گل محمدی

مهر ماه ۱۴۰۰

شماره پایان نامه: ۰۳۰

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



گواهی اصالت پایان نامه

اینجانب مهسا ضیغمی 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 سرکار 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 مأخذ 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

ماحصل آموخته هایم را تقدیم می کنم به آنان که مهر
آسمانی شان آرام بخش آلام زمینی ام است

به استوارترین تکیه گاهم ، دستان پرمهر پدرم

به دلگرم ترین نگاه زندگیم ، چشمان پرمحبت مادرم

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه
بکوشم قطره ای از دریای بی کران مهربانیتان را سپاس
توانم بگویم.

امروز هستی ام به امید شماست و فردا کلید باغ بهشتم
رضای شما

ره آوردی گران سنگ تر از این نداشتم تا به خاک پایتان
نثار کنم ، باشد که حاصل تلاشم نسیم گونه غبار
خستگیان را بزداید.

تقدیم می کنم به خواهرانم

همسفران مهربان زندگیم الهام ، مریم و محیا

که باهم آغاز کردیم ، در کنار هم آموختیم و به امید
هم به آینده چشم می دوزیم. قلبم لبریز از عشق به
شماست و خوشبختی تان منتهای آرزویم.

و تقدیم می کنم به برادران عزیزم امین و میلاد و
همچنین خواهرزاده ی زیبایم ملورین جان که
زیباترین حس را در قلبم پروراند.

و در آخر تقدیم می کنم به

آنان که در راه کسب دانش راهنمایم بودند ؛

آنان که نفس خیرشان و دعای روح پرورشان بدرقه
راهم بود.

تشکر و قدردانی

سپاس خدای را که سخنوران ، در ستودن 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 سرکار خانم دکتر شکوفه بنائی و جناب آقای دکتر محمد قاسم گل محمدی به خاطر راهنمایی های ارزشمندشان نهایت تشکر و قدردانی را بنمایم.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده
	فصل اول_مقدمه
۴	۱-۱- مقدمه و بیان مسئله
۱۱	۱-۲- اهداف
۱۱	۱-۲-۱- هدف کلی مطالعه
۱۱	۱-۲-۲- اهداف اختصاصی
۱۱	۱-۲-۳- فرضیات
۱۲	۱-۳- تعریف واژه ها
	فصل دوم_بررسی متون
۱۴	۲-۱- آناتومی کلیه
۱۵	۲-۲- بافت شناسی کلیه
۱۶	۲-۳- اعمال کلیه
۱۸	۲-۴- بررسی عملکرد کلیه
۱۹	۲-۵- شاخص های کلیوی
۲۰	۲-۶- تنظیم آب و الکترولیتها
۲۱	۲-۷- نارسایی حاد کلیه
۲۳	۲-۸- نارسایی مزمن کلیه
۲۶	۲-۹- بیماری سنگ کلیه
۲۸	۲-۱۰- کلیه ایسکمیک
۳۰	۲-۱۱- پروتئین های شوک حرارتی

۳۲	HSP70 - ۲-۱۲
۳۴	کاسپازها - ۲-۱۳
۳۷	هورمون کلسی تریول (1-25 [OH]2-D3) Calcitriol - ۲-۱۴
۴۲	۱-۱۴-۲- متابولیسم کلسیتریول
	فصل سوم- مواد و روش کار
۴۵	۱-۳- نوع مطالعه
۴۵	۲-۳- مکان و زمان مطالعه
۴۵	۳-۳- مواد و محلول های مورد استفاده
۴۶	۴-۳- تجهیزات مورد استفاده
۴۷	۵-۳- ملاحظات اخلاقی
۴۷	۶-۳- معیار ورود
۴۸	۷-۳- معیار خروج
۴۸	۸-۳- روش گردآوری اطلاعات
۴۸	۹-۳- گروه بندی حیوانات و روش انجام آزمایش
۴۹	۱۰-۳- خونگیری و انجام آزمایشات بیوشیمیایی
۵۰	۱۱-۳- اندازه گیری فاکتورهای سرمی
۵۰	۱۲-۳- اندازه گیری اوره
۵۰	۱۳-۳- بررسی میزان بیان کاسپاز ۳ و HSP 70 به روش وسترن بلات
۵۲	۱۴-۳- تهیه غلظت های مختلف BSA برای کشیدن منحنی استاندارد
۵۳	۱۵-۳- مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی اولیه
۵۴	۱۶-۳- مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی ثانویه
۵۴	۱۷-۳- مرحله آشکارسازی
۵۵	۱۸-۳- آنالیز آماری

فصل چهارم نتایج

- ۴-۱- تاثیر ایسکمی - رپرفیوژن ۵۷
- ۴-۲- تاثیر کلسیتریول بر آسیب ایسکمی - رپرفیوژن کلیه ۵۷
- فصل پنجم بحث و نتیجه گیری
- ۵-۱- بحث ۶۶
- ۵-۲- اثر کلسیتریول روی اوره و کراتینین ۷۰
- ۵-۳- اثر کلسیتریول روی میزان بیان کاسپاز ۳ و HSP 70 ۷۱
- ۵-۴- محدودیت ها ۷۴
- ۵-۵- نتیجه گیری ۷۵
- ۵-۶- پیشنهادات ۷۶
- منابع ۷۶

فهرست جداول

جدول ۳-۱: ترکیبات بافر لیزکننده بافت..... ۵۱

جدول ۳-۲: ترکیبات لازم برای ساخت محلول بردفورد..... ۵۲

فهرست نمودارها

- نمودار ۴-۱: سطح اوره ، در مقایسه با گروه کنترل..... ۵۸
- نمودار ۴-۲: سطح کراتینین ، در مقایسه با گروه کنترل و در مقایسه با گروه ایسکمی _ پرفیوژن..... ۵۹
- نمودار ۴-۳: میزان بیان HSP 70 ، در مقایسه با گروه کنترل و در مقایسه با گروه ایسکمی- رپرفیوژن..... ۶۰
- نمودار ۴-۴: میزان بیان کاسپاز ۳ ، در مقایسه با گروه کنترل و در مقایسه با گروه ایسکمی- رپرفیوژن..... ۶۱

فهرست اشکال

- شکل ۱-۲: نقش HSP-70 در آسیب ایسکمی رپرفیوژن..... ۳۴
- شکل ۲-۲: مهار فعالیت کاسپازها در نتیجه مسیر آپوپتوز توسط بیان HSP-70..... ۳۷
- شکل ۲-۳: نحوه ساخت فرم فعال دی هیدروکسی ویتامین د یا کلستریول در کلیه ها..... ۴۳
- شکل ۱-۴: ارزیابی سطح بیان کاسپاز ۳ و HSP-70 به روش وسترن بلات در گروههای مورد مطالعه..... ۶۲

فهرست علائم اختصاری

ATP : Adnosin Triphosphate

HSP 70 : Heat Shock Protein 70

ATN : Acute Tubular Necrosis

IR : Ischemia -Reperfusion

GFR : Glomerular filtration Rate

ADP : Adnosin Diphosphate

ESRD : End Stage Renal Disease

PTH : Parathyroid Hormone

ECF : Extracellular Fluid

ICF : Intracellular Fluid

AVP : Arginine Vasopressin

CBP : Chronic Bacterial Prostatitis

بررسی اثر کلسیتریول بر بیان HSP 70 و کاسپاز ۳ در آسیب ایسکمی -رپرفیوژن کلیه در
موش های صحرائی

چکیده

زمینه: آسیب ایسکمی-رپرفیوژن کلیه در ایجاد نارسائی حاد کلیه دخالت می کند. شرایط هیپوکسی در اثر آسیب ایسکمی منجر به استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی آپوپتوز می شود.

هدف: در این مطالعه ما اثرات کلسیتریول بر بیان HSP 70 و کاسپاز ۳ را در آسیب کلیه ناشی از ایسکمی-رپرفیوژن ارزیابی کردیم.

مواد و روش ها : موش های صحرائی نژاد ویستار به ۳ گروه ۶ تایی شامل : گروه کنترل، گروه ایسکمی-رپرفیوژن، گروه درمان با کلسیتریول تقسیم شدند. حیوانات به صورت یک طرفه نفرکتومی راست شده و تحت ۴۵ دقیقه ایسکمی (انسداد موقتی شریان کلیه چپ) قرار گرفتند و ۲۴ ساعت برقراری خونرسانی مجدد (رپرفیوژن) انجام گرفت. کلسیتریول (10 mg/kg) قبل از القای ایسکمی تجویز شد. پس از ۲۴ ساعت رپرفیوژن، نمونه های کلیه برای بررسی بیان پروتئین شوک حرارتی (HSP 70) و کاسپاز ۳ جمع آوری شدند.

نتایج: یافته ها در این مطالعه نشان داد که آسیب ایسکمی-رپرفیوژن کلیه میزان بیان HSP 70 و کاسپاز ۳ و کراتینین را به طور معنی دار افزایش داد. اما درمان با کلسیتریول سطح اوره و کراتینین و بیان HSP 70 و کاسپاز ۳ را به میزان قابل توجهی کاهش داد.

نتیجه گیری: به نظر می رسد که دریافت کلسیتریول می تواند کلیه را در برابر آسیب ناشی از ایسکمی-رپرفیوژن محافظت کند.

کلمات کلیدی : کاسپاز ۳ ، آسیب ایسکمی-رپرفیوژن کلیه، کلسیتریول، HSP 70