



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی بالینی

عنوان:

تاثیر عصاره الکلی قره‌قاط سوار شده بر سطح نانو ذرات ZnO بر استرس

اکسیداتیو در موش صحرایی نر دیابتیک

نگارش:

سپیده احمدی سقرلو

اساتید راهنما:

دکتر علی نعمتی

دکتر رضا علی پناه مقدم

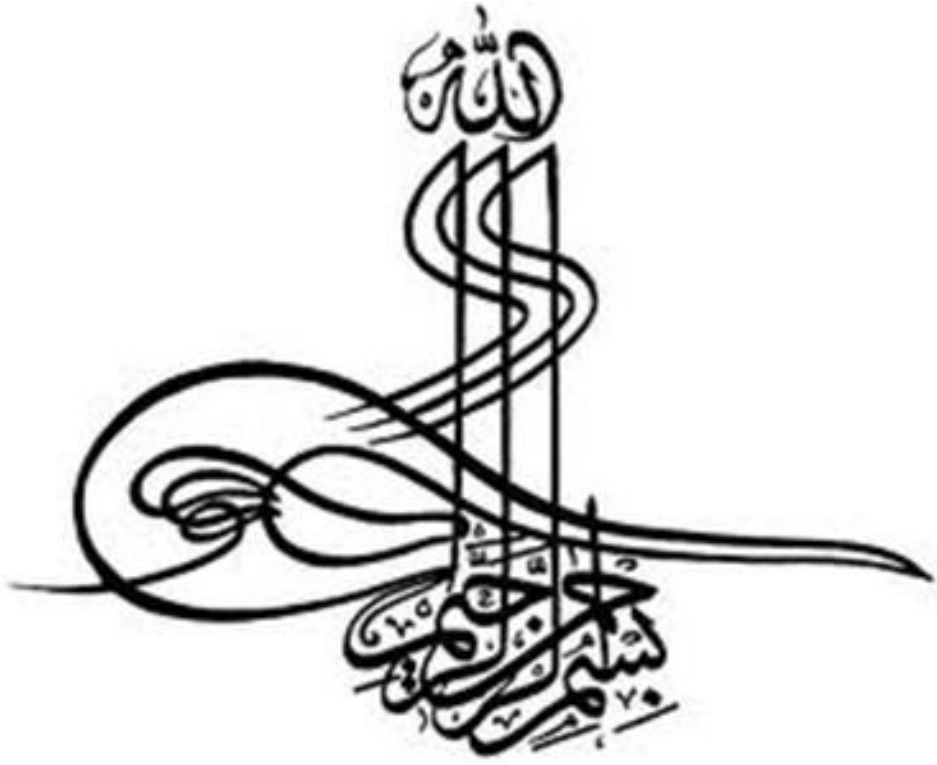
اساتید مشاور:

دکتر ابوالفضل بایرامی

ودود ملک زاده

شهریور ماه ۱۳۹۷

شماره پایان نامه: ۰۴۲



تقدیم می‌کنم به

پدرم؛

کوهی استوار و حامی من در تمام زندگی

مادرم؛

سنگ صبوری که الفبای زندگی به من آموخت

به استادان فرزانه و فرهیخته‌ای که در راه کسب علم و معرفت مرا یاری نمودند.

و به تمام آزاد مردانی که نیک می‌اندیشند و عقل و منطق را پیشه خود نموده و جز پیشرفت و سعادت هدفی ندارند.

تشکر و قدردانی می‌کنم از اساتید ارجمندی که به ثمر نشستن این

رساله مرهون زحمات و آموزه‌های ارزنده ایشان بوده است

از اساتید گرامیم؛ جناب آقای دکتر علی نعمتی و جناب آقای دکتر رضا علی‌پناه مقدم که در کمال سعه صدر و حسن خلق با راهنمایی‌شان راه

گشای این مسیر بودند؛

از جناب آقای دکتر ابولفضل بایرامی و جناب آقای ودود ملک زاده که زحمت مشاوره این رساله را برعهده داشتند؛

و از اساتید عالیقدر جناب آقای دکتر علی عابدی، جناب آقای دکتر پرهام

محمدی و جناب آقای دکتر محمد مازنی؛ که داوری این رساله را تقبل

فرمودند. تشکر می‌کنم

و از جناب آقای فیروز نوری ، چرا که بدون کمک‌های ایشان، تامین
این رساله بسیار مشکل می‌نمود.
و از خانم شادی پروین رو که علاوه بر کمک‌ها و همکاری‌هایشان در
انجام این رساله؛ دوستی ناب و بی‌همتا بودند .

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده:.....
۵	۱-۱ مقدمه:.....
۹	۱-۲ اهداف:.....
۹	۱-۲-۱ هدف کلی:.....
۹	۱-۲-۲ اهداف اختصاصی:.....
۱۱	۱-۲-۳ اهداف کاربردی:.....
۱۱	۳-۱ فرضیات:.....
۱۴	۴-۱ متغیرها.....
	متغیر های این پژوهش عبارت از: مارکر های بیوشیمیایی ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC)، مالون دی آلدئید (MDA)، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و فعالیت آنزیم پاراکسوناز و همینطور میزان بیان ژن آنزیم پاراکسوناز ۱ در کبد می باشند.....
۱۴	۵-۱ تعریف واژه ها.....
۱۷	۲-۱ مقدمه:.....
۲۱	۲-۲ اهداف:.....
۲۱	۲-۲-۱ هدف کلی:.....
۲۱	۲-۲-۲ اهداف اختصاصی:.....
۲۳	۲-۲-۳ اهداف کاربردی:.....

۲۳	۲-۲-۴ فرضیات:
۲۸	۳-۱ نوع مطالعه:
۲۸	۳-۲ ملاحظات اخلاقی:
۲۸	۳-۳ زمان و مکان انجام مطالعه:
۲۸	۳-۴ جمعیت مورد مطالعه:
۲۸	۳-۵ محاسبه حجم نمونه
۳۴	۳-۶ روش تهیه عصاره گیاه قره قاط:
۳۵	۳-۷ سنتز زیستی نانوذره ZNO به کمک عصاره گیاه <i>VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS</i> :
۳۷	۳-۸ سنتز نانوذره ZNO به روش شیمیایی:
۳۷	۳-۹ موش صحرایی به عنوان مدلی برای مطالعه بیماری‌های انسان:
۳۷	۳-۱۰ تهیه حیوانات آزمایشگاهی:
۳۸	۳-۱۱ مطالعه پیلوت و نحوه ایجاد مدل دیابت:
۳۸	۳-۱۲ نحوه گروه‌بندی:
۴۰	۳-۱۳ آماده کردن حیوانات برای خونگیری:
۴۱	۳-۱۴ خونگیری از دم:
۴۱	۳-۱۵ جداسازی سرم:
۴۱	۳-۱۶ بررسی ویژگی‌های ساختاری و خواص نانوذره اکسید روی سنتز شده به روش زیستی:
۴۲	۳-۱۷ بررسی بیان ژن پاراکسوناز ۱ با استفاده از تکنیک REAL TIME:
۴۴	۳-۱۸ تعیین غلظت RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری نانودراپ: ...
۴۴	۳-۱۹ الکتروفورز RNA بر روی ژل آگاروز:
۴۴	۳-۲۰ تیمار RNA با آنزیم DNASE I:
۴۷	۳-۲۱ واکنش RT-PCR برای ژن PON1:

۴۸ الکتروفورز محصول RT-PCR بر روی ژل آگارز:
۴۹ ۳-۲۳ ژن‌های مورد استفاده در این مطالعه:
۴۹ ۳-۲۳-۱ توالی ژن‌های مورد استفاده در این مطالعه:
۵۰ ۳-۲۴ آماده سازی پرایمرها:
۵۱ ۳-۲۵ پروتکل واکنش REAL TIME
۵۳ ۳-۲۶ آزمون‌های بیوشیمیایی سرم:
۵۳ ۳-۲۷ اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدان (TAC):
۵۴ ۳-۲۸ اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD):
۵۵ ۳-۲۹ اندازه گیری فعالیت آنزیم پاراکسوناز توتال (PON):
۵۷ ۳-۳۰ اندازه گیری مالون‌دی‌آلدهید (MDA):
۵۸ ۳-۳۱ تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات:
۶۰ ۴-۱ مقدمه
۶۴ ۴-۲. نتایج بررسی‌های مولکولی REAL TIME:
۶۴ ۴-۲-۱. نتایج بررسی بیان ژن پاراکسوناز ۱
۶۶ ۴-۳ نتایج بررسی‌های بیوشیمیایی
 ۴-۳-۱ بررسی تاثیر عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر سطوح سرمی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز
۶۶ ۴-۳-۲ بررسی تاثیر عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر سطوح سرمی آنزیم پاراکسوناز
۶۷ ۴-۳-۳ بررسی تاثیر عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر سطوح سرمی مالون‌دی‌آلدهید
۶۹ مالون‌دی‌آلدهید

- ۴-۳-۴. نتایج تاثیر عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر سطوح سرمی ظرفیت کل آنتی اکسیدان ۷۰
- ۴-۳-۵. نتایج تاثیر عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر فاکتورهای بیوشیمیائی سرم در گروه کنترل ۷۱
- ۴-۳-۶ نتایج تاثیر عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر فاکتورهای بیوشیمیائی سرم در گروه عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذره اکسید روی ۷۲
- ۴-۳-۷. نتایج تاثیر عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر فاکتورهای بیوشیمیائی سرم در گروه نانو ذره اکسید روی ۷۴
- ۴-۳-۸. نتایج تاثیر عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر فاکتورهای بیوشیمیائی سرم در گروه انسولین ۷۵
- ۴-۳-۹. نتایج تاثیر عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر فاکتورهای بیوشیمیائی سرم در گروه عصاره الکلی قره قاط ۷۶
- ۴-۳-۱۰ نتایج تاثیر عصاره قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر فاکتورهای بیوشیمیائی سرم در گروه کنترل دیابتیک ۷۷
- ۱-۵ تعیین تاثیر عصاره الکلی قره قاط سوار شده بر نانو ذرات روی بر بیان ژن پاراکسوناز ۱ در موش صحرائی نر ویستار دیابتیک ۸۰
- ۲-۵ تعیین تاثیر تاثیر عصاره الکلی قره قاط سوار شده بر سطح نانوذرات ZNO بر فاکتورهای بیوشیمیائی مانند MDA، PON، TAC و SOD سرم نسبت در موش صحرائی نر دیابتیک ۸۱
- ۳-۵ محدودیت مطالعه: ۹۱
- ۴-۵ نتیجه گیری: ۹۲
- ۵-۵ پیشنهادات: ۹۳

فهرست اختصارات:

DNA	Deoxyribonucleic acid
ROS	Reactive oxygen species
TAC	Total antioxidant
MDA	Malondialdehyde
LDL	Low-density lipoprotein
HDL	High-density lipoprotein
RNA	Ribonucleic acid
LHP	Lipid hydro peroxidation
RNS	Reactive nitrogen species
ALR	Alloxan induced diabetic rats
SGOT	Serum glutamic-oxaloacetic transaminase
SGPT	Serum glutamic-pyruvic transaminase
PBS	Phosphate buffered saline
TBE	Tris/Borate/EDTA
SOD	Superoxide dismutase
PON	Paraoxonase

تأثیر عصاره الکلی قره قاط سوار شده بر سطح نانوذرات ZnO بر استرس اکسیداتیو در موش

صحرایی نر دیابتیک

چکیده:

زمینه: استرس اکسیداتیو، که از عدم تعادل بین محتوای آنتی اکسیدانی و رادیکال‌های آزاد در بدن ایجاد می‌شود؛ از عوامل ایجاد کننده سایر بیماری‌ها از جمله دیابت نیز می‌باشد. آنزیم‌های پاراکسوناز ۱ و سوپراکسید دیسموتاز؛ مالون‌دی‌آلدهید و همینطور ظرفیت تام آنتی اکسیدان؛ بخش‌هایی از دفاع آنتی اکسیدانی موجود در بدن می‌باشند. اکسید روی که از ترکیبات احیا کننده معدنی است؛ به شکل نانوذره، ورود و عملکرد بهتری در بدن دارد. گیاه قره قاط نیز حاوی آنتی اکسیدان‌های آلی مختلفی می‌باشد.

هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره الکلی قره قاط سوار شده بر سطح نانوذرات ZnO بر استرس اکسیداتیو در موش صحرایی نر دیابتیک انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، 30 سر موش صحرایی بالغ نر از نژاد ویستار به صورت تصادفی در 6 گروه (کنترل دریافت کننده سرم فیزیولوژی، گروه درمان با عصاره الکلی قره قاط با دوز 150 mg/Kg پس از القای دیابت، گروه درمان با انسولین با دوز 10 U/Kg پس از القای دیابت، گروه درمان با سرم فیزیولوژی پس از القای دیابت، گروه درمان با عصاره الکلی قره قاط سوار شده بر سطح نانوذرات ZnO با دوز 8 mg/Kg پس از القای

دیابت و گروه درمان با نانوذره ZnO با دوز 8 mg/Kg پس از القای دیابت) قرار گرفتند. القای دیابت با یک بار تزریق درون صفاقی آلوکسان مونوهیدرات؛ سپس تزریق داروها پس از تایید القای دیابت، به مدت 16 روز انجام گرفت. نمونه‌های خونی قبل و بعد از درمان جهت بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی گرفته شد و از بافت کبد برای بررسی بیان ژن پاراکسوناز به روش PCR – Real Time استفاده شد. از آزمون‌های آماری t-test و Kruskal wallis برای آنالیز استفاده شد..

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میزان بیان ژن PON1 در گروه دیابتی با تزریق عصاره قره‌قاپ متصل به نانو ذره اکسید روی نسبت به گروه‌های کنترل، دیابتی با تزریق انسولین و دیابتی با تزریق عصاره قره‌قاپ افزایش چشمگیری داشت ($p < 0/05$). تزریق عصاره قره قاپ سوار شده بر نانو ذره اکسید روی، نانو ذره اکسید روی، انسولین و عصاره الکلی قره قاپ در موش صحرائی نر ویستار دیابتیک باعث افزایش معنی‌دار میزان ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی، مالون‌دی‌آلدئید و آنزیم‌های پاراکسوناز و سوپراکسیددیس‌موتاز سرم نسبت به گروه کنترل دیابتیک شد ($p < 0/05$). میزان ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی، مالون‌دی‌آلدئید و آنزیم‌های پاراکسوناز و سوپراکسیددیس‌موتاز سرم بعد از تزریق عصاره قره قاپ سوار شده بر نانو ذره اکسید روی، نانو ذره اکسید روی، انسولین و عصاره الکلی قره‌قاپ در موش صحرائی نر ویستار دیابتیک کاهش معنی‌داری نسبت به قبل از تزریق داشت و این کاهش در گروه کنترل دیابتیک نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود ($p < 0/05$)

نتیجه‌گیری: تزریق عصاره قره‌قاط متصل به نانو ذره اکسید روی به موش صحرایی دیابتی می‌تواند باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان بیان ژن PON1 نسبت به گروه‌های کنترل، دیابتی با تزریق انسولین و دیابتی با تزریق عصاره قره‌قاط شود. تزریق عصاره قره‌قاط سوار شده بر نانو ذره اکسید روی، نانو ذره اکسید روی، انسولین و عصاره الکلی قره‌قاط در موش صحرایی نر ویستار دیابتیک ممکن است از طریق افزایش معنی‌دار میزان ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سرم و آنزیم‌های پاراکسوناز و سوپراکسیددیس‌موتاز سرم باعث حفاظت در برابر استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی نر دیابتیک شود.

کلمات کلیدی: دیابت، دفاع آنتی‌اکسیدانی، استرس اکسیداتیو، پاراکسوناز، موش صحرایی