

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل
دانشکده داروسازی

پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی

عنوان:

بررسی سمیت عصبی-شناختی سایپرمتترین پس از مواجهه تحت مزمن در موش صحرایی نر

اساتید راهنما:

دکتر سارا مصطفی لو

دکتر معصومه دادخواه

استاد مشاور:

دکتر حکیمه سعادت

نگارش:

مرجانه توکلی حور

شماره پایان نامه: د-۲۰۵

اسفند ۱۴۰۲

بِسْمِ اللَّهِ تَعَالَى



الجمهورية الإسلامية الإيرانية
خدمات بهداشتی و طبقاتی انسان آرژانتین

سرگند نامه

اینک که برای پرداختن به پیشه داروسازی آماده هستیم با ایمانی کامل و اعتقادی محکم به آفریننده بزرگ جهان هستی و کتاب آسمانی خود سوگند یاد میکنم و در پیشگاه با عظمت او پیمان می بندم و خداوند را در عهد و میثاق پایدار خود شاهد و گواه می گیرم که در این امر خطیر همواره در راه راست و درست انسانی گام بردارم و عزت و حرمت طبابت و مصاحبت بیماران و رنجوران را بر هر چیزی برتر بدانم و در برابر فریب هوای نفس از جاده صلاح منحرف نشوم و به هرکاری که با راه و رسم الهی و آئین پرهیزکاری و شرافت انسانی و پزشکی مغایرت دارد دست نیازم. قسم یاد میکنم اصرار بیماران را محفوظ و هرگز داروهایی که موجب مرگ انسان ها و یا سقط جنین می گردد در اختیار افراد جامعه نگذارم. همواره خواهم کوشید بغاظر مسائل مادی بیماران را از خدمات پزشکی و دارویی محروم نسازم تا با روی گشاده و وجدانی آزاد در پیشگاه خداوند بلند مرتبه حاضر شوم.

امضای دانشجوی فارغ التحصیل

گواهی می شود که خانم / آقای *مرحله*

دانشجوی سال آخر دانشکده داروسازی در تاریخ ۱۳/۱۱/۹۰ آئین تحلیف را در حضور اینجانبان

هیئت ممتحن (امضا کنندگان زیر) به عمل آورده و سوگند نامه را امضا نمود.

محل امضا

دست امضا
مدیریت پزشکی دانشکده

۱۳/۱۱/۹۰

گواهی صحت و اصالت پایان نامه

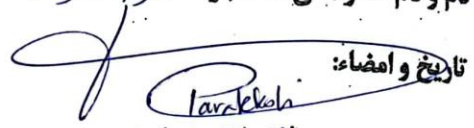
بدینوسیله گواهی می‌نمایم کلیه نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل کار اینجانب بوده و با رعایت کلیه اصول علمی و اخلاقی نگارش شده است. تمام یا قسمتی از آن توسط فرد یا مرکز علمی دیگر به هیچ صورتی ارائه یا ثبت نشده است. موارد استفاده شده از آثار دیگران با مشخصات کامل منبع ذکر گردیده است، و همچنین پاسخگویی و مسئولیت در قبال نتایج به عهده اینجانب خواهد بود.

کلیه حقوق مادی و معنوی این اثر متعلق به دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل می‌باشد و هر گونه بهره برداری یا تکثیر بخشهایی یا کل آن با مجوز دانشکده مجاز است.


تاریخ و امضاء:
۱۴۰۲ / ۱۲ / ۱۲

نام و نام خانوادگی استاد راهنما: سارا مصفا

شماره دانشجویی: ۹۷۱۴۳۸۰۳۴

نام و نام خانوادگی دانشجو: مرجان توپکچی
تاریخ و امضاء:

۱۴۰۲ / ۱۲ / ۱۲

نامه ی سپاس

در ابتدا، بر خود می‌بینم تا از خانم دکتر سارا مصطفی لو و خانم دکتر معصومه دادخواه، اساتید راهنمای خود، کمال تشکر و قدردانی را به جا آورم، زیرا حمایت‌های بی‌بدیل و دانش ژرف ایشان، راه رسیدن به یک پژوهشگر موفق را برای من هموار ساخت. مسیر پژوهشی که تا به امروز پیموده‌ام، در هر مرحله خود، مرهون راهنمایی‌های بی‌شائبه و دلسوزانه ایشان بوده است.

از پدر و مادر عزیزم که همواره با تشویق بی‌پایان، درک، و اعتمادشان به توانایی‌های من، مرا در این مسیر همراهی کردند، از صمیم قلب سپاسگزارم. دستاوردهای من در این مسیر، بدون فداکاری‌های شما هرگز میسر نبود. حضور همیشگی شما به همراه عشق بی‌قید و شرط و سخنان گهربارتان، مرا به چیزی که امروز هستم رساند.

Letter of Thanks

I extend my deepest gratitude to my extraordinary thesis advisors, Dr. Sara Mostafalou and Dr. Massoomeh Dadkhah. Your wisdom, expertise, and unwavering support have sculpted me into a capable researcher. Every step, you led me through uncharted territories, shaping the very essence of my academic voyage.

I am incredibly grateful to my loving parents for their endless encouragement, understanding, and faith in my abilities. Your sacrifices have been the foundation upon which I have built my academic pursuits. Without your constant presence, words of wisdom, and unconditional love I would not have become the person I am today.

As I pen these words of gratitude, they can only begin to convey the depth of my appreciation. To my professors and family, your roles in my life are immeasurable, and your influence everlasting.

چکیده:

مقدمه: پیرتروئیدها آفت کش هایی هستند که بر عملکردهای مغز مانند اضطراب و حافظه تأثیر می گذارند. با این حال، اثر سایپرمتین بر شناخت و مکانیسم های مولکولی مرتبط، به وضوح درک نشده است. در اینجا، اثرات سایپرمتین در بروز رفتارهای اضطرابی مانند اختلالات حافظه، رفتارهای اضطرابی و نقش عوامل استرس اکسیداتیو، فاکتورهای التهابی، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز و فعالیت کولین استراز در هیپوکمپ و پلازما در موش های صحرایی نر پس از مواجهه تحت مزمن با سایپرمتین مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها: بیست و چهار موش بالغ صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به سه گروه (۸ موش در هر گروه) تقسیم شدند که شامل گروه های کنترل، سایپرمتین (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) و سایپرمتین (۴ میلی گرم بر کیلوگرم) می باشند. این سم براساس تغییرات وزنی به مدت ۳۰ روز به صورت خوراکی به آنها تجویز شد. در ابتدا؛ آزمون های ماز بعلاوه ای شکل مرتفع (EPM)، ماز میدان باز (OFM) و حافظه تشخیص شی جدید (NORM) به عنوان تست های رفتاری انجام گرفت. پس از پایان آزمایش های رفتاری، سطوح گلیکوژن سنتاز کیناز-۳ (GSK-3 β)، مالون دی آلدئید (MDA) و کربونیل به عنوان عوامل استرس اکسیداتیو، فاکتور هسته ای کاپا بی (NF- κ B)، اینترلوکئین ۱ بتا (IL-1 β)، فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- α) به عنوان فاکتورهای التهابی، فعالیت ChE و سطح BDNF در پلازما و هیپوکمپ مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: با توجه به تست های EPM و OFM نتایج نشان داد که سایپرمتین ۴ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معناداری سطح استرس و اضطراب موش ها را افزایش داد ($P \leq 0.001$, $P \leq 0.05$)؛ این در حالی است که سایپرمتین ۲ میلی گرم بر کیلوگرم، هیچ تاثیر معناداری را ایجاد نکرد. از طرفی نتایج تست NORM نشان داد که سایپرمتین ۴ میلی گرم بر کیلوگرم، باعث تخریب حافظه شناختی موش ها شد ($P \leq 0.01$). در نهایت، نتایج تست های بیوشیمیایی نشان داد که سطح TBARS و GSK-3 β در گروه سایپرمتین ۴ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. در مقابل سطح کربونیل در گروه های تحت مواجهه با سایپرمتین، هیچ تغییری نکرد. شایان ذکر است که سطح فاکتورهای التهابی IL-1 β و TNF- α در گروه سایپرمتین ۴ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش یافت ($P \leq 0.01$) در

حالی که هر دو گروه تحت مواجهه با سایپرمترین، به طور معناداری سطح NF-κB را افزایش دادند (به ترتیب $P \leq 0.01$, $P \leq 0.001$). علاوه بر این، سایپرمترین ۴ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معناداری سطح BDNF را در بافت هیپوکمپ و پلاسما تحت تاثیر قرار داد ($P \leq 0.05$).

نتیجه گیری: تحقیق حاضر نشان داد که سایپرمترین، حافظه و یادگیری موش ها را از طریق القای استرس اکسیداتیو و ایجاد التهاب دچار اختلال کرد و باعث ایجاد یکسری اختلالات ذهنی شد. شایان ذکر است که این اختلالات در هر دو دوز ۲ میلیگرم بر کیلوگرم و ۴ میلیگرم بر کیلوگرم قابل مشاهده بود؛ اما دوز ۴ میلیگرم بر کیلوگرم خطرناکتر بود.

کلمات کلیدی: سایپرمترین، سمیت عصبی، استرس اکسیداتیو

Abbreviations

AChE: Acetylcholinesterase

BBB: Blood-Brain Barrier

BDNF: Brain Derived Neurotrophic Factor

CYP: Cypermethrin

CNS: Central Nervous System

ChE: Cholinesterase Activity

CI: Cognitive Impairment

cDNA: Complementary Deoxyribonucleic Acid

DNA: Deoxyribonucleic Acid

DR: Discrimination Ratio

EPM: Elevated Plus Maze

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

EDTA: Ethylenediaminetetra Acetic Acid

FAO: Food and Agriculture Organization

GSK-3 β : Glycogen Synthase Kinase-3 Beta

GSH: Glutathione

GABA: Gamma-Aminobutyric Acid

GAPDH: Glyceraldehyde 3 Phosphate Dehydrogenase

H₂O₂: Hydrogen Peroxide

IL-1 β : Interleukin 1 Beta

LPO: Lipid Peroxidation

mRNA: Messenger Ribonucleic Acid

MDA: Malondialdehyde

NORM: Novel Object Recognition Maze

NF- κ B: Nuclear Factor Kappa Beta

OFM: Open Filed Maze

OAT: Open Arm Time

OAE: Open Arm Entries

PFC: Prefrontal Cortex

PBS: Phosphate Buffer Saline

PCR: Polymerase Chain Reaction

PCC: Protein Carbonyl Content

ROS: Reactive Oxygen Species

TNF- α : Tumor Necrosis Factor-Alfa

TBARS: Thiobarbituric Acid Reactive Substance

WHO: World Health Organization

Table of contents

Title	Page
Chapter 1; Introduction	1
1-1. Definitions	and explanations
2	
1-2. Pesticides	6
1-3. Insecticides	7
1-4. Pyrethroids	7
1-5. CYP explanations	10
1-6. Mechanism of toxicity	10
1-7. Neurotoxicity	11
1-8. BDNF	12
1-9. Cholinesterase	14
1-10. Oxidative stress	14
1-11. Neuroinflammation	15
1-12. GSK-3 β	16
1-13. Corn oil	16
1-14. Review of texts	16
1-15. Objectives and assumptions	18
Chapter 2; Materials and methods	19
2-1. Chemicals and animals	20
2-2. Equipment and tools	21
2-3. Animals and housing	22
2-4. Experimental groups and interventions	22
2-5. CYP administrations	24
2-6. Behavioral tests	25
2-7. Biochemical tests	31

Chapter 3; Results	35
3-1. Behavioral test	36
3-2. Biochemical test	41
Chapter 4; Discussion and conclusion	48
4-1. Discussion	49
4-2. Conclusion	52
4-3. Limitations	52
4-4. Suggestions	52
References	53

List of Tables

Table 1-1. Physiochemical characteristic of CYP	6
Table 1-2. Different classes of pesticides	6
Table 1-3. Classification of pyrethroids	9
Table 2-1. Animals and materials used in this study	20
Table 2-2. Equipments used in this study	21
Table 2-3. Mean \pm SEM results of rats' weight trend	23
Table 2-4. Primer sequence used in quantitative reverse transcriptase polymerase	32
Table 3-1. Mean \pm SEM results of OFM data	37
Table 3-2. Mean \pm SEM results of EPM data	39
Table 3-3. Mean \pm SEM results of NORM data	40
Table 3-4. Mean \pm SEM results of oxidative stress data	42
Table 3-5. Mean \pm SEM results of inflammatory factors data	44
Table 3-6. Mean \pm SEM results of ChE in plasma and hippocampus data	45
Table 3-7. Mean \pm SEM results of GSK-3 β data	46
Table 3-8. Mean \pm SEM results of BDNF data	47

List of Figures

Figure 1-1. Factors affecting BDNF gene expression	13
Figure 2-1. Oral gavage procedure	23
Figure 2-2. Cypermethrin 40%	24
Figure 2-3. Rat grooming and rearing in the OFM	26
Figure 2-4. The EPM test	28
Figure 2-5. The NORM test	30
Figure 2-6. Decapitating of rats	31
Figure 3-1. Effect of CYP on anxiety like behaviors in male rats assessed by OFM	36

Figure 3-2. Effect of CYP on anxiety like behaviors in male rats assessed by EPM	38
Figure 3-3. Effect of CYP on memory function in male rats assessed by NORM	40
Figure 3-4. Effect of sub-chronic exposure to CYP on TBARS and carbonyl in male rats	41
Figure 3-5. Effect of sub-chronic exposure to CYP on TNF- α , IL-1 β , NF- κ B in male rat	44
Figure 3-6. Effect of sub-chronic exposure to CYP on ChE in plasma and hippocampus in male rats	45
Figure 3-7. Effect of CYP on GSK-3 β in male rats	46
Figure 3-8. Effect of CYP on BDNF in male rats	47