بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
دانشکده داروسازی

پایان‌نامه جهت دریافت درجه دکترای داروسازی

موضوع:

اثر کروسین بر میزان بیان ژن های Nrf2 ، COX2 و iNOS در ریه موش های حساس شده با اوآلبومین

اساتید راهنما:

دکتر احمد سلیمی

دکتر محمد رضا اصلانی

نگارش:

سینا آذروند

بهار ۱۴۰۳

شماره پایان نامه: د– ۲۱۲

گواهی صحت و اصالت پایان‌نامه

بدین وسیله 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 هرگونه بهره برداری یا تکثیر بخش هایی یا کل آن با مجوز دانشکده مجاز است.

نام و نام خانوادگی استاد راهنما: تاریخ و امضا:

نام و نام خانوادگی دانشجو: شماره دانشجویی:

تاریخ و امضا:

تقـــــــــــــــدیم بـــــــــــــــه پـــــــــــــــدر و مـــــــــــــــادر مهربـــــــــــــــانم کـــه در ســـختی هـــا و دشـــواری هـــای زنـــدگی همـــواره یـــاوری دلســـوز و فـــداکار و پشتیبانی محکم و مطمئن برایم بوده‌اند؛

و اساتید فرزانه و فرهیخته ای که در راه کسب علم و معرفت مرا یاری نمودند.

تشکر و قدردانی

ازپدر و مادر عزیزم ، این دو معلم بزرگوارم ، که همواره بر کوتاهی و درشـــتی مـــن، قلم عفو کشیده و در تمام مراحل زندگی یار و یاوری بی چشم داشت برای من بوده اند؛

از اساتید راهنمای گرانقدرم آقای دکتر سلیمی ، آقای دکتر اصلانی که وجودشـــان همیشه قوتی برای انجام کارهایم بوده است و بدون شک انجام این پایان نامه بدون کمک و راهنمایی‌های ارزنده آنها امکان پذیر نبوده است؛

از سایر اساتید بزرگوار که شـــاگردی محضرشـــان از بزرگتـــرین افتخـــارات زنـــدگی علمی‌ام می‌باشد ، کمال تشکر را دارم.

همچنین دانشکده داروسازی و عزیزانی که در این دانشکده زحمت میکشند تشکر مینمایم.

در انتها از دوستان عزیزم که همراهان همیشگی من بوده‌اند و اوقات خوشـــی را در کنار هم سپری کرده‌ایم ، تقدیر و تشکر دارم.

چکیده

مقدمه: کروسین یک کاروتنوئید آبدوست است که ۶ تا ۱۶ درصد از کل ماده خشک زعفران را تشکیل میدهد. این یک دی استر از دی ساکارید جنتیوبیوز و دی کربوکسیلیک اسید کروستین است. دارای عملکردهای زیادی است ، به عنوان یک ترکیب فعال دارویی ، به ویژه به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی قوی آن شناخته می شود. اثرات بالقوه سودمند کروسین در برابر پیشرفت آسم آلرژیک و نیز میزان بیان ژن‌های Nrf2 ، COX2 و iNOS و پیامد های پاتولوژیک و بیوشیمیایی مرتبط با آن در یک مدل تجربی آسم آلرژیک ناشی از اووالبومین (OVA) در موش انجام شد.

شیوه اجرا: موش ها به ۵ گروه (۱۰ موش در هر گروه) تقسیم شدند: گروه کنترل ، گروه اوالبومین (OVA) ، گروه اوآلبومین + کروسین ۳۰ (Cr30+OVA) ، گروه اوآلبومین + کروسین ۶۰ (Cr60+OVA) ، و گروه اوآلبومین + دگزامتازون (Dex+OVA). موش‌ها توسط اوالبومین یا نرمال سالین حساسیت زایی صورت گرفته و در انتهای مطالعه میزان التهاب ، تغییرات پاتولوژیک و میزان بیان ژن‌های Nrf2، COX2 و iNOS در بافت ریه موش‌ها تعیین شد.

نتایج (یافته‌ها): در نتیجه حساسیت زایی با اوآلبومین میزان بیان ژن Nrf2 ($P <۰/۰۰۱$) کاهش و میزان بیان ژن‌های COX2 ($P<۰/۰۱$) و iNOS ($P<۰/۰۰۱$) در بافت ریه موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد. در نتیجه مداخله با کروسین (به ویژه در غلظت زیاد) از کاهش بیان ژن Nrf2 و افزایش بیان ژن‌های COX2 و iNOS به طور معنی داری جلوگیری به عمل آمد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج مطالعه ی فعلی آشکار ساخت که تحت شرایط مداخله با کروسین ، از کاهش فاکتورهای آنتی اکسیدانی (Nrf2) و همچنین از افزایش فاکتورهای التهابی جلوکیری بعمل آمد.

کلمات کلیدی: آسم ، کروسین ، موش albino ، Nrf2 ، COX2 ، iNOS.

فهرست مطالب

فصل اول مقدمه

۱-۱- تعریف آسم ۴

۱-۲- آسم و خصوصیات آن ۴

۱-۳- همه گیرشناسی در آسم ۶

۱-۴-طبقه بندی ۶

۱-۵-علل ۷

۱-۵-۱-ژنتیک ۸

۱-۵-۲-فاکتورهای محیطی ۸

۱-۶-آزمایشات آسم ۸

۱-۷-داروها ۹

۱-۸-پاسخ فاز حاد ۱۰

۱-۹-پاسخ تاخیری مجاری هوایی ۱۱

۱-۱۰- تغییر شکل ساختاری مجاری هوایی ۱۲

۱-۱۱-مسیر Nrf2 ..... ۱۲

۱-۱۲-زعفران: ۱۵

۱-۱۲-۱ ترکیب شیمیایی زعفران ۱۵

۱-۱۲-۲-کاربردهای دارویی زعفران ۱۷

۱-۱۲-۳-پژوهشهای فارماکولوژیک زعفران ۱۸

۱-۱۲-۳-۱-اثر بربیماری آلزایمر ۱۸

۱-۱۲-۳-۲-اثر ضد سرطانی ۱۸

۱-۱۲-۳-۳-اثر آنتی اکسیدان ۱۹

۱-۱۲-۳-۴-اثر آنتی ژنوتوکسیک ۲۰

۱-۱۲-۳-۵-اثر بر اختلالات قلبی عروقی: ۲۰

۱-۱۲-۳-۶-اثر ضددرد و ضدالتهاب ۲۱
۱-۱۲-۳-۷-اثر بر عملکرد کبد ۲۱
۱-۱۲-۳-۸-اثر بر دستگاه تنفسی ۲۲
۱-۱۲-۳-۹-اثرات ضدچربی ۲۲
۱-۱۳-بیان مسئله: ۲۳
۱-۱۴-اهداف و فرضیات طرح: ۲۵
۱-۱۴-۱-هدف کلی طرح: ۲۵
۱-۱۴-۲-اهداف اختصاصی طرح: ۲۵
۱-۱۵-پیشینه تحقیق: ۲۵
۱-۱۶-تعریف واژه های اختصاصی ۲۶

فصل دوم مواد و روش ها

۲-۱-نوع پژوهش و جمعیت مورد مطالعه ۲۹
۲-۲- مواد و محلول های مورد استفاده ۲۹
۲-۳- ابزار و دستگاه های مورد استفاده ۳۰
۲-۴-روش تهیه مواد ۳۱
۲-۴-۱-آماده سازی محلول های مورد نیاز: ۳۱
۲-۴-۱-۱-روش تهیه محلول اوالبومین تزریقی ۳۱
۲-۴-۱-۲-روش تهیه محلول اوالبومین ۴٪: ۳۱
۲-۵-ایجاد آسم تجربی ۳۲
۲-۶- جدا کردن بافت ریه: ۳۳
۲-۷-ستخراج mRNA از بافت ریه: ۳۳
۲-۸-سنتز cDNA از mRNA ۳۴
۲-۹-انجام qPCR ۳۵
۲-۱۰-انجام مراحل پاتولوژی و تهیه لام بافتی ۳۷
۲-۱۱-تجزیه و تحلیل داده ها ۳۸

فصل سوم نتایج

۳-۱-اثر کروسین بر میزان بیان ژن‌های Nrf2 در بافت ریه گروههای مورد مطالعه ۴۰
۳-۲-اثر کروسین بر میزان بیان ژن‌های COX2 در بافت ریه گروههای مورد مطالعه ۴۱
۳-۳-اثر کروسین بر میزان بیان ژن‌های iNOS در بافت ریه گروههای مورد مطالعه ۴۲
فصل چهارم بحث و نتیجه گیری و پیشنهاد
۴-۱-بحث ۴۴
۴-۲-اثر کروسین بر میزان بیان ژن‌های Nrf2 ، COX2 و iNOS در بافت ریه موش های مورد مطالعه..... ۴۴
۴-۳-نتیجه‌گیری ۴۸
۴-۴- پیشنهادات ۴۸
منابع : ۴۹

فهرست نمودار

نمودار ۳-۱: میانگین ± خطای معیار میزان بیان ژن Nrf2 در بافت ریه..... ۴۰
نمودار ۳-۲: میانگین ± خطای معیار میزان بیان ژن COX2 در بافت ریه ۴۱
نمودار ۳-۳: میانگین ± خطای معیار میزان بیان ژن iNOS در بافت ریه ۴۲

فهرست اختصارات

ARE: .....Antioxidant response element

CD-14:.....cluster of differentiation 14

CNC:..... cap n collar

COX2:.....Cyclo Oxygenase 2

IgE:.....Immunoglobulin E

IL:.....interleukin

iNOS: ..... Nitric Oxydase Synthase

Keap1:.....Kelch-like ECH associated protein

LTC4:..... Leukotriene C4

Neh:..... Nrf2-ECH homology

Nrf2:.....Nuclear factor(erythroid-derived2)-like 2

PGD2: .....Prostaglandin D2

SELE:.....selectin E

SELP.....selectin P

TH2:.....T helper2

TNF-α:.....Tumor necrosis factor alpha

TREM1:.....triggering receptor expressed on myeloid cells 1

فهرست جداول

جدول ۱-۲: فهرست ابزار و دستگاه های مورد استفاده در مطالعه ۲۹
جدول ۲-۲: جدول مقادیر OD ، Total RNA وDepc water..... ۳۰
جدول ۳-۲: بروشور کیت سنتز cDNA..... ۳۴
جدول ۴-۲: مقادیر و مواد لازم برای انجام Real time PCR..... ۳۵
جدول ۵-۲: شرایط دمایی واکنش Real time PCR.....۳۶
جدول ۶-۲: توالی پرایمر ها..... ۳۷