

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی اردبیل  
دانشکده داروسازی

**پایان نامه‌ی رساله‌ی دکتری عمومی داروسازی**

عنوان:

**ارزیابی اثر ترکیب بتانین بر سمیت میتوکندریایی ایجاد شده توسط  
فلوکستین در میتوکندری‌های  
ایزوله شده از پانکراس موش صحرائی نر**

استاد راهنما:

**دکتر احمد سلیمی**

نگارنده:

**ثمین طایفه آیرملو**

**خرداد ۱۴۰۳**

**شماره پایان نامه: د - ۲۲۲**

تقدیم به:

### - پدر و مادر عزیز و خانواده‌ی مهربانم

ماحصل آموخته‌هایم را تقدیم می‌کنم به استوارترین تکیه‌گاهم، دستان پرمهر پدرم به سبزترین نگاه زندگیم، چشمان سبز مادرم که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بکوشم قطره‌ای از دریای بی‌کران مهربانیتان را سپاس نتوانم بگویم که در سختی‌ها و دشواری‌های زندگی همواره یآوری دلسوز و فداکار و پشتیبانی محکم و مطمئن برایم بوده‌اید.

### - همسر عزیز تر از جانم، آقای دکتر امیر محسن اعظمی

اسطوره زندگیم، پناه خستگی و امید بودنم که وجودش شادی بخش و صفایش مایه آرامش من است و در تمام طول تحصیل همراه و همگام من بوده و از من و اهدافم حمایت کرده و همواره پشتیبانم بوده است

### - استاد عالی‌قدر، جناب آقای دکتر احمد سلیمی،

که زحمت راهنمایی این پایان‌نامه را عهده‌دار گردیده و در تمامی مراحل انجام این پایان‌نامه از راهنمایی‌های مدبرانه‌ی ایشان استفاده نمودم.

-اساتید فرزانه و فرهیخته‌ای که مرا در راه کسب علم و دانش یاری نمودند.

## تشکر و قدردانی

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی‌مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد. با سپاس و تقدیر ویژه از استاد گرانقدر جناب آقای دکتر سلیمی که در مراحل مختلف این پژوهش، راهنمایی‌های ارزنده و سازنده‌ی خود را بر من ارزانی داشته و از هیچ کوششی در این زمینه دریغ نمودند، بدین‌وسیله از زحمات و تلاش بی‌دریغ استاد محترم و خانواده‌ی عزیزم و هم‌چنین، از سایر همکاران و دوستانی که هر کدام به نحوی در نگارش این مجموعه، مرا یاری نموده‌اند، سپاسگزاری می‌نمایم.

## چکیده

**مقدمه:** گزارش شده است که استفاده طولانی مدت از داروهای ضد افسردگی دارای پتانسیل دیابت‌زایی بوده و خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ را افزایش می‌دهد. در میان این داروها، نشان داده شده است که فلوکستین در غلظت‌های درمانی بر روی سلول‌های بتا پانکراس از طریق القای اختلال عملکرد میتوکندری، استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی، دارای اثر سمی است.

**روش‌ها:** در مطالعه حاضر، هدف ما بررسی اثر مستقیم فلوکستین بر میتوکندری‌های جدا شده از پانکراس و بررسی قدرت احتمالی بتانین در حفاظت از میتوکندری به‌عنوان خنثی‌کننده‌های شناخته شده رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها در برابر اثرات مضر آن بود. میتوکندری‌های صدمه ندیده با لیز مکانیکی و سانتریفیوژ افتراقی از پانکراس موش جدا شد و با غلظت‌های مختلف فلوکستین (۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ میکرومولار) تیمار شد. سپس اثر محافظتی بتانین (۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار) بر سمیت میتوکندری ناشی از فلوکستین در غلظت سمی در میتوکندری‌های جدا شده از پانکراس موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت سوکسینات دهیدروژنازها (SDH)، تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، تورم میتوکندری، فروپاشی پتانسیل غشای میتوکندری (MMP)، تولید مالون دی‌آلدئید (MDA) و کاهش گلوتاتیون (GSH) در طول ۱ ساعت در میتوکندری‌های جدا شده از سلول‌های لوزالمعده‌ی موش با تکنیک‌های بیوشیمیایی و فلوسیتومتری مورد بررسی قرار گرفت.

**نتایج و بحث:** نتایج ما نشان داد که فلوکستین به طور مستقیم باعث ایجاد سمیت در میتوکندری‌های جدا شده از پانکراس در غلظت ۵۰۰ میکرومولار و بالاتر می‌شود. به جز مالون دی‌آلدئید و گلوتاتیون، فلوکستین باعث کاهش قابل توجه فعالیت سوکسینات دهیدروژناز، فروپاشی پتانسیل غشای میتوکندری، تورم میتوکندری و تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال در میتوکندری‌های جدا شده از پانکراس موش شد. با این حال، نتایج ما نشان داد که بتانین از اختلال عملکرد میتوکندری ناشی از فلوکستین با افزایش فعالیت سوکسینات دهیدروژناز، بهبود فروپاشی پتانسیل غشای میتوکندری و تورم میتوکندری و کاهش تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال در میتوکندری‌های جدا شده از پانکراس محافظت می‌کند. می‌توان نتیجه گرفت که فلوکستین مستقیماً روی میتوکندری‌های جدا شده از پانکراس سمی است که ممکن است به پتانسیل دیابت‌زایی آن در انسان مرتبط باشد. علاوه بر این، یافته‌های ما نشان داد که استفاده از بتانین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی و رنگ خوراکی ممکن است برای جلوگیری از اثر دیابت‌زایی فلوکستین مفید باشد.

**کلمات کلیدی:** آنتی‌اکسیدان‌ها، بتانین، دیابت، اثرات دیابت‌زا، پیشگیری از دیابت

## فهرست مطالب

### فصل اول: مقدمه

۱- مقدمه و بیان مسئله.....	۲
۱-۱- دیابت.....	۶
۱-۱-۱- انواع دیابت.....	۷
۱-۱-۲- تفاوت دیابت نوع ۲ و دیابت نوع ۱.....	۱۰
۱-۱-۳- عوامل ایجاد دیابت نوع ۲.....	۱۰
۱-۱-۳-۱- سن.....	۱۱
۱-۱-۳-۲- چاقی.....	۱۲
۱-۱-۳-۳- مقاومت محیطی به انسولین.....	۱۳
۱-۱-۳-۴- سندرم متابولیک و اختلال در تحمل گلوکز.....	۱۳
۱-۱-۳-۵- داروهای مختلف و بروز دیابت.....	۱۵
۱-۱-۳-۵-۱- داروهای ضدافسردگی.....	۱۵
۱-۱-۳-۵-۲- داروهای مبتنی بر SSRI.....	۱۶
۱-۱-۳-۵-۳-۱- فلوکستین.....	۱۷
۱-۲- میتوکندری.....	۱۹
۱-۲-۱- اختلال عملکرد میتوکندری.....	۲۲
۱-۲-۲- مکانیسم بروز دیابت میتوکندریایی.....	۲۴
۱-۲-۳- تأثیر فلوکستین بر روی بروز دیابت میتوکندریایی.....	۲۴
۱-۳- عوامل موثر بر کاهش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲.....	۲۵
۱-۳-۱- ورزش و رژیم غذایی مناسب.....	۲۵
۱-۳-۲- کاهش استرس.....	۲۵
۱-۳-۳- شاخص توده بدنی و اضافه وزن.....	۲۶
۱-۳-۴- داروهای خوراکی.....	۲۶
۱-۳-۵- داروهای مناسب برای درمان دیابت نوع ۲ با منشأ گیاهی.....	۲۶

۲۷	..... ۱-۳-۵-۱- بتانین
۲۹	..... ۱-۴- مروری بر مطالعات انجام شده
۳۰	..... ۱-۵- اهداف پژوهشی
۳۱	..... ۱-۵-۱- اهداف اصلی
۳۱	..... ۱-۵-۲- اهداف اختصاصی
۳۲	..... ۱-۶- سوالات تحقیق

## فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها

۳۴	..... ۲- مواد شیمیایی، دستگاه‌ها و روش‌های مورد استفاده
۳۴	..... ۲-۱- مواد و محلول‌های مورد استفاده
۳۵	..... ۲-۲- ابزار و دستگاه‌های مورد استفاده
۳۶	..... ۲-۳- نمونه‌های آزمایشی
۳۷	..... ۲-۴- روش‌ها
۳۷	..... ۲-۴-۱- القاء بیهوشی
۳۷	..... ۲-۴-۲- تهیه بافت پانکراس از نمونه حیوانی
۳۷	..... ۲-۴-۳- تهیه میتوکندری
۳۸	..... ۲-۴-۳-۳- تست برد فورد
۳۸	..... ۲-۵- سنجش فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز (SDH) (MTT test)
۳۹	..... ۲-۶- سنجش سمیت میتوکندری ناشی از فلوکستین
۴۰	..... ۲-۷- اندازه‌گیری سطح ROS میتوکندری
۴۰	..... ۲-۸- سنجش میزان سقوط پتانسیل غشاء میتوکندری (MMP test)
۴۱	..... ۲-۹- سنجش میزان تورم میتوکندری (Swelling Test)
۴۲	..... ۲-۱۰- سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی (سنجش مالودن دی آلدئید (MDA) میتوکندریایی) ...
۴۳	..... ۲-۱۱- سنجش میزان گلوتاتیون (GSH) میتوکندریایی
۴۴	..... ۲-۱۲- تست‌های آماری و روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

### فصل سوم: نتایج

- ۳- نتایج ..... ۴۵
- ۳-۱- بررسی میزان سمیت میتوکندریایی فلوکستین ..... ۴۶
- ۳-۲- حفاظت میتوکندری از سمیت فلوکستین به کمک بتانین ..... ۴۷
- ۳-۳- اندازه گیری سطح ROS میتوکندری ..... ۴۸
- ۳-۴- تأثیر بتانین بر مهار تورم میتوکندری ناشی از فلوکستین ..... ۵۰
- ۳-۵- مهار فروپاشی بالقوه غشای میتوکندریایی ناشی از فلوکستین توسط بتانین ..... ۵۱
- ۳-۶- تأثیر فلوکستین و بتانین بر نشانگرهای استرس اکسیداتیو (MDA و GSH) ..... ۵۲

### فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

- ۴- بحث و نتیجه گیری ..... ۵۴
- ۴-۱- بحث ..... ۵۵
- ۴-۲- نتیجه گیری کلی ..... ۶۵
- ۴-۳- محدودیت‌ها ..... ۶۶
- ۴-۴- پیشنهادات ..... ۶۶
- منابع و ماخذ ..... ۶۷



## فهرست جداول

جدول ۱-۲- فهرست مواد مورد استفاده در مطالعه ..... ۳۴

جدول ۲-۲- فهرست ابزار و دستگاه‌های مورد استفاده در مطالعه ..... ۳۵

## فهرست شکل‌ها و نمودارها

- شکل ۱-۱- ساختار شیمیایی فلوکستین و گروه‌های عاملی آن ..... ۱۸
- شکل ۱-۲- میتوکندری و اجزاء تشکیل دهنده آن ..... ۲۱
- شکل ۱-۳- مکانیسم فسفوریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری ..... ۲۲
- شکل ۱-۴- ساختار شیمیایی بتانین و گروه‌های عاملی آن ..... ۲۸
- شکل ۲-۱- موش صحرائی نر، نژاد ویستار ..... ۳۶
- شکل ۱-۳- تأثیر غلظت‌های مختلف فلوکستین بر زنده‌مانی میتوکندری ..... ۴۶
- شکل ۲-۳- اثر حفاظتی بتانین در برابر فلوکستین با محاسبه فعالیت سوکسینات دهیدورژناز میتوکندری ..... ۴۸
- شکل ۳-۳- تأثیر فلوکستین و بتانین بر میزان سطوح ROS توسط میتوکندری ..... ۴۹
- شکل ۳-۴- تأثیر فلوکستین و بتانین بر میزان فروپاشی پتانسیل غشای میتوکندری ..... ۵۱
- شکل ۳-۵- نمودار تأثیر فلوکستین و بتانین بر میزان تورم میتوکندری ..... ۵۲
- شکل ۳-۶- تأثیر فلوکستین و بتانین بر نشانگرهای استرس اکسیداتیو GSH و MDA ..... ۵۳

## واژگان اختصار

AChE: Acetylcholinesterase

ANOVA: Analysis of Variance

ATP: Adenosine Triphosphate

ATP: Adenosine Triphosphate

BChE: Butyrylcholinesterase

BHT: Butylated Hydroxytoluene

BSA: Bovine Serum Albumin

COX-2: Cyclooxygenase-2

CYP: Cytochrome P450

DCE: Dichloroethyl phosphamide

DMSO: Dimethyl Sulfoxide

DNA: Deoxyribonucleic Acid

DTNB: 5, 5-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

EGTA: Ethylene Glycol-bis ( $\beta$ -aminoethyl ether)-N, N, N', N'-Tetraacetic Acid

GAT-1: GABA transporter-1 H2DCF: 2', 7'-Dichloro-dihydro-fluorescein

GPx: Glutathione Peroxidase

GSH: Glutathione

GSSG: Glutathione Disulfide

HEPES: 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid

MMP &  $\Delta\Psi_m$ : Mitochondrial Membrane Potential