





دانشگاه شهید چمران اهواز

۹۳۷۹۹۲۶

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی

عنوان:

اثر فیلم نانوکیتوزان بر ترمیم زخم‌های پوستی ناشی از انگل لیثمانیا  
مأثور در موش سوری

اساتید راهنما:

دکتر سمیه بهرامی

دکتر صالح اسماعیل‌زاده

استاد مشاور:

دکتر مهدی زارعی

نگارش:

فاطمه احمدی

اردیبهشت ماه ۱۳۹۳

بسمه تعالی

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

(نتیجه ارزشیابی پایان نامه‌ی دکتری عمومی)

پایان‌نامه‌ی خانم فاطمه احمدی دانشجوی رشته: دامپزشکی از دانشکده دامپزشکی به شماره دانشجویی: ۸۶۷۹۰۱ تحت عنوان: اثر فیلم نانوکیتوزان بر ترمیم زخم‌های پوستی ناشی از انگل لیشمانیا ماژور در موش سوری، جهت اخذ مدرک: دکتری عمومی دامپزشکی در تاریخ: ۱۳۹۳/۲/۲۸ توسط هیأت محترم داوران مورد ارزشیابی قرار گرفت و با درجه: ممتاز به تصویب رسید.

امضا	سمت	مرتبۀ علمی	اعضای هیأت داوران	۱
	استاد راهنمای اول	استادیار	دکتر سمیه بهرامی	
	استاد راهنمای دوم	دانشیار	دکتر صالح اسماعیل‌زاده	
	استاد مشاور	دانشیار	دکتر مهدی زارعی	
	استاد داور	دانشیار	دکتر بابک محمدیان	
	استاد داور	دانشیار	دکتر محمد حسین راضی جلالی	
	استاد ناظر	استاد	دکتر رحیم پیغان	
	مدیر گروه	استادیار	دکتر داریوش غریبی	۲
	معاون پژوهشی دانشکده	دانشیار	دکتر بابک محمدیان	۳
	مدیر تحصیلات تکمیلی دانشگاه	استاد	دکتر عبدالرحمن راسخ	۴

## گواهی صحت و اصالت

عنوان پایان‌نامه: اثر فیلم نانوکیتوزان بر ترمیم زخم‌های پوستی ناشی از انگل لیشمانیا ماژور در موش سوری. اینجانب فاطمه احمدی دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران به شماره دانشجویی ۸۶۷۹۰۱ تحت راهنمایی دکتر سمیه بهرامی و دکتر صالح اسماعیل‌زاده و مشاوره دکتر مهدی زارعی، گواهی می‌دهم که:

- ۱- تحقیقات ارائه شده در این پایان‌نامه حاصل مطالعات علمی و عملی شخص اینجانب بوده و صحت و اصالت تمام مطالب مندرج در آن را تایید می‌کنم.
  - ۲- در صورت استفاده از آثار دیگران، مشخصات کامل آن‌ها را در منابع ذکر نموده‌ام.
  - ۳- تاکنون مطالب درج شده در این پایان‌نامه، توسط اینجانب یا شخص دیگری به منظور اخذ هر نوع مدرک یا امتیازی به هیچ مرجعی تسلیم نشده و بعد از این نیز نخواهد شد.
  - ۴- در تدوین متن پایان‌نامه، شیوه‌نامه مصوب دانشکده را رعایت نموده‌ام.
  - ۵- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و مقالات مستخرج از آن، ذیل نام دانشگاه شهید چمران اهواز (Shahid Chamran University of Ahvaz) به چاپ خواهد رسید.
  - ۶- حقوق معنوی تمامی افرادی که در این پایان‌نامه تاثیرگذار بوده‌اند (اساتید راهنما و مشاور) در مقالات مستخرج از آن رعایت خواهد شد.
  - ۷- در صورت استفاده از موجودات زنده یا بافت‌های آن‌ها، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مندرج در منشور موازین و اصول اخلاق پژوهش وزارت علوم، تحقیقات و فناوری رعایت شده است.
- در صورت اثبات تخلف از مندرجات فوق، مسئولیت هر گونه پاسخگویی به اشخاص حقیقی و حقوقی و مراجع ذیصلاح بر عهده اینجانب بوده و دانشگاه شهید چمران هیچ مسئولیتی بر عهده نخواهد داشت. همچنین در صورت تضييع حقوق و منافع دانشگاه، حق پیگیری موضوع در مراجع ذیصلاح و اعمال قوانین مربوطه برای دانشگاه شهید چمران در حال و آینده محفوظ بوده و اینجانب مسئول پرداخت کلیه خسارات وارده خواهم بود.

فاطمه احمدی

۱۳۹۳/۲/۲۸

### مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به غیر نیست. استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

باسپاس فراوان از... .

از پدر و مادر عزیزم

پروردگارا:

نه میتوانم مویشان را که در راه عزت من سفید شد، سیاه کنم و نه برای دستهای پینه بسته شان که شمره تلاش برای افتخار من است،  
مره‌بی دارم. پس توفیقم ده که هر لحظه شکر گزارشان باشم و ثانیه های عمرم را در عصای دست بودنشان بگذرانم

خواهرم مریم، که وجودش شادی، بخش و صفایش مایه آرامش من است

برادرم رضا، که وجودش مایه دلگرمی من می باشد

و باشکر فراوان از پدر و مادر، همسر و همچنین خواهرم همسر سارای عزیز

باساس فراوان از...

سرکار خانم دکتر بهرامی، استاد ارجمندی عزیزم که بادل سوزی مینهایت و حسن خلق و فروتنی نه تنها در بهار نشستن این پایان نامه بلکه همانند خواهری مهربان در زندگی و کسب علم مراجعت نمودند

جناب آقای دکتر اسماعیل زاده که بانگه های دلویز و کلمه های بلند، صحیفه های سخن را علم پرور نمود و همواره راهبنا و راه کشای من در پایان نامه بوده است

جناب آقای دکتر زارعی که صبورا نه زحمت مشاوره و راهبنا بی این جانب را تقبل فرمودند

در میان از... .

همسر عزیزم، به آن سیبان عشق و آرامش و تکیه گاه امن و آسایش و برترین آموزگار خوش بینی و امید من در دوران تحصیل بود

شکر و قدر دانی می نمایم به پاس محبت و زحمات بی دریغش

به شیشه های اتاقم دوباره ها کردم

و از نوشتن اسمت بر آن جا کردم

به روی شیشه کشیدم عکس یک کنبند

به پای شیشه نشسته رضارضا کردم

با کمال افتخار این پیام نامه را به بارگاه مقدس امام رضا (ع) تقدیم می کنم

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
چکیده.....		۱
فصل اول: مقدمه و هدف.....		۳
الف - طبقه بندی انگل لیشمانیا.....		۹
ب- لیشمانیوز.....		۱۱
ب-۱- تاریخچه لیشمانیوز.....		۱۲
ب-۲- مورفولوژی و چرخه‌ی زندگی انگل‌های لیشمانیا.....		۱۳
ب-۳- بیماری‌زایی انگل لیشمانیا.....		۱۶
ب-۳-۱- پروتئوفسفوگلیکان‌ها.....		۱۷
ب-۳-۲- اسید فسفاتاز.....		۱۷
ب-۳-۲-۱- گلیکوپروتئین ۶۳ کیلودالتونی.....		۱۸
ب-۳-۲-۲- لیپوفسفوگلیکان.....		۱۸



عنوان	فهرست مطالب	صفحه
ب-۳-۲-۳- سیستمین پروتئینازها.....		۱۹
ب-۳-۲-۴- پروتئین های شوک حرارتی.....		۱۹
ب-۳-۳- اشکال مختلف بیماری لیشمانیوز.....		۱۹
ب-۳-۳-۱- لیشمانیوز احشایی (VL).....		۱۹
ب-۳-۳-۲- فرم جلدی یا لیشمانیوز پوستی (CL).....		۲۰
ب-۳-۳-۱- لیشمانیوز جلدی شهری (UCL).....		۲۱
ب-۳-۳-۲- لیشمانیوز جلدی روستایی (RCL).....		۲۲
ب-۳-۳-۳- لیشمانیوز پوستی - مخاطی (MCL).....		۲۳
ب-۳-۳-۴- لیشمانیوز پوستی منتشر (DCL).....		۲۳
ب-۳-۳-۵- لیشمانیوز پوستی بعد از کالاآزار (PKDC).....		۲۴
ب-۳-۴- اپیدمیولوژی لیشمانیوز جلدی.....		۲۴
ب-۳-۵- روش های تشخیص لیشمانیوز.....		۲۶

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
ب-۳-۵-۱- تشخیص بالینی.....		۲۶
ب-۳-۵-۲- تهیه گسترش از زخم بیمار.....		۲۶
ب-۳-۵-۳- کشت انگل.....		۲۶
ب-۳-۵-۴- آنتی بادی های منوکلونال.....		۲۷
ب-۳-۵-۵- پروب های DNA.....		۲۸
ب-۳-۵-۶- بررسی ایزوآنزیم ها.....		۲۸
ب-۳-۵-۷- استفاده از روش های مولکولی.....		۲۹
ب-۳-۵-۸- روش های ایمونولوژیکی.....		۳۰
ب-۴- کنترل لیشمانیوز.....		۳۰
ب-۵- درمان لیشمانیوز.....		۳۰
ب-۵-۱- درمان لیشمانیاز جلدی.....		۳۱
ج- کیتوزان.....		۳۵

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
ج-۱- وزن مولکولی و درجه‌ی استیلاسیون کیتوزان.....		۳۷
ج-۲- تبدیل کیتین به کیتوزان.....		۳۷
ج-۳- خصوصیات و کاربردهای کیتوزان.....		۳۸
ج-۳-۱- خاصیت آنتی‌اکسیدانی.....		۳۸
ج-۳-۲- کاربرد در تهیه پوشش‌های فعال زیستی.....		۳۹
ج-۳-۳- کاربرد به‌عنوان قوام‌دهنده و تقویت‌کننده ژل.....		۴۰
ج-۳-۴- کاربرد در تصفیه فاضلاب.....		۴۰
ج-۳-۵- کاربرد در ترمیم زخم و سوختگی.....		۴۰
ج-۳-۶- کاربرد در مهندسی بافت.....		۴۱
ج-۳-۷- کاربرد به‌عنوان حامل داروها در دارورسانی.....		۴۲
ج-۳-۸- اثرات ضد‌دردی.....		۴۳
ج-۳-۹- کاربرد در زراعت و کشاورزی.....		۴۴

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
ج-۳-۱۰- کاربرد در صنایع آرایشی و بهداشتی.....		۴۴
د- ساختمان پوست.....		۴۴
د-۱- اپیدرم.....		۴۴
د-۲- درم.....		۴۵
د-۳- هیپودرم.....		۴۶
ه- ترمیم زخم.....		۴۶
ه-۱- مرحله التهاب.....		۴۸
ه-۲- مرحله تکثیری.....		۴۹
ه-۲- مرحله بازآرایی.....		۵۱
فصل سوم: مواد و روش کار.....		۵۲
الف- مواد و وسایل مورد استفاده.....		۵۳
الف-۱- مواد مورد استفاده.....		۵۳

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
الف-۲- وسایل مورد استفاده.....		۵۴
ب- تهیه کیتوزان و نانوکیتوزان.....		۵۵
ب-۱-۱- استخراج کیتین از پوسته میگو.....		۵۵
ب-۱-۲- تبدیل کیتین به کیتوزان.....		۵۶
ب-۱-۳- تهیه محلول کیتوزان.....		۵۶
ب-۱-۴- تعیین درصد داستیلاسیون کیتوزان.....		۵۶
ب-۱-۵- تعیین وزن مولکولی کیتوزان.....		۵۷
ب-۱-۶- تبدیل کیتوزان به نانوکیتوزان.....		۵۷
ب-۱-۷- تعیین اندازه ذرات نانوکیتوزان به وسیله میکروسکوپ الکترونی.....		۵۸
ب-۱-۸- تهیه فیلم نانوکیتوزان.....		۵۸
ج- کشت انگل لیشمانیا ماژور.....		۵۹
ج-۱- جداسازی انگل لیشمانیا ماژور و کشت آن در محیط دو فازی.....		۵۹

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
ج-۲- کشت انبوه پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژورر.....		۵۹
ج-۲-۱- غیر فعال کردن سرم جنین گوساله.....		۶۰
ج-۳- نگهداری انگل در دمای انجماد.....		۶۰
د-آماده سازی حیوانات برای تزریق انگل.....		۶۱
د-۱-آماده سازی حیوانات.....		۶۱
د-۲- تزریق انگل.....		۶۱
ه- شمارش انگل.....		۶۲
ه-۱- با استفاده از رنگ ائوزین و لام نئوبار.....		۶۲
و- گروه بندی موش‌های مورد مطالعه.....		۶۲
ز- نمونه‌گیری از حیوانات.....		۶۳
ز-۱- ارزیابی آلودگی لیشمانیایی در موش.....		۶۳
ز-۲- مطالعه‌ی هیستوپاتولوژیک نمونه‌ها.....		۶۴

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
ح- آنالیز آماری.....		۶۵
فصل چهارم: نتایج.....		۶۶
الف- خصوصیات کیتوزان و نانوکیتوزان.....		۶۷
ب- تغییرات قطر زخم و بار انگلی.....		۶۸
ب-۱- گروه تیمار شده با گلوکانتیم.....		۶۸
ب-۲- گروه تیمار شده با فیلم نانوکیتوزان.....		۶۸
ب-۳- گروه تیمار شده با فیلم نانوکیتوزان و گلوکانتیم.....		۶۹
ب-۴- گروه کنترل.....		۶۹
ج- نتایج مطالعات هیستولوژیک نمونه‌ها.....		۷۲
ج-۱- گروه تیمار شده با نانو کیتوزان و گلوکانتیم.....		۷۲
ج-۲- گروه تیمار شده با نانو کیتوزان.....		۷۵
ج-۳- گروه تیمار شده با گلوکانتیم.....		۷۶

صفحه	فهرست مطالب	عنوان
۷۸.....	فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری.....	
۷۹.....	بحث و نتیجه گیری.....	
۹۳.....	پیشنهادات.....	
۹۵.....	فهرست منابع.....	
۱۱۱.....	چکیده انگلیسی.....	



صفحه	فهرست جداول	جدول
	۱-۴. میانگین و انحراف معیار قطر زخم، قبل و بعد از درمان برای هر گروه در هفته‌های مختلف ..... ۷۰	
	۲-۴. توزیع فراوانی اجسام لیثمن در زخم لیثمانیوز جلدی موش‌ها پس از درمان در گروه-های مورد و کنترل در هفته‌های مختلف ..... ۷۱	
	۳-۴. میانگین تعداد فیروبلاست‌ها، عروق خونی و سلول‌های آماسی ..... ۷۶	

صفحه

فهرست نمودارها

نمودار

۴-۱. روند تغییرات اندازه زخم هر گروه در هفته‌های مختلف ..... ۷۲

- ۳-۱. تصویر فیلم نانوکیتوزان تهیه شده در آزمایشگاه..... ۵۸
- ۴-۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی رویشی از نانوکیتوزان ..... ۶۷
- ۴-۲. محل زخم (خط) در یکی از موش‌های گروه نانوکیتوزان و گلوکانتیم در روز هفتم آلودگی. در محل زخم نشانه‌ای از بازسازی اپی‌درم دیده نمی‌شود (رنگ آمیزی H&E)..... ۷۳
- ۴-۳. ماکروفازهای متعدد حاوی انگل در یکی از موش‌های گروه نانوکیتوزان و گلوکانتیم در روز هفتم آلودگی (رنگ آمیزی H&E) ..... ۷۴
- ۴-۴. محل زخم در یکی از موش‌های گروه نانوکیتوزان و گلوکانتیم در روز چهاردهم آلودگی. به دلمه سطحی (پیکان سفید) و بافت جوانه گوشتی (پیکان مشکی) در زیر آن توجه شود (رنگ آمیزی H&E) ..... ۷۴
- ۴-۵. میوزیت مزمن فعال در محل زخم در یکی از موش‌های گروه نانوکیتوزان و گلوکانتیم در روز چهاردهم آلودگی. به سلول عضلانی نکروز شده، فیبروبلاست (پیکان سفید)، سلول‌های تک‌هسته‌ای (پیکان مشکی) و نوتروفیل‌ها توجه شود (رنگ-آمیزی H&E)..... ۷۵

صفحه

فهرست تصاویر

تصاویر

۶-۴. تصویر ندول بروی قاعده دم موش سوری نژاد BALB/C ..... ۷۷

۷-۴. تصویر ندول سر بازکرده بروی قاعده دم موش سوری نژاد BALB/C ..... ۷۷

۸-۴. تصویر زخم ایجاد شده بروی قاعده دم موش سوری نژاد BALB/C ..... ۷۷