PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

آقای سعید شیر علی رشته بیوشیمی بالینی رساله دکتری خود را با عنوان: «مکانیزم اثر مهارکنندگی ملازم های شیمیایی از خانواده پلی الها، عصاره آبی زعفران و کروسین، در گلیکه شدن برخی پروتئین ها در دو شرایط in vitro و in vivo و بررسی اثرات درمانی این ترکیبات در موشهای صحرایی دیابتی تیپ ۲ » در تاریخ ۱۳۹۰/۷/۴ ارائه کردند.

اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	امضاء
استاد راهنما	دکتر سیده زهرا بطحایی	
استاد مشاور	دکتر منوچهر نخجوانی	
استاد ناظر	دکتر محمد تقی خانی	
استاد ناظر	دکتر محمد جواد رسایی	
استاد ناظر	دکتر شهناز خافانی	
استاد ناظر	دکتر رضا عشکانی	
نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر سید علیرضا مصباح نسبن	

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها درجشنواره های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم الاجرا است.

«اینجانب **سعید شیرعلی** دانشجوی رشته **بیوشیمی بالینی** ورودی سال تحصیلی**۸۵** مقطع **دکتری** دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم.»

امضا

تاریخ ۹۰/۸/۲۸

آیین نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل رساله دکتری نگارنده در رشته بیوشیمی بالینی است که در سال ۱۳۹۰ در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی خانم دکتر سیده زهرا بطحایی ، مشاوره آقای دکتر منوچهر تخجوانی از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهدا، کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۱۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب سعید شیرعلی دانشجوی رشته بیوشیمی بالینی مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

رساله

دوره دکتری تخصصی (Ph.D.) در رشته بیوشیمی بالینی

عنوان

مکانیزم اثر مهارکنندگی ملازم های شیمیایی از خانواده پلی ال‌ها، عصاره آبی زعفران و کروسین، درگلیکه شدن برخی پروتئین‌ها در دو شرایط in vitro و in vivo و بررسی اثرات درمانی این ترکیبات در موش های صحرایی دیابتی تیپ 2

نگارش

سعید شیرعلی

استاد راهنما

دکتر سیده زهرا بطحایی

استاد مشاور

دکتر منوچهر نخجوانی

پاییز 1390

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

تقدیم به :

همسر عزیزم

روح مادرم

و خانواده هایمان

تقدیم به:

پسرم، فرزند دلبندم که وجودش روشنی بخش زندگیم است.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

تشکر و قدردانی

با تشکر از زحمات استاد گرانقدر **خانم دکتر بطحایی** همواره راهنمایم بودند و در محضر ایشان نکات آموزنده و ارزنده ای آموختم.

با تشکر و قدردانی از جناب **دکتر منوچهر نخجوانی** که از مشاوره و توانمندیهای علمی ایشان در انجام این رساله بهره فراوان بردم.

با تشکر و قدردانی از جناب دکتر **مهدی هدایتی** که از مشاوره و راهنمایی های علمی ایشان در انجام این رساله استفاده کردم.

با تشکر و قدردانی از ریاست دانشگاه آزاد واحد چالوس جناب دکتر **سام دلیری** که در دوران تحصیل از من حمایت کردند.

با تشکر از اساتید گرانقدر گروه بیوشیمی بالینی که در طول تحصیل از ایشان نکات علمی و اخلاقی فراوان آموختم.

با سپاس ویژه از دوستان عزیزم آقایان **مهدی بزرگی، علی مطاع، میثم سجادی ، حمید حیدرزاده، اصغر فرجزاده، محمد رضا عاشوری ، نجمه شجاعی، آدم خان علیپور، اکبر جعفرنژاد و حمیدرضا میری** که مرا در انجام این رساله یاری نمودند.

و با تشکر از کارشناسان محترم گروه خانم‌ها: **افشار نادری، اعتمادی کیا** .

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

چکیده

مقدمه: هدف از این مطالعه بررسی اثرات عصاره آبی زعفران، کروسین و ملازم های شیمیایی از دسته پلی‌ال‌ها بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم و ادرار در دیابت تیپ 2 القاء شده در موش‌های صحرایی با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه، موش‌های صحرائی نر نوزاد 2 تا 5 روزه ویستار آلبینو به طور تصادفی به گروه‌های سالم و بیمار بدون درمان و تحت درمان با عصاره آبی زعفران تقسیم شدند. برای القای دیابت نوع 2 ،STZ با دز 90 mg/kg body weight به صورت درون صفاقی (i.p) به موش‌های صحرایی نوزاد تزریق شد. سپس گروه‌های دیابتی با عصاره آبی زعفران با دو دز mg/kg body weight 150 و100 ، کروسین با دو دز mg/kg body weight 150 و100 بصورت تزریق درون صفاقی و پلی‌ال‌های گلیسرول و اینوزیتول بصورت 0/5% وزنی-حجمی در آب خوراکی تحت تیمار قرار گرفتند. مطالعه تا 5 ماه ادامه داشت.

نتایج و بحث: به دنبال تجویز تیمارها میزان مرگ و میر در رت‌های دیابتی تحت درمان کاهش معنی‌داری داشت. همچنین وزن رت‌های دیابتی تحت درمان در مقایسه با دیابتی‌های بدون درمان افزایش یافت ($P<0.001$) و به وزن رت‌های سالم نزدیک گردید. نتایج نشان داد که تجویز تیمارها سبب کاهش معنی‌داری در گلوکز ، HbA1c ، تری گلیسرید، کلسترول تام ، LDL ، استرس اکسیداتیو، کراتینوری و آلبومینوری در رت‌های دیابتی شد، در حالی که میزان و عملکرد HDL و نیز بیان hsp70 به طور معنی‌داری ($P<0.001$) افزایش یافت.

کلمات کلیدی: دیابت قندی، موش‌صحرایی، استرپتوزوتوسین، کروسین، عصاره آبی زعفران

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته 1

1-1- دیابت قندی 2

1-1-1- دیابت قندی نوع 2 2

1-1-2- مدل حیوانی دیابت نوع 2 3

1-1-3- محصولات نهایی گلیکه شدن(AGEs) 5

1-1-3-1- نحوه تشکیل AGEs 5

1-1-3-2- فاکتورهای موثر در تشکیل AGEs 7

1-1-3-3- انواع محصولات نهایی گلیکه شدن 8

1-1-3- محصولات نهایی گلیکه شدن(AGEs) 5

1-1-3-1- نحوه تشکیل AGEs 5

1-1-3-2- فاکتورهای موثر در تشکیل AGEs 7

1-1-3-3- انواع محصولات نهایی گلیکه شدن 7

1-1-3- محصولات نهایی گلیکه شدن(AGEs) 5

1-1-3-1- نحوه تشکیل AGEs 5

1-1-3-2- فاکتورهای موثر در تشکیل AGEs 7

1-1-3-3- انواع محصولات نهایی گلیکه شدن 7

1-1-3- محصولات نهایی گلیکه شدن(AGEs) 5

1-1-3-1- نحوه تشکیل AGEs 5

1-1-3-2- فاکتورهای موثر در تشکیل AGEs 7

1-1-3-3- انواع محصولات نهایی گلیکه شدن 8

1-1-3-4- عوارض گلیکه شدن وتشکیل AGE 9

1-1-3-5- عوارض گلیکه شدن در دیابت 11

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

1-1-3-6-گیرنده‌های AGEs 13
1-1-3-7- مهار گلیکه‌شدن. 14
1-2- استرس اکسیداتیو 17
1-2-1-آنزیمهای اصلی استرس اکسیداتیو 18
1-3- ملازم‌های مولکولی ، شیمیایی و فارماکولوژیکی 20
1-4- اجزاء تشکیل دهنده زعفران ، اثرات بالینی و بیوشیمیایی آن. 26
1-5- مروری بر مطالعات گذشته 33
1-6- هدف کلی از تحقیق حاضر 37
1-6-1-فرضیه‌های تحقیق 39
1-6-2- اهداف تحقیق 44
فصل دوم: مواد و روشها 46
2-1- مطالعات in vivo 47
2-1-1- تهیه عصاره آبی زعفران و کروسین در طی مطالعات 47
2-1-2- القاء دیابت نوع 2 در موش‌های صحرایی 48
2-1-3- گروه بندی موش‌ها برای درمان‌های مختلف 47
2-1-4- جمع‌آوری نمونه‌های سرم و ادرار 49
2-1-5- بررسی و سنجش شاخص های بیوشیمیائی 49
2-2- مطالعات in vitro 59
2-2-1- مطالعات الکتروفورز 60
2-2-2- مطالعات فلوریمتری 60
2-2- 3- مطالعات دورنگی دورانی 61
2-3- محاسبات آماری 61
فصل سوم : نتایج و یافته‌ها 62
3-1-مطالعات in vivo 63

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

3-1-1- میزان مرگ و میر در رت‌های دیابتی 63
3-1-2- تغییرات وزن رت‌ها 63
3-1-3- تغییرات گلوکز، HbA1c و AGE 64
3-1-4- تغییرات مقاوت به انسولین 66
3-1-5- مطالعه پروفایل لیپیدی 682
3-1-6- مطالعه عملکرد HDL 71
3-1-7- فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما 72
3-1-8- فعالیت آنتی‌اکسیدانی کبد 75
3-1-9- بیان HSP 70 78
3-1-10- عملکرد کلیه 79
3-2- مطالعات in vitro 76
3-2-1-مطالعات انجام گرفته بر روی پروتئین آلبومین 76
3-2-2-مطالعات انجام گرفته بر روی پروتئین هموگلوبین 78
3-2-3-مطالعات انجام گرفته بر روی پروتئین کلاژن 88
فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها 92
4-1-بحث نتایج in vivo 93
4-2-ارتباط و همبستگی بین داده های in vivo 101
4-3-بحث نتایج in vitro 106
4-4-نتیجه گیری نهایی 110
4-5-پیشنهادها 114
فهرست منابع 118
چکیده انگلیسی 134

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست جداول

جدول 1-1. مقایسه بین دیابت القاء شده نوزادی با دیابت نوع 2 انسانی 5
جدول 1-2. شیوه های مختلف مهار تجمع AGEs 16
جدول 1-3. انواع پروتئین‌های شوک حرارتی 21
جدول 1-4. اثرات ملازم ها در تصحیح تاخوردگی پروتئین‌ها 24
جدول 1-5. اجزای مهم زعفران 26
جدول 2-1. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز 53
جدول 2-2. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز 55
جدول 3-1. محتوای عناصر پروتئین آلبومین در حضور شپرون های شیمیائی 84
جدول 3-2. محتوای عناصر پروتئین هموگلوبین در حضور شپرون های شیمیائی 87
جدول 3-3. محتوای عناصر پروتئین کلاژن در حضور شپرون های شیمیائی 91
جدول 4-1. مقایسه اثرات ملازم ها بر پارامترهای مختلف 114
جدول 4-2. مکانیسم های پیشنهادی تیمارهای مورد مطالعه 115

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست نمودارها

نمودار 3-1. تغییرات وزن در گروه های مختلف رت‌های دیابتی و نرمال..... 64

نمودار 3-2. تغییرات پروفایل قندی در گروه های مختلف رت‌های دیابتی و نرمال..... 66

نمودار 3-3. تغییرات HOMA-IR در گروه های مختلف رت‌های دیابتی و نرمال..... 67

نمودار 3-4. تغییرات پروفایل لیپیدی در گروه های مختلف رت‌های دیابتی و نرمال..... 70

نمودار 3-5. تغییرات فعالیت آنزیم‌های LCAT و پاراکسوناز در گروه های مختلف..... 71

نمودار 3-6. تغییرات FRAP در گروه های مختلف رت‌های دیابتی و نرمال..... 73

نمودار 3-7. تغییرات AOPP در گروه های مختلف رت‌های دیابتی و نرمال..... 74

نمودار 3-8. تغییرات NO در گروه های مختلف رت‌های دیابتی و نرمال..... 75

نمودار 3-9. تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت کبد در گروه های مختلف..... 76

نمودار 3-10. تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه های مختلف..... 77

نمودار 3-11. تغییرات سطح گلوتاتیون در بافت کبد در گروه های مختلف..... 78

نمودار 3-12. تغییرات HSP 70 در گروه های مختلف رت‌های دیابتی و نرمال..... 79

نمودار 3-13. تغییرات میکروآلبومین‌یوریا و کراتینینوریا در ادرار و سرم..... 81

نمودار 3-14. درصد فلورسانس (%F) گلیکوفورها درانکوبه‌شدن آلبومین سرم انسانی..... 83

نمودار 3-15. طیف CD در محدوده Far-UV برای نمونه آلبومین سرم انسانی..... 84

نمودار 3-16. درصد فلورسانس (%F) گلیکوفورها درانکوبه‌شدن هموگلوبین..... 86

نمودار 3-17. طیف CD در محدوده Far-UV برای نمونه هموگلوبین..... 87

نمودار 3-18. درصد فلورسانس (%F) گلیکوفورها درانکوبه‌شدن کلاژن..... 90

نمودار 3-19. طیف CD در محدوده Far-UV برای نمونه کلاژن..... 91

نمودار 4-1. همبستگی بین نتایج AOPP وAGEs..... 102

نمودار 4-2. همبستگی بین نتایج HbA1c وAGEs..... 102

نمودار 4-3. همبستگی بین نتایج AOPP وNO..... 103

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

نمودار 4-4. همبستگی بین نتایج AGEs وTG 104
نمودار 4-5. همبستگی بین نتایج HDL وPON 105
نمودار 4-6. همبستگی بین نتایج HDL وLCAT 105

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست شکل ها

شکل 1-1. مکانیسم استرپتوزوتوسین در تخریب سلولهای بتای پانکراس 4

شکل 1-2. شمای مختصری از واکنشهای میلارد و تشکیل برخی انواع AGE 7

شکل 1-3. ساختمان شیمیایی انواع AGE 9

شکل 1-4. اتصال عرضی در پروتئین کلاژن 11

شکل 1-5. دخالت RAGE در مسیرهای التهابی در پاسخ به لیگاند 14

شکل 1-6. جایگاه های بالقوه مهار گلیکه شدن پروتئین توسط ترکیبات دارویی 17

شکل 1-7. واکنش کاتالیز شده توسط سوپراکسید دیسموتاز 18

شکل 1-8. واکنش کاتالیز شده توسط کاتالاز 19

شکل 1-9. اسمولیتها 24

شکل 1-10. اجزای تشکیل دهنده زعفران و نحوه سنتز آنها 28

شکل 1-11. ساختمان کروستین و کروسینها 26

شکل 2-1. اساس واکنش سنجش فعالیت آنزیم SOD 55

شکل 2-2. هیدرولیز سوبسترای نشان دار توسط LCAT 57

شکل 2-3. فعالیت LCAT در پلاسمای تازه 58

شکل 2-4. طرح الایزا ساندویچی رقابتی برای اندازه گیری HSP70 59

شکل 3-1. الگوی الکتروفورز ژل PAGE 10درصد نمونه آلبومین 82

شکل 3-2. الگوی الکتروفورز ژل PAGE 10 درصد نمونه پروتئین هموگلوبین 85

شکل 3-3. الگوی الکتروفورز ژل SDS- PAGE نمونه هموگلوبین 86

شکل 3-4. الگوی الکتروفورز ژل PAGE 10 درصد نمونه های پروتئین کلاژن 88

شکل 3-5. الگوی الکتروفورز ژل SDS- PAGE نمونه کلاژن 89

شکل 4-1. عوارض دیابت مرتبط با AGEs 94

شکل 4-2. میانکنش AGE با رسپتور RAGE 111

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فصل اول

مقدمه و
مروری بر مطالعات گذشته

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

1-1- دیابت قندی[1]

دیابت قندی یا شیرین یک اختلال متابولیسمی است که به دنبال کمبود کامل یا نسبی ترشح انسولین، یا اختلال درپاسخ دهی بافت‌های بدن به انسولین بوجود می‌آید. بیماران دیابتی به عوارض متعددی مستعد بوده از این رو، امید به زندگی در افراد مبتلا تنها دوسوم افراد معمولی است. ازدیاد مزمن قند خون نقش مهمی در آسیب‌زائی مشکلات دراز مدت این بیماران دارد، به طوری که بیمارانی که کنترل ضعیفی بر گلوکز خون دارند، بیشتر در خطر هستند. از این گذشته، به نظر می‌رسد که عوارض دیابت عمدتاً اندام هائی را تحت تاثیر قرار می‌دهد که سلول‌های آنها برای برداشت گلوکز وابسته به انسولین نمی‌باشند نظیر سیستم عصبی، کلیه‌ها و عروق خونی کوچک[1, 2] .

1-1-1-دیابت قندی نوع2 یا دیابت غیر وابسته به انسولین(NIDDM)[2]

دیابت نوع 2 یکی از شایع ترین و پیچیده ترین مشکلات جامعه امروز است، صدها میلیون نفر را در سراسر جهان تحت تاثیر قرار داده و مشکلات اقتصادی-اجتماعی جدی ایجاد نموده است[1]. پاتوژنز دیابت نوع 2 با سیر پیشرونده مقاومت به انسولین در کبد و بافتهای محیطی ، کاهش توده سلولهای β و نقص ترشح انسولین همراه می‌باشد[2]. افزایش دراز مدت[3] (مزمن) گلوکز در بیماری دیابت، علت اصلی اختلالات ثانویه میکروآنژیوپاتی و ماکروآنژیوپاتی و رتینوپاتی [3]، ضعف سیستم

[1] Diabetes mellitus
[2] Non-Insilin Dependent Diabetes Mellitus(NIDDM)
[3] Long term

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

دفاع آنتی اکسیدانی، ایجاد فشار اسمزی و همچنین اختلال متابولیسم و پروفایل لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها[4] می‌باشد. عوارض مذکور سبب آسیب به عملکرد فیزیکی و فیزیولوژیکی ارگانهای مختلف بدن شده و سلامتی انسان را تهدید می‌کند. در این میان، عوارض دیررس دیابت تیپ 2 از جمله نفروپاتی، رتینوپاتی، عوارض قلبی عروقی، نوروپاتی، زخم پوستی، افزایش فشارخون و افزایش وزن شایعتر بوده و تحقیقات بیشتری در مورد آنها صورت گرفته است. از جمله مکانیزم‌های پاتولوژیک دخیل در بروز عوارض متعدد ناشی از ازدیاد قند خون، گلیکه شدن پروتئین‌های بدن می‌باشد. فرآیند گلیکه شدن پروتئینی، عامل القاء تغییرشکل فضائی پروتئین‌های متصل شده به گلوکز بوده وموجب تغییر ساختار و درنتیجه عملکرد آنها می‌شود. لذا، بیماری دیابت جزء گروه بیماری‌های ساختاری[1] دسته بندی شده است. گلیکه شدن پروتئینهای ساختمانی و پروتئینهای در گردش خون، نتیجه اصلی بیوشیمیایی هیپرگلیسمی مزمن ناشی از بیماری دیابت تیپ 2 می‌باشد[5, 6] .

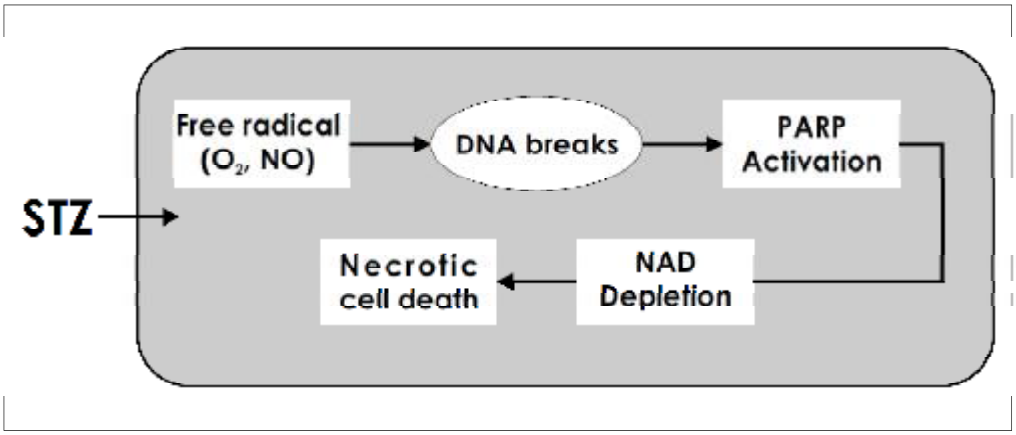
1-1-2- مدل حیوانی دیابت نوع 2

برای بررسی اختلالات مرتبط با گلیکه شدن پروتئینها در دیابت و بهبود عوارض دیابت از مدل حیوانی مشابه شرایط دیابت نوع 2 در انسان استفاده شد. برای القاء دیابت نوع 2 در موش های صحرایی چندین روش وجود دارد که با توجه به امکانات آزمایشگاه حیوانات، کارایی و تجربه بیشتردر آزمایشگاه، روش القاء دیابت نوع 2 با استرپتوزوتوسین مورد توجه قرار گرفت[7].

استرپتوزوتوسین در سلولهای بتای جزایر لانگرهانس مطابق شکل 1-1 با تولید یونهای کربونیوم بسیار واکنشگر موجب آلکیلاسیون بازهای DNA می‌شود. همچنین این ترکیب، با آسیب غشاء سلولهای بتای جزایر لانگرهانس و شکستن زنجیره های DNA منجر به فعال سازی آنزیم پلی ADP-ریبوز پلیمراز (PARP) و تخلیه NAD گردیده که در نهایت به مرگ سلولهای بتا ختم می‌شود[7].

[1] Conformational Diseases

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



شکل 1-1. مکانیسم استرپتوزوتوسین در تخریب سلولهای بتای پانکراس که همراه با کاهش ذخایر NAD مرگ این سلولها است[7].

مدل‌های حیوانی دیابت نوع 2 ممکن است به طریق ژنتیکی یا غیرژنتیکی ایجاد شوند[2, 8]:

1- مدل های ژنتیکی و ترانس ژنیک:

- ZDF(Zucher fatty rat)
- β-3 receptor knockout mouse
- UCP knockout mouse

2-مدل های غیر ژنتیکی:

مدل های غیر ژنتیکی ممکن است شیمیایی، تغذیه ای و یا با واسطه جراحی ایجاد شوند.تاکنون القاء مقاومت به انسولین بوسیله روشهای شیمیایی با تجویز آمیلین و پپتید وابسته به ژن کلسیتونین[9]، گلوکزآمین[10] ، سوکروز[11] ، غذای پرچرب[12] ، آلوکسان[13] و استرپتوزوتوسین گزارش شده است.

تاکنون چندین روش القاء مقاومت به انسولین با استرپتوزوتوسین[8] استفاده شده است.

1-القاء مقاومت به انسولین بادز کم استرپتوزوتوسین همراه با رژیم غذایی پرچرب[14]

2- القاء مقاومت به انسولین بااسترپتوزوتوسین همراه با نیکوتینامید در موش‌های صحرایی بالغ دوماهه[8]

3-القاء مقاومت به انسولین بااسترپتوزوتوسین / نیکوتین‌امید همراه با غذای پرچرب[15]

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

4- القاء مقاومت به انسولین باتجویز درون صفاقی استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی نوزاد [7, 16, 17]

با توجه به کارایی و کاربرد بیشتر، روش القاء دیابت نوع 2 با استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی نوزاد 2 تا 5 روزه، این روش در اینجا مورد استفاده قرارگرفت . این مدل حیوانی شباهت زیادی به مدل دیابت نوع 2 غیر چاق مشاهده شده در انسان دارد که در جدول 1-1 این دو با هم مقایسه شده اند [7].

جدول 1-1: مقایسه بین دیابت القاء شده نوزادی با استرپتوزوتوسین در موش صحرایی با دیابت نوع 2 انسانی[7]

Parameter	*Human Type 2 diabetes*	*n-STZ diabetes*
Pancreatic insulin	++	+ / -
Basal plasma glucose	++	++
Basal plasma insulin	++	+
Glucose tolerance	-	-
Insulin tolerance	++	- / +
Obesity - / +	-	
Diabetic complications	+	+

' + ' = Present; ' - ' = Absent

1-1-3- محصولات نهایی گلیکه شدن(AGEs)[1]

1-1-3-1- نحوه تشکیل AGEs

قنددار شدن پروتئینها یکی از تغییرات در ضمن[2] یا پس از ترجمه[3] است که شامل دو دسته آنزیمی و غیرآنزیمی می‌باشد. گلیکه شدن[4] طی فرایند غیرآنزیمی و بصورت غیر اختصاصی انجام می‌گیرد و متفاوت از گلیکوزیله شدن[5] می‌باشد. در گلیکوزیله شدن که بصورت آنزیمی و عمدتاً در دستگاه گلژی و شبکه اندوپلاسمی انجام می‌گیرد، مولکول های قند به صورت نوکلئوتیده فعال توسط

[1] Advanced Glycation End Products(AGEs)
[2] Co-Translational
[3] Post-Translational
[4] Glycation
[5] Glycosilation

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com