

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

پایان نامه جهت دریافت درجه ی دکتری حرفه ای داروسازی

عنوان:

بررسی سمیت داروی بواسیزومب در میتوکندری های ایزوله شده از قلب رت و

بررسی نقش کورکومین در مهار سمیت آن

استاد راهنما:

دکتر احمد سلیمی

نگارنده :

نیما شکوهی ثابت

دی ماه ۹۸

دکتر سلیمی عزیز

دلسوزی، تلاش و کوشش حضرتعالی در تعلیم و تربیت، انتقال معلومات و تجربیات ارزشمند در کنار برقراری رابطه صمیمی و دوستانه با دانشجویان و درک شرایط دانشجویان حقیقتاً قابل ستایش است. اینجانب بر خود وظیفه می‌دانم که در کسوت شاگردی از زحمات و خدمات ارزشمند شما استاد گرانقدر تقدیر و تشکر نمایم.

روح پدر بزرگووارم

پدرم، اگر چه اکنون در کنار من نیستی اما جایت همیشه در قلبم بوده و می‌دانم که می‌توانستم مایه افتخار تو باشم، چنان که تو همیشه باعث افتخار و سربلندی من بودی...

مادر فداکارم

وصف زحمات و از خودگذشتگی همیشگی تو که در هر مرحله از زندگی پشتیبان و مشوق من بودی در هیچ جمله‌ای نمی‌گنجد و اگر تو نبودی قطعاً من نیز در این جایگاه نبودم. دستان زحمتکش و پرمهت را می‌بوسم و از تو به خاطر تمام روزهایی که در کنارم بودی قدردانی می‌کنم.

همسر مهربانم

از وقتی وارد زندگی‌ام شدی، همیشه اشتیاق به تلاش بیشتر درتحصیل و کار را در خود دیدم. از تمام حمایت‌هایت تا این مرحله از زندگی‌ام سپاسگزارم و خداوند متعال را بابت این نعمت بزرگ شاکرم.

چکیده

مقدمه : بواسیزومب، اولین مهارکننده فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، به یکی از پرفروش ترین داروهای جهان تبدیل شده است. نارسایی قلبی در ۴/۴ درصد بیماران مبتلا به بواسیزومب دیده شده است. میتوکندری نقش مهمی در هموستاز بافت میوکارد دارد و خراب شدن عملکرد میتوکندری در نهایت منجر به مرگ سلول‌های قلبی و در نتیجه اختلال عملکرد قلبی عروقی خواهد شد.

مواد و روش ها :

هدف از مطالعه ما، جستجوی اثرات بواسیزومب بر میتوکندری قلب جدا شده موش و بررسی تأثیر کورکومین به عنوان یک ماده محافظتی میتوکندری و محافظت‌کننده قلبی است. میتوکندری قلب موش با لیز مکانیکی و سانتریفیوژ افتراقی جدا شد. با استفاده از ارزیابی‌های بیوشیمیایی و فلوسیتومتری، پارامترهای سمیت میتوکندری از جمله: فعالیت سوکسینات دهیدروژناز (SDH)، تورم میتوکندری، پتانسیل غشای میتوکندری (MMP)، فروپاشی، گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و پراکسیداسیون لیپید (LP) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج :

نتایج نشان داد که بواسیزومب (تا ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) باعث افزایش وابسته به غلظت و زمان در تشکیل ROS میتوکندری، فروپاشی MMP، تورم میتوکندری، پراکسیداسیون لیپیدها و مهار سوکسینات دهیدروژناز در میتوکندری قلب موش می‌شود. نتایج ما نشان داد که کورکومین (۱۰-۱۰۰ میکرومولار) سمیت میتوکندری ناشی از بواسیزومب را به طور قابل توجهی بهبود می‌بخشد.

بحث :

این نتایج نشان می‌دهد که اثرات قلبی ناشی از بواسیزومب با اختلال عملکرد میتوکندری و تشکیل ROS همراه است که در نهایت با فروپاشی MMP به پایان می‌رسد و تورم میتوکندری به عنوان "نقطه بی بازگشت" در آبشار

حوادث منتهی به آپوتوز. همچنین، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ترکیبی از درمان بواسیزومب با کورکومین می‌تواند اثرات میتوکندری این دارو را کاهش دهد.

واژه های کلیدی : بواسیزومب، سمیت قلبی، میتوکندری ایزوله شده، نارسایی قلبی، کورکومین، محافظت کننده قلب

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۱	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱- مقدمه و اهمیت موضوع
۴	۲-۱- قلب
۴	۱-۲-۱- مروری بر ساختار قلب
۶	۲-۲-۱- بیوشیمی و متابولیسم انرژی قلبی
۶	۱-۲-۲-۱- ATP و قلب
۷	۲-۲-۲-۱- فسفوکراتین و قلب
۷	۳-۲-۲-۱- مسیرهای متابولیک
۸	۳-۲-۱- پاسخ های سمی قلبی
۹	۱-۳-۲-۱- آریتمی قلبی
۱۰	۲-۳-۲-۱- هایپرتروفی قلبی
۱۱	۳-۳-۲-۱- نارسایی قلب
۱۱	۴-۳-۲-۱- سمیت قلبی حاد
۱۲	۵-۳-۲-۱- سمیت قلبی مزمن
۱۲	۴-۲-۱- دژنراسیون و رژنراسیون قلبی
۱۲	۱-۴-۲-۱- پاسخ های دژنراتیو میوکارد

- ۱-۲-۴-۲- اثرات سمی روی رژنراسیون میوکاردیال..... ۱۳
- ۱-۲-۴-۳- پاسخ های سمی برگشت پذیر و برگشت ناپذیر..... ۱۴
- ۱-۲-۴-۴- تولید گونه های اکسیژن فعال..... ۱۴
- ۱-۲-۵- مواد شیمیایی سمی قلبی..... ۱۵
- ۱-۲-۵-۱- الکل و کاردیومیوپاتی الکلی..... ۱۶
- ۱-۲-۵-۲- مواد شیمیایی دارویی..... ۱۷
- ۱-۲-۵-۳- داروهای اینوتروپیک..... ۱۹
- ۱-۲-۵-۴- داروهای عمل کننده در سیستم اعصاب مرکزی..... ۲۱
- کوکائین..... ۲۲
- ۱-۲-۵-۵- آنتراسایکلین ها و سایر عوامل آنتی نئوپلاستیک..... ۲۳
- ۱-۳- سمیت قلبی ناشی از داروها..... ۲۴
- ۱-۳-۱- مکانیزمها..... ۲۶
- ۱-۴- میتوکندری..... ۲۶
- ۱-۴-۱- عملکرد میتوکندری..... ۲۸
- ۱-۲-۴-۱- اختلال در عملکرد میتوکندری..... ۲۸
- ۱-۳-۴-۱- نقص عملکرد مولکولی میتوکندریایی..... ۲۸
- ۱-۴-۴- سمیت میتوکندریایی القا شده توسط دارو..... ۳۰
- ۱-۴-۵- مسئولیت میتوکندری در تهیه دارو و ارزیابی ایمنی..... ۳۱
- ۱-۵- محصولات طبیعی..... ۳۲

- ۳۳ ۱-۵-۱- مکمل های طبیعی و ناکارآمدی میتوکندریایی
- ۳۴ ۲-۵-۱- کورکومین
- ۳۶ ۱-۲-۵-۱- مکانیزم اثر
- ۴۱ ۲-۲-۵-۱- عوارض جانبی
- ۴۱ ۶-۱- بواسیزومب
- ۴۲ ۱-۶-۱- مکانیزم
- ۴۳ ۲-۶-۱- عوارض جانبی
- ۴۴ ۳-۶-۱- سمیت قلبی
- ۴۵ ۱-۴-۶-۱- افزایش فشار خون
- ۴۶ ۲-۴-۶-۱- نارسایی قلب مزمن
- ۴۷ ۳-۴-۶-۱- حوادث ترومبوآمبولی شریانی (ATEs)
- ۴۷ ۴-۴-۶-۱- وقایع ترومبوآمبولیک وریدی (VTEs)
- ۴۷ فصل دوم: مواد، دستگاهها و روشها
- ۴۹ ۱-۲- مواد شیمیایی
- ۵۰ ۲-۲- تجهیزات و وسایل
- ۵۶ ۳-۲- حیوانات
- ۵۶ ۴-۲- روش اجرا و انتخاب نمونه
- ۵۶ ۱-۴-۲- ساخت کوماسی بلو

۵۷	۲-۴-۲- ساخت غلظت های مختلف از ماده سمی (بواسیزومب).....
۵۷	۳-۴-۲- آماده سازی بافرها.....
۶۰	۴-۴-۲- روش آماده سازی میتوکندری از قلب.....
۶۱	۵-۴-۲- روش بردفورد.....
۶۳	۶-۴-۲- سنجش فعالیت سوکسینات دهیدورژناز میتوکندری.....
۶۳	۷-۴-۲- سنجش تولید رادیکال های فعال اکسیژن.....
۶۴	۸-۴-۲- تعیین تورم میتوکندری.....
۶۴	۹-۴-۲- تعیین فروپاشی MMP.....
۶۵	۱۰-۴-۲- اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدی.....
۶۵	فصل سوم : نتایج
۶۸	۱-۳- اندازه گیری فعالیت سوکسینات دهیدورژناز.....
۷۰	۲-۳- کمیّت سنجی تشکیل ROS میتوکندریایی.....
۷۲	۳-۳- تعیین تورم میتوکندری.....
۷۴	۴-۳- تعیین فروپاشی MMP.....
۷۶	۵-۳- پراکسیداسیون لیپید.....
۷۶	فصل چهارم : بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات
۷۹	۱-۴- نتیجه گیری و بحث.....
۸۰	۲-۴- نتایج نهایی.....

۴-۴- محدودیت‌ها..... ۸۱

فهرست منابع و مآخذ..... ۸۲

فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
۴۹	جدول (۱-۲) مواد شیمیایی.....
۵۱	جدول (۲-۲) تجهیزات و وسایل.....
۵۷	جدول (۳-۲) بافر ایزولاسیون.....
۵۸	جدول (۴-۲) بافر MTT.....
۵۸	جدول (۵-۲) بافر تورم.....
۵۹	جدول (۶-۲) بافر تنفسی.....
۵۹	جدول (۷-۲) بافر MMP.....

فهرست نمودارها و شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل (۱-۱) آناتومی پایه قلب	۴
شکل (۲-۱) تشکیلات ساختاری بافت عضله قلب.....	۶
شکل (۵-۱) مدل تحلیلی مثلثی از پاسخهای قلبی به داروها و زنبیوتیک‌ها.....	۹
شکل (۹-۱) اثرات احتمالی داروها روی عملکرد میتوکندری	۳۱
شکل (۱۰-۱) اثر داروها و زنبیوتیک‌های محیطی روی عملکرد میتوکندری از طریق تأثیرگذاری بر اهداف مختلف	۳۲
شکل (۱۱-۱) لیست تعدادی از ترکیبات طبیعی استفاده شده توسط پزشکان برای درمان نقص عملکرد میتوکندری.....	۳۴
شکل (۱۲-۱) فعالیتهای بیولوژیکی متعدد زردچوبه / کورکومین	۴۱
شکل (۱۳-۱) داروهای اختصاصی رسپتور تیروزینکیناز با هشدارهای FDA یا گزارشهای منتشرشده از بیماری قلبی احتمالی.....	۴۴
شکل (۱۴-۱) تظاهرات قلبی عروقی دسته‌های مختلف داروهای شیمی درمانی	۴۴
شکل (۱۴-۱) سمیت قلبی بواسیزومب موجود در رژیم‌های درمانی در فاز ۳ کارآزماییهای بالینی.....	۴۸
شکل (۱-۲) سانتریفیوژ یخچال دار	۵۲
شکل (۲-۲) دستگاه ELISA reader.....	۵۲
شکل (۳-۲) CO ₂ انکوباتور.....	۵۳
شکل (۳-۳) PH متر.....	۵۳
شکل (۴-۳) بن ماری.....	۵۴
شکل (۴-۴) مولد آب مقطر.....	۵۴

شکل (۴-۵) ترازوی دقیق آزمایشگاهی..... ۵۵

شکل (۵-۵) ورتکس..... ۵۵

شکل (۲-۲) عملیات بیهوشی، جداسازی قلب رت و آماده سازی میتوکندری..... ۶۱

شکل (۳-۱) اثر بواسیزومب بر فعالیت سوکسینات دهیدروژناز و اثر محافظت کننده کورکومین..... ۶۹

شکل (۳-۲) اثر بواسیزومب بر تشکیل ROS و اثر محافظتی کورکومین..... ۷۱

شکل (۳-۳) تأثیر بواسیزومب بر تورم میتوکندری..... ۷۳

شکل (۳-۴) تأثیر بواسیزومب بر تورم میتوکندری و اثر محافظت کننده کورکومین..... ۷۳

شکل (۳-۵) اثر بواسیزومب بر MMP و اثر حفاظتی کورکومین..... ۷۵

شکل (۳-۶) القای پراکسیداسیون لیپیدها در میتوکندری جدا شده و پس از انکوباسیون با بواسیزومب و اثر محافظتی

کورکومین..... ۷۷

AA : Arachidonic Acid

ACM : Alcoholic Cardiomyopathy

ADR : Adverse Drug Reaction

ATE : Arterial Thromboembolism

ATP : Adenosine Triphosphate

BSA : Bovine Serum Albumin

CHF : Chronic Heart Failure

CK : Creatine Kinase

CNS : Central Nervous System

DCFH-DA : 2',7'-Dichloro-dihydro-fluorescein diacetate

DNA : Deoxyribonucleic acid

ECG : Electrocardiography

ECM : Extracellular Matrix

EFSA : European Food Safety Authority

EGTA : Ethylene Glycol-bis(β -aminoethyl ether)-N,N,N',N'-Tetraacetic Acid

ETC : Electron Transport Chain

FA : Fatty Acid

GBM : Glioblastoma

GSH : Glutathione peroxidase

HTN : Hypertension

JECFA : Jointly by the Food and Agriculture Organization of the United Nations

LV : Left Ventricle

MHC : Myosin Heavy Chain

MLC : Myosin Light Chain

MMP : Matrix metalloproteinases

MOPS : (3-(N-morpholino)propanesulfonic acid)

MPT : Mitochondrial Permeability Transition

MPTP: Mitochondrial permeability transition pore

mtDNA : Mitochondrial DNA

MTT : Measures the reduction of a Tetrazolium component

NADH : Nicotinamide Adenine Dinucleotide

Pcr : Phosphocreatine

Pi : inorganic phosphate

PAI-1 : Plasminogen Activator Inhibitor-1

SDH : Succinate dehydrogenase

SOD : Superoxide Dismutase

TCA : Trichloroacetic acid

TCA : Tricyclic antidepressant

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha

VTE : Venous Thromboembolism