

الله
الرحمن الرحيم
الحق



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشکده داروسازی

پایان نامه جهت دریافت دکتری عمومی داروسازی

عنوان:

اتصال شیمیایی مونوکلونال آنتی بادی ریتوکسیمب و آنزیم اسپاراژیناز جهت

بررسی اثر سایتوتوکسیک آن بر روی سلول‌های ALL

استاد راهنما:

دکتر محمد جوهری

استاد مشاور:

دکتر مجتبی امانی

نگارنده:

حافظ اسکندرپور

مرداد ۱۳۹۹

تقدیر و تشکر

تقدیم به پدر و مادر عزیزم که شیرینی لحظات زندگی را مدیون وجود آنها هستم و بی شک بدون آنها پیمودن راه زندگی بسیار ممکن می‌نمود.

با تشکر از استاد بزرگوام جناب آقای دکتر محمد جوهری، که با انتقال معلومات و تجربیات ارزشمند و در سایه حمایت، دلگرمی و تشویق های ایشان، توانستم گامی در جهت کسب علم و دانش و رسیدن به اهدافم بردارم. دانشمند بزرگی که علاوه بر کسب علم، درس تلاش، امید، صبر و پشتکار را در محضرشان آموختم و قطعاً شاگردی ایشان از افتخارات زندگی علمی ام می باشد.

با تشکر از اساتید گرانقدرم در دانشکده داروسازی اردبیل نه تنها در طی انجام این پروژه، بلکه در طول دوره تحصیل همواره با سعه صدر و دلسوزی راهگشای من بودند و همیشه از راهنمایی های ارزشمند و خردمندانه ایشان بهره بردم.

چکیده

مقدمه

سرطان یکی از اصلی‌ترین عوامل مرگ و میر در جهان محسوب می‌شود. از میان سرطان‌های شناخته شده در جهان، سرطان خون یکی از شایع‌ترین و مهم‌ترین آنها به شمار می‌آید. در سال‌های اخیر با کشف داروهای جدید، شیمی‌درمانی سرطان خون میسر گشته است ولی داروهای شیمی‌درمانی به دلیل گزینشگری پایین عوارض بالایی را از خود نشان می‌دهند. برای حل این مشکل داروی اسپاراژیناز با داروی منوکلونال آنتی‌بادی ریتوکسیمب از طریق یک لینکر کنژوگه شد و انتظار می‌رفت با این کار مشکل کینتیکی داروی اسپاراژیناز حل و گزینش‌گری آن افزایش یابد

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ابتدا مونوکلونال آنتی‌بادی ریتوکسیمب توسط لینکر مناسب از طریق تشکیل پیوند کووالانسی (آمیدی) با آنزیم اسپاراژیناز کنژوگه شد و سپس خصوصیات فیزیکوشیمیایی و عملکردی کنژوگه اسپاراژیناز-ریتوکسیمب، توسط روش‌های میکروسکوپی و بیولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. جهت اثبات اثر کنژوگه بر روی سلولهای لوسمی لنفوسایتیک حاد، تستهای تعیین میزان کشندگی انجام و با گروه‌های کنترل مقایسه گردید.

نتایج و نتیجه‌گیری

با استفاده از لینکر مناسب کنژوگاسیون اسپاراژیناز و ریتوکسیمب انجام شد و در مقایسه با گروه کنترل اسپاراژیناز-ریتوکسیمب توانست اختصاصی عمل کند. البته پیشنهاد می‌گردد در کارهای آینده مطالعات حیوانی صورت گیرد تا کینتیک داروها با دقت بیشتری مورد ارزیابی قرار گیرد. در مطالعات دیگری می‌توان با مدل‌های حیوانی اثر بخشی این ترکیب جدید را مورد بحث و بررسی قرار داد.

واژه‌های کلیدی: ریتوکسیمب، اسپاراژیناز، کنژوگاسیون، ALL، CD20

فهرست مطالب

ت	چکیده
۱	فهرست مطالب
۴	فهرست جداول
۵	فهرست شکل‌ها
۷	۱ - فصل اول: مقدمه
۷	۱ - ۱ - بیان مسئله و اهمیت موضوع
۷	۱ - ۱ - ۱ - ریتوکسیمب
۹	۱ - ۱ - ۲ - آنزیم ال-آسپاراژیناز
۱۱	۱ - ۱ - ۳ - فلسفه انتخاب داروی ال-آسپاراژیناز
۱۱	۱ - ۱ - ۴ - کونژوگه دارو-آنتیبادی
۱۲	۱ - ۱ - ۵ - مشخصه یابی کونژوگه دارو-آنتی بادی پس از سنتز
۱۳	۱ - ۱ - ۶ - مکانیسم عملکرد کونژوگه دارو-آنتیبادی
۱۴	۱ - ۱ - ۷ - اتصال گزینشی دارو به آنتی بادی
۱۵	۱ - ۱ - ۸ - لینکرهای کونژوگه دارو-آنتیبادی
۱۸	۱ - ۱ - ۹ - لینکر DSP
۲۱	۱ - ۱ - ۱۰ - سرطان خون
۲۲	۱ - ۱ - ۱۱ - بررسی آپوپتوز سلولی
۲۴	۱ - ۲ - بررسی متون:
۲۴	۱ - ۳ - اهداف و فرضیات

۲۴	۱ - ۳ - ۱ - اهداف کلی:
۲۴	۱ - ۳ - ۲ - اهداف اختصاصی:
۲۵	۱ - ۳ - ۳ - اهداف کاربردی:
۲۷	۲ - فصل دوم: مواد و روش‌ها
۲۷	۲ - ۱ - معرفی‌ها و مواد شیمیایی
۲۸	۲ - ۲ - دستگاها
۲۸	۲ - ۳ - طرح مطالعه
۲۸	۲ - ۴ - حجم نمونه
۲۹	۲ - ۵ - ملاحظات اخلاقی
۲۹	۲ - ۶ - سنتز کنژوگه آنتی بادی-دارو
۲۹	۲ - ۶ - ۱ - اتصال آنتی بادی ریتوکسیمب به آنزیم اسپاراژیناز
۲۹	۲ - ۷ - ۱ - مشخصه یابی کنژوگه ریتوکسیمب و اسپاراژیناز
۲۹	۲ - ۷ - ۲ - ۱ - تهیه ژل الکتروفورز SDS-PAGE
۳۱	۲ - ۷ - ۲ - ۲ - بررسی پراکندگی نوری دینامیکی (DLS)
۳۱	۲ - ۸ - ۱ - تست های سلولی و کنژوگه ریتوکسیمب_اسپاراژیناز
۳۱	۲ - ۸ - ۲ - ۱ - آماده سازی سلول های ALL
۳۲	۲ - ۸ - ۲ - ۲ - تیمار سلول های خونی ALL با داروها
۳۴	۲ - ۸ - ۳ - تهیه لام و تثبیت سلول ها بر روی لام تهیه شده
۳۹	۳ - فصل سوم: نتایج و بحث
۳۹	۳ - ۱ - مشخصه یابی کنژوگه ریتوکسیمب-اسپاراژیناز

۳ - ۱ - ۱ - الکتروفورز کنژوگه ریتوکسیمب-آسپاراژیناز..... ۳۹

۳ - ۱ - ۲ - بررسی پراکندگی نوری دینامیکی (DLS)..... ۴۱

۳ - ۲ - بررسی میزان تأثیر داروها بر سلولهای ALL..... ۴۳

۳ - ۳ - بحث..... ۵۳

۳ - ۴ - نتیجه گیری..... ۵۷

۳ - ۵ - پیشنهادات:..... ۵۷

فهرست جداول

- جدول ۱-۲ مشخصات مواد شیمیایی به کار رفته..... ۲۷
- جدول ۲-۲ مشخصات دستگاه ها و وسایل آزمایشگاهی به کار رفته..... ۲۸
- جدول ۳-۲ مواد لازم جهت تهیه ۵ میلی لیتر ژل متراکم کننده:..... ۳۰
- جدول ۴-۲ مواد لازم جهت تهیه ۱۰ میلی لیتر ژل جداکننده:..... ۳۰
- جدول ۵-۲ روش تهیه بافر لود کننده (5X)..... ۳۱
- جدول ۶-۲ مواد لازم جهت تهیه بافر الکتروفورز..... ۳۱

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۰: ساختار و نحوه عملکرد داروی ریتوکسیمب 22