بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم پزشکی و
خدمات بهداشتی درمانی استان اردبیل

پایان نامه جهت دریافت درجه‌ی دکتری حرفه‌ای داروسازی

عنوان:

بررسی اثر حفاظتی الاجیک اسید در مهار سمیت عصبی ایجاد شده توسط IFA در موش صحرایی

اساتید راهنما:

دکتر احمد سلیمی

نگارش:

حسین محمدی

فروردین ۱۴۰۱

شماره پایان نامه: د-۱۱۶

تقدیم

این پایان نامه تقدیم می‌شود به :

پدر و مادر گرانقدرم.

تشکر و قدردانی

از استاد بزرگوار و دانشمند گرانقدر جناب آقای دکتر احمد سلیمی که به عنوان استاد راهنما با حمایت هایشان مایه دلگرمی بنده بودند بسیار متشکرم. منش ایشان مصداق منش دانشمندی واقعیست که الگوی بنده در کردار و منش آکادمیک بوده و بنده همواره قدر دان ایشان هستم.

همچنین از تمامی دوستان، همکلاسی‌ها و تمام کسانی که مرا در انجام این تحقیق یاری کردند کمال تشکر را دارم.

چکیده:

مقدمه: IFA یک داروی ضد نئوپلاستیک پرمصرف با اثربخشی وسیع در برابر انواع مختلف سرطان است. با این حال، سمیت عصبی، سمیت قلبی، سمیت کبدی، سمیت کلیوی و سمیت خونی مرتبط با IFA، استفاده از آن را محدود کرده است. هدف از مطالعه حاضر تعیین اثرات پیشگیرانه الاجیک اسید در برابر سمیت سیستم عصبی مرکزی القا شده با IFA در موش صحرایی و تعیین تغییرات هیستوپاتولوژیک، عصبی-شیمیایی، میتوکندری و وضعیت پارامترهای اکسیداتیو در بافت مغز بود.

مواد و روش‌ها : موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به چهار گروه، گروه کنترل،گروه IFA، گروه IFA + الاجیک اسید و گروه الاجیک اسید تقسیم شدند. الاجیک اسید (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی) یک بار در روز به مدت ۲ روز متوالی به موش‌ها تجویز شد. IFA با دوز 500 mg/kg به‌صورت داخل صفاقی در روز سوم تجویز شد.

نتایج : نتایج ما نشان داد که الاجیک اسید به طور معناداری فعالیت استیل کولین استراز (AChE) و بوتریل کولین استراز (BChE) را کاهش می‌دهد. همچنین الاجیک اسید پراکسیداسیون لیپیدی و احیا گلوتاتیون (GSH) ناشی از IFA را بهبود بخشید، تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت‌های مغزی ناشی از IFA پس از تجویز الاجیک اسید کاهش یافت. علاوه بر این تمام پارامترهای سمیت میتوکندری ناشی از IFA در بافت مغز موش توسط الاجیک اسید بهبود یافتند.

نتیجه گیری: در نهایت نتایج ما نشان داد که الاجیک اسید اثر حافظتی بر سمیت عصبی حاد ناشی از IFA را از طریق محافظت میتوکندری و خواص آنتی اکسیدانی نشان می‌دهد.

کلیدواژه: آلاجیک اسید، سمیت عصبی، موش صحرایی

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه ۱

۱-۱- مقدمه و بیان مسئله ۲

۱-۲- نوروتوکسین‌ها ۳

۱-۲-۱ نوروتوکسین‌های انتخابی و سمیت عصبی هدفمند ۳

۱-۲-۲- سرطان و سمیت عصبی ایجاد شده توسط سرطان ۵

۱-۳- IFA ۷

۱-۴- سمیت سلولی و عصبی IFA ۷

۱-۴-۱-فارماکوکنتیک IFA ۸

۱-۴-۲- سنتز و شیمی فیزیک IFA ۹

۱-۴-۳- استفاده بالینی IFA ۱۰

۱-۴-۴- IFA و انسفالوپاتی ۱۱

۱-۴-۵- علائم و نشانه‌های سمیت عصبی توسط IFA ۱۲

۱-۴-۶- زمانبندی بروز انسفالوپاتی ۱۳

۱-۴-۷- مدیریت انسفالوپاتی ۱۴

۱-۴-۸- الکتروانسفالوگرام در انسفالوپاتی IFA ۱۵

۱-۴-۹- ریسک فاکتورهای انسفالوپاتی ۱۷
۱-۴-۱۰-نوموگرام Meanwell در پیشبینی انسفالوپاتی ۱۷
۱-۴-۱۱- تأثیر بیماری زمینه‌ای در سمیت عصبی IFA ۱۸
۱-۴-۱۲- اتیولوژی آنسفالوپاتی ناشی از IFA ۱۸
۱-۴-۱۳-۱ مسنا و سمیت عصبی ۱۹
۱-۴-۱۳-۲ متابولیت‌های مهم IFA : کلرواستالدئید و دکلرواتیلاسیون ۱۹
۱-۴-۱۴- آزیریدینو IFA ۲۰
۱-۴-۱۵- ۴ -هیدروکسی فسفامید ۲۱
۱-۵- عوامل آلکیله کننده و IFA ۲۱
۱-۶- گلوتاتیون و IFA ۲۴
۱-۷- نقش BChE و AChE در سمیت عصبی القا شده با IFA ۲۵
۱-۸- متیلن بلو و سمیت IFA ۲۶
۱-۹- ترکیبات گیاهی و کاربرد آن‌ها در درمان بیماری‌ها ۲۷
۱-۹-۱- عملکردهای بیولوژیک الاجیک اسید ۲۸
۱-۹-۲- تشکیل بیولوژیک و عملکرد ROS ۲۹
۱-۹-۳- سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی در مدیریت ROS ۳۲
۱-۹-۴- نقش فیتوکیمیکال‌های فنولی در مدیریت دفاع آنتی اکسیدانی ۳۵
۱-۹-۵- عملکرد بیولوژیکی فیتوکیمیکال‌های فنلی ۳۹

۱-۹-۶- عملکردهای بیولوژیکی الاجیک اسید ۴۱
۱-۱۰- بررسی متون ۴۳
۱-۱۱- اهداف و فرضیات ۴۶
۱-۱۱-۱- هدف کلی: ۴۶
۱-۱۱-۲- اهداف اختصاصی: ۴۶
۱-۱۱-۳- هدف کاربردی: ۴۷
۱-۱۱-۴- فرضیات تحقیق: ۴۷
فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها ۴۸
۲-۱ مواد شیمیایی ۴۹
۲-۲- تجهیزات و وسایل مورد مطالعه ۵۰
۲-۳- بافرها و شناساگرها و ترکیبات آن‌ها ۵۱
۲-۳-۱- معرف کوماسی بلو (معرف برادفورد) ۵۱
۲-۳-۲- تهیه بافرها ۵۴
۲-۴- حیوانات مورد مطالعه ۵۸
۲-۵- مراحل استخراج میتوکندری از مغز موش ۵۹
۲-۶- اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز ۶۰
۲-۷-سنجش میزان تورم میتوکندری ۶۰
۲-۸- اندازه گیری تولید ROS میتوکندریایی ۶۱

۲-۹- سنجش میزان سقوط پتانسیل غشاء میتوکندری ۶۲

۲-۱۰- سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی ۶۳

۲-۱۱- اندازه گیری فعالیت آنزیم بوتریل کولین استراز و استیل کولین استراز ۶۴

۲-۱۲- اندازه گیری گلوتاتیون احیا شده (GSH) و دی سولفید اکسید شده (GSSG) ۶۵

فصل ۳: نتایج ۶۶

۳- ۱- اثرات الاجیک اسید بر تغییرات القا شده با IFA در پراکسیداسیون لیپیدی میتوکندریایی ۶۷

۳-۲- اثر الاجیک اسید بر تغییرات القا شده با IFA برمیزان GSH. ۶۸

۳-۳- اثر الاجیک اسید بر تغییرات القا شده با IFA برمیزان GSSG. ۶۹

۳-۴- الاجیک اسید فعالیت سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی را در مغز موش‌های تحت درمان با IFA افزایش داد. ۷۰

۳-۵- الاجیک اسید افزایش تشکیل ROS میتوکندریایی القا شده با IFA را کاهش داد..... ۷۱

۳-۶- اثرات الاجیک اسید بر تغییرات القاشده با IFA در تورم میتوکندریایی ۷۲

۳-۷- الاجیک اسید تغییر پتانسیل غشای میتوکندریایی القا شده با IFA راتعدیل کرد..... ۷۳

۳-۸- اثرات الاجیک اسید بر تغییرات القاشده با IFA بر فعالیت BChE ۷۴

۳-۹- اثرات الاجیک اسید بر تغییرات القاشده با IFA بر فعالیت AChE ۷۶

۳-۱۰- اثرات الاجیک اسید بر تغییرات هیستوپاتولوژیک ناشی از IFA در مغز موش صحرایی ۷۷

فصل ۴: بحث و نتیجه گیری ۷۸

۴-۱- بحث ۷۹

۴-۲- نتیجه گیری ۸۳

منابع ۸۴

فهرست شکل‌ها

عنوان صفحه

شکل ۱-۱ نمایی شماتیک از سمیت عصبی القا شده با IFA ۸

شکل۱-۲ سنتز IFA ۱۰

شکل۱-۳ ساختار خردل‌های گوگردی و نیتروژنی (nitrogen mustar) ۲۲

شکل۱-۴ ساختار سیکلوفسفامید، IFA و مشتقات آن. ۲۴

شکل. ۱-۵. مکانیسم‌های بیولوژیکی برای تشکیل گونه‌های واکنش پذیراکسیژن.. ..... ۳۰

شکل ۱-۶. بیماری زایی واسطه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ۳۲

شکل۱-۷. پاسخ‌های سازگار بیولوژیکی برای مدیریت استرس اکسیداتیو ۳۳

شکل. ۱-۸. پاسخ دفاعی آنتی اکسیدانی ۳۴

شکل۱-۹. بیوسنتز فیتوکیمیکال‌های فنلی ۳۷

شکل۱-۱۰. فنولیک ساده، بیفنیل، فلاونوئیدها و تانن‌های رایج در گیاهان ۳۸

شکل (۲-۱) غلظت‌های لود شده BSA به همراه معرف کوماسی بلو ۵۳

نمودار (۲-۱) میزان جذب غلظت‌های مختلف آلبومین ۵۴

شکل (۲-۲) آنزیم سوکسینات دهیدروژناز واقع در غشای میتوکندری ۵۶

شکل (۲-۳) تورم میتوکندریایی ۶۱

شکل (۲-۴) ارتباط ROS و پراکسیداسیون لیپیدی که منجر به مرگ سلولی می‌شود. ۶۳

شکل ۳-۱.مقایسه نتایج فعالیت پراکسیداسیون لیپدی بین گروه‌های مختلف. ۶۷

شکل ۳-۲-.مقایسه نتایج احیا گلوتاتیون بین گروه‌های مختلف.. ..... ۶۹

شکل ۳-۳-.مقایسه نتایج اکسیداسیون گلوتاتیون بین گروه‌های مختلف. ۷۰

شکل۳-۴- مقایسه نتایج فعالیت سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری بین گروه‌های مختلف..... ۷۱

شکل ۳-۵- مقایسه میانگین شدت فلورسانس DCF بین گروه‌های مختلف. ۷۲

شکل ۳-۶- مقایسه نتایج تورم میتوکندری بین گروه‌های مختلف..... ۷۳

شکل ۳-۷- مقایسه میانگین شدت فلورسانس رودامین ۱۲۳ بین گروه‌های مختلف..... ۷۴

شکل ۳-۸- تحلیل آماری فعالیت BChE ۷۵

شکل ۳-۹- تحلیل آماری فعالیت AChE..... ۷۶

شکل ۳-۱۰- یافته‌های هیستوپاتولوژیک بافت مغز. ۷۷

فهرست جدول‌ها

عنوان صفحه

جدول ۱-۱. درجه هوشیاری طبق نظر WHO ۱۳

جدول ۱-۲معیارهای نورولوژیک سمیت عصبی و درجه بندی آن ۱۵

جدول۱-۳ درجه بندی Meanwell از ناهنجاری‌های EEG با مصرف ایفوسفامید.....۱۶

جدول(۲-۱) مواد شیمیایی به کار رفته ۴۹

جدول (۲-۳) محتویات محلول کوماسی بلو..... ۵۲

جدول (۲-۵) محتویات بافر ایزولاسیون..... ۵۵

جدول (۲-۶) محتویات بافر تورم ۵۵

جدول (۲-۷)محتویات بافر MTT ۵۶

جدول (۲-۸) محتویات بافر MMP..... ۵۷

فهرست اختصارات و اصطلاحات

AChE: Acetylcholinesterase

BChE: Butrylcholinesterase

EA: EllagicAcid

IFA: Ifosfamide

DHAR: Dehydroascorbate Reductase

DNA: DeoxyriboNucleic Acid

GPx : Glutathione Peroxidase

GSH : Glutathione

MAPT: Microtubule-Associated Protein Tau gene

MDHA: Mono Dehydroascorbate

MMP : Mitochondrial Membrane Protentional

MPT : Mitochondrial Permeability Transition

MPTP : Mitochondrial Permeability Transition pore

NADH : Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) + hydrogen (H)

NADPH : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphide

NF-κB : Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

NT: Neuro Transmiter

NBP : Nitrobenzyl-pyridine

OMM : Outer Mitochondrial Membrane

RH123 : Rhodamine 123

ROS : Reactive Oxygen Species

SCARB1: Scavenger Receptor Class B member 1

SDH : Succinate Dehydrogenase

SOD : Superoxide Dismutase

TBA : Thiobarbituric acid

TBI : Traumatic Brain Injury

TCA : Trichloroacetic acid

TG : Triglyceride

TNF-α : Tumor Necrosis Factor alpha

TLRs: Toll-Like Receptors