دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده داروسازی

پایان‌نامه‌ی رساله‌ی دکتری عمومی داروسازی

عنوان:

بررسی اثر محافظتی سسامین بر سمیت قلبی ناشی از کتامین در موش صحرایی نر

استاد راهنما

دکتر احمد سلیمی

نگارش

دنیز بیرامی

شماره پایان نامه: د-۱۴۱

مهر ۱۴۰۱

اهداء پایان‌نامه

منّت خدای را عز و جل که طاعتش موجب قربت است و به شکر اندرش مزید نعمت.

اکنون پس از گذشتن سال‌ها از اولین باری که قدم در این مسیر نهادم به گذشته خود می‌نگرم و وظیفه خود می‌دانم از پدر و مادرم، این دو نازنین انسان و استاد عزیزم آقای دکتر سلیمی که بی‌شک بدون حمایت‌های بی‌دریغ ایشان، بنده حقیر در جایگاه امروزی قرار نداشتم تشکر کنم. از استاد گرامی خود سپاس‌گزارم که با باز کردن پنجره ی جدید علم‌جویی بر روی من دیدگاه م را نسبت به زندگی عوض کردند. تا ابد مدیون لطف بزرگ ایشان هستم. مانند هزاران بار دیگر، خداوند ، معمار این هستی را شکر می‌گویم که انسان‌های مهربان و پرمرحمت را در مسیر زندگانی من قرار داد و من را از بین میلیاردها انسان دیگر فرزند ایشان انتخاب کرد.

این پایان‌نامه را به استاد و پدر و مادر عزیزم اهدا می‌کنم.

تشکر و قدردانی

استاد گرامی جناب آقای دکتر احمدی سلیمی

خداوند متعال به دانشکده داروسازی اردبیل و دانشجوهای آن لطف بزرگی کرد که از حضور جناب عالی در مجموعه اش بهره مند شده است. استاد عزیزم، از شما سپاس‌گزارم که راهنمایی این پایان‌نامه را برعهده گرفتید و بنده را از دانش خود بهره مند ساختید. به راستی که شما نه تنها استاد علم بلکه استاد اخلاق نیز هستید. از تمام زحماتی که برای اینجانب کشیدید سپاس‌گزرام. از خداوند متعال صحت، آرامش و شادکامی می‌خواهم.

چکیده

مقدمه: کتامین یک آنتاگونیست گیرنده NMDA است که به عنوان ماده بیهوش‌کننده مورد استفاده قرار می‌گرفت و امروزه کاربردهای جدیدی مانند درمان افسردگی، تسکین درد و ... پیدا کرده است. از شایع‌ترین عوارض جانبی کتامین می‌توان به عوارض عصبی، قلبی و عروقی و کبدی اشاره کرد. گزارش شده است که کتامین در پستانداران سمیت قلبی ایجاد می‌کند و از طریق ایجاد اختلال در میتوکندری‌های قلبی باعث تخلیه ATP از کاردیومیوسیت‌ها می‌شود. به دلیل نیاز بالای قلب به انرژی، تغییر در عملکرد میتوکندری موجب ایجاد استرس اکسیداتیو، التهاب و سمیت سلول‌های قلبی می‌شود. در نتیجه ترکیبات طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و محافظت از میتوکندری می‌توانند نقش موثری در کاهش سمیت قلبی ناشی از کتامین که به دلیل اختلال در عملکرد میتوکندری اتفاق می‌افتد ایفا کنند. سیسام اویل (روغن کنجد) سرشار از انواع لیگنان‌ها است که گروهی از ترکیبات فنولی فعال هستند. این لیگنان‌ها به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در کاهش استرس اکسیداتیو، التهاب و محافظت قلبی موثر هستند. در این مطالعه اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر سمیت قلبی ناشی از کتامین در موش‌های صحرایی نر بررسی شد.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به چهار گروه، گروه کنترل، گروه کتامین، گروه کتامین +سیسام اویل (روغن کنجد) و گروه سیسام اویل (روغن کنجد) تقسیم شدند. سیسام اویل (روغن کنجد) (ml/kg ۵) یک بار در روز به مدت ۱۴ روز متوالی به رت‌ها گاواژ شد. سپس کتامین با دوز mg/kg ۶۰ به صورت هر ۱۰ دقیقه به مدت ۳ ساعت در روز پانزدهم به منظور ایجاد سمیت قلبی تزریق شد و پارامترهای سمیت میتوکندریایی (فعالیت سوکسینات دهیدروژنار، تورم میتوکندریایی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن و سقوط پتانسیل غشاء) در میتوکندری‌های ایزوله شده، پارامترهای استرس اکسیداتیو بافت (گلوتاتیون، مالون‌دی‌آلدهید)، مارکرهای قلبی (کراتین‌کیناز، لاکتات دهیدروژناز و تروپونین) و آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی بافت قلب مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: نتایج ما نشان داد تزریق کتامین موجب افزایش مارکرهای قلبی سرم، پارامترهای استرس اکسیداتیو، تغییرات هیستوپاتولوژیکی و اختلال میتوکندری در بافت‌های قلبی شد. مشاهده شد که سیسام اویل (روغن کنجد) در حضور کتامین مارکرهای قلبی سرم، پارامترهای استرس اکسیداتیو، آسیب‌های هیستوپاتولوژیک و اختلال میتوکندری در بافت قلبی را کاهش داد.

بحث و نتیجه‌گیری: داده‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهند سیسام اویل (روغن کنجد) خاصیت محافظت از قلب را از طریق محافظت از میتوکندری، خواص آنتی‌اکسیدانی و بهبود عملکرد میتوکندری و قلب اعمال می‌کند.

کلمات کلیدی: کتامین، سیسام اویل(روغن کنجد) ، سمیت قلبی، میتوکندی، استرس اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدان

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه ۱
۱-۱- کتامین ۲
۱-۱-۱- تاریخچه ۲
۱-۱-۲- مکانیسم اثر ۴
۱-۱-۳- ساختار فضایی و تاثیر آن بر مکانیسم ۶
۱-۱-۴- کاربردها ۷
۱-۱-۵- فارماکوکینتیک ۹
۱-۱-۶- سوءمصرف کتامین ۱۲
۱-۱-۶-۱- شیوع سوءمصرف کتامین ۱۳
۱-۱-۶-۲- شیوع سوءمصرف کتامین در ایران ۱۳
۱-۱-۶-۳- شیوع سوءمصرف کتامین در جهان ۱۴
۱-۱-۷- عوارض جانبی کتامین ۱۵
۱-۱-۸- اثر بر میتوکندری ۱۹
۱-۱-۹- اثر بر میتوکندری قلبی ۲۲
۱-۲- تاریخچه بیماری‌های قلبی و عروقی ۲۳
۱-۲-۱- شیوع بیماری‌های قلبی و عروقی ۲۳
۱-۲-۲- ساختار قلب ۲۴
۱-۲-۳- عملکرد قلب ۳۰
۱-۲-۴- استرس اکسیداتیو ۳۲
۱-۲-۵- آنتی اکسیدان ۳۷
۱-۲-۶- بیماری‌های قلبی و عروقی ۳۸
۱-۲-۷- متابولیسم انرژی در قلب ۴۲
۱-۲-۸- میتوکندری ۴۴
۱-۳- سیسام اویل (روغن کنجد) ۵۱
۱-۳-۱- معرفی ترکیب سیسام اویل (روغن کنجد) ۵۱
۱-۳-۲- اثرات سیسام اویل (روغن کنجد) بر سیستم قلبی و عروقی ۵۲
۱-۳-۳- تاثیر سیسام اویل (روغن کنجد) بر استرس اکسیداتیو به عنوان آنتی اکسیدان ۵۴

۱-۴- بررسی متون ۵۵
۱-۵- اهداف و فرضیات ۵۷
۱-۵-۱- هدف کلی ۵۷
۱-۵-۲- اهداف اختصاصی ۵۷
۱-۵-۳- فرضیات یا سؤالات تحقیق ۵۷
فصل دوم: مواد و روش‌ها ۵۹
۲-۱- نوع مطالعه ۶۰
۲-۲- مکان انجام مطالعه ۶۰
۲-۳- حیوانات مورد مطالعه، مواد شیمیایی و تجهیزات آزمایشگاهی ۶۰
۲-۳-۱- حیوانات مورد مطالعه ۶۰
۲-۳-۲- مواد شیمیایی ۶۱
۲-۳-۳- تجهیزات و دستگاه‌های آزمایشگاهی ۶۲
۲-۴- محتویات و طرز تهیه بافرها و محلول‌ها ۶۳
۲-۴-۱- بافر ایزولاسیون ۶۳
۲-۴-۲- محلول کوماسی بلو ۶۴
۲-۴-۳- بافر تورم ۶۴
۲-۴-۴- بافر MTT ۶۵
۲-۴-۵- بافر MMP (Mitochondrial Membrane Potential Buffer) ۶۵
۲-۴-۶- محلول‌های مورد استفاده در سنجش پراکسیداسیون لیپیدی ۶۶
۲-۴-۷- بافر تنفسی (Respiration Buffer) ۶۷
۲-۴-۸- بافر فسفات سالین یا PBS (Phosphate Saline Buffer) ۶۷
۲-۴-۹- محلول‌های مورد استفاده در سنجش گلوتاتیون اکسیده و احیاء ۶۸
۲-۵- گروه‌بندی حیوانات و دوره‌های درمانی ۶۹
۲-۶- روش انجام آزمایشات ۷۱
۲-۶-۱- استخراج میتوکندری به روش سانتریفیوژ افتراقی ۷۱
۲-۶-۲- تست برادفورد جهت تعیین مقدار میتوکندری ۷۱
۲-۶-۳- آزمایش تورم مینوکندریایی ۷۳
۲-۶-۴- سنجش فعالیت سوکسینات دهیدروژناز یا عملکرد میتوکندری ۷۵

۲-۶-۵- سنجش میزان سقوط پتانسیل غشاء ۷۶
۲-۶-۶- سنجش پراکسیداسیون لیپیدی ۷۷
۲-۶-۷- سنجش گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) ۷۸
۲-۶-۸- سنجش میزان گلوتاتیون احیاء (GSH) و گلوتاتیون دی سولفید (GSSG) ۷۹
۲-۶-۹- سنجش میزان لاکتات دهیدروژناز ۸۱
۲-۶-۱۰- سنجش میزان تروپونین ۸۲
۲-۶-۱۱- سنجش میزان کراتین فسفوکیناز ۸۲
۲-۶-۱۲- آزمایش‌های هیستوپاتولوژی ۸۳
۲-۷- روش تجزیه و تحلیل داده‌ها ۸۳
فصل سوم: نتایج ۸۵
۳-۱- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر میزان تورم میتوکندری در حضور کتامین ۸۶
۳-۲- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر فعالیت سوکسینات دهیدروژناز یا عملکرد میتوکندری در ۸۷
۳-۳- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر میزان سقوط پتانسیل غشاء میتوکندری (MMP) در حضور ۸۸
۳-۴- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از کتامین ۸۹
۳-۵-اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در حضور کتامین ۹۰
۳-۶- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر تغییرات گلوتاتیون احیاء (GSH) و گلوتاتیون اکسید شده ۹۲
۳-۶-۱- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر تغییر میزان گلوتاتیون احیاء (GSH) ناشی از کتامین ۹۲
۳-۶-۲- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر تغییر گلوتاتیون دی سولفید (GSSG) ناشی از کتامین ۹۳
۳-۷- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر میزان لاکتات دهیدروژناز (LDH) در حضور کتامین ۹۴
۳-۸- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر میزان تولید تروپونین ناشی از کتامین ۹۵
۳-۹- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر میزان کراتین فسفوکیناز در حضور کتامین ۹۶
۳-۱۰- اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت قلبی ناشی از کتامین ۹۷
فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری ۹۹
۴-۱- بحث ۱۰۰
۴-۲- نتیجه‌گیری ۱۰۴
۴-۳- محدودیت‌ها ۱۰۵
۴-۴- پیشنهادات ۱۰۵
فهرست منابع و مآخذ ۱۰۶

فهرست علائم، نشانه‌ها و اختصارات

ATP : Adenosine Triphosphate

CYP : Cytochrome P450

DMSO : Dimethyl Sulfoxide

DNA : Deoxyribonucleic Acid

DTNB : 5,5-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)

EDTA : Ethylenediaminetetraacetic acid

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

GPx : Glutathione Peroxidase

GSH : Glutathione

GSSG : Glutathione Disulfide

H_2DCF : 2′,7′-Dichloro-dihydro-fluorescein

H_2O_2 : Hydrogen peroxide

HEPES : 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid

LDL : Low-density Lipoprotein

MDA : Malondialdehyde

MMP & $\Delta\Psi m$: Mitochondrial Membrane Protentional

MOPS : 3-(N-morpholino)propanesulfonic acid

PCP : N-(1-phenyl-cyclohexyl)-piperidine

PTP : Permeability Transition pore

MTT : Measures the reduction of a Tetrazolium component

NADH : Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD) + Hydrogen (H)

NADPH : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphide

NO : Nitric Oxide

NMDA : N-methyl-D-aspartic acid

ROS : Reactive Oxygen Species

SOD : Superoxide Dismutase

TBA : Thiobarbituric acid

TBARS : Thiobarbituric acid reactive substances

TCA : Trichloroacetic acid

TNF-α : Tumor Necrosis Factor Alpha

فهرست جداول

جدول ۲-۱ لیست مواد استفاده شده در پایان‌نامه ۶۱
جدول ۲-۲ وسایل و دستگاه‌های مورد استفاده در پایان‌نامه ۶۳
جدول ۲-۳ اجزا بافر ایزولاسیون ۶۴
جدول ۲-۴ اجزا بافر کوماسی بلو..... ۶۴
جدول ۲-۵ اجزا بافر تورم ۶۵
جدول ۲-۶ اجزای بافر MTT..... ۶۵
جدول ۲-۷ اجزاء بافر MMP ۶۶
جدول ۲-۸ اجزاء محلول‌های مورد استفاده در سنجش پراکسیداسیون لیپیدی ۶۶
جدول ۲-۹ اجزاء بافر تنفسی ۶۷
جدول ۲-۱۰ اجزاء بافر فسفات سالین..... ۶۷
جدول ۲-۱۱ اجزاء محلول Tris-Hcl..... ۶۸
جدول ۲-۱۲ اجزاء محلول واکنش گلوتاتیون احیاء (GSH) ۶۸
جدول ۲-۱۳ اجزاء محلول گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) ۶۹

فهرست اشکال

شکل ۱-۱ مولکول کتامین ۴
شکل ۱-۲ فرمول ساختاری دو انانتیومتر کتامین..... ۶
شکل ۱-۳ گردش خون و ساختار قلب ۲۵
شکل ۱-۴ ساختار سارکومر و نحوه‌ی قرارگیری میوفیلامان‌ها در کنار هم برای ایجاد رشته‌های ضخیم و نازک ۲۸
شکل ۱-۵ شماتیکی از اجزای دخیل در تحریک و انقباض میوسیت‌ها..... ۲۹
شکل ۱-۶ سیستم انتقال فعالیت الکتریکی قلب انسان ۳۱
شکل ۱-۷ پتانسیل عمل ۳۲
شکل ۱-۸ منابع تولید گونه‌های فعال اکسیژن..... ۳۳
شکل ۱-۹ کمپلکس‌های زنجیره‌ی انتقال الکترونی و مهار تولید سوپراکسید..... ۳۷
شکل ۱-۱۰ مکانیسم ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز ۴۰
شکل ۱-۱۱ تاثیر فشار مکانیکی بر تولید گونه‌های فعال اکسیژن ۴۱
شکل ۱-۱۲ ساختار میتوکندری ۴۶
شکل ۱-۱۳ انرژی زیستی چرخه کربس و زنجیره انتقال الکترونی..... ۵۰
شکل ۱-۱۴ لیگنان‌های سیسام اویل (روغن کنجد)..... ۵۲
شکل ۱-۱۵ سیسام اویل (روغن کنجد)..... ۵۴
شکل ۲-۱ موش صحرایی نر، نژاد ویستار ۶۱
شکل ۲-۲ یوتنازی رت‌ها و خارج کردن بافت قلب..... ۷۰
شکل ۲-۳ تست برادفورد..... ۷۳
نمودار (۲-۱) منحنی استاندارد برادفورد ۷۳
شکل ۲-۴ احیا MTT به فورامازون..... ۷۵
شکل ۲-۵ سنجش فعالیت کمپلکس II میتوکندری یا سوکسینات دهیدروژناز.....۷۶
شکل ۲-۶ پراکسیداسیون لیپیدی ۷۷
شکل ۲-۷ واکنش مالون‌دی‌آلدهید با تیوباربیتوریک اسید ۷۸
شکل ۲-۸ سنتز گلوتاتیون و تبدیل آن به گلوتاتیون اکسید شده..... ۸۰
شکل ۲-۹ سنجش میزان گلوتاتیون احیاء (GSH) و گلوتاتیون دی سولفید (GSSG) ۸۱
شکل ۳-۱ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر میزان تورم میتوکندریایی در حضور کتامین.....۸۶
شکل ۳-۲ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر فعالیت سوکسینات دهیدروژناز در حضور کتامین..... ۸۸
شکل ۳-۳ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر سقوط پتانسیل غشاء میتوکندری (MMP) ناشی از کتامین ۸۹
شکل ۳-۴ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر پراکسیداسیون لیپیدی میتوکندریایی ۹۰
شکل ۳-۵ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) میتوکندری ناشی از ۹۱
شکل ۳-۶ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر تغییرات گلوتاتیون احیاء (GSH) ناشی از کتامین ۹۳

شکل ۳-۷ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر تغییرات گلوتاتیون دی سولفید (GSSG) نای از کتامین ۹۴
شکل ۳-۸ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر میزان تولید لاکتات دهیدروژناز ناشی از کتامین..... ۹۵
شکل ۳-۹ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر میزان تولید تروپونین ناشی از کتامین.....۹۶
شکل ۳-۱۰ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر میزان کراتین فسفوکیناز در حضور کتامین..... ۹۷
شکل ۳-۱۱ اثر سیسام اویل (روغن کنجد) بر تغییرات هیستوپاتولوژیک توسط کتامین..... ۹۸