بسم الله الرحمن الرحيم

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از
پایان‌نامه کارشناسی ارشد

آقای محمد سجاد امامی آل آقا رشته **بیوشیمی بالینی** پایان‌نامه **کارشناسی ارشد** خود را با عنوان « **مطالعه اثرات حفاظتی فاکتور سلول بنیادی بر سمیت کبدی ناشی از استامینوفن در موش** » در تاریخ **۱۳۹۱/۴/۷** ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنند.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر عبدالامیر علامه	(استاد راهنما)	
دکتر محسن امامی آل آقا	(استاد مشاور)	
دکتر محمد جواد رسایی	(استاد ناظر)	
دکترعلی بمان زارعی	(استاد ناظر)	
دکتر سید علیرضا مصباح نمین	(نماینده تحصیلات تکمیلی)	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های 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 پایان‌نامه/ 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 در جشنواره‌های 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 لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **محمد سجاد امامی آل آقا** دانشجوی رشته **بیوشیمی بالینی** ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۸** مقطع **کارشناسی ارشد** 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 ».

۹۱/۸/۱

آئین‌نامه 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 **پایان‌نامه کارشناسی ارشد** نگارنده در رشته **بیوشیمی بالینی** است که در سال **۱۳۹۱** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **دکتر عبدالامیر علامه** ، مشاوره **دکتر محسن امامی آل آقا** 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 اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ 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 می‌دهد 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 **محمد سجاد امامی آل آقا** دانشجوی رشته **بیوشیمی بالینی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

محمد سجاد امامی آل آقا

۹۱/۸/۱

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه

دوره کارشناسی ارشد در رشته بیوشیمی بالینی

عنوان

مطالعه اثرات حفاظتی فاکتور سلول بنیادی بر سمیت کبدی ناشی از استامینوفن در موش

نگارش
محمد سجاد امامی آل آقا

استاد راهنما
دکتر عبدالامیر علامه

استاد مشاور
دکتر محسن امامی آل آقا

تابستان ۱۳۹۱

تقدیم به

پدرم به استواری کوه

مادرم به زلالی چشمه

خواهرم به صمیمیت باران

روح پاک پدربزرگ گرامی‌ام

و روح بلند دوست عزیز و بزرگوارم احسان انتظاری که در سفری علمی جان خود را فدای کشف حقیقت کرد.

تشکر و قدردانی

سپاس خدای را که نعمت بودن در وادی علم را به من عطا کرد.

از خانواده عزیزم که همواره با حمایت‌های خود باعث دلگرمی من بوده‌اند، کمال تشکر را دارم.

از استاد راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر عبدالامیر علامه که همواره از حمایت‌های مادی و معنوی ایشان بهره‌مند بوده‌ام، کمال سپاس و تشکر را دارم.

از استاد مشاور گرامی‌ام جناب آقای دکتر محسن امامی آل آقا که سهم مهمی در پیشبرد تحقیق حاضر داشتند کمال قدردانی را دارم.

از دوستان عزیزم آقایان سید علی هاشمی، کامران مرادی و اصغر فرجزاده که در مراحل مختلف انجام تحقیق حاضر کمک‌های فراوانی به اینجانب کرده‌اند، کمال تشکر را دارم.

از سرکار خانم خواجه نیازی که در انجام کارهای مولکولی بنده را همراهی کردند، نهایت سپاس و قدردانی را دارم.

از مسئولین محترم آزمایشگاه، سرکار خانم افشار نادری و سرکار خانم اعتمادی تشکر می‌کنم.

چکیده

پاراستامول یا استامینوفن (APAP) یک مسکن و ضد تب بسیار رایج در دنیا می‌باشد. استامینوفن در دوزهای درمانی یک داروی مفید و ایمن شناخته می‌شود. مصرف بیش از دوز درمانی استامینوفن سبب آسیب اکسیداتیو و نکروز کبدی می‌گردد که می‌تواند موجب مرگ شود. علاوه بر اهمیت بالینی استامینوفن، امروزه این دارو به عنوان یک داروی مدل برای بررسی کارایی ترکیبات مختلف در ممانعت یا ترمیم آسیب‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این تحقیق، بررسی اثرات حفاظتی فاکتور سلول بنیادی (SCF) در مقابله با سمیت کبدی استامینوفن در موش بود. به همین منظور موش‌های نر نژاد BALB/c (۸ تا ۱۰ هفته‌ای) با متوسط وزن ۲۵ گرم، به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه کنترل که بافر PBS دریافت می‌کرد، گروه APAP که دوزهای سمی ۳۰۰ یا ۴۵۰ میلی-گرم از استامینوفن به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت می‌کرد، گروه APAP+SCF که ۳۰ دقیقه پس از تزریق دوز سمی استامینوفن، مقدار ۴۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از SCF را دریافت می‌کرد و در نهایت گروه SCF که تنها مقدار ۴۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از SCF را دریافت می‌کرد (تمامی تزریق‌ها درون صفاقی بود). موش‌ها در زمان‌های مختلف ۱، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تزریق استامینوفن کشته شدند و مقدار گلوتاتیون احیا (GSH)، فعالیت ویژه آنزیم‌های گلوتاتیون S-ترانسفراز سیتوزولی، بیان ژن آنزیم GSTP1، مقدار پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و وضعیت پاتولوژیک نمونه‌ها در کبد سنجش شد. همچنین مقدار پلاسمایی آلانین ترانس-آمیناز، آسپارتات ترانس‌آمیناز، آلکالن فسفاتاز، بیلی‌روبین تام، کلسیم، فسفات، اوریک اسید و ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما (آزمون FRAP)، در موش‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پایان نامه نشان داد که SCF می‌تواند سبب تعدیل نکروز کبدی ناشی از سمیت استامینوفن شود. این در حالیست که SCF نمی‌تواند مانع کاهش GSH و ایجاد استرس اکسیداتیو، به عنوان فرآیندهایی که سبب شروع سمیت استامینوفن می‌شوند، گردد. به نظر می‌رسد SCF اثرات حفاظتی خود را از طریق افزایش سرعت ترمیم کبدی و کاهش پیشرفت سمیت و نکروز کبدی ناشی از استامینوفن، می‌گذارد.

کلمات کلیدی : استامینوفن (APAP)، فاکتور سلول بنیادی (SCF)، نکروز کبدی

فهرست مطالب

فصل اول : مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده ۱

۱-۱. متابولیسم دارو ۲

۱-۱-۱. تعریف متابولیسم دارو ۲

۱-۱-۲. مسیرهای متابولیسم دارو ۳

۱-۱-۲-۱ . فاز I متابولیسم دارو ۵

۱-۱-۲-۲. فاز II متابولیسم دارو ۷

۱-۱-۲-۲-۱. گلوکورونیداسیون ۷

۱-۱-۲-۲-۲. سولفاسیون ۸

۱-۱-۲-۲-۳. مزدوج کردن با گلوتاتیون ۹

۱-۱-۲-۳. تنظیم بیان ژن در فازهای مختلف متابولیسم دارو ۱۱

۱-۱-۲-۳-۱. تنظیم بیان ژن سیتوکروم‌های P450 ..... ۱۱

۱-۱-۲-۳-۲. تنظیم بیان ژن‌های دخیل در فاز II متابولیسم دارو ۱۲

۱-۱-۳. عوامل موثر بر متابولیسم دارو ۱۵

۱-۱-۴. سمیت ناشی از متابولیسم دارو ۱۵

۱-۱-۵. نقش کبد در متابولیسم دارو ۱۷

۱-۱-۵-۱. ویژگی‌های متابولیک و آناتومیک کبد ۱۷

۱-۱-۵-۲. کبد به عنوان مهم‌ترین اندام در سمیت دارویی ۱۸

۱-۲. استامینوفن و آسیب کبدی ناشی از مصرف آن ۲۰

۱-۲-۱. استامینوفن و مکانیسم عمل آن ۲۰

۱-۲-۲. متابولیسم استامینوفن و تولید متابولیت سمی N-استیل- پارا- بنزو کوئینون ایمین (NAPQI)..... ۲۱

۱-۲-۳. فرضیه‌های موجود در ارتباط با سمیت استامینوفن ۲۲

۱-۲-۴. مکانیسم‌های دخیل در سمیت کبدی ناشی از استامینوفن ۲۴
۱-۲-۴-۱. تولید NAPQI، تغییر کووالان پروتئین‌ها و ایجاد استرس اکسیداتیو ۲۴
۱-۲-۴-۲. آسیب به میتوکندری و پدیده MPT ۲۶
۱-۲-۴-۳. اهمیت مسیر پیام‌دهی (سیگنالی) JNK، در سمیت استامینوفن ۲۸
۱-۲-۴-۴. نقش کلسیم و کلپین در سمیت استامینوفن ۳۰
۱-۲-۴-۵. سمیت استامینوفن و آسیب به DNA ۳۰
۱-۲-۴-۶. سمیت استامینوفن و پراکسیداسیون لیپیدها ۳۱
۱-۲-۴-۷. سمیت استامینوفن و اکسیداسیون پروتئین‌ها ۳۲
۱-۲-۵. نوع مرگ سلولی ناشی از سمیت استامینوفن ۳۳
۱-۲-۶. مکانیسم‌های کاهش اثرات سمی استامینوفن ۳۴
۱-۲-۶-۱. مکانیسم‌های آنتی اکسیدان ۳۴
۱-۲-۶-۲. نقش پروتئین‌های شوک حرارتی در کاهش سمیت استامینوفن ۳۵
۱-۲-۶-۳. مکانیسم عمل سیستم ایمنی ذاتی در مقابله با سمیت استامینوفن ۳۶
۱-۲-۶-۴. ترمیم بافت کبد ۳۶
۱-۲-۶-۵. نقش فاکتورهای رشد در کاهش اثرات سمی استامینوفن ۳۹
۱-۲-۶-۵-۱. اثر فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) ۳۹
۱-۲-۶-۵-۲. اثر فاکتور سلول بنیادی(SCF) ۴۰
۱-۳. علائم، تشخیص و درمان سمیت استامینوفن در کلینیک ۴۲
۱-۴. اهداف پایان‌نامه ۴۴
فصل دوم : مواد و روش‌ها ۴۵
۲-۱. فهرست مواد شیمیایی، بیولوژیک، کیت‌ها و تجهیزات مورد استفاده ۴۶
۲-۱-۱. فهرست مواد شیمیایی مورد استفاده ۴۶
۲-۱-۲. فهرست مواد بیولوژیک مورد استفاده ۴۷
۲-۱-۳. مشخصات کیت‌های مورد استفاده ۴۷

۲-۱-۴. فهرست تجهیزات مورد استفاده ۴۸
۲-۲. تهیه و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی ۴۸
۲-۳. انتخاب دوز مناسب SCF و استامینوفن جهت تزریق ۴۹
۲-۴. نحوه تیمار حیوانات ۵۰
۲-۴-۱. طرز تهیه ۱۰۰mM PBS با pH=۷ ..... ۵۰
۲-۴-۲. تیمار حیوانات با استامینوفن ۵۱
۲-۴-۳. تیمار حیوانات با SCF ۵۱
۲-۴-۴. تیمار گروه کنترل ۵۲
۲-۵. نحوه دسته بندی حیوانات ۵۲
۲-۶. روش نمونه برداری از حیوانات ۵۴
۲-۷. سنجش پارامترهای بیوشیمیایی در کبد ۵۴
۲-۷-۱. تهیه هموژن بافت کبد ۵۴
۲-۷-۱-۱. روش تهیه محلول‌های مورد نیاز ۵۴
۲-۷-۱-۲. روش کار ۵۵
۲-۷-۲. روش تهیه سیتوزول کبدی ۵۶
۲-۷-۳. اندازه‌گیری میزان پروتئین سیتوزولی ۵۶
۲-۷-۳-۱. روش تهیه محلول‌های مورد نیاز ۵۷
۲-۷-۳-۲. روش کار ۵۸
۲-۷-۴. اندازه‌گیری فعالیت ویژه آنزیم‌های گلوتاتیون S- ترانسفراز (GSTs) سیتوزولی ۵۹
۲-۷-۴-۱. روش تهیه محلول‌های مورد نیاز ۶۰
۲-۷-۴-۲. روش کار ۶۰
۲-۷-۵. سنجش میزان گلوتاتیون احیاء (GSH) ۶۲
۲-۷-۵-۱. روش تهیه محلول‌های مورد نیاز ۶۲
۲-۷-۵-۲. روش کار ۶۳

۲-۷-۶. سنجش محتوای کربونیل پروتئین‌ها در بافت کبد ۶۵
۲-۷-۶-۱. روش تهیه محلول‌های مورد نیاز ۶۶
۲-۷-۶-۲. روش کار ۶۷
۲-۷-۷. سنجش مقدار TBARS به عنوان محصولات پراکسیداسیون لیپیدها در بافت کبد ۶۹
۲-۷-۷-۱. روش تهیه محلول‌های مورد نیاز ۶۹
۲-۷-۷-۲. روش کار ۷۰
۲-۸. سنجش پارامترهای بیوشیمیایی در پلاسما ۷۱
۲-۸-۱. اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما (آزمون FRAP) ۷۱
۲-۸-۱-۱. روش تهیه محلول‌های مورد نیاز ۷۱
۲-۸-۱-۲. روش کار ۷۲
۲-۸-۲. سنجش میزان فعالیت پلاسمایی آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)..... ۷۳
۲-۸-۳. سنجش میزان فعالیت پلاسمایی آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) ۷۴
۲-۸-۴. سنجش میزان فعالیت پلاسمایی آنزیم آلکالن فسفاتاز (ALP) ۷۴
۲-۸-۵. سنجش میزان بیلی‌روبین تام در پلاسما ۷۵
۲-۸-۶. سنجش میزان اوریک اسید در پلاسما ۷۵
۲-۸-۷. سنجش میزان کلسیم پلاسمایی ۷۶
۲-۸-۸. سنجش میزان فسفات پلاسمایی ۷۶
۲-۹. بررسی نیمه کمی بیان ژن GSTP1 به روش RT-PCR در کبد ۷۷
۲-۹-۱. استخراج RNA از بافت کبد ۷۷
۲-۹-۲. بررسی کمی RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ ۷۹
۲-۹-۳. بررسی کیفی RNA استخراج شده به کمک الکتروفورز بر روی ژل آگاروز ۷۹
۲-۹-۳-۱. روش تهیه محلول‌های مورد نیاز جهت الکتروفورز ۸۰
۲-۹-۳-۲. روش کار ۸۰
۲-۹-۴. ساخت cDNA به واسطه واکنش رونویسی معکوس (RT) ۸۱

۲-۹-۵. انجام PCR برای ژن GSTP1 ..... ۸۲
۲-۹-۵-۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده ۸۲
۲-۹-۵-۲. آماده سازی پرایمرها برای PCR ۸۴
۲-۹-۵-۳. روش انجام PCR ۸۴
۲-۹-۵-۴. عکس برداری از ژل آگاروز و بررسی نیمه کمی بیان ژن GSTP1 ..... ۸۵
۲-۱۰. بررسی هیستو پاتولوژی بافت کبد ۸۵
۲-۱۱. آنالیز داده‌ها ۸۶
فصل سوم : نتایج و یافته‌ها ۸۷
۳-۱. نتایج بررسی میزان مرگ و میر در گروه‌های آزمایشی مختلف ۸۸
۳-۲. اثر استامینوفن و SCF بر فعالیت ویژه آنزیم‌های گلوتاتیون S- ترانسفراز (GSTs) سیتوزولی ۸۹
۳-۳. اثر استامینوفن و SCF بر میزان گلوتاتیون احیای بافت کبد ۹۱
۳-۴. اثر استامینوفن و SCF بر میزان TBARS بافت کبد، به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها ۹۲
۳-۵. اثر استامینوفن و SCF بر محتوای کربونیل پروتئین‌ها در بافت کبد ۹۴
۳-۶. اثر استامینوفن و SCF بر میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما (آزمون FRAP) ۹۵
۳-۷. اثر استامینوفن و SCF بر شاخص‌های آسیب کبدی ۹۷
۳-۷. اثر استامینوفن و SCF بر میزان اوریک اسید پلاسما ۹۹
۳-۸. اثر استامینوفن و SCF بر میزان کلسیم و فسفات پلاسمایی ۹۹
۳-۹. بررسی هیستولوژیک اثر استامینوفن و SCF، در نمونه‌های تهیه شده از بافت کبد ۱۰۱
۳-۱۰. اثر استامینوفن و SCF بر بیان ژن GSTP1..... ۱۰۴
فصل چهارم : بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها ۱۰۶
فهرست منابع ۱۲۳
چکیده انگلیسی ۱۳۸

فهرست جداول

جدول ۱-۱. دسته بندی واکنش‌ها به صورت متابولیسم فاز I و II ۴

جدول۱-۲. برخی از آنزیم‌های مهم دخیل در فاز I متابولیسم دارو ۵

جدول۱-۳. انواع رده‌های (کلاس‌های) سیتوزولی GSTs در پستانداران ۹

جدول۱-۴. ژن‌هایی که بیان آن‌ها توسط فاکتور رونویسی Nrf2 تنظیم می‌گردد ۱۳

جدول۱-۵. عوامل خارجی موثر بر متابولیسم دارو ۱۵

جدول ۲-۱. فهرست مواد شیمیایی مورد استفاده، به همراه شرکت سازنده، وزن مولی و فرمول مولکولی ۴۶

جدول۲-۲. فهرست تجهیزات مورد استفاده ۴۸

جدول ۲-۳. اندازه‌گیری غلظت پروتئین، در محلول‌هایی با غلظت پروتئینی mg/ml ۰/۱ تا ۰/۰۱ ..... ۵۸

جدول ۲-۴. نحوه آماده سازی بلانک و نمونه‌ها، جهت سنجش فعالیت GSTs ۶۱

جدول۲-۵. تهیه غلظت‌های مختلف از محلول استاندارد کار GSH جهت رسم نمودار استاندارد..... ۶۴

جدول ۲-۶. انواع محصولات ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها و روش سنجش آن‌ها ۶۹

جدول ۲-۷. تهیه غلظت‌های مختلف از آهن فرو، جهت رسم نمودار استاندارد ۷۲

جدول ۲-۸. مشخصات پرایمرهای ژن GSTP1 ..... ۸۳

جدول ۲-۹. مشخصات پرایمرهای ژن β–actin ۸۳

جدول ۲- ۱۰. مواد لازم جهت انجام PCR و مقدار مورد نیاز هریک ازآن‌ها ۸۴

جدول ۲- ۱۱. برنامه داده شده به دستگاه ترمال سایکلر برای ژن‌های GSTP1 و β-actin ۸۵

جدول ۳-۱. میزان مرگ و میر در گروه‌های آزمایشی مختلف ۸۸

فهرست نمودارها

نمودار ۲-۱. نمودار استاندارد BSA ۵۹

نمودار ۲-۲. نمودار استاندارد GSH ۶۵

نمودار ۲-۳. نمودار استاندارد $FeSO_4$ ۷۳

نمودار ۳-۱. فعایت ویژه GSTs در گروه‌های مختلف، در زمان‌های ۱ و ۱۲ ساعت پس از تزریق دوز ۴۵۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۰

نمودار ۳-۲. فعایت ویژه GSTs، در گروه‌های مختلف، در زمان ۲۴ ساعت پس از تزریق دوز ۳۰۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۰

نمودار ۳-۳. میزان GSH بافت کبد در گروه‌های مختلف، در زمان‌های ۱ و ۱۲ ساعت پس از تزریق دوز ۴۵۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۱

نمودار ۳-۴. میزان GSH بافت کبد در گروه‌های مختلف، در زمان ۲۴ ساعت پس از تزریق دوز ۳۰۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۲

نمودار ۳-۵. میزان TBARS بافت کبد در گروه‌های مختلف، در زمان‌های ۱ و ۱۲ ساعت پس از تزریق دوز ۴۵۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۳

نمودار ۳-۶. میزان TBARS بافت کبد در گروه‌های مختلف، در زمان ۲۴ ساعت پس از تزریق دوز ۳۰۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۳

نمودار ۳-۷. محتوای کربونیل پروتئین‌های بافت کبد در گروه‌های مختلف، در زمان ۲۴ ساعت پس از تزریق دوز ۳۰۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۴

نمودار ۳-۸. میزان FRAP پلاسما در گروه‌های مختلف، در زمان‌های ۱ و ۱۲ ساعت پس از تزریق دوز ۴۵۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۶

نمودار ۳-۹. میزان FRAP پلاسما در گروه‌های مختلف، در زمان ۲۴ ساعت پس از تزریق دوز ۳۰۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۶

نمودار ۳- ۱۰. سنجش شاخص‌های آسیب کبدی در گروه‌های مختلف، در زمان ۲۴ساعت پس از تزریق دوز ۳۰۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۸

نمودار ۳-۱۱. غلظت اوریک اسید در گروه‌های مختلف، در زمان ۲۴ ساعت پس از تزریق دوز ۳۰۰ mg/Kg BW استامینوفن ۹۹
نمودار ۳-۱۲. سنجش کلسیم و فسفات پلاسمایی در گروه‌های مختلف، در زمان ۲۴ساعت پس از تزریق دوز ۳۰۰ mg/Kg BW استامینوفن ۱۰۰
نمودار ۳-۱۳. بررسی میزان تغییرات بیان ژن GSTP1 در گروه‌های مختلف، در زمان ۲۴ساعت پس از تزریق دوز ۳۰۰ mg/Kg BW استامینوفن ۱۰۵

فهرست شکل‌ها

شکل۱-۱. مسیر سنتز UDP-گلوکورونیک اسید و نحوه عمل UGTs ۸

شکل۱-۲. واکنش کلی که توسط SULTs کاتالیز می‌گردد ۸

شکل۱-۳. الگوی کلی تنظیم بیان ژن سیتوکروم‌های P450 ..... ۱۲

شکل ۱-۴. مسیر Nrf2-Keap1 ..... ۱۴

شکل۱-۵. لوبول‌ها و آسینوس‌های کبدی ۱۸

شکل۱-۶. متابولیسم استامینوفن و تولید متابولیت فعال NAPQI ۲۲

شکل۱-۷. مدل دو تصادمی در ارتباط با نقش JNK در سمیت استامینوفن ۲۹

شکل ۱-۸. مسیرهای ترمیمی در کبد ۳۷

شکل۱-۹. چهار مرحله اصلی در فعال سازی سلول‌های اوال طی ترمیم کبدی ۳۸

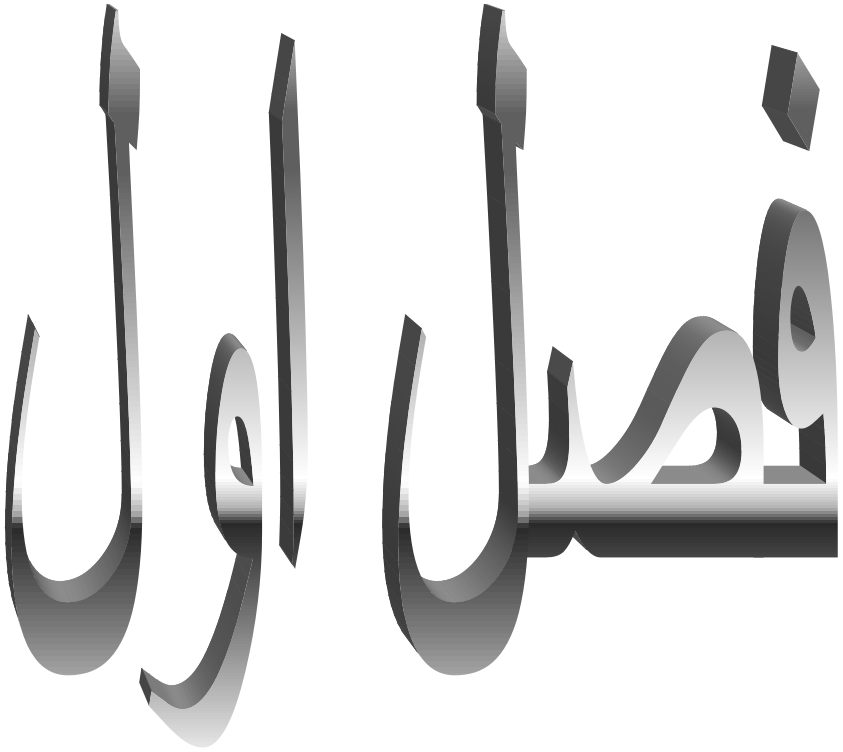
شکل ۱-۱۰. فرآیند Alternative splicing و تولید انواع مختلف SCF ۴۱

شکل ۲-۱. معرف DNPH و نحوه اتصال آن به گروه‌های کربونیل واقع در پروتئین‌ها ۶۶

شکل ۳-۱. بررسی هیستوپاتولوژیک بافت کبد در گروه‌های مختلف، در زمان ۲۴ساعت پس از تزریق دوز ۳۰۰ mg/Kg BW استامینوفن ۱۰۳

شکل ۳-۲. طرح الکتروفورزی بررسی کیفی RNAی استخراج شده از بافت کبد بر روی ژل آگاروز ۱٪ ۱۰۴

شکل ۳-۳. طرح الکتروفورزی ژن‌های GSTP1 و β-actin بر روی ژل آگاروز ۲٪ ۱۰۵



مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱. متابولیسم دارو:

۱-۱-۱. تعریف متابولیسم دارو

اصطلاح ADME که اختصار جذب[۱]، توزیع[۲]، متابولیسم[۳] و حذف[۴] می‌باشد به طور وسیعی در علم داروشناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد که اشاره به چهار مرحله اساسی پردازش دارو در بدن دارد [۱]. در این بخش تمرکز ما بر قسمت متابولیسم دارو خواهد بود.

متابولیسم دارو یک فرآیند مهم از جهت بالینی است که در سراسر بدن و به ویژه در کبد اتفاق می‌افتد و نقشی تعیین کننده در تعیین کارایی[۵] و سمیت اکثر داروهایی دارد که به طور وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲]. متابولیسم ترکیبات زنوبیوتیک[۶] و به طور ویژه، متابولسیم دارو که گاهی دگرگونی زیستی[۷] دارو هم نامیده می‌شود، فرآیند آنزیمی تبدیل مواد شیمیایی چربی دوست، که به سادگی از مجرای گوارشی جذب می‌گردند، به مواد شیمیایی آب دوست می‌باشد که به راحتی از طریق ادرار یا صفرا دفع می‌شوند [۱و۲]. البته باید توجه داشت که همواره متابولیسم دارو و مواد زنوبیوتیک، منجر به تولید مواد آب دوست (قطبی‌تر) نمی‌شود به عنوان مثال متیلاسیون یا استیلاسیون از جمله واکنش‌هایی هستند که در متابولیسم مواد زنوبیتیک نقش دارند اما باعث کاهش آب دوستی و قطبیت مولکول می‌شوند [۱].

[1] Absorption
[2] Distribution
[3] Metabolism
[4] Elimination
[5] Efficacy
[6] Xenobiotics
[7] Biotransformation

هدف اصلی از متابولیسم دارو در بدن، سمیت زدایی[1] داروها می‌باشد. همچنین متابولیسم دارو برای تبدیل پیش داروها[2] به ترکیبات فعال مورد نیاز می‌باشد. نکته قابل توجه آن است که گاهی متابولیسم دارو می‌تواند باعث ایجاد سمیت[3] گردد [۱-۴].

متابولیسم دارو می‌تواند به سه شکل بر فعالیت دارو اثرگذار باشد:

۱. باعث کاهش فعالیت فارماکولوژیکی دارو شود. مثل تبدیل استامینوفن به گلوکورونید استامینوفن یا تبدیل مورفین به مورفین ۳-گلوکورونید.
۲. اثری بر خاصیت دارو نگذارد. مثل تبدیل فلوکستین به نورفلوکستین[4].
۳. اثر بخشی دارو را افزایش دهد. مثل تبدیل کدئین به مورفین [۱].

۱-۱-۲. مسیرهای متابولیسم دارو

متابولیسم دارو به روش‌های گوناگونی صورت می‌پذیرد که برخی از آن‌ها عبارتند از واکنش‌های شیمیایی اکسایش، کاهش، هیدرولیز (آبکافت)، مزدوج شدن[5] و تراکم[6] [۳].

به طور کلی متابولیسم دارو به دو فاز تقسیم می‌شود که عبارتند از فاز I (واکنش‌های ایجاد گروه عاملی) و فاز II (واکنش‌های مزدوج شدن) که این واکنش‌ها به تفکیک در جدول (۱-۱) خلاصه شده-اند [۱و۳]. اعتقاد بر این است که واکنش‌های فاز I، باعث به وجود آمدن متابولیت‌هایی می‌گردد که برای فاز II متابولیسم دارو، به عنوان سوبسترا استفاده می‌گردند. به بیان دیگر، فاز I، دارو را به واسطه ایجاد یا آزاد سازی یک گروه فعال شیمیایی که روی آن واکنش‌های فاز II می‌توانند صورت گیرند، فعال می‌نماید. بنابراین واکنش‌های فاز II مسیرهای حقیقی سم زدایی هستند و محصولات آن‌ها مواد غیر فعال دفعی حاصل از متابولیسم داروها می‌باشد. نکته قابل توجه آن است که بسیاری از آنزیم‌های

[1] Detoxication
[2] Pro-drugs
[3] Intoxication
[4] Norfluoxetine
[5] Conjugation
[6] Condensation