



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

مطالعه اثر محافظتی داروی اندانسترون بر سمیت عصبی القا شده توسط داروی

سیس پلاتین در رده سلولی PC۱۲

توسط:

شیما محمدیاری

اساتید راهنما:

دکتر حمید رضا رحیمی

دکتر مجتبی شکیبایی

استاد مشاور:

دکتر حمید فروتن فر



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of Pharmacy

Pharm. D Thesis

Title:

Investigation of the neuroprotective effect of ondansetron on cisplatin-induced neurotoxicity in PC12 cell line

By:

Shima Mohammadyari

Supervisors:

Dr. Hamid Reza Rahimi

Dr. Mojtaba Shakibaei

Advisor:

Dr. Hamid Forootanfar

مقدمه و اهداف: با توجه به همه گیر شدن سرطان در جوامع و بالا بودن میزان مرگ و میر ناشی از آن میزان مصرف داروهای ضد سرطان هم افزایش یافته است. سیس پلاتین یکی از داروهای پرمصرف در درمان سرطان به روش شیمی درمانی است. سمیت نوروئی یکی از عوارض این دارو است. مکانیسم‌های متعددی برای سمیت سیس پلاتین از جمله افزایش استرس اکسیداتیو و فعال شدن گیرنده‌های NMDA<sup>۱</sup> گلوتامات ذکر شده است. مطالعات متعددی به بیان اثر محافظت نوروئی مشتقات مهار کننده گیرنده سروتونین نوع ۳ (۵-HT<sub>3</sub>)<sup>۲</sup> پرداخته و اثر آن‌ها ثابت شده است. در مطالعه حاضر اثر محافظت داروی اندانسترون یکی دیگر از مشتقات مهار کننده ۵-HT<sub>3</sub> در سمیت نوروئی ایجاد شده با داروی سیس پلاتین در رده سلولی PC۱۲ بررسی می‌شود.

روش کار: سلول‌های PC۱۲ به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای انتقال یافتند و در انکوباتور CO<sub>2</sub> به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. پس از آن داروی سیس پلاتین (۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر) و داروی اندانسترون (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) به صورت جداگانه ۲۴ ساعت با سلول‌های PC۱۲ تماس داده و انکوبه شدند. نهایتاً توسط تست رنگ سنجی (MTT assay<sup>۳</sup>) اثرات آن‌ها بر روی رشد سلول بررسی و IC<sub>50</sub><sup>۴</sup> آن‌ها اندازه گیری شد. بار دیگر همزمان با اضافه کردن داروی سیس پلاتین (۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر)، داروی اندانسترون (۲۰، ۴۰، ۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر) به سلول‌های PC۱۲ در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شدند. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون میزان زنده مانده سلول‌ها برای بررسی میزان اثر محافظتی داروی اندانسترون به کمک روش MTT اندازه‌گیری شد. در انتها سلول‌های PC۱۲ در تماس با غلظت مناسب داروی اندانسترون قرار گرفته‌اند و میزان فعالیت آنزیم Caspase-۳ از واسطه‌های مرگ

<sup>۱</sup> N-methyl-D-aspartate receptor

<sup>۲</sup> ۵-hydroxytryptamine receptor

<sup>۳</sup> ۳-(۴،۵-Dimethylthiazol-۲-yl)-۲،۵-diphenyltetrazolium bromide

<sup>۴</sup> Half maximal inhibitory concentration

سلولی در این رده سلولی با کیت الایزا در گروه سیس پلاتین به تنهایی و همراه با داروی اندانسترون اندازه گیری شد.

**نتایج:** درصد سلول‌های زنده در رده سلولی PC12 در تماس با داروی سیس پلاتین و اندانسترون محاسبه و بررسی شد. میزان IC<sub>50</sub> برای داروی سیس پلاتین  $7/06 \pm 82/9$  میکروگرم بر میلی لیتر و برای داروی اندانسترون  $7/31 \pm 196/446$  میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد. تجویز داروی اندانسترون در غلظت 20 میکروگرم بر میلی لیتر به صورت همزمان با داروی سیس پلاتین در غلظت 80 میکروگرم بر میلی لیتر منجر به افزایش میزان زنده مانی سلول‌ها و در نتیجه در غلظت 20 میکروگرم بر میلی لیتر اثر محافظتی روی سلول‌های PC12 را داشت. همچنین این غلظت از داروی اندانسترون باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم Caspase-3 از واسطه‌های مرگ سلولی در مجاورت با داروی سیس پلاتین 80 میکروگرم بر میلی لیتر شد.

**بحث و نتیجه گیری:** مطالعه انجام شده نشان دهنده اثرات بارز محافظت نورونی داروی اندانسترون در غلظت 20 میکروگرم بر میلی لیتر و در نتیجه افزایش میزان زنده مانی سلول‌ها در مقابل سمیت عصبی وارد شده توسط داروی سیس پلاتین و جلوگیری از آپوپتوز در رده سلولی PC12 می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** محافظت نورونی، اندانسترون، سیس پلاتین، سمیت نورونی، رده سلولی PC12.

## Abstract

**Introduction:** Due to the prevalence of cancer in societies and the high mortality rate, the use of anticancer drugs has also increased. Cisplatin (CP) is one of the most commonly used drugs to treat cancer through chemotherapy. Neurotoxicity is one of the side effects of this drug. Several mechanisms for CP toxicity, including increased oxidative stress and activation of NMDA glutamate receptors, are mentioned. Several studies have shown the neuroprotective effect of  $\alpha$ -HT $\alpha$  receptor antagonist and has been proven. In the present study, the protection effect of ondansetron (ODT) as  $\alpha$ -HT $\alpha$  antagonist was investigated on neuronal toxicity induced with CP in PC12 cell line.

**Method:** PC12 cells were transferred to 96 well microplates and incubated in a CO $_2$  incubator for 24 hours. Subsequently, CP (1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 and 128  $\mu$ g/mL) and ODT (20, 40, 100, 150, 200 and 300  $\mu$ g/mL) were exposed to PC12 cells for 24 hours.

Eventually, by their MTT assay, their effects on cell growth and IC $_{50}$  were measured. Once again, with the addition of the CP (80  $\mu$ g/mL) drug, the ODT (20, 40, 80  $\mu$ g/mL) was added to PC12 cells in 96 well plates. After 24 hours of incubation, the survival rate was assessed to measure the protective effect of ODT by MTT. At the end, PC12 cells were exposed to the concentration of ODT, and the level of activity of the caspase-3 enzyme was measured by MTT assay in this cell line with an ELISA kit in the CP group alone and with the ODT.

**Results:** The survival rate in the PC12 cell line in exposure to CP and ODT was calculated and evaluated. IC $_{50}$  values for CP were  $82.9 \pm 7.7$   $\mu$ g/mL and for ODT  $196.87 \pm 7.31$   $\mu$ g/mL.

ODT administration at a concentration of 20  $\mu$ g/mL with CP at a concentration of 80  $\mu$ g/mL resulted in an increase in the survival rate, resulting in a protective effect on PC12 cells. Also, 20

$\mu\text{g/mL}$  of ODT reduces the activity of caspase- $\gamma$  enzyme from cell death in the presence of CP ( $10 \mu\text{g/mL}$ ).

**Conclusion:** This study demonstrates the significant neuroprotective effects of ODT neuroprotection at a concentration of  $10 \mu\text{g/mL}$  resulting in an increase in the survival rate against the neurotoxicity induced by CP and prevention of apoptosis in the PC $12$  cell line.

Keywords: Neuroprotective, Ondansetron, Cisplatin, Neurotoxicity, PC $12$  cell line.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان  
دانشکده داروسازی

بایان نامه خانم شیما محمدیاری باریزی دانشجوی شهریه پرداز داروسازی ورودی ۸۹ به شماره: ۱۰۲۳  
تحت عنوان:

"مطالعه اثر محافظت نورونی داروی اندانسترون در سمیت عصبی القا شده توسط داروی سیس پلاتین در رده سلولی PC12"

اساتید راهنما:

۱- دکتر حمیدرضا رحیمی  
۲- دکتر مجتبی شکریایی

اساتید مشاور:

۱- دکتر حمید فروتن فر

هیئت محترم داوران به ترتیب حروف الفبا:

۱- دکتر میترا اصغریان رضایی  
۲- دکتر غلامرضا سپهری  
۳- دکتر صالحه صبوری  
۴- دکتر علی ماندگاری -  
۵- دکتر سید نورالدین نعمت الهی

در تاریخ ۹۷/۰۸/۱۳ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) .....  
(با حروف) ..... به تصویب رسید.

۱۹/۴  
دکتر محمودرضا حیدری  
رئیس دانشکده داروسازی  
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

