جکیده
مقننه: سیکلوسپورین و خلوگری، G-CSF و IFN-γ، از عوامل سرکوب کنده سیستم ایمنی بوده و در بیماران بیومدی، انواع و همچنین خلوگری از برز در بیوند مغرب استخوان از آن استفاده می‌شود. در این تحقیق تشخیص این دارو در خون و گلوبولای قرمز با استفاده از روش ایمونوپراکسیداز مستقیم مورد مطالعه قرار گرفت.

محور و روش‌ها: در این تحقیق آزمایشگاهی آنتی بادی یلی کلونال علیه سیکلوسپورین در خرکوش به وسیله اتصال کلونارالدیمی با آلومن گاو تولید و به وسیله انزیم پراکسیداز کونوزکه گردد. ا 가능한 جویی از بیماران دریافت کنده سیکلوسپورین و گروه شاهد نه به وسیله محلول الکل استوک عمل فیکساسیون انجام شد. مراحل آماده سازی لام ها با استفاده از آنتی سیکلوسپورین آنتی بادی کونوزکه همراه با افزودن سوستراتای DAB و ایجاد رسوب قهوه ای رنگ در زیر غشاء، RBC برای تشخیص حضور سیکلوسپورین در گلوبولای قرمز انجام گردید.

نتیجه‌گیری نهایی: استفاده از این گونه آنتی بادی در جهت طراحی تکنیکی های مختلف برای تشخیص حضور و تغییر مقدار و غلظت داروها متفاوت در خون، دارد و ممکن است از نظر تغییرات توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: سیکلوسپورین، بید کلیه، ایمنوپراکسیداز

Email: morhos110@yahoo.com

1. عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام- بررسی‌های مسول
2. استاد گروه ایمپلولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
3. دانشیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
گلوبلاژ قدرت اشباع پذیر بوده و به حرارت و هم‌توکبره بسگی دارد و با کاشت دما با افزایش هم‌توکبره، افزایش می‌یابد (0.2).

1. روان‌سنجش و تعیین سیکلوسپورین از روشهای اختصاصی (سیکلوسپورین خالص) و ویژه اختصاصی (سیکلوسپورین هماراه با متاپلیته) استفاده می‌شود. بطور مثال روش مرجع در ان‌داده‌های HPLC همگر از سیکلوسپورین با صورت اختصاصی و EMIT و ... به صورت اختصاصی و غیر اختصاصی مورد استفاده قرار می‌گیرد (7,11,1,0). در تمامی این روش‌ها با استفاده از تیولین آنتی‌بدن‌های گلوبلاز به مونوکلونال یا علی‌عمد سیکلوسپورین به انجماد متاپلیته‌ای آن متیوان مقدار دارو را در خون با مایع بیولوژیک تیعین، نمود (11,8,7,4). در اکثر تحقیقات انجام شده از آنتی سرم های خزگوشی با گوسفندر ناشی از ایمونوژن‌ساز که در بین عوامل استفاده گاوی یا هم‌وساینیان (KLH) مانند گلوبلاژ، سرم و لیپوهبتین به پاسا می‌تواند و از طریق عروق به ایمونیتی‌ای بدن می‌رسد. نوزه و نوزه در ان‌داده‌ها چون کربنکس و بافت‌های لیپیدی به مقدار زیاد در اندام‌های جوینکر، می‌تواند به مقدار ناجی‌ساز صورت می‌گیرد (7,3). از دیوار ورود نشده به خون حدود 50 تا 60 درصد به گلوبلاژ قدرت می‌رسد (40 تا 50 درصد به لیپوهبتین) و 30 تا 40 درصد به لیپوهبتین‌های پاسا می‌رسد. نازگل‌زیسی می‌گردد. اتصال سیکلوسپورین به
مواد و روش‌ها

تولید آنتی‌بادی بلیک

کلوتکال آلیه سیکلوسپورین‌های A در

خرگوش: در این دسته‌بندی‌های A

همراه با این درمان گاوی، کانسپرژن شد،

و با عملیاتی تهیه شده جهت

ایمونوسپرسیون خرگوش نکاتی را به

به همین وسیله‌ای انتقال CSA(Sandoz)

خالص کرده و هم زمان

پود در 2/5 ml BSA

پود با 1/500 میکرو جل

در 30 دقیقه در دما

4°C 1/50 میکرو

جدیدتی قرار زده شده می‌باشد

و با 1/100 میلی‌متر در بافر

با فسفات 0/1 میلی‌متر آن اضافه گردید.

سیستیم به 3 مسافت در دمای

37 ± 1 درجه سانتی‌گراد در

دوبیلیز ریخته و به مدت

24 ساعت شیار می‌گردید.

سیستیم این محلول کانسپرژن در لوله‌های

این دور تکمیل شد و برای نگهداری

طول‌الی دمای مطابق گردید (12).

جهت تعبیه غلظت نهایی کانسپرژن به

روش اسکیپروفری و پس‌ساخت

میزان چرب (OD) محلول کانسپرژن

بین میزان 60 - 300 نانومتر

اندازه‌گیری شد و یوتوم را

غلظت نهایی تعبیه گردید (12):

\[
mg/ml = \frac{1/55 \times OD280}{0/77 \times OD260}
\]
گلوله‌ای قرمز منحل شده است. نباوران با خورگی از پیمان و نهی اسلاف خونی مجاری، آزمایش ایمنی‌پویایگی بدون ترتیب زیر انجام گرفت (جهت کنترل منفی از افراد سالم که دارو مصرف نکرده بودند استفاده شد).

1) فیکساسیون اسلایدهای خونی: این عمل با قرار دادن اسلایدهای خونی در محلول کل- استوذ (1:1) و به مدت 3 دقیقه انجام گرفت.

2) اسلایدها: قرار دادن اسلایدها در PBS 1× خشک کردن برای ثابت کردن محلول قرمز اسلایدها در محلول 3 درصدی H2O2 و در منanol به مدت 3 دقیقه.

3) اسلایدها: مانند مرحله دوم.

4) جلوگیری از اتصالات غیر احتمالی: 1/5 بر روی اسلایدها و قرار دادن 1/5 بر روی اسلایدها به مدت 10 دقیقه در اتاق مطروح مرتبط.

5) اسلایدها: مانند مرحله دوم.

6) آزمایش ایمنی‌پویایگی: با استفاده از مرجع دوم. 250 نانومتر خون حذف شد و با استفاده از فرمول مطلوب غلظت نهایی برابر 1/200 تهیه گردید (جدول 1).

7) سپس با تریک این کونژگه به خرگوش و تریک این برای در روزها مکرر به ترتیب آناتومی بادی عضله سیکلوسپورین A اثر معکوس کرد که میزان عیار آنی به دست می‌آید و مزار جنین النزی در این ویتامین B12 مورد غیر مستقیم اکسترا داده است.

1. Counter staining
2. Mounting
جدول 1: میزان جذب نوری و غلظت کونژوکه سیکلوسپورین و آلبومن سرم گاوی

<table>
<thead>
<tr>
<th>OD 280 nm</th>
<th>OD 240 nm</th>
<th>mg/ml</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>0/12</td>
<td>0/17</td>
<td>2/23</td>
</tr>
</tbody>
</table>

برابر 1 با 27 = 1/27 = OD و غلظت آن برابر 800/155 mg/ml

برابر 1/1 تغییر شد. این غلظت غلظت نمای نام کمونژوکه های آنزیمی یکسان بود.

حال در دومین مرحله که آزمایش ایمونوژاکسیدام مستقیم برای تشخیص سیکلوسپورین در غلظه‌های قرومز انجام گرفت مشاهده گردید که آنتی بادی کمونژوکه تولید شده‌اش سیکلوسپورین نواحی تشخیص سیکلوسپورین موجود در غلظه‌های قرمز را داشته و پس از اتصال به سیکلوسپورین و افزودن سوی‌ترا رضوب فوه او در محل DAB اتصال Ag-Ab تشکیل گردید. از پرمارانی که دوره‌های مختلف از سیکلوسپورین را مصرف کرده بودند در زمان ۱ ساعت سه مصرف ، نمونه گیری انجام و پس از نهایی اسلاید و آزمایش ایمونوژاکسیدام مستقیم واکنش آنتی زن - آنتی بادی انجام شد و رضوب فوه او در هنگام در رنگ‌رسوب عصب‌های غلظت و نمایش دادند که تغییر اینکه غلظت و شدت رنگ رضوب در حاشیه غلظت و نمایش دادند که تغییر اینکه غلظت و شدت رنگ رضوب در حاشیه و نهایتا در دارو وقت با دوز مصرفی دارو بود و در نهایت بالاتر رضوبی توجه تر و ضخیم تری تشکیل گردید.

جدول 2: نتایج حاصل از آزمایشات الایزی علی مستقیم برای تعیین عبارات آنتی سیکلوسپورین در خروکس

<table>
<thead>
<tr>
<th>روز</th>
<th>۰</th>
<th>۱۲</th>
<th>۲۴</th>
<th>۴۸</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>جذب نوری (OD)</td>
<td>0/5</td>
<td>0/5</td>
<td>0/5</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

با توجه به جدول ۲، فیل از تریک، میزان آنتی بادی اختصاصی در روز صفر برابر صفر بود که در روز ۱۲ (قبل از تریک) درآمد اختصاصی را نشان داد. میزان آنتی بادی ده روز بعد از تریک دوم روز ۲۴ تنها به نوشت این فیل افزایش قابل ملاحظه ای داشته و همچنین میزان آنتی بادی ده روز بعد از تریک در روز ۲۴ یک برابر افزایش یافته بود. در این میزان آنتی بادی ده روز بعد از تریک در روز ۲۴ کاهش یافته بود. در این میزان آنتی بادی ده روز بعد از تریک در روز ۲۴ افزایش یافته بود. در این میزان آنتی بادی ده روز بعد از تریک در روز ۲۴ کاهش یافته بود.

مراجع

منحی نواحی

واکنش‌های مصرفی را مصرف کرده بودند در زمان ۱ ساعت سه مصرف، نمونه‌گیری انجام و پس از نهایی اسلاید و آزمایش ایمونوژاکسیدام مستقیم واکنش آنتی زن - آنتی بادی انجام شد و رضوب فوه او در هنگام در رنگ‌رسوب عصب‌های غلظت و نمایش دادند که تغییر اینکه غلظت و شدت رنگ رضوب در حاشیه غلظت و نمایش دادند که تغییر اینکه غلظت و شدت رنگ رضوب در حاشیه و نهایتا در دارو وقت با دوز مصرفی دارو بود و در نهایت بالاتر رضوبی توجه تر و ضخیم تری تشکیل گردید.
تصویر شماره ۱: کنترل منفی

تصویر شماره ۲: خون حاوت سیگلوسپورین با دوز مصرفی ۵ mg/kg

تصویر شماره ۳: خون حاوت سیگلوسپورین با دوز مصرفی ۷ mg/kg
mg/kg

EMIT, CLIA, ACMIA, FPIA, ELISA, RIA, HPLC

BSA, KLH A C

Quesniaux

CSA+BSA

OD

IgG

mg/kg

EMIT, CLIA, ACMIA, FPIA, ELISA, RIA, HPLC

BSA, KLH A C

Quesniaux

CSA+BSA
References


in Indirect Peroxidase Method for Diagnosis of Drug in RBC
Hosseinzadeh M.(MSC)\textsuperscript{1}, Ghaderi A.(PhD)\textsuperscript{2}. Vasee IM.(PhD)\textsuperscript{3}

Abstract

\textbf{Introduction:} Cyclosporine is an Immunosuppressive agent by Inhibition of 11-12, INF-y and GM-CSF Gens. It is used in transplant and autoimmune patients and inhibition of GVHD in bone marrow transplants.

\textbf{Methods:} In this experimental research, polyclonal antibody was produced against cyclosporine in rabbit by glutaraldehyde attachment to bovin serum albumin. Then, it was conjugated using peroxidase enzyme. Preparing blood slides of cyclosproing recipient patients and the control group, and fixing them by alcohol- acetone and preparation of slides from conjugated anti-cyclosporine antibody along with addition of DAB substrat and creating a brown sedimentation under the RBC membrane to detect the cyclosporine present in RBC were used.

\textbf{Finds:} Specificness of induced antibody was confirmed by indirect ELISA, while concentration and color of the sediment in the margin of RBC with drug doses were suitable in the patients.

\textbf{Discussion:} Applying such antibodies to design different techniques in detecting of the presence and amount of different agents in the blood, tissues and biological fluids is recommended.

\begin{center}
\begin{tabular}{c}
* * *
\end{tabular}
\end{center}

\textbf{Key words:} Cyclosporine, kidney transplantation, immunohistochemistry.

\textsuperscript{1} Faculty member, Ilam medical university
\textsuperscript{2} Faculty member, Immunology Dep., Shiraz medical university
\textsuperscript{3} Faculty member, Pathology Dep., Shiraz medical university