جامعة الاسكندرية
معهد البحوث الطبية

جامعة الإسكندرية
ALEXANDRIA UNIVERSITY

Medical Research Institute
Department of Pharmacology

The Possible Protective Effects of Thymoquinone on Isopretrenol-Induced Myocardial Infarction Associated Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis in Rats

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of PhD

In

Pharmacology and Experimental Therapeutics

Presented by

Asmaa Ahmed Mohamed Khalifa

B.Sc. Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy
Alexandria University, 2009
M.Sc. in Pharmacology, Medical Research Institute
Alexandria University, 2015

P.U.A. Library
Central Medical Library (B)
Faculty of :
Serial No : 686
Classification : 615

2020

الملخص العربى

إحتشاء عضلة القلب هو واحد من الأسباب الرئيسية للإعتلال والوفيات في جميع أنحاء العالم. كما أنه مسؤل عن أكثر من خمسة عشرة بالمائة من الوفيات فى كل عام. و قد يحدث إحتشاء عضلة القلب كنتيجة لإنسداد في الشريان التاجي ، مما يؤدي إلى عدم كفاية إمدادات الأكسجين إلى عضلة القلب ، وبالتالي يسبب ذلك تهديد خطير لصحة الأنسجة حيث تعتمد عضلات القلب على التوصيل المستمر للأكسجين والمواد المغذية حيث تكون قدرة القلب على التمثيل الغذائي محدودة فى حالات غياب الأكسجين . و يمكن تشخيص إحتشاء عضلة القلب من خلال أعراض نقص وصول الدم الحاد (ألم في الصدر) زيادة نقص القياسات في الدم (cTn , LDH, AST , CK-MB) . أثناء إحتشاء عضلة القلب يحدث تلف بالأنسجة و الذي يؤدي إلى سلسلة متتابعة من الأحداث الخلوية أهمها الإجهاد التأكسدي ، والإستجابات الإلتهابية المختلفة ، وموت الخلايا المبرمج ، والإلتهام الذاتى والتغيير المورفولوجي ، و بمجرد حدوث هذه التغيرات يمكن ملاحظة تطورها تدريجيا.

وأثناء الإجهاد التأكسدي المصاحب لحالات إحتشاء عضلة القلب تنتج شقائق الأكسجين النشطة و التى تبدأ فى عمليات أكسدة الدهون و البروتينات بالخلايا و أيضا تسبب تلفا بالحمض النووى . وبشكل عام ، تبدأ الخلايا بعمل نظام تكيفي لحمايتها من خلال بعض المواد الضادة للأكسدة فى مقاومة شقائق الأكسجين النشطة وعندما يتجاوز تركيز الشقائق الحرة النشطة قدرة الخلية على التكيف كما فى حالات الإصابة بإحتشاء عضلة القلب ، تشهد الخلية حالة فائقة من الإجهاد التأكسدي .مما يؤدى إلى إطلاق إشارات إنذار داخلية تليها مجموعة أحداث متتابعة تتسبب أخيرا في زيادة مستويات كل من (TNF-α و IL-1β و IL-6). العديد من العوامل الأخرى التى تتسبب فى حدوث موت الخلايا المبرمج في عضلات القلب مثل: تلف الحمض النووي ، و الإجهاد التأكسدى ، والتأثير المباشر لبعض السيتوكينات. و تعد كل من عائلتى Caspases و Bcl-2 من أنواع البروتينات التى تتدخل في عملية موت الخلايا المبرمج . يعرف الإلتهام الذاتى بكونه عملية معقدة يمكن أن تشارك في كل من بقاء الخلايا وموتها (عملية مزدوجة). ففي الحالات الطبيعية يلعب الإلتهام الذاتى دورا مهما في الحفاظ على كل من بنية ووظيفة عضلة القلب. بينما فى الحالات المرضية كما في حالة إحتشاء عضلة القلب يكون دوره أكثر تعقيدا. كذلك فى أثناء عملية الإلتهام الذاتى يتم تصنيع و زيادة معامل LC3 ، مما يجعله مؤشرا رئيسيا لمستويات الإلتهام الذاتى في الخلايا.

يعتبر أيزوبروترينول منبها غير إنتقائي لمستقبلات بيتا وهو مادة يمكن أن تولد شقائق حرة نشطة أثناء الأيض الذاتى لكتيكول أمينات فى الخلايا . كما يسبب أيزوبروترينول عدم إنتظام شديد فى ضربات القلب ،مما يؤدى إلى حدوث إحتشاء غير متوقع الحجم و الموقع فى عضلة القلب .

و على الرغم من التقدم فى إستراتيجيات علاج حالات إحتشاء عضلة القلب فمازالت الأبحاث مستمرة خاصة فى إستحداث علاجات دوائية تحقق الفائدة المرجوة لمرضى هذه الحالات و فى الأونة الحالية زاد الإهتمام بالعودة لإستخدام الأدوية العشبية فى كثير من الأمراض في جميع أنحاء العالم لفاعلياتها و قلة أثارها الجانبية . واحدة من هذة الادوية ذات الأصل النباتى و التي لها تأثير وقائي محتمل ضد إحتشاء عضلة القلب هي حبة البركة .و تعتبر مادة ثيموكينون المكون الرئيسى في زيت بذور حبة البركة. و مادة ثيموكينون مضادا قويا للأكسدة ولها خصائص مضادة للإلتهابات ، و في العديد من الدراسات ما قبل السريرية والسريرية أظهر ثيموكينون تأثيرا وقائيا ضد أمراض الكلى و الكبد ، و الأمراض العصبية.

و قد صممت هذه الدراسة لإستقصاء تأثير ثيموكينون في نموذج الإصابة لعضلة القلب بالإحتشاء الناجم عن إستخدام أيزوبروترينول في الجرذان بالإضافة لفهم الآليات الممكنة لتأثيرات ثيموكينون عن طريق قياس مؤشرات الإجهاد التأكسدي والإلتهاب وموت الخلايا المبرمج في أنسجة عضلة القلب.

في هذه الدراسة تم إستخدام الجرذان البيض الذكور ذات وزن بين ١٥٠-٢٠٠ جرام. كما تم تقسيم هذه الجرذان في المجموعات التالية بحيث تحتوى كل مجموعة على عدد ١٤- ١٦من الجرذان:

المجموعة ١: (المجموعة الضابطة) تلقت جرذان هذه المجموعة محلول ملحي (١ مل / كجم ، بالفم) يوميا لمدة ٢١ يوما ، وبالإضافة إلى ذلك تلقت محلول ملحي (٠,٥ مل / كجم ، تحت الجلد) فى يومي ٢٠ و ٢١ من بدء الدراسة بفاصل ٢٤ ساعة

المجموعة ٢: (الثيموكينون٢٠): تلقت جرذان هذه المجموعة ثيموكينون بجرعة (٢٠ مجم / كجم يوميا ، مذابة في 5 ٪ dimethyl sulfoxide DMSO ، بالفم) لمدة ٢١ يوما كما تلقت محلول ملحي (٠,٥ مل / كجم ، تحت الجلد) فى يومي ٢٠ و ٢١ من بدء الدراسة بفاصل ٢٤ ساعة

المجموعة ٣ : (الثيموكينون٥٠): تلقت جرذان هذه المجموعة ثيموكينون بجرعة (٥٠ مجم / كجم يوميا ، مذابة في ٥ ٪ DMSO ، بالفم) لمدة ٢١ يوما وفي اليومين ٢٠ و ٢١ ، تلقت محلول ملحى (٠,٥ مل/كجم، تحت الجلد) فى يومي ٢٠ و ٢١ من بدء الدراسة بفاصل ٢٤ ساعة.

المجموعة ٤: (إحتشاء عضلة القلب الناجم عن أيزوبروترينول): تلقت جرذان هذه المجموعة محلول ملحي (١ مل / كجم ، بالفم) يوميا لمدة ٢١ يوما ، وبالإضافة إلى ذلك ، تلقت أيزوبروترينول (٨٥ مجم / كجم ، مذاب في محلول ملحي ، تحت الجلد) في اليومين ٢٠ و ٢١ من بدء الدراسة بفاصل ٢٤ ساعة.

المجموعة ٥: (إحتشاء عضلة القلب الناجم عن أيزوبروترينول+ الثيموكينون٢٠): تلقت جرذان هذه المجموعة الثيموكينون (٢٠ مجم / كجم / يوم مذاب في DMSO 5٪ ،بالفم) لمدة ٢١ يوما جنبا إلى جنب مع جرعة الأيزوبروترينول (٨٥مجم / كجم ، مذاب في محلول ملحي ، تحت الجلد) في اليومين ٢٠ و ٢١ من بدء الدراسة بفاصل ٢٤ ساعة.

المجموعة ٦ : (إحتشاء عضلة القلب الناجم عن أيزوبروترينول+ ثيموكينون٥٠): تلقت جرذان هذه المجموعة الثيموكينون (٥٠ مجم / كجم يوميا ، مذاب في DMSO ٥٪ ، بالفم) لمدة ٢١ يوما جنبا إلى جنب مع إعطاء أيزوبروترينول (٨٥ مجم / كجم ، مذاب فى المحلول الملحى ، تحت الجلد) في الأيام ٢٠ و ٢١ من بدء الدراسة بفاصل ٢٤ ساعة.

فى نهاية التجربة تم جمع الدم لقياس:

- Aspartate aminotransferase (AST)
- Creatine phosphokinase (CB-MB)
- Lactate dehydrogenase (LDH)
- Cardiac troponin I (c Tn I)

كما تم استئصال قلوب الجرذان :

- Interleukin -1β (IL-1β) concentration, Interleukin-6 (IL-6) concentration and Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) levels concentrations.
- Levels of malondialdehyde (MDA) and reduced glutathione (GSH) concentration and superoxide dismutase (SOD) activity
- Caspase-3 level
- LC3 light chain 3 level
- كما تم إستخدام أجزاء من القلب لدراسة الهستوباثولوجية بعد صبغها بصبغة H&E و صبغة ماسون تراى كروم و أيضا تم استخدام ٦ جرذان من كل مجموعة لقياس حجم إحتشاء عضلة القلب بإستخدام فحص ثلاثي فينيل كلوريد تترازوليوم.

كشفت بوضوح النتائج الرئيسية لهذه الدراسة أن كلتا الجرعتين من ثيموكينون قللت بشكل كبير من التأثيرات الضارة لمادة أيزوبروترينول على عضلة القلب ، و قد كانت الجرعة العالية من ثيموكينون(٥٠مجم/كجم/يوم) أكثر فعالية بشكل ملحوظ في تخفيف كل من التغيرات المرضية في الأنسجة العضلية للقلب و الدلائل التشخيصية للقلب في الدم مقارنة بالجرعة الأقل (٢٠ مجم / كجم/ يوم). و قد أظهرت مادة ثيموكينون تأثيرا ضد الإحتشاء القلبى الناجم عن أيزوبروترينول في الجرذان. فقد ظهر بوضوح أن المعالجة المسبقة للجرذان بمادة ثيموكينون تؤدى الى تقليل حجم إحتشاء عضلة القلب ، و تقليل التغيرات الهستولوجية بالقلب ، بالإضافة الى إنخفاض دلائل الإجهاد التأكسدي ، و الإلتهاب ، ودلائل موت الخلايا المبرمج والتليف، ودلائل زيادة الإلتهاب الذاتي لأنسجة عضلة القلب. و هذة التأثيرات المتعددة لمادة ثيموكينون و التى تشمل تأثيرا مضادا للأكسدة ومضادا الإلتهاب ومضادا لموت الخلايا المبرمج ومضادا للإلتهام الذاتى ، قد يعطى تفسيرا للقدرة الملحوظة لمادة ثيموكينون على الوقاية القلبية الملحوظة في الجرذان التي خضعت للمعالجة بمادة ثيموكينون قبل و أثناء المعالجة بمادة أيزوبروترينول مقارنة بالجرذان التي خضعت للمعالجة بالمحلول الملحى قبل و أثناء المعالجة بمادة أيزوبروترينول .

و قد أظهرت هذه الدراسة العديد من الإضافات العلمية الجديدة والمهمة فيما يتعلق بفعالية مادة ثيموكينون في حماية القلب من حدوث مرض إحتشاء عضلة القلب ، و يعد هذا المرض مشكلة طبية و إجتماعية و قد لوحظ أن هذا العبء فى تزايد مستمر في كل من البلدان المتقدمة والغير متقدمة على الرغم من التقدم الكبير في التشخيص والعلاج. و هذه الإضافات تشمل: أولا ، تشير هذه الدراسة ، ولأول مرة ، إلى أن التأثيرات المفيدة لمادة ثيموكينون تعتمد على زيادة الجرعة تدريجيا و ذلك للوقاية من حدوث إحتشاء عضلة القلب كما ظهر ذلك بوضوح فى نوذج إحتشاء القلب فى الجرذان حيث ظهر التأثير الوقائى مع إستخدام ثيموكينون في كلتا الجرعتين و قد كان التحسن أكثر وضوحا في حالة إستخدام الجرعة العالية (٥٠ مجم / كجم / يوم) مقارنة بالجرعة المنخفضة (٢٠ مجم / كجم / يوم) . ثانيا ، توضح هذه الدراسة ، لأول مرة ، أن العلاج بإستخدام ثيموكينون بجرعة عالية يمكن أن يزيد من المستوى الأساسي لمادة GSH فى عضلة القلب مضيفا تأثيرا مباشرا على مضادات الأكسدة فى القضاء على جزيئات الأكسجين النشطة ، ثالثا ، مادة ثيموكينون لها تأثير مضاد للتليف مما يؤدى إلى تقليل التليف المصاحب لإحتشاء عضلة القلب الناجم عن إستخدام أيزوبروترينول في الجرذان . رابعا ، يعمل ثيموكينون بمثابة محفز للإلتهام الذاتي في إحتشاء عضلة القلب الحاد و ذلك لمنع حدوث المزيد من التلف في خلايا عضلة القلب مع التدهور المصاحب للمرض في وظيفة القلب. ولا يزال يتعين توضيح التأثيرات السريرية والآليات الفيزيولوجية لنتائج هذه الدراسة الحالية مع إجراء مزيد من الدراسات و ذلك لتأكيد فاعلية ثيموكينون بمثابة علاج وقائي جديد واعد للمرضى الذين قد يتعرضون لحدوث مرض إحتشاء عضلة القلب و أيضا للوقاية من تفاقم مرض إحتشاء عضلة القلب فى الحالات التى يتم تشخيصها.