

406

The Anti-inflammatory Effect of Galantamine in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in Rats

**Thesis submitted for the partial fulfillment of Master Degree
in
Pharmaceutical Sciences
(Pharmacology and Toxicology)**

By

Mohamed Amin Abdelrahman Amin El-Emam

B.Sc. Pharmacy, Faculty of Pharmacy and Drug Manufacturing,
Pharos University in Alexandria, 2014
Demonstrator at the Department of Pharmacology & Therapeutics
Faculty of Pharmacy and Drug Manufacturing
Pharos University in Alexandria

Under the supervision of

Prof. Dr. Dalaal Moustafa Abdallah

Professor of Pharmacology & Toxicology
Faculty of Pharmacy
Cairo University

Prof. Dr. Hanan Salah El-Abhar

Professor of Pharmacology & Toxicology
Faculty of Pharmacy
Cairo University

Dr. Mennatallah Adel Gowayed

Lecturer of Pharmacology & Toxicology
Faculty of Pharmacy and Drug Manufacturing
Pharos University in Alexandria

Faculty of Pharmacy

Cairo University

2020

P.U.A. Library	
Central Medical Library (B)	
Faculty of :	
Serial No	687
Classification :	615.1

مرض التصلب المتعدد هو مرض ناتج عن خلل ذاتي بالجهاز المناعي يصاحبه حالات التهاب مزمن تقوم بتدمير غطاء الميالين والمحور العصبي في المخ و جذع المخ و النخاع الشوكي بمختلف الدرجات و في النهاية يؤدي إلى التدهور التدريجي و غير القابل للرجوع بمرور الوقت. هذه التغيرات المركزية تؤثر في الوظائف الحركية الطرفية فتؤدي إلى الضعف و الإرهاق العضلي و في النهاية تقوم بمنع النشاطات الحركية اليومية. حديثاً، تبين أن إعادة التأهيل بالتدريب هو أحد العلاجات الداعمة غير الدوائية لمرض التصلب المتعدد التي تستطيع إعادة جودة الحياة لهؤلاء المرضى.

كذلك أصبح دور الجهاز العصبي اللاإرادي في مقاومة الالتهاب جاذباً للإنتباه في الفسيولوجيا المرضية للعديد من الأمراض ذاتية المناعة والأدوية التي تستهدف هذا الدور من خلال العصب الحائر حيث تبين أن له دوراً مؤثراً في الحد من الالتهاب و بالتالي وجد أنه ذا قيمة في علاج هذه الحالات.

أظهر دواء الجالانتامين، المانع لإنزيم الأسيتيل كولين إستريز في المخ تأثيراً مضاداً للالتهاب في نماذج التهاب المفاصل و التهاب القولون التقرحي في حيوانات التجارب حيث إنه من خلال تأثيره يقوم بمنع تكسير الأسيتيل كولين فيتجمع في نقاط الإشتباك العصبي. هذا التجمع للأسيتيل كولين يؤدي إلى زيادة تفاعله مع مستقبلات الأسيتيل كولين ألفا 7 و ألفا 4 بيتا 2 النيكوتينية، والمتواجدة في الخلايا العصبية و الالتهابية، مما يؤدي إلى تقوية المسار الكوليني.

بعد فترة التأقلم (من اليوم -21 إلى -14)، تم تقسيم الجرذان إلى مجموعتين أساسيتين: مجموعة غير متدربة (SED, n=24) و مجموعة متدربة (EX, n=24) تدربت على السير على عمود معدني دوار لمدة 30 دقيقة في اليوم في فترة التعود (من اليوم -14 إلى -1). في اليوم صفر، تم حقن ذكور جرذان Sprague Dawley مرة واحدة فقط تحت الجلد في القدمين الخلفيتين و في قاعدة الذيل ماعدا مجموعات الجرذان الأصحاء المتدربة و غير المتدربة وتم الإشارة لهم بالمجموعة الأولى و الثانية على التوالي (CS, CE; n=6). بعد ذلك تم تقسيم الجرذان المحدث بها إلهاب المخ و النخاع الشوكي ذاتي المناعة إلى مجموعتين متدربة و غير متدربة (US, UE; n= 18) وتم الإشارة لهما بالمجموعة الثالثة و الرابعة على التوالي. وبعد ذلك، تم تكملة سير الجرذان المتدربة على العمود لمدة 17 يوم متتابع. في بداية ظهور الأعراض السريرية (قياس 1) في اليوم 13 و قبل بدء الشلل في الربع الخلفي، تم تقسيم المجموعتين US و UE إلى 3 مجموعات صغيرة مكونة من 6 جرذان في كل مجموعة.

في المجموعتين الثالثة و الرابعة تركت الجرذان المحدث فيها إلتهاب المخ و النخاع الشوكي ذاتي المناعة غير المتدربة و المتدربة (US & UE) بدون علاج و حصلت يوميا على جرعة من محلول الملح عن طريق الفم. بينما تم علاج الجرذان في المجموعتين الخامسة و السادسة غير المتدربة و المتدربة (GS&GE) بدواء الجالانثامين يوميا عن طريق الفم (٥ مجم/ كجم). أما الجرذان في المجموعتين الأخيرتين (المجموعتين السابعة و الثامنة) فقد تم حقنها بدواء الميتوكسانترون (MS&ME) يوميا في الغشاء البريتوني (٢.٥ مجم لكل كجم).

تم إعطاء العلاجات يوميا لمدة ٥ أيام حتي نهاية التجربة في اليوم ١٧ و تم إعطاء هذه العلاجات في المجموعات المتدربة قبل التدريب بساعة. تم تقييم التطور في إلتهاب المخ و النخاع الشوكي ذاتي المناعة عن طريق المقياس الخاص به و إختبار العمود الدوار. في نهاية التجربة تم قتل الجرذان و تم جمع سائل المخ و النخاع الشوكي لقياس مستويات عامل نخر الورم ألفا (TNF- α)، مؤشر الإلتهاب المهيمن في مرض التصلب المتعدد، و إنترلوكين ٦، أحد مؤشرات الإلتهاب في مرض التصلب المتعدد، و عامل التغذية العصبية المشتق من المخ كمؤشر دال على إعادة تكوين غطاء الميالين و المانع لموت الخلايا المبرمج Bcl-2 و بروتين X المرتبط ب Bcl-2 والمنظم لعملية موت الخلايا المبرمج (Bax) و في النهاية تم حساب نسبة Bcl-2/Bax.

كما تم إستخراج النخاع الشوكي و غسله بالمحلول المنظم من ملح الفوسفات و حفظه في الفورمالدهيد خلال ٢٤ ساعة وتم إستخدام تلك العينات لدراسة النسيج المرضي و التحليل النسيجي الكيميائي المناعي لدلالة موت الخلايا المبرمج caspase-3 و Foxp3 كدليل على نشاط الخلايا المناعية التنظيمية (Tregs) بإستخدام الأجسام المضادة المقابلة.

نتائج هذه الدراسة:

١. أدى إلتهاب المخ و النخاع الشوكي ذاتي المناعة المحدث تجريبيا لزيادة المقياس الخاص به و قام بتقليل الأداء الحركي للجرذان المتدربة.
٢. أدى إلتهاب المخ و النخاع الشوكي ذاتي المناعة المحدث تجريبيا، مع التدريب أو بدونه، لزيادة مستويات عامل نخر الورم ألفا و إنترلوكين ٦ و بروتين X المرتبط ب Bcl-2 في سائل المخ و النخاع الشوكي بالإضافة إلى caspase-3&Foxp3 في النخاع الشوكي. كما أدى إلى زيادة الإلتهاب و زيادة إزالة الميالين في أعصاب النخاع الشوكي.

٣. كما أدى إلتهاب المخ و النخاع الشوكي ذاتي المناعة المحدث تجريبيا لتقليل مستويات عامل التغذية العصبية المشتق من المخ و المؤشر المانع لموت الخلايا المبرمج.

٤. و على العكس من ذلك فقد أدت المعالجة بدواء الجالانتامين إلى التقليل من مقياس إلتهاب المخ و النخاع الشوكي ذاتي المناعة المحدث تجريبيا و زيادة الأداء الحركي للجرذان المتدربة.

٥. ميكانيكيا، قام دواء الجالانتامين بمفرده أو بمصاحبة التمرين، بمنع و تقليل مستويات عامل نخر الورم ألفا و إنترلوكين ٦ و بروتين X المرتبط ب Bcl-2 في سائل المخ و النخاع الشوكي، بالإضافة إلي caspase-3&Foxp3 في النخاع الشوكي.

٦. على النقيض، قام دواء الجالانتامين بزيادة مستويات عامل التغذية العصبية المشتق من المخ و المؤشر المانع لموت الخلايا المبرمج و ايضا قام بتحسين إعادة تكوين غطاء الميالين في أعصاب النخاع الشوكي.

٧. جدير بالملاحظة أن تأثير دواء الجالانتامين تجاوز تأثير دواء الميتوكسانترون بالنسبة لمقياس إلتهاب المخ و النخاع الشوكي ذاتي المناعة المحدث تجريبيا و الأداء الحركي و عامل نخر الورم ألفا و على وجه التحديد دلالات موت الخلايا المبرمج.

استنتجا مما سبق، فإن دواء الجالانتامين في هذه الدراسة قام بإضعاف قوة إلتهاب المخ و النخاع الشوكي ذاتي المناعة المحدث تجريبيا و مؤشرات الإلتهاب و موت الخلايا المبرمج. بالإضافة إلى تقليل عملية إزالة الميالين و المساعدة في إعادة بنائه و زيادة تكوين الأعصاب و قد تحسنت هذه التأثيرات بالتدريب. و هذا يقترح دور دواء الجالانتامين العلاجي في مرض التصلب المتعدد. بالإضافة إلى ذلك فإن تأثير دواء الجالانتامين في Foxp3 في النخاع الشوكي أدى إلى إفراض أن هذا الدواء قادر على التحكم في الإستجابة المناعية في مرض التصلب المتعدد من خلال إعادة الخلايا المناعية التنظيمية لمستواها الطبيعي. كما أن التدريب في هذه الدراسة أثبت أيضا دوره في علاج مرض التصلب المتعدد بإضعاف قوة إلتهاب المخ و النخاع الشوكي ذاتي المناعة المحدث تجريبيا و الإلتهاب و موت الخلايا المبرمج. جدير بالذكر أن حماية الأعصاب بواسطة دواء الجالانتامين في مرض التصلب المتعدد التجريبي في هذا النموذج قد فاق تأثير الدواء المصرح بإستخدامه لمرض التصلب المتعدد و هو الميتوكسانترون.