Cairo University

Faculty of Pharmacy

Assessment of pregabalin-induced cardiovascular effects in experimental animals: studying the modulating effect of angiotensin 1-7

Thesis submitted for the degree of doctor of philosophy in pharmaceutical sciences (Pharmacology and Toxicology)

Presented by

Zeinab Mohamed Abdel-Aziz Ismail Mohamed Awwad
Assistant Lecturer of Pharmacology and Therapeutics
Faculty of Pharmacy and Drug Manufacturing
Pharos University in Alexandria

Under the supervision of

Prof. Dr. Aiman S. El-Khatib
rofessor of Pharmacology and Toxicology
Faculty of Pharmacy
Cairo University

Prof. Dr. Mahmoud M. Khattab
Professor of Pharmacology and Toxicology
Faculty of Pharmacy
Cairo University

Prof. Dr. Ahmed I. ElMallah
Professor of Pharmacology and Toxicology
Faculty of Pharmacy
Alexandria University

P.U.A. Library
Central Medical Library (B)
Faculty of :
Serial No : 692
Classification : 540

Faculty of Pharmacy
Cairo University
2020

الملخص العربى

يعتبر البريجابالين النظير الهيكلى لحمض الجاما-أمينوبيوتيريك عامل تحوير عصبي جديد مضادًا لنوع إل من قنوات الكالسيوم ويرتبط بالتحديد بوحيدة الألفا ٢ دلتا لإحداث مفعوله المسكن و المضاد للصرع. إنه يخفف أعراض أنواع مختلفة من آلام الأعصاب بنجاح ويمثل الخط العلاجى الأول بفعالية ملحوظة. و هو يوصف على نطاق واسع لمتلازمات الألم المزمن مثل الاعتلال العصبي السكري والألم العصبي التالي للهربس، وكذلك نوبات الصرع الجزئي واضطرابات القلق والألم العضلي الليفي.

ذلك وعلى الرغم من إستخدامات البريجابالين العلاجية الواسعة، إلا أن تأثيراته الضارة على القلب تعوق إستخدامه. إن القصور القلبى هو أحد الآثار الضارة الرئيسية لإستخدام البريجابالين و الذي يتطلب التوقف عن إعطاء الدواء ويحد من إستخدامه.

و رغم أنه قد تم إقتراح أن عمل البريجابالين كمضادًا لنوع إل من قنوات الكالسيوم يكمن وراء التأثيرات القلبية الضارة التي يمارسها كنتيجة لإنخفاض تدفق الكالسيوم إلى خلايا عضلة القلب ، إلا أنه حتى الآن لم يتم توضيح الآلية الدقيقة للقصور القلبى الناجم عن استخدام البريجابالين. بالإضافة إلى ذلك ، لم تتم دراسة الإستراتيجيات والعوامل الوقائية لتخفيف القصور القلبى المستحدث بالبريجابالين.

يلعب فرط نشاط نظام الرينين أنجيوتنسين دورًا محوريًا في تطور وتقدم مجموعة متنوعة من الحالات السريرية بما في ذلك القصور القلبى. ان المحور الجديد لنظام الرينين أنجيوتنسين، محور الإنزيم المحول للأنجيوتنسين٢/ أنجوتنسين ١-٧/ مستقبل الماس، يعكس العديد من الآثار الضارة لفرط نشاط المحور الكلاسيكي، الإنزيم المحول للأنجيوتنسين/ أنجوتنسين ٢/ مستقبل أنجيوتنسين٢ النوع ١، في أمراض القلب والأوعية الدموية.

قد اجرى البحث الحالي بهدف دراسة التغيرات القلبية الناجمة عن التناول المزمن للبريجابالين في الجرذان. و تم تقييم القصور القلبى بواسطة أداء تخطيط صدى القلب، بالإضافة إلى قياس مستوى النهاية الأمينية لطليعة الببتيد الدماغي المدر للصوديوم في نهاية فترة العلاج. و تم أيضا تحديد وزن القلب ومؤشر وزن القلب وكذلك فحص الأنسجة للمزيد من التأكيد من التغيرات القلبية الناجمة عن استخدام البريجابالين.

و قد تم افتراض امكانية اسهام تعديل نظام الرينين أنجيوتنسين في الآلية المرضية للقصور القلبي الناتج عن البريجابالين. استنادا إلى هذا النهج ؛ تم تقييم التغيرات المحتملة لمكونات نظام الرينين أنجيوتنسين بما في ذلك قياس مستويات أنجوتنسين ١-٧ و أنجوتنسين ٢، بالإضافة إلى مستوى الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ٢ و الإنزيم المحول للأنجيوتنسين و مستقبل الماس و مستقبل أنجيوتنسين٢ النوع ١ فى عضلة القلب. و لزيادة التأكد من دور نظام الرينين أنجيوتنسين في آلية القصور القلبي التي يسببها البريجابالين، تم فحص التأثير القلبي المحتمل للدايمينازين، منشط الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ٢، على معلمات عضلة القلب التي تم إحداثها بواسطة البريجابالين.

كما فحص البحث التجريبي الحالي أيضًا التأثيرات القلبية للتلميسارتان و الكابتوبريل في التخفيف من القصور القلبى الناجم عن استخدام البريجابالين في الجرذان. وكذلك هدفت الدراسة الحالية إلى استكشاف

ومقارنة تأثير التلميسارتان و الكابتوبريل على تحسين العوامل المورفومترية و عوامل تخطيط صدى القلب والورم العضلي والتغير فى أنسجة القلب التي يسببها البريجابالين في الجرذان. بالإضافة إلى ذلك، تم دراسة دور تعديل نظام الرينين أنجيوتنسين بواسطة التلميسارتان و الكابتوبريل في الوقاية من التغييرات الضارة في مكونات نظام الرينين أنجيوتنسين القلبية الناجمة عن استخدام البريجابالين.

لتحقيق الأهداف السابقة، اجريت هذه الدراسة على ذكورجرذان سبراغ داولي، تراوحت أوزانهم ما بين ٢٠٠ و ٢٢٠ جم. و قد تم تقسيم الجرذان لمجموعات مختلفة على النحو التالي:

الجزء الأول: دراسة الآثار القلبية الضارة للبريجابالين وتأثير استخدام البريجابالين و الدايمينازين معا على هذه الآثار.

- **المجموعة الأولى:** جرذان طبيعية تلقت محلول ملحى، و قد استخدمت كمجموعة ضابطة.
- **المجموعة الثانية:** جرذان تلقت البريجابالين المذاب في المحلول الملحى بجرعة ١٠ مجم / كجم يوميا عن طريق الفم.
- **المجموعة الثالثة:** جرذان تلقت البريجابالين (١٠ مجم / كجم) عن طريق الفم و الدايمينازين بجرعة ١٥ مجم / كجم يوميا عن طريق الحقن داخل التجويف البريتونى.

الجزء الثانى: دراسة و مقارنة آثار التلميسارتان والكابتوبريل في تحسين التغيرات القلبية الضارة المستحدثة بالبريجابالين.

- **المجموعة الأولى:** جرذان طبيعية تلقت محلول ملحى، و قد استخدمت كمجموعة ضابطة.
- **المجموعة الثانية:** جرذان تلقت البريجابالين المذاب في المحلول الملحى بجرعة ١٠ مجم / كجم يوميا عن طريق الفم.
- **المجموعة الثالثة:** جرذان تلقت البريجابالين (١٠ مجم / كجم) و التلميسارتان بجرعة ١٠ مجم / كجم يوميا عن طريق الفم.
- **المجموعة الرابعة:** جرذان تلقت البريجابالين (١٠ مجم / كجم) و الكابتوبريل بجرعة ٣٠ مجم / كجم يوميا عن طريق الفم.

و قد أعطيت جميع العقاقير لمدة ٣ أسابيع. و في نهاية فترة العلاج ؛ في يوم ٢٢ ، تم تخدير الحيوانات لفحص تخطيط صدى القلب. ثم تم جمع عينات الدم من الشريان الأورطي البطني في أنابيب اديتا. و بعد ذلك، تم فصل البلازما وحفظها عند درجة حرارة -٨٠° م. و تم استئصال قلوب جميع المجموعات الحيوانية بسرعة، وغسلها بمحلول ملحي ثالج ووزنها لتحديد وزن القلب ومؤشر وزن القلب. تم فصل قمة القلب و وضعه في محلول الفورمالين الملحي بنسبة ١٠٪ لفحص الأنسجة. و تم تقسيم الجزء المتبقي من البطينين إلى جزأين وحفظهما على الفور عند درجة حرارة -٨٠° م الى ان يتم تجانسهما ومعايرتهما لتحديد المعلمات الكيميائية الحيوية التالية:

١. مستوى النهاية الأمينية لطليعة الببتيد الدماغي المدر للصوديوم فى البلازما
٢. مستويات الأنسجة القلبية لببتيدات نظام الرينين أنجيوتنسين :

أ) الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ٢
ب) أنجيوتنسين ١-٧
ج) مستقبل الماس
د) الإنزيم المحول للأنجيوتنسين
ه) أنجيوتنسين ٢
و) مستقبل أنجيوتنسين٢ النوع ١
٣. مستويات أنسجة القلب من كينيات البروتين:
أ) البروتين كيناز أ
ب) فوسفواينوسيتيد ٣- كيناز

أظهرت نتائج هذه الدراسة بوضوح أن تناول البريجابالين ارتبط باحداث القصور القلبى. وقد لوحظت زيادة كبيرة في مؤشر وزن القلب في الجرذان المعالجة بالبريجابالين، مما يشير إلى تضخم عضلة القلب. بالإضافة إلى انخفاض كبير في الجزء المقذوف وارتفاع هائل في مستوى النهاية الأمينية لطليعة الببتيد الدماغي المدر للصوديوم فى البلازما بعد العلاج بالبريجابالين. كما كشف فحص أنسجة القلب عن وجود ارتشاح فى عضلة القلب، و ترقق الألياف، وفرط الخلايا الحمضية مما يشير إلى إصابة عضلة القلب.

كما أظهرت النتائج التي توصلت إليها هذه الدراسة زيادة مستوى الإنزيم المحول للأنجيوتنسين و مستقبل أنجيوتنسين النوع ١ و أنجيوتنسين ٢ فى الأنسجة. بالاضافة الى انخفاض ملحوظ في مستوى الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ٢ و مستقبل الماس و أنجيوتنسين ١-٧ فى الجرذان المعالجة بالبريجابالين . أشارت هذه النتائج إلى أن البريجابالين تسبب في اختلال التوازن بين محوري نظام الرينين أنجيوتنسين الرئيسيين لصالح مسار الإنزيم المحول للأنجيوتنسين/ أنجوتنسين ٢/ مستقبل أنجيوتنسين٢ النوع ١، والذي يلعب دورًا أساسيًا في آلية احداث البريجابالين للتغيرات القلبية.

كشفت النتائج الحالية أيضا انخفاض ملحوظ في مستوي الفوسفونوسيتيد ٣- كيناز و البروتين كيناز أ في الجرذان المعالجة بالبريجابالين، مما يدل على تضخم القلب.

كما أظهر البحث الحالي أن استخدام البريجابالين و الدايمينازين معا قد أسفر عن زيادة ملحوظة في الجزء المقذوف، مما يشير إلى تحسن كبير في انقباض عضلة القلب بالإضافة إلى انخفاض كبير في مستوى النهاية الأمينية لطليعة الببتيد الدماغي المدر للصوديوم مما يدل على التأثير المحتمل للدايمينازين ضد القصور القلبى الناجم عن استخدام البريجابالين .

أظهرت النتائج أن الاستخدام المتزامن للدايمينازين مع البريجابالين قد ادى الى التخفيف من آثار البريجابالين على نظام الرينين أنجيوتنسين كما تجلى فى تجدد المحتوى القلبي للأنجيوتنسين ١-٧ و زيادة مستوي الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ٢ و مستقبل الماس. كما ادى استخدام الدايمينازين الى انخفاض النشاط الزائد لمحور الإنزيم المحول للأنجيوتنسين/ أنجوتنسين ٢/ مستقبل أنجيوتنسين٢ النوع ١ بشكل كبير.

علاوة على ذلك ، فإن العلاج المشترك بالدايمينازين و البريجابالين قد ادى الى رفع مستوي الفوسفونوسيتيد ٣- كيناز و البروتين كيناز أ بشكل كبير، مما يشير إلى دور الدايمينازين في السيطرة على تضخم القلب والحفاظ على وظيفته أثناء تطور القصور القلبى.

أوضحت النتائج أيضًا أن العلاج المشترك بالبريجابالين مع التلميسارتان أو الكابتوبريل أدى إلى تأثير مشابه على تخطيط صدى القلب و المعلمات المورفومترية و الهستوباثولوجية المتغيرة نتيجة استخدام البريجابالين. تشير هذه النتائج إلى أن كلا العقارين يوفران تأثيرًا مشابهًا على القلب ضد هذا النموذج للقصور القلبى المستحدث بالبريجابالين .

و قد قام كل من التلميسارتان والكابتوبريل بتحسين تأثير البريجابالين على نظام الرينين أنجيوتنسين كما يتضح من زيادة مستويات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين٢ و أنجوتنسين ١-٧ و مستقبل الماس فى القلب، بالإضافة إلى انخفاض مستويات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين و أنجوتنسين ٢ و مستقبل أنجيوتنسين٢ النوع ١ فى القلب مقارنة بالمجموعة المعالجة بالبريجابالين .

كما أظهر البحث التجريبي الحالي وجود تأثير وقائي متشابه بين التلميسارتان والكابتوبريل في تخفيف القصور القلبى المستحدث بالبريجابالين، و ذلك باستثناء التأثير الأعلى للكابتوبريل مقارنة بالتلميسارتان على رفع مستوي الفوسفونوسيتيد ٣- كيناز و البروتين كيناز أ فى القلب.

و قد قدمت هذه الدراسة دليلا على وجود علاقة بين تناول البريجابالين واحداث القصور القلبى في الجرذان. وقد تم التأكد من ذلك من خلال الانخفاض الكبير في الجزء المقذوف والزيادة البارزة في مستوى النهاية الأمينية لطليعة الببتيد الدماغي المدر للصوديوم فى البلازما، بالإضافة إلى التغيير النسيجي للقلب و الذى يتضح من وجود ارتشاح ملحوظ فى عضلة القلب، والتغيرات الفراغية والتسلل الخلوي. تشتمل الآلية الفيسيولوجية المرضية على زيادة مستوى الإنزيم المحول للأنجيوتنسين/ أنجوتنسين ٢/ مستقبل أنجيوتنسين٢ النوع ١ و انخفاض مستوى الإنزيم المحول للأنجيوتنسين٢/ أنجوتنسين ١-٧/ مستقبل الماس بنظام الرينين أنجيوتنسين . وقد وجد أيضًا أن استهداف نظام الرينين أنجيوتنسين إما عن طريق تنشيط محور الإنزيم المحول للأنجيوتنسين٢/ أنجوتنسين ١-٧/ مستقبل الماس أو تثبيط محور الإنزيم المحول للأنجيوتنسين/ أنجوتنسين ٢/ مستقبل أنجيوتنسين٢ النوع ١ الضار يحمي ضد هذه التغيرات المرضية. و قد أدت المعالجة المتزامنة بالدايمينازين الى تحسن كبير في تخطيط صدى القلب و العوامل المورفومترية، وكذلك التخفيف من تغير نظام الرينين أنجيوتنسين المستحدث بالبريجابالين. وفقا لذلك؛ قد يمثل منشطو الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ٢ عوامل علاجية واعدة للقصور القلبي الناتج عن البريجابالين .

ومع ذلك ، فان هناك حاجة لدراسات سريرية أكثر شمولية على عدد كبير من المرضى والمزيد من البحوث لتقييم الدور العلاجي والوقائي لمنشطات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ٢، محصرات مستقبلات الأنجيوتنسين ٢ أو مثبطات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين في القصور القلبى المستحدث بالبريجابالين.