



Pinocembrin Effect on Nephrotoxicity Induced by Cisplatin in Male Rats

A Thesis

Submitted to the Faculty of Science
Alexandria University In Partial
Fulfillment of the Requirements for the Degree

PhD of Science

In

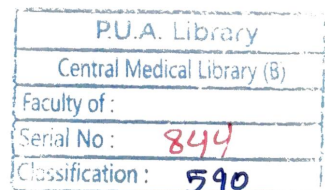
Zoology
(Physiology)

By

Ghadir Mohamed Reda El-Nawawy

B.SC. Faculty of Science- Zoology, Alexandria University, 2009

Faculty of Science
Alexandria University
[2023]



المخلص العربي

سيسبلاتين علاج كيميائي مضاد للأورام يستخدم على نطاق واسع. حيث يتم استخدامه في العديد من أنظمة العلاج الكيميائي للأورام مثل أورام الثدي والمبيض والخصية والقولون والمستقيم والرئة والجهاز العصبي.

على الرغم من مزاياه الهائلة في علاج الأورام ، فإن للاسف الاستخدام العلاجي للسيسبلاتين له مخاطر بسبب سميته المتعددة بما في ذلك السمية المعديّة ، وتسمم الأذن ، و الخصية ، ، و الكبد ، و الكلى و قمع نخاع حيث يتفاعل المكون الكيميائي للسيسبلاتين مع قواعد معينة من الحمض النووي ، مما يسبب موت الخلايا المبرمج في الخلايا السرطانية وغيرها من الخلايا سريعة الانقسام.

تحتوي النباتات الطبية على خصائص و قيم علاجية بسبب وجود مركبات كيميائية نباتية مختلفة تسمى مركبات الفلافونويد، وهي مجموعة من مركبات البوليفينول ذات الوزن الجزيئي المنخفض ولها بنية بنزو-أو - بيرون مشتركة. يتم تصنيفها أيضا إلى فئات فرعية مختلفة بما في ذلك الفلافون والفلافونول والفلافانول والإيسوفلافون والأنثوسيانيد ومضادات الأكسدة. بينوسيمبرين، بينوستروبين، وجليكوسيدات المقابلة تنتمي إلى عائلة فلافانول.

بينوسيمبرين (5 ، 7-ديهيدروكسي فلافون ، $C_{15}H_{12}O_4$) ، هو فلافونول موجود بكثرة في عسل النحل وجذور بويرنيجيا باندورانا، حيث يحتوي بينوسيمبرين على العديد من الصفات البيولوجية التي تشمل الوقاية العصبية والأنشطة المضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة ومضادات الالتهاب ومضادات الأورام والفطريات.

تهدف الدراسة الحالية إلى اختبار تأثير بينوسيمبرين ضد الإجهاد التأكسدي واختلال وظائف الكلى الناتج عن استخدام السيسبلاتين في ذكور الجرذان.

في الدراسة الحالية تم استخدام عدد 24 من ذكور الجرذان البالغة التي تزن 150-160 جراما ، والتي استمرت لمدة 30 يوما. تم ذبح الحيوانات تحت تأثير المخدر باستخدام الإيثير. تم جمع الدم والكلى لمختلف الدراسات الدموية والكيميائية الحيوية والجزيئية. تم جمع الكلى للفحوصات النسيجية بواسطة المجهر الضوئي. وكذلك تم استخدام التحليل الإحصائي باستخدام One way anova

تم تقسيم الحيوانات إلى 4 مجموعات كل من 6 جرذان على النحو التالي:

المجموعة الأولى (الضابطة): تم إعطاء كل جرذ من هذه المجموعة جرعة واحدة من محلول ملحي وتعتبر مجموعة ضابطة. المجموعة الثانية (مجموعه بينوسيمبرين):مجموعه بينوسيمبرين: تم إعطاء كل جرذ من هذه المجموعه بينوسيمبرين بجرعة 10 مجم/كجم في الوريد لمدة 30 يوما (يوما بعد يوم).

المجموعة الثالثة (مجموعه السيسبلاتين): تم إعطاء كل جرذ من هذه المجموعه جرعة واحدة من سيسبلاتين (8 مجم/كجم داخل البريتون).

المجموعة الرابعة(مجموعه السيسبلاتين + بينوسيمبرين): تم إعطاء كل جرذ من هذه المجموعه سيسبلاتين (8 مجم/كجم داخل البريتون) وبينوسيمبرين (10 مجم/كجم في الوريد) لمدة 30 يوما (يوما بعد يوم)

تم تلخيص النتائج التي تم الحصول عليها خلال هذه الدراسة على النحو التالي:

الجرذان الذين حقنوا بمركب بينوسيمبرين لم يظهر عليهم اعراض مرضيه و كانت نتائج قيم جميع الفحوصات التي اجريت عليهم في الدراسات البيوكيميائية والفسيولوجية والجزيئية والمعلمات النسيجية تكاد تكون مثل مجموعه الضابطة.

لوحظ انخفاض كبير في وزن الجسم النهائي وزيادة كبيرة في وزن الكلى ونسبه الوزن النسبي في الجرذان المعاملة بالسيسبلاتين . ومن ناحية أخرى أظهرت الجرذان المعاملة بمزيج من السيسبلاتين بالإضافة إلى بينوسيمبرين زيادة كبيرة في وزن الجسم النهائي ، وانخفاض كبير في وزن الكلى ونسبة الوزن النسبي.

وقد لوحظ انخفاض كبير في كرات الدم الحمراء ، الهيموجلوبين ، الهيماتوكريت ، الصفائح الدموية و الايريثروبيوتين في المجموعة المعالجة بالسيسبلاتين مقارنة مع المجموعة الضابطة ، في حين أظهرت الجرذان المعاملة بمزيج من السيسبلاتين و بينوسيمبرين زيادة كبيرة في كرات الدم الحمراء ، الهيموجلوبين ، الهيماتوكريت ، الصفائح الدموية و الايريثروبيوتين مقارنة مع المجموعة المعاملة بالسيسبلاتين.

وأيضاً لوحظ أن الجرذان المعاملة بالسيسلاتين تعاني من انخفاض كبير في قيم كرات الدم البيضاء والخلايا الليمفاوية بينما انخفضت قيم المتعادلات والحمضيات بشكل ضئيل مقارنة بقيم المجموعة الضابطة. أيضاً كشفت المجموعة المعاملة بالسيسلاتين عن زيادة طفيفة في قيمة الخلايا القاعدية مقارنة بالمجموعة الضابطة.

أظهرت مجموعة السيسلاتين و البيونوسيمبرين زيادة كبيرة في قيم كرات الدم البيضاء ، المتعادلات والخلايا الليمفاوية ولكن كان هناك انخفاض طفيف في قيم الحمضيات والخلايا القاعدية مقارنة مع مجموعة السيسلاتين.

أما بالنسبة لوظائف الكلى ، فقد أظهرت الجرذان المعاملة بالسيسلاتين زيادة كبيرة في قيم اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك مقارنة بالمجموعة الضابطة. وفي الوقت نفسه ، لوحظ أن الجرذان المعاملة بمزيج من السيسلاتين مع البيونوسيمبرين أظهرت انخفاض كبير في قيم اليوريا والكرياتينين وحمض اليوريك بالمقارنة مع مجموعة السيسلاتين.

في الدراسة الحالية ، كان هناك انخفاض كبير في قيم الصوديوم والزنك والكالسيوم والبوتاسيوم في الجرذان المعاملة بالسيسلاتين مقارنة بالمجموعة الضابطة ، بينما أظهرت الجرذان المعاملة بالسيسلاتين بالإضافة إلى البيونوسيمبرين زيادة كبيرة في قيم الصوديوم والزنك والكالسيوم والبوتاسيوم مقارنة بمجموعة السيسلاتين.

كشفت الجرذان المعاملة بالسيسلاتين عن انخفاض كبير في قيم البروتين الكلي والألبومين مقارنة بقيم المجموعة الضابطة ، بينما أظهرت انخفاضاً طفيفاً في قيمة الجلوبيولين مقارنة بالمجموعة الضابطة ، ولكن كان هناك زيادة كبيرة في قيم البروتين الكلي والألبومين والجلوبيولين في الجرذان المعاملة بالسيسلاتين بالإضافة إلى البيونوسيمبرين مقارنة بمجموعة السيسلاتين .

وقد كشفت الدراسة الحالية أن الجرذان المعاملة بالسيسلاتين أظهرت زيادة كبيرة في قيمة OHDG-8 مقارنة مع المجموعة الضابطة. أيضاً لوحظ انخفاض كبير في قيمة OHDG-8 في الجرذان المعاملة بالسيسلاتين بالإضافة إلى البيونوسيمبرين مقارنة بالمجموعة المعالجة بالسيسلاتين.

أما بالنسبة لعلامات الإجهاد التأكسدي والإنزيمات المضادة للأكسدة ، فقد لوحظت زيادة كبيرة في الجرذان المعاملة بالسيسلاتين في قيم MDA ، و NO بالمقارنة مع المجموعة الضابطة في حين ظهر انخفاضاً كبيراً في قيمة GSH مقارنة بالمجموعة الضابطة. أيضاً كشفت الجرذان المعاملة بمزيج من السيسلاتين و البيونوسيمبرين عن انخفاض كبير في قيمة MDA و NO ، وزيادة كبيرة في قيمة GSH مقارنة مع مجموعة السيسلاتين.

أظهرت الجرذان المعاملة بالسيسلاتين انخفاضاً كبيراً في قيم الإنزيمات المضادة للاكسدة SOD ، CAT ، و GPx مقارنة مع المجموعة الضابطة. من ناحية أخرى ، لوحظت زيادة كبيرة في قيم SOD ، CAT ، و GPx في الجرذان المعاملة بالسيسلاتين و البيونوسيمبرين مقارنة مع تلك التي عولمت بالسيسلاتين.

وكشفت الدراسة الحالية أن الجرذان التي عولمت بالسيسلاتين أظهرت زيادة كبيرة في قيم TNF- α ، p53 ، و COX-2 ، وانخفاض كبير في قيمة IL-10 ، مقارنة بالمجموعة الضابطة. وفي الوقت نفسه ، أظهرت الجرذان المعاملة بمزيج من السيسلاتين و البيونوسيمبرين انخفاض كبير في قيم TNF- α ، p53 ، و COX-2 ولكن هناك زيادة كبيرة في قيمة IL-10 مقارنة مع الجرذان المعاملة بالسيسلاتين.

أما بالنسبة للدراسات الجزيئية ، فقد تم رفع مستوى RANKL و Beta catenin مع السيسلاتين والذي يرفع مستوى Wnt_1 و Wnt_5 و Wnt_10 مقارنة بالجرذان في المجموعة الضابطة. ومع ذلك ، فإن الحقن بالبيونوسيمبرين مع السيسلاتين أدت بنجاح إلى تقليل مستوى جميع الجينات المختبرة مقارنة بالجرذان المعاملة بالسيسلاتين.

وقد لوحظ في هذه الدراسة أن الجرذان المعاملة بالسيسلاتين قد أظهرت زيادة كبيرة في قيم beclin ، و IP3R و PI3k مقارنة بالمجموعة الضابطة. ولكن الجرذان المعاملة بالسيسلاتين بالإضافة إلى البيونوسيمبرين أظهرت انخفاض كبير في قيمهم مقارنة مع المجموعة المعاملة بالسيسلاتين.

المعاملة بالسيسلاتين أدت إلى تشوه في بنية الكلى. حيث كشفت المقاطع النسيجية للكلى أن الحويصلة الكلوية تحتوي على كبيبات تمتلئ بعدد كبير من الخلايا مع عدم وجود أو تقلص في الفراغ البولي ولوحظ تمدد في الأوعية الدموية. مع تهتك الأنابيب الكلوية وتوسع الأوعية الدموية بها. أيضاً ظهر اتساع في تجويف الأنابيب الكلوية بسبب فشل الخلايا في تحقيق شكلها المنتظم حيث ظهرت الخلايا متحللة بدون انويه تقريباً.

مجموعة الجرذان المعاملة بمزيج من البيونوسيمبرين و السيسلاتين ظهر التركيب النسيجي الكلوي لديهم طبيعي إلى حد كبير حيث ظهرت الحويصلة الكلوية مشابهة إلى حد كبير بالمجموعة الضابطة ومقارنة بالجرذان المعاملة بالسيسلاتين كان هناك تحسن واضح في منطقة القشرة. وكذلك الطبقة الحشوية والجدارية بكسولة بومان كانت أكثر انتظاماً وظهر الفراغ البولي أقل تقلصاً . و بالنسبة للأنابيب القريبة والبعيدة ظهرت بترتيب أفضل من الجرذان المعاملة بالسيسلاتين .

يرجع التأثير المرضي للسيسلاتين إلى أن السيسلاتين يحفز السمية الكلوية من خلال آليات متعددة ، بما في ذلك نقص الأكسجين ، وتوليد الأيونات الحرة ، والالتهابات ، وموت الخلايا المبرمج.

يعتقد أن السيسبلاتين يؤثر على العديد من مسارات نقل الإشارات التي تؤدي في النهاية إلى إطلاق سلسلة من الأيونات المسببة للالتهاب ، وتنتج الإجهاد التأكسدي ، وتقلل من الإنزيمات المضادة للأكسدة وتنشط موت الخلايا المبرمج والالتهاب مما يؤدي إلى آثار جانبية متعددة تبدأ بموت الخلايا المبرمج في خلايا نخاع العظام. كذلك يؤثر السيسبلاتين على تخليق الحمض النووي وإصلاحه ، مما يؤدي إلى توقف دورة الخلية. وقد أظهر الباحثون أيضا أن السيسبلاتين ، مثل معظم المعادن ، يشارك في توليد الأكسجين النشط (ROS) التي تسبب الإجهاد التأكسدي وتقليل الإنزيمات المضادة للأكسدة. كذلك إنتاج ذره الأكسجين النشط يؤدي إلى ارتفاع في NF- κ B الذي يؤثر على البروتين المثبت للأورام p53 مما يؤدي إلى ارتفاع في PI3K, beclin و تحفيز الالتهام الذاتي ، أيضا الإفراط في إنتاج NF- κ B يزيد الالتهاب عن طريق زيادة عامل تثبيت الورم TNF- α وارتفاع السيتوكينات المحفزة للالتهاب وانخفاض في IL-10.

السيسبلاتين يؤثر على إشارات الكالسيوم في الخلية عن طريق الضغط على الشبكة الإندوبلازمية مما يؤدي إلى الارتفاع في IP3R و الالتهام الذاتي. تماما مثل تأثيره المضاد للأورام ، أيضا لوحظ أن السيسبلاتين له تأثيرات سامة على الأجزاء المختلفة لوحدة تركيب الكلى ويشمل تلفا أنبوبيا وتلفا التهابيا واتساع في الأوعية الدموية. كل هذا يؤدي إلى تضخم في الكلى وانخفاض في الوزن النسبي للجرذان.

ومن خلال هذه الدراسة وجد أن البينوسيمبرين قادر على تصحيح التأثير المرضي للسيسبلاتين بسبب خصائصه المفيدة كمضاد للأكسدة وتأثيره المضادة للالتهابات حيث تمكن من تقليل إنتاج الأكسجين النشط ، و تقليل إجهاد الشبكة الإندوبلازمية والارتفاع في NF- κ B الذي يؤدي إلى تحطيم السيتوكينات المحفزة للالتهاب. وبذلك يؤدي إلى تثبيط الإجهاد التأكسدي ، وتثبيط موت الخلايا المبرمج ومسارات الالتهام الذاتي ، وانخفاض مستويات Wnt ، Beta catenin ، RANKL ، وأخيرا استعادة بنية الأنسجة السليمة للكلى مرة أخرى.

الخلاصة

1. السيسبلاتين علاج كيميائي قوي له آثار جانبية مرضية كبيرة
2. معاملة الحيوانات بالينوسيمبرين لم ينتج عنها أي آثار جانبية مرضية.
3. معاملة الحيوانات بمزيج من السيسبلاتين و البينوسيمبرين أدى إلى تحسن في القياسات الدموية ، وظائف الكلى ، ومستويات الاملاح ، والإجهاد التأكسدي والإنزيمات المضادة للأكسدة ، والدراسات الجزيئية والفحوصات النسيجية مقارنة بالمجموعة المعاملة بالسيسبلاتين فقط.

التوصيات

1. نوصي باستخدام البينوسيمبرين كمكمل غذائي يؤخذ مع العلاج الكيميائي بالسيسبلاتين، بعد استشارة الطبيب
2. يجب إجراء مزيد من الدراسات والتجارب لدراسة الآثار العلاجية المحتملة للينوسيمبرين.
3. هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات حول التأثير الوقائي للينوسيمبرين ضد الآثار الجانبية المرضية المختلفة للسيسبلاتين وأدوية العلاج الكيميائي الأخرى.