قسم الكيمياء الحيويه
كليه الصيدله
جامعه الزقازيق

دراسه كيميائيه حيويه لتأثير بعض العقاقير على الفشل الكلوي الحاد المستحدث في الجرذان بالسيسبلاتين

رسالة مقدمه كمتطلب لإستيفاء الحصول على درجة الماجيستير فى العلوم الصيدليه

(كيمياء حيويه)

من الصيدلانيه

امل محمد حسنى خانه

صيدلانيه بمستشفيات جامعة الزقازيق

لجنة الإشراف العلمى

أ.د. هدى السيد محمد

أستاذ ورئيس قسم الكيمياء الحيويه

كلية الصيدله - جامعه الزقازيق

أ.د. سحر السيد السويفى

أستاذ الكيمياء الحيويه
كلية الصيدله - جامعه الزقازيق

د. رشا حسينى محمد

زميل لقسم الكيمياء الحيويه
كلية الصيدله - جامعه الزقازيق

٢٠١١

الملخص العربى

عقار السيسبلاتين من العقاقير الهامه المستخدمه فى علاج الاورام وخاصه الاورام الصلبه كسرطان المثانه والخصيه والمبايض وله من الاثار الجانبيه التى قد تحد من استخدامه مثل الفشل الكلوى فالسيسبلاتين يحد من اليه الدفاع المضاده للاكسده عن طريق تنشيط التوتر المؤكسد والتوتر النيتروسى.

الانيميا تمثل احد الاثار الجانبيه المصاحبه للعلاج بالسيسبلاتين والتى يستخدم لعلاجها الاريثروبيوتين كاليه للحد من هذه الاثار و الاريثروبيوتين هو هرمون جليكوبروتيني ينتج في الكلى كاستجابه لنقص الاكسجين و يستخدم طبيا كعامل محفز لانتاج كرات الدم الحمراء ولكن قد يؤدى الى ارتفاع ضغط الدم ومل يترتب عليه من تدهور فى وظائف الكلى الناتج من تحفيز جهاز الرينين انجيوتينسين .

عقار اللوسارتان هو احد مثبطات مستقبل انجيوتينسين٢ التى تستخدم لعلاج ضغط الدم المرتفع التى تمتلك من الخواص المضاده للاكسده ما يمثل الحجر الاساسى فى حماية الكلى.

الامينوجوانيدين هومثبط لتصنيع اكسيد النيتريك مما يؤدى الى تقليل انتاج اكسيد النيتريك ويعزى التاثير الواقى للامينوجوانيدين الى مضادته للاكسده ومسح اثر البيروكسى نيتريت.

استهدفت الدراسه الحاليه ما يلى :

١- دراسه ألية الفشل الكلوى الحاد المستحدث فى الجرذان بعقار السيسبلاتين (التوتر المؤكسد والتوتر النيتروسى).

٢-اختبار تاثير العلاج بالاريثروبيوتين منفردا.

٣- دراسه تاثير عقارى اللوسارتان و الامينوجوانيدين فى الوقايه من الاثار الجانبيه المصاحبه للعلاج بالاريثروبيوتين.

ولتحقيق هذه الاهداف فقد تم قياس المؤشرات الحيويه التاليه:

- قياسات الدم الديناميكيه : قياس ضغط الدم .
- القياسات الكيميائيه الحيويه التاليه :

١- فى الدم :الهيموجلوبين والهيماتوكريت وتعداد كرات الدم الحمراء والبيضاء وصفائح الدم.

٢- فى مصل الدم :الكرياتينين و مجموع النيتريت و نيتروجين اليوريا فى الدم.

٣- فى انسجه الكلى :الجلوتاثيون المختزل وانزيم الكاتاليز والمالوندای الدهيد والهيموكسيجينيز-١ و مصنع اكسيد النيتريك المستحث والاندوثيللين-١ وعامل نمو البطانه الوعائى.

الفحص المستولوجى:

- تم اجراء دراسه هستولوجيه على عينات من انسجه الكلى باستخدام الصبغات الاتيه:

١- الهيماتوكسيلين والايوسين :لدراسة الجرح الخلوى وجرح الانابيب الكلويه والتجاويف والرشح الخلوى والاوعيه الدمويه المغذيه لها ودرجه التحلل النسيجى او النخر الحادث لها .

٢-صبغه الحمض الدورى شيف (بى اى اس): لتوضيح فقدان البرش بوردروتجويف الخلايا فى الانابيب الكلويه وتقشرها .

٣-صبغه مناعيه لبروتين البى سي ال-٢ : لتحديد البروتين المضاد لموت الخلايا المبرمج فى الكلى .

التصميم التجريبى :

استحداث الفشل الكلوى الحاد :

يعد اسبوع من تاقلم الجرذان ،تم حقن جميع الجرذان فى الغشاء البريتونى بالسيسبلاتين بجرعه تساوى ٤,٥ مجم لكل كجم مرة واحده فى الاسبوع لمده اسبوعين ،ثم تم تقسيم الجرذان المستحدث بها الفشل الكلوى الحاد الى ٦ مجموعات كالاتى (ن=٢٠):

- المجموعه الاولى :مجموعه ظابطه من الجرذان العاديه
- المجموعه الثانيه: مجموعه حقنت فى الغشاء البريتونى بالسيسبلاتين فقط بجرعه تساوى ٤,٥ مجم لكل كجم مرة واحده فى الاسبوع لمده اسبوعين (مجموعه الفشل الكلوى الحاد)
- المجموعه الثالثه:مجموعه حقنت فى الغشاء البريتونى بالاريثروبيوتين يوميا بجرعه تساوى١٠٠ وحده دوليه لكل كجم لمده اسبوعين
- المجموعه الرابعه:مجموعه الفشل الكلوى حقنت فى الغشاء البريتونى بالاريثروبيوتين يوميا بجرعه تساوى١٠٠ وحده دوليه لكل كجم لمده اسبوعين وتم علاجها عن طريق الفم باللوسارتان بجرعه تساوى١٠ مجم لكل كجم فى اليوم لمده اسبوعين .

- المجموعه الخامسه:مجموعه الفشل الكلوى حقنت فى الغشاء البريتونى بالاريثروبيوتين يوميا بجرعه تساوى١٠٠ وحده دوليه لكل كجم لمده اسبوعين وتم علاجها عن طريق الفم بالامينوجوانيدين بجرعه تساوى٥٠ مجم لكل كجم فى اليوم لمده اسبوعين .

- المجموعه السادسه: مجموعه الفشل الكلوى حقنت فى الغشاء البريتونى بالاريثروبيوتين يوميا بجرعه تساوى١٠٠ وحده دوليه لكل كجم لمده اسبوعين وتم علاجها عن طريق الفم كلا من اللوسارتان بجرعه تساوى١٠ مجم لكل كجم فى اليوم لمده اسبوعين و الامينوجوانيدين بجرعه تساوى٥٠ مجم لكل كجم فى اليوم لمده اسبوعين .

وقد اظهر البحث النتائج التاليه :

أولا: اظهرت الجرذان المحقونه بالسيسبلاتين فقط زيادة ذات دلاله احصائيه فى ضغط الدم ومجموع النيتريت ومعدل المالوندالدهيد والكرياتينين ونيتروجين اليوريا فى الدم .كما زاد التعبيرالجينى لكل من: الهيموكسيجينيز-١ و مصنع اكسيد النيتريك المستحث والاندوثيللين-١ وعامل نمو البطانه الوعائى زياده ذات دلاله معنويه.

كما لوحظ انخفاض كل من الهيموجلوبين والهيماتوكريت وتعداد كرات الدم الحمراء والبيضاء وصفائح الدم انخفاضا معنويا وايضا انخفاض فى الجلوتاثيون المختزل وانزيم الكاتاليز.

كما اظهر الفحص الهستولوجى لانسجه الكلى وجود تلف فى الانابيب الكلويه وتوسع فى الخلايا وتجويف الخلايا وتقشرها .وكذلك عدم وجود تفاعل مع الصبغه المناعيه لبروتين البى سي ال-٢ فى سيتوبلازم الخلايا.

ثانيا: الجرذان المستحدث بها الفشل الكلوى الحاد عن طريق السيسبلاتين بعد حقنها بالاريثروبيوتين ارتفع بها ضغط الدم . كما انه لا يوجد زياده معنويه فى مصنع اكسيد النيتريك المستحث ومجموع النيتريت فى الانسجه الكلويه واظهرت الدراسه وجود بعض خواص مقاومه التاكسد والواضحه فى انخفاض التعبيرالجينى للهيموكسيجينيز-١ ومعدل المالوندالدهيد وزياده نشاط الجلوتاثيون المختزل وانزيم الكاتاليز.بالاضافه الى انخفاضا متوسطا فى التعبيرالجينى لعامل نمو البطانه الوعائى .

ايضا العلاج بالاريثروبيوتين قلل من الانيميا عن طريق زيادة نسبه الهيموجلوبين والهيماتوكريت بينما انخفض معدل نيتروجين اليوريا فى الدم انخفاضا معنويا.

كما اظهر الفحص الهستولوجى لانسجه الكلى لهذه المجموعه وجود تلف فى الانابيب الكلويه وتفاعل قوى مع الصبغه المناعيه لبروتين البى سي ال-٢ فى سيتوبلازم بعض الخلايا بينما اظهرت تفاعل سلبى فى خلايا اخرى.

ثالثا: معالجه الجرذان المستحدث بها الفشل الكلوى الحاد بالاريثروبيوتين مع عقار اللوسارتان

اوضحت انخفاضا معنويا فى ضغط الدم و التعبيرالجينى للاندوثيللين-١ وارتفاعا معنويا فى معدل الجلوتاثيون المختزل وانزيم الكاتاليز.

احدث عقار اللوسارتان تدهور فى حاله الانيميا لدى الجرذان متمثله فى انخفاض كل من الهيموجلوبين والهيماتوكريت .بينما انخفض مستوى الكرياتينين و المالوندادالدهيد ونيتروجين اليوريا فى الدم انخفاضا معنويا كما انخفض التعبيرالجينى لكل من: الهيموكسيجينيز-١ و مصنع اكسيد النيتريك المستحث وعامل نمو البطانه الوعائى انخفاضا معنويا.

وقد اظهر الفحص الهستولوجى لانسجه الكلى لهذه المجموعه تفاعل متوسط مع الصبغه المناعيه لبروتين البى سي ال-٢ فى سيتوبلازم بعض الخلايا.

رابعا: معالجه الجرذان المستحدث بها الفشل الكلوى الحاد بالاريثروبيوتين مع الامينوجوانيدين ادى الى

انخفاضا معنويا فى ضغط الدم والتعبيرالجينى للاندوثيللين-١ وارتفاعا معنويا فى معدل الجلوتاثيون المختزل وانزيم الكاتاليز.

احدثت المعالجه بالامينوجوانيدين ارتفاعا معنويا فنسبه الهيموجلوبين والهيماتوكريت وانخفض مستوى كل من الكرياتينين و المالوندادالدهيد ونيتروجين اليوريا فى الدم انخفاضا معنويا كما لوحظ انخفاضا معنويا فى التعبيرالجينى لكل من: الهيموكسيجينيز-١ و مصنع اكسيد النيتريك المستحث وعامل نمو البطانه الوعائى.

وقد اظهر الفحص الهستولوجى لانسجه الكلى لهذه المجموعه خلايا وانابيب كلويه شبيهة للخلايا الطبيعيه كما انها اظهرت تفاعلا قويا مع الصبغه المناعيه لبروتين البى سي ال-٢ فى سيتوبلازم معظم الخلايا .

وعلى الجانب الاخر الجرذان المستحدث بها الفشل الكلوى الحاد التى عولجت بالاريثروبيوتين مع عقار اللوسارتان و الامينوجوانيدين كعلاج مجمع اوضحت نفس التاثيرات العلاجيه للاريثروبيوتين و الامينوجوانيدين فى المؤشرات الكيميائيه الحيويه.

وبصفه عامه فان العلاج بالاريثروبيوتين وعقار اللوسارتان مع/او الامينوجوانيدين اظهر تحسن افضل فى المؤشرات الكيميائيه الحيويه التى تاثرت بالسيسبلاتين من العلاج بالاريثروبيوتين فقط.

خامسا: دلت بيانات الارتباط المستنبطه من هذا البحث على وجود ارتباط ايجابى معنوى بين معدل الكرياتينين والتعبير الجينى لكل من مصنع اكسيد النيتريك المستحث والهيموكسيجينيز-١ وعامل نمو البطانه الوعائى والاندوثيللين-١ ومعدل مجموع النيتريت و المالوندانالدهيد.بينما ارتبط معدل الكرياتينين ارتباطا سلبيا مع معدل الكاتاليز و الجلوتاثيون المختزل.
وعلى الجانب الاخر ارتبط التعبير الجينى للاندوثيللين-١ ارتباطا ايجابيا معنويا مع التعبير الجينى لكل من مصنع اكسيد النيتريك المستحث والهيموكسيجينيز-١ ومستوى مجموع النيتريت و المالوندانالدهيد وايضا يوجد ارتباط سلبى بين التعبير الجينى للاندوثيللين-١ومعدل الكاتاليز والجلوتاثيون
ومن ناحيه اخرى فقد ارتبط التعبير الجينى لعامل نمو البطانه الوعائى والتعبير الجينى لكل من مصنع اكسيد النيتريك المستحث والهيموكسيجينيز-١ والاندوثيللين-١ ومعدل مجموع النيتريت و المالوندانالدهيد.بالاضافه الى هذا فقد لوحظ ان التعبير الجينى لعامل نمو البطانه الوعائى يرتبط ارتباطا سلبيا مع الجلوتاثيون

الخلاصه:

- احدث عقار السيسبلاتين الكثير من الاثار الجانبيه الضاره المؤديه الى الفشل الكلوى الحاد وموت الخلايا. التوتر المؤكسد والتوتر النيتروسى و الانيميا من اكثر الاثار الجانبيه الضاره للعلاج بالسيسبلاتين و الانيميا من الاثار الجانبيه المعروفه لهذا العقار .

- علاج الانيمياالمصاحبه للعلاج بالسيسبلاتين عن طريق الاريثروبيوتين ادى الى ارتفاع ضغط الدم.

- ادى استخدام البرنامج العلاجى من اللوسارتان او الامينوجوانيدين اوكلاهما مع الاريثروبيوتين الى تقليل الاثارالضاره للسيسبلاتين والى التحكم فى ضغط الدم

هذه الدراسه اكدت الدلائل الحديثه التى اقترحت ان العلاج باللوسارتان والامينوجوانيدين يؤدى الى الحمايه من الفشل الكلوى الحاد المستحدث بالسيسبلاتين.