جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

التأثير النسجي،الكيميائي المناعي النسجي والكيموحيوي لعقار الگابابنتين على بعض الاعضاء المختارة في الجرذان البيض

سرى سالم محمود عبدالله الدباغ

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتورة بيداء عبد العزيز محمد صالح

١٤٤٦هـ ٢٠٢٤م

الخلاصة:

يعد عقار الكابابنتين من العقاقير المضادة للتشنجات والمستعملة حديثا في علاج ألم العصب الوركي والم العصب الألتهابي، واستعمل لعلاج الحالات انفة الذكر في العام 1993 م، وتضمنت الدراسة الحالية التحري عن الأثر السام للعقار انف الذكر على بعض الأعضاء الحيوية وهي الكبد، الكلية،و الدماغ،الفعالية الحركية والسلوك العصبي،وزن الجسم،التغيرات التركيبية (النسجية) والكفاءة الوظيفية الفسلجية من خلال قياس نشاط الانزيمات ALP،ALT، AST والبليروبين في مصل الدم الحيوانات المختبرية. درست أيضا تراكيز اليوريا،الكيرياتنين، والبليروبين الكلي في الكلية، فضلا عن نشاط الكولين استيريز في نسيج الدماغ،بالإضافة الى التغيرات الكيميائية المناعية النسجية في الأعضاء أعلاه والتي تضمنت قياس نشاط البروتينات:CASP1،CASP3،CASP8 في الكبد والكلية وبروتين GFAP في الدماغ لذكور الجرذان البيض.جرعت الحيوانات المختبرة بالعقار أعلاه لفترتين زمنيتين هما شهر وشهرين. استخدم في الدراسة الحالية 40 جرذ باعمار واوزان مناسبة. قسمت الحيوانات الى اربع مجاميع (5حيوانات /مجموعة): مجموعة السيطرة والتي جرعت بالماء المقطر وثلاث مجموعات تجريبية اخرى جرعت بالعقار قيد الدراسة عند التراكيز 10.9،21.8،43.6 ملغم /كغم من وزن الجسم.بينت نتائج الدراسة الحالية تسبب العقار بتغيرات سلوكية عصبية سجلت من خلال اجراء اختبار الميدان المفتوح وتمثلت بانخفاض عدد المربعات التي يقطعها الحيوان وازدياد عدد كرات البراز المطروحة في المجموعتين التجريبيتين الأولى (10.9ملغم /كغم) والثانية (21.8 ملغم /كغم) وللفترتين الزمنيتين أعلاه، في حين انخفضت في المجموعة التجريبية الثالثة (43.6ملغم /كغم) والمعرضة للعقار لمدة شهر ،بالإضافة الى انخفاضها في المجموعات التجريبية الثلاث المعرضة للعقار لمدة شهرين. بينت النتائج ان العقار يسبب زيادة معنوية ($P\leq0.05$) في اوزان الحيوانات في المجموعات التجريبية الثلاث وللفترتين شهر وشهرين. وأشار ا الفحص المجهري لمقالطع كبد المجموعة التجريبية الثالثة (43.6 ملغم / كغم) ولفترتي التعريض أعلاه الى ظهور الارتشاح البؤري، ترسب صبغة الهيموسيدرين، والسايتوبلازم المائي، فضلا عن ظهور مراحل مختلفة من النخر الخلوي في الخلايا الكبدية، في حين اظهرت مقاطع الكلية للمجموعة التجريبية الثالثة نخرا تجلطيا، النزف الشديد، ترسب حطام الفبرين، الوذمة، انكماش النواة، فضلا عن اتساع فسحة بومان وللفترة شهرين وكانت التغيرات النسجية اقل حدة في النسيج الكلوي في المجاميع التجريبية المعرضة للعقار لمدة شهر. بينت نتائج فحص مقاطع الدماغ وجود مراحل مختلفة من النخر الخلوي في كل المجاميع التجريبية قيد الدراسة والمعرضة للعقار لمدة شهر، فضلا عن ظهور البلع العصبي، التفجي، إضافة الى ارتشاح الخلايا الالتهابية واحتقان الاوعية

الدموية في المجموعتين التجريبيتين الأولى والثانية، اما عن المجموعة التجريبية الثالثة والمعرضة للعقار لمدة شهرين فقد لوحظت الوذمة Edema ووظهورالارتشاح الالتهابي بشكل خطوط منتظمة وهي ظاهرة غير مألوفة. بينت نتائج الفحص المناعي النسجي لمقاطع الكبد استجابة تراوحت مابين الموجبة الضعيفة (+)، موجبة قوية جدا (+++) للاجسام المضادة لبروتين CASP1 في المجاميع التجريبية الثلاث وعلى التوالي ولفترتي شهر وشهرين، اما عن الاستجابة المناعية لمضادات اجسام بروتين CASP3 فكانت موجبة قوية (++) في المجموعة التجريبية الثالثة وللفترتين أعلاه، في حين كانت الاستجابة للاجسام المضادة لبروتين CASP8 تقع ما بين الموجبة القوية (++) في المجموعتين التجريبيتين الأولى والثانية والموجبة القوية جدا (+++) في المجموعة التجريبية الثالثة.وبينت نتائج الفحص المناعي النسجي للظهارة المبطنة للنبيبات الكلوية تفاعلا مناعيا تراوح مابين الموجب الضعيف (+) في المجموعة التجريبية الأولى وتفاعل موجب قوي (++) في المجموعتين التجريبيتين الثانية والثالثة للاجسام المضادة لبروتين CASP1 وللفترتين أعلاه، في حين كانت الاستجابة موجبة ضعيفة (+)، موجبة قوية (++)،و موجبة قوية جدا (+++) في المجموعات التجريبية الثلاث وعلى التوالي للاجسام المضادة لبروتين CASP3، بينما أظهرت الخلايا الظهارية للنبيبات الكلوية تفاعلا موجبا قويا (++) في المجموعة التجريبية الأولى، وقويا جدا (+++) في المجموعتين التجريبيتين الثانية والثالثة للاجسام المضادة لبروتين CASP8 وللفترتين أعلاه. واظهرت محاور الخلايا العصبية في مقاطع الدماغ تفاعلا موجبا (+)، موجبا قويا (++)، وموجبا قويا جدا (+++) للاجسام المضادة لبروتين GFAP في المجموعات التجريبية الثلاث وعلى التوالي.وكانت اعلى درجة (التسجيل النسجي) للتفاعل المناعي النسجي للبروتينات المدروسة في كل الأعضاء المختارة في المجموعة التجريبية الثالثة، اذ كان هناك زيادة معنوية ($P\leq0.01$)في نشاط البروتينات المختارة مقارنة بالمجموعتين الأولى والثانية وللفترتين قيد الدراسة.واشارت نتائج التحليل الكيموحيوي لوظائف الكبد زيادة معنوية ($P\leq0.05$) في نشاط انزيم ALT في المجاميع التجريبية الثلاث مقارنة مع مجموعة السيطرة، فضلا عن انخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في تركيز البليروبين الكلي في المجاميع التجريبية الثلاث، اما عن نشاط انزيم ALT فقد اظهر انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في المجاميع التجريبية الثلاث المعرضة للعقار لمدة شهرين، في حين أظهرت المجاميع التجريبية الثلاث المعرضة للعقار لمدة شهر نتائجا متذبذبة ومتباينة فيما يخص نشاط الانزيمات انفة الذكر. تسبب العقار قيد الدراسة بزيادة غير معنوية في تركيز اليوريا في المجموعة التجريبية الأولى، وزيادة غير معنوية في تركيز الكيرياتنين مقارنة بمجموعة السيطرة وللفترة شهر وكانت النتائج في المجموعات التجريبية الثلاث والمعرضة للعقار لمدة شهرين مشابهة لما سبق. واظهرت النتائج أيضا انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في نشاط انزيم الكولين

استيريز في نسيج الدماغ في المجموعة التجريبية الثالثة مقارنة مع مجموعة السيطرة ولمدة شهر، في حين أظهرت المجاميع التجريبية الثلاث المعرضة للعقار لمدة شهرين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في نشاطه مقارنة مع مجموعة السيطرة.

Summary

Gabapentin is one of the pharmaceutical preparations recently used in the treatment of sciatic nerve pain and inflammatory nerve pain. The medication was discovered in 1993. In this study: 40 Albino male adult rats were used the animals were divided into four groups (5 animals/group): The first group (control) was dosed orally with distilled water, while the three experimental groups were administrated orally with the gabapentin at the concentrations10.9, 21.8, and 43.6 mg /kg) for one and two months. The toxic effect of gabapentin on motor activity and nervous behaviour, body weight, histopathological and immunohistochemical changes in the selected organs,liver,kidney and brain which included measuring the expression of the proteins: CASP1, CASP3, CASP8 in the liver and kidney, and the GFAP protein in the brain, expression were investigated . The tested animals were dosed orally with gabapentin . The physiological functional efficiency of the liver and kidneys was analyzed by measuring the activity of the enzymes: ALT, ALP, AST, bilirubin concentrations of urea, and creatinine , respectively. Cholinesterase enzyme activity in brain tissue also was studied . The results of the current study showed that the medication caused behavioral changes recorded during the open field test, which were represented by a decrease in the number of squares that the animal crossed, the number of feces balls , and number of times standings on legs selected in the first (10.9 mg/kg) ,second (21.8 mg /kg) experimental groups for the two time periods under study, while It decreased in the third experimental group (43.6 mg/kg) exposed to the medication for a month, in addition to its decrease in the three experimental groups exposed to the medication for two months. The results of the current study showed a significant increase ($P \leq 0.05$) in

the weights of the animals of the three experimental groups and for the periods of one and two months. Microscopic examination of the liver of the third experimental group (43.6 mg/kg) and for the two periods indicated the appearance of focal infiltration, deposition of hemosiderin pigment and hydrotropic cytoplasm, as well as the appearance of different stages of cellular necrosis in the hepatic cells. The degree of necrosis stage progression depended on the degree of concentration and the period of exposure. Microscopic examination of kidney sections showed coagulative necrosis, severe bleeding, deposition of fibrin debris, edema, shrinkage of the nucleus, as well as widening of Bowman's space in the third experimental group and for two months of treatment, while the changes were less severe in the kidney tissue during one month of treatment. The results of examining brain sections showed different stages of cellular necrosis in all the experimental groups that were exposed to the medication for a month, in addition to the observation of neurophagia, vaculation , in addition to the infiltration of inflammatory cells, and vascular congestion in the first and second experimental groups. As for the third experimental group, which was exposed to the medication for two months, edema and the appearance of inflammatory infiltrates in regular lines were observed, which is an uncommon phenomenon. The results of the immunohistochemical examination of liver sections showed a response that ranged between weakly positive (+), strong positive (++), and very strong positive (+++) to the antibodies of the caspase 1 protein in the three experimental groups, respectively. The immune response to antibodies of caspase 3 protein was strong positive (++) in the third experimental group and for the time periods under study, while the immune response of the hepatocytes to antibodies of caspase 8 protein was between strong positive (++) in the first and second experimental groups and strongly positive (+++) in the third

experimental group for two months. Immunohistological examination of the epithelial lining of the kidney tubules showed an immunological reaction that ranged from a weak positive (+) in the first experimental group to a strong positive reaction (++) in the second and third experimental groups to antibodies of the caspase 1 protein ,while the response to the antibodies of caspase 3 proteins was weakly positive (+), strong positive (++), and very strong positive (+++) in the three experimental groups, respectively. The epithelial cells of the renal tubules showed a strong positive (+) and powerful positive (+++) reaction to antibodies of the CASP8 protein in the three experimental groups exposed to the medication for a month, while the response was less severe in the experimental groups exposed to the medication for a month. The axons of nerve cells in the brain sections showed positive (+), strong positive (++), and very strong positive (+++) reactions to antibodies of GFAP protein in the three experimental groups, respectively. As for the degree (scoring) of immune-tissue reaction of the studied proteins in the aforementioned organs, it was the highest in the third experimental group compared to the first and second experimental groups and for the two selected periods . The results of the biochemical analysis of liver function showed a significant increase ($P \leq 0.05$) in the activity of the AST enzyme in the first and second experimental groups compared to the control group. In contrast, the activity of the ALT enzyme increased significantly ($P \leq 0.05$) in the three experimental groups compared with the control group. In comparison, the concentration of total bilirubin decreased significantly in the three experimental groups. The activity of the ALP enzyme decreased significantly ($P \leq 0.05$) in the three experimental groups exposed to the drug for two months, while the activity rate of the enzymes above varied and fluctuated in the groups exposed to gabapentin for a month. The results showed a non-significant

increase in the concentration of urea in the first experimental group, and a non-significant increase in the concentration of creatinine in the first and second experimental groups compared with the control group. The third experimental group showed a non-significant decrease in the concentration of urea and creatinine compared to the control group (one month). These results were similar to what was done and achieved within two months of treatment. The results also showed a significant decrease ($P \leq 0.05$) in the activity of the cholinesterase enzyme in the brain tissue in the third experimental group compared to the control group exposed to the medication for one month, while the three experimental groups exposed to the medication for two months a significant decrease ($P \leq 0.05$) in its activity compared to the control group.

The histological,immunohistochemical,and biochemical effect of gabapentin medication on some selected organs in albino rats

Thesis Submitted

By

Sura Salim Mohmood Abdullah

To

The Council of the College of Education for Pure Science University Of Mosul In Partial Fulfillment Of Requirements For The Degree Of M.Sc.

In

Biology

Supervised by

Assit to . Prof.

Dr.Baidaa Abdulaziz Mohamed Salah

2024 A.D **1446 A.H**