Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Mosul
College of Pharmacy

The Effect of Age on the Possible Cardioprotective Effect of Ganoderma Lucidum Against 5-Fluorouracil Cardiotoxicity in Male Rats

A thesis

Submitted to the Council of the

College of Pharmacy/ University of Mosul

As a partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Master of Science in Pharmacy

By

Abdulnaser Ahmad ALI Hussain

(B.Sc. Pharmacy 2007)

Supervised by

Supervisor	Co-Supervisor
Asst. Prof.	Asst. Prof.
Dr. Musab Mohammad Khalaf mahmoud	Dr. Abdulla Aqeel Ahmad Taha
Ph.D. in Pharmacology	Ph.D. in Medical Physiology

1446 A.H. 2024A.D

Abstract

5- Fluorouracil (5-FU) is one of the commonly used anti-cancer drugs. However, it ranks as the second most common drug that causes cardiotoxicity which needs a preventive method. Ganoderma lucidum (G.L.) is a mushroom used for centuries for its different therapeutic properties it has many anticancer, antioxidant, anti-inflammatory, and anti-hypertensive effects . Different physiological processes can affect the cardiotoxicity and cardioprotection of drugs such as aging. The study aims to investigate the potential cardioprotective effect of G.L. against 5-FU cardiotoxicity in male albino rats of different age groups.

A randomized experimental study was conducted on 55 male albino rats who were divided according to their ages into two main groups (30 young aged and 25 old aged). Each main group was subdivided randomly into 5 groups as follows: Control group, 5-FU group, G.L group, G.L + 5-FU group, and enalapril + 5-FU group . Different bioactive substances were measured in the plasma including heart-type fatty acid binding protein (H-FABP) and cardiac troponin I (cTnI), total antioxidant capacity (TAC), malondialdehyde (MDA), and tumor necrosis factor-α (TNF-α). Additionally, COX-2 expression is investigated in cardiac tissue by immunohistochemistry. Finally, a histopathological examination of cardiac tissue was performed to estimate both cardiotoxicity and cardioprotection.

5-FU has produced deleterious effects in young aged animals presented by the elevation of cardiac markers, MDA, TNF-α, COX-2 expression, and a decrease in TAC. In addition, determinantal histopathological changes have been reported for 5-FU on cardiac tissue. While the animals treated with G.L showed a significant decrease in the H-FABP, MDA, and cardiac COX-2 expression, and an increase in TAC level. Although a decrease in the level of cTnI and TNF-α was noticed it was non-significant. Moreover, G.L completely prevented the 5-

FU-induced cardiotoxicity and showed almost normal histological structure of the cardiac tissue.

Whereas in the old aged animals, 5-FU was able to decrease TAC significantly and produce a significant upregulation in the TNF-α serum level and cardiac COX-2 expression. No significant changes were detected in H-FABP, cTnI, and MDA. The histopathological examination showed that 5-FU produced detrimental pathological changes in the heart tissue of the old aged animals. Pre-treatment with G.L produced a significant downregulation in the COX-2 expression, and preservation of nearly normal cardiac histology but to a lesser extent than its effect in the young aged rats. No significant changes were reported in the other parameters (H-FABP, cTnI, TAC, MDA, and TNF-α). The present study concluded that 5-FU can produce significant cardiotoxic effects whereas pretreatment with G.L has a substantial cardioprotective effect against 5-FU-induced cardiotoxicity by inverting the 5-FU disrupted markers and preserving the cardiac histochemical structure. The aging process has a role in changing the signaling of cardiotoxicity/cardioprotection since the cardio-toxic effect of 5-FU was more prominent, and the cardioprotective effect of G.L was less pronounced in old aged rats.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية الصيدلة

تأثير العمر على الوقاية القلبية المحتملة للفطر الريشي ضد السمية القلبية لدواء 5- فلورويوراسيل في ذكور الجرذان

رسالة مقدمة الى مجلس
كلية الصيدلة/ جامعة الموصل
كجزء من متطلبات الحصول على شهادة الماجستير في الصيدلة

من قبل الطالب

عبد الناصر أحمد علي

(بكلوريوس 2007)

بإشراف

الأستاذ المساعد
د. مصعب محمد خلف محمود
دكتوراه في الادوية

الأستاذ المساعد
د. عبد الله عقيل أحمد طه
دكتوراه في الفسلجة الطبية

١٤٤٦هـ ٢٠٢٤م

الخلاصة

5-فلورويوراسيل هو أحد الأدوية المضادة للسرطان شائعة الاستخدام. ومع ذلك، فهو يحتل المرتبة الثانية بين الأدوية الأكثر شيوعًا التي تسبب تسمم القلب والتي تحتاج إلى طريقة للوقاية منها. الفطر الريشي هو فطر يستخدم لعدة قرون وذلك لإمتلاكه خصائص علاجية مختلفة. يمكن أن تؤثر العمليات الفسيولوجية المختلفة على سمية القلب بسبب الادوية وتؤثر كذلك على طريقة الوقاية منها مثل الشيخوخة. تهدف الدراسة إلى دراسة التأثير الوقائي للقلب المحتمل للفطر الريشي ضد تسمم القلب بـ 5-فلورويوراسيل في ذكور الجرذان البيضاء من مختلف الفئات العمرية.

أجريت دراسة تجريبية عشوائية على 55 جرذٍ ذكر. تم تقسيمهم حسب أعمارهم إلى مجموعتين رئيسيتين (30 من فئة الشباب و25 من فئة كبار السن). تم تقسيم كل مجموعة رئيسية بشكل عشوائي إلى 5 مجموعات على النحو التالي: مجموعة السيطرة، مجموعة 5-فلوروبراسيل، مجموعة الفطر الريشي، مجموعة 5-فلورويوراسيل+ الفطر الريشي، ومجموعة إينالابريل+5-فلورويوراسيل.

تم قياس المواد النشطة بيولوجيًا المختلفة في البلازما بما في ذلك بروتين ربط الأحماض الدهنية من النوع القلبي والتروبونين القلبي والقدرة الكلية لمضادات الأكسدة والمالونديالديهايد وعامل نخر الورم- α. بالإضافة إلى ذلك، يتم فحص تعبير انزيم السايكلواوكسجينيز-2 في أنسجة القلب بواسطة الكيمياء المناعية. وأخيرا، تم إجراء فحص الأنسجة المرضية لأنسجة القلب لتقدير كل من تسمم القلب وحماية القلب.

لقد نتج عن اعطاء 5-فلوروبراسيل للجرذان الشابة تأثيرات خطيرة جدا تمثلت بإرتفاع انزيمات القلب والمالونديالديهايد وعامل تنخر الورم-الفا وكذلك انزيم السايكلواوكسجينيز-2 وتسبب في نقصان في القدرة الكلية لمضادات الاكسدة. بالإضافة الى التغييرات المرضية النسيجية التي تم ملاحظتها في انسجة القلب. بينما اظهرت الحيوانات التي عولجت مسبقا بالفطر الريشي انخفاضا معنويا في مستوى بروتين ربط الاحماض الدهنية من النوع القلبي والمالونديالديهايد وانزيم السايكلواوكسجينيز-2 وأدى ايضا الى ارتفاع كبير في القدرة الكلية لمضادات الاكسدة. على الرغم من انخفاض مستوى كل من التروبونين القلبي وعامل تنخر العظم- الفا الا ان انخفاضهما لم يكن معنويا. علاوة على ذلك فان الفطر الريشي منع بشكل كامل التغييرات المرضية النسيجية في انسجة القلب حيث اظهرت النتائج انسجة قلبية ذات تراكيب نسيجية طبيعية على الاغلب.

اما في مجموعة كبار السن فلقد ادى استخدام 5- فلورويوراسيل الى انخفاض معنوي في القدرة الكلية لمضادات الاكسدة وتسبب في ارتفاع معنوي في مستوى عامل تنخر الورم-الفا بالإضافة الى

3.7. Summary of the comparisons

Table 3-14 illustrates the comparisons between all the old aged experimental groups among all the investigated biomarkers.

Table 3-14: Comparison between the measured biochemical markers among the five "old rats" groups after 2 weeks of intervention.

Biochemical marker	Old aged rats' groups					
	Control Mean ± SEM	5-FU Mean ± SEM	G.L + 5FU Mean ± SEM	Enalapril + 5FU Mean ± SEM	G.L Mean ± SEM	P-value*
H-FABP (ng/mL)	9.5 ± 2.42 ^{A}	12.13 ± 2.45 ^{A}	6.43 ± 0.30 ^{A}	8.14 ± 0.51 ^{A}	6.90 ± 0.92 ^{A}	0.221
cTnI (Pg/mL)	9.83± 2.08 ^{A}	12.40 ± 1.56 ^{A}	9.67 ± 0.73 ^{A}	9.36 ± 0.90 ^{A}	9.20 ± 0.05 ^{A}	0.360
TAC (µmol\mL)	47.00 ± 0.45^{A}	39.80 ± 1.39 ^{B}	43.67 ± 1.83 ^{AB}	45.80 ± 2.71 ^{AB}	41.67 ± 1.12 ^{AB}	**0.040**
MDA (nmol\mL)	6.26 ± 1.81 ^{A}	6.92 ± 0.55 ^{A}	6.45 ± 1.42 ^{A}	3.96 ± 0.45 ^{A}	5.73 ± 1.40 ^{A}	0.317
TNF-α (ng/L)	124.8 ± 5.53 ^{B}	156.7 ± 5.46 ^{A}	154.23 ± 1.27 ^{A}	153.46 ± 3.01 ^{A}	147.53 ± 3.57 ^{A}	**0.001**

One-way ANOVA test with Tukey's Pair wise comparisons. Means that do not share a letter are significantly different. Abbreviations: 5-FU= 5-fluorouracil, G.L = Ganoderma lucidum.

3.8. Histopathological Result of Old Aged Rats

Control Group

The cardiac section of the control group exhibited typical heart histology with a normal histological structure represented by myocardial muscle fibers and blood vessels as shown in Figure 3-18.