

## تتشرف كلية الدراسات العليا و كلية الطب والعلوم الصحية بدعوتكم لحضور مناقشة أطروحة الدكتوراه

### العنوان

دور نيروليدول ، سيسكيتيربين أليفاتي ، في التهاب القولون

### للمتقدم

فيشنو راج

### المشرف

د. سنديب سورامانيا ، قسم وظائف الاعضاء

كلية الطب والعلوم الصحية

### المكان والزمان

4 مساء

الثلاثاء، 20 أبريل 2021

مايكروسفت تيمز

### الملخص

أمراض الأمعاء الالتهابية ، والتي تشمل مرض كرون ومرض التهاب القولون التقرحي ، تعد أمراض التهابية مزمنة ومستفحلة تصيب الجهاز الهضمي. تلعب العوامل الوراثية والبيئية دورا في الإصابة بهذه الأمراض. الكورتيكوستيرويد أو العوامل البيولوجية المستخدمة في العلاج التقليدي لقمع المناعة الشاذة في مرض التهاب الأمعاء تعد ذات انتكاس مرتفع ، مما يؤدي للحد من استخدامها. يلجأ ما يقرب من 40% من مرضى داء الأمعاء الالتهابي إلى العلاجات البديلة والتي تشمل المكملات الغذائية الغنية بالمواد الكيميائية النباتية. نيروليدول عبارة عن كحول سيسكيتيربين طبيعي موجود في نباتات مختلفة ذات خصائص قوية مضادة للالتهاب. في الدراسة الحالية ، قمنا بتحري دور نيروليدول في النماذج قبل السريرية لالتهاب القولون. في تجاربنا المبدئية قمنا بدراسة الخصائص المضادة للالتهابات لنيروليدول في خلايا البلاعم المحفزة عديدات السكاريد الدهنية (LPS) باستخدام فئران ( RAW 264.7 ). تبط نيروليدول عديدات السكاريد الدهنية التي تفعّلها مواد تنتج في مواقع الالتهاب مثل TNF- $\alpha$  و IL-1 $\beta$  و IL-6 . وذلك عن طريق تحفيز إنتاج حمض الريبونوكلييك الخاص بها. بالإضافة إلى ذلك ، منع نيروليدول الزيادة في التعبير عن الوسائط المؤيدة للالتهابات مثل COX-2 و iNOS مما يشير إلى خصائصه المحتملة كمضاد للالتهابات. وهذا الدور تم دراسته مخبريا في نماذج مخبرية معروفة لمرض التهاب القولون في الفئران والمخبر. تم إنشاء نموذج التهاب القولون باستخدام الفئران السوداء الذكور (C57BL / 6J) التي يتم إطعامها 3 ٪ كبريتات الصوديوم ديكستران (DSS) في مياه الشرب لمدة 7 أيام للتحقق من التهاب القولون بها. خلال التجربة العلمية تلقت مجموعات التهاب القولون مركب نيروليدول بجرعات متفاوتة (50 ، 100 ، و 150 ملغم / كغم من وزن الجسم / يوميا بالتزقيم). تم قياس طول القولون ، مؤشر نشاط المرض (DAI) ، أنسجة القولون ، والعديد من المعلمات البيوكيميائية. تم إنشاء نموذج التهاب في المختبر عن طريق تحفيز خلايا HT-29 (خلية سرطان القولون والمستقيم البشرية) مع TNF- $\alpha$  (تركيز 1 نانوقرام/ملم) باستخدام تركيزات مختلفة من نيروليدول (25 ميكرومتر و 50 ميكرومتر) في التجارب المخبرية. ونتج عنها تقليل كبير في حدة الالتهاب بالأنسجة المقيمة مجهريا وقلل من التقلص في طول القولون. ونتج عن استخدام نيروليدول تغيير في التركيز الخلوي لمادة MPO بالأنسجة ، وانخفاض بخصائص الريبونوكلييك لمادتي CXCL-2 و CCL2 الذي تفرزه خلايا العدلات والبلاعم بالإضافة لانخفاض ملحوظ لمواد المؤيدة للالتهاب ومنها IL-1 $\beta$  و IL-6 و TNF- $\alpha$  على مستوى إنتاج حمض الريبونوكلييك والبروتين الخاص بها. ارتفاع في إنتاج الوسائط المؤيدة للالتهاب و COX-2 و iNOS ونترات الأنسجة الناتج عن استخدام مركب DSS تم حجبها عند استخدام نيروليدول. روج نيروليدول لجرعة الإزاحة النووية لـ Nrf-2 بالاعتماد على الجرعة. كمت زاد بشكل كبير من نشاط إنزيم مضادات الأوكسدة (SOD و CAT) ومستويات HO-1 و SOD-3 mRNA. أدى علاج نيروليدول في خلايا HT-29 التي تواجه TNF- $\alpha$  إلى انخفاض كبير في مستويات المواد المؤيدة للالتهاب (CXCL-1 و CXCL-2 و IL-8 و COX-2) على مستوى حمض الريبونوكلييك. كينازات البروتين المنشط بالميتوجين (MAPKs) والعامل النووي كابا ب (NF- $\kappa$ B) هي مسارات إشارات مهمة تشارك في الالتهاب. لذلك ، قمنا بالتحقيق من تأثير نيروليدول على آلية إشارات MAPK و NF- $\kappa$ B. تشير نتائجنا إلى أن فسفرة MAPK (p38 و JNK و ERK<sup>1/2</sup>) و NF- $\kappa$ B قد زادت بشكل كبير في نموذج التهاب القولون الناتج عن استخدام DSS ، وحفز LPS في خلايا البلاعات من نوع RAW. أدى استخدام نيروليدول كعلاج في نموذج الالتهاب هذا إلى تثبيط الفسفرة بشكل كبير لبروتينات إشارات MAPK و NF- $\kappa$ B في كل من نموذج الفئران وفي خلايا البلاعات من نوع RAW المحفزة بـ LPS. تشير هذه النتائج إلى أن عمل نيروليدول المضاد للالتهابات يتم بواسطة تثبيط آلية إشارات MAPK / NF- $\kappa$ B. يؤدي ضعف الحاجز الظهاري المعوي إلى تعزيز نفاذية الأمعاء في مرض التهاب الأمعاء. لذلك ، قمنا بالتحقيق في تأثير نيروليدول على ترابط الخلايا الخلوي بالأمعاء في التهاب القولون باستخدام نموذج التهاب القولون الناتج عن استخدام مادة DSS (في نموذج الجسم الحي) و LPS الذي يحفز نموذج المختبر Caco-2 monolayers. قلل نيروليدول بشكل كبير من تركيز FITC-dextran في مصف الفئران مقارنة بالمجموعة التي تم استخدام DSS فيها فقط ، مما يشير إلى تقليل نفاذية القولون. أظهرت نتائجنا أيضًا أن LPS تسبب في حدوث انخفاض في المقاومة الكهربائية بطريق الظهارة (TEER) في Caco-2 monolayers والذي تم منعه بشكل كبير من خلال العلاج باستخدام نيروليدول. لوحظ أن نيروليدول يحمي سلامة الحاجز المعوي من خلال تعزيز التعبير عن بروتينات الوصلة الضيقة مثل كلودين 1 ، 3 ، 7 ، وإكلودين في النماذج المخبرية والحيوية لالتهاب القولون. توضح نتائجنا بشكل جماعي أن مكملات نيروليدول تخفف التهاب القولون من خلال نشاطها الفعال كمضاد للأوكسدة ومضاد للالتهابات في كل من نماذج التهاب القولون في الجسم الحي وفي المختبر. عزز نيروليدول أيضًا سلامة تقاطع الأمعاء الضيقة لمنع اختلال وظيفة الحاجز الملحوظ في التهاب القولون.

كلمات البحث الرئيسية: نيروليدول، خلايا البلاعم المحفزة عديدات السكاريد الدهنية (LPS)، التهاب القولون (DSS)، HT-29، خلايا Caco-2، خلايا MAPK / NF- $\kappa$ B)، إشارات (Nrf-2) الجرعة الإزاحة النووية ، تقاطع الأمعاء الضيقة، الكلودين، و الكلودين. TEER، المقاومة الكهربائية بطريق الظهارة FITC-dextran نفاذية