دراسة تأثير المركبات النهائية المتقدمة من عملية التسكر على انبساط الأوعية الدموية

مقدم من :

أماني طلعت أبو شارب

إشراف :

د. خديجة سعيد بالعمش

د.ذكريات عبداللطيف نعمة الله

بحث مقدم لنيل درجة الماجستير في العلوم (الكيمياء الحيوية)

كلية العلوم

جامعة الملك عبد العزيز

جدة ـ المملكة العربية السعودية

رجب ١٤٤٠هـ ـ مارس ٢٠١٩

المستخلص

الهدف: تلعب المركبات الكيميائية المتقدمة الناتجة عن عملية الجلايكيشن (glycation) دوراً رئيسياً في تطور العديد من الأمراض الوعائية الناتجة عن خلل في طبقة الخلايا البطانية. تهدف هذه الرسالة إلى الكشف عن الآلية التي تقوم بهاالمركبات الكيميائية المتقدمة في إضعاف توسع الأوعية الدموية.

الطريقة: تم دراسة تأثيرالمركبات الكيميائية المتقدمة على توسع الأوعية الدموية الناتج بواسطة الأسيتيل كولين (ACh) ومركب D NONOate عن طريق تعريض الشريان الأبهرالمعزول من الفئران لتركيزات مختلفة من methyle glyoxal (MG) المنتج للمركبات الكيميائية المتقدمة. تم فحص أكسيد النيتريك(NO) الناتج من مركب ACh بواسطة مسبارفلورسنتي (DAF-FM). كما تم دراسة تأثيرالمركبات الكيميائية المتقدمة على التعبيرالجيني (mRNA) لكل من الجينات: (*Arg2*) و (*Nox4*) و (*Nos3*) عن طريق تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي (qRT-PCR).

النتائج: أدت ساعة واحدة من تعريض الشريان الأبهرالمعزول من الفئران للمركبات الكيميائية المتقدمة إلى ضعف توسع الأوعية الدموية المعتمد على الخلايا البطانية والناتج بواسطة مركب ACh، بينما أدى مركب D NONOate إلى زيادة توسع الأوعية الدموية في وجود المركبات الكيميائية المتقدمة.تعريض الشريان الأبهر المعزول من الفئران لمركب الأورنثين ornithine المثبط لإنزيم Arginase2 أدى إلى منع ضعف توسع الأوعية الدموية الناجم عن المركبات الكيميائية المتقدمة. مركب التيمبول tempol الذي يزيل الأكسيد الفائق ومركب الأبوساينينapocynin المثبط لإنزيم NADPH Oxidase؛ أدى هذان المركبان لمنع تأثيرالمركبات الكيميائية المتقدمة على توسع الأوعية الدموية. كما أن هذه المركبات الكيميائية المتقدمة أدت إلى خفض أكسيد النيتريك المنتج بواسطة مركب ACh وهذا المنع تم بواسطة الأورنثين والأبوسينين.علاوة على ذلك، فإن التعرض للمركبات الكيميائية المتقدمة أدى إلى زيادة التعبير الجيني -mRNA لجين (*Arg2*) كما أدى إلى خفض التعبيرالجيني لجين (*Nos3*) في الشريان المعزول من الفئران .

الخلاصة: تشيرالنتائج الحالية إلى أن المركبات الكيميائية المتقدمة تضعف توسع الأوعية الدموية المعتمد على الخلايا البطانية للأوعية. يحدث هذا التأثيرعن طريق زيادة التعبيرالجيني لإنزيم Arginase وتحفيزإنزيم NADPH Oxidase .

Studying the Effect of Advanced Glycation End-products on Vascular Relaxation

By

Amani Talat Abu Shareb

A thesis submitted for the requirement of the degree of Master of Science (Biochemistry)

Under supervision of:

Dr.Khadijah Saeed Balamash.

Dr. Thikryat Neamatallah

Faculty of science

King Abdulaziz University

Jeddah- Saudi Arabia

RAJAB 1440 H – MARCH 2019 G

Abstract

Aim: Advanced glycation end products (AGEs) play a major role in the development of several vascular complications that are mediated by endothelial dysfunction. The present work aimed to investigate the mechanism by which AGEs impair vascular relaxation.

Methods: The effect of AGEs on vasodilation induced by acetylcholine (ACh) or D NONOate was examined by incubating rat aorta with different concentrations of methyle glyoxal (MG) an AGEs producer compound. ACh-induced nitric oxide(NO)generation, a potent vasodilator was assessed using the fluorescent probe diaminofluorecein (DAF-FM). In addition, The effect of AGEs on mRNA expression of arginase 2 (*Arg2*), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase *(Nox4)* and endothelial nitric oxide synthase (*Nos3*) was determined by quantitative real-time polymerase chain reaction(qRT- PCR).

Results: One-hour in vitro incubation of rat aorta with AGEs impaired endothelial-dependent vasodilation produced by ACh, while D NONOate-induced vasodilation has increased. Pre-incubation of aorta with ornithine, an arginase2 inhibitor prevented the vasodilation impairment effect induced by AGEs. In addition, tempol, a superoxide scavenging or apocynin, a NADPH oxidase inhibitor blocked the effect of AGEs. ACh-induced NO production was decreased by AGEs and this was inhibited by both ornithine and apocynin. Furthermore, AGEs exposure increased *Arg2* mRNA expression but decreased *Nos3* mRNA expression in isolated rat aorta.

Conclusion: The present study indicates that AGEs impaired endothelial-dependent vasodilation,and this effect is mediated by arginase overexpression and NADPH oxidase stimulation.