

دراسة معملية لتأثير التيموكينون كمضاد لتصلب الشرايين في الخلايا الضامة

نوف بنت أحمد غروي

بإشراف الدكتورة: اعتماد حويت

المستخلص

مرض تصلب الشرايين مرض التهابي في الشرايين و يعتبر المسؤول عن ٣٧٪ من مجموع الوفيات في المملكة العربية السعودية. يزعم أن مادة التيموكينون TQ المستخرجة من الحبة السوداء لها تأثير مضاد للالتهابات وامراض القلب. في هذه الدراسة استخدمت الخلايا المعملية (١) THP-خاليا نموذجية لدراسة مرض تصلب الشرايين(. وقد تمت دراسة تأثير التيموكينون كمضاد للالتهابات على الخاليا. ولتقييم تثبيط المادة على نمو الخاليا، 10 and 1,2.5,5,7.5)مختلفة بتركيز التيموكينون بإضافة وذلك، LDH و WST-1 اختباري استخدام تم (μM) على الخاليا لمدة ٢٤ ساعة. وكذلك تم اختبار حركة انتقال الخاليا باستخدام طبق بويدن حيث كانت الخاليا 6 في القسم العلوي (1×10^6) ، و أضيفت مادة ١ MCP-كجاذب للخاليا لألسفل في القسم السفلي، و اضيف التيموكينون بتركيز (١٠) $5\mu\text{M}$, $10\mu\text{M}$ في الجزء السفلي كمادة تثبط حركة الانتقال لمدة ٣ ساعات. وقد تم اجراء 6 اختبار التعبير الجيني لدراسة جيني ١ ICAM-و ١ MCP-بعد علاج الخاليا (2×10^3) في مساحة 25cm بمادة التيموكينون للتركيز (١٠) $5\mu\text{M}$, $10\mu\text{M}$ (لمدة ٢٤ ساعة. اظهر اختبار ١ WST-انخفاض في نسبة نمو الخاليا من) ١٠,٢,٥,٥,٧,٥ ($10\mu\text{M}$ and للتركيز) ٢٨,٦٩%, ٥٧,٢٥%, ٦٩,٠٩%, ٧٠,٦١% and 71.83% % التيموكينون على التوالي. كما اظهر اختبار LDH انخفاض في نسبة نمو الخاليا ,٣٧,١٧%, ٤٢,٤% (اختبار واطهر. التوالي على التيموكينون من) ٢,٥,٥,٧,٥ ($10\mu\text{M}$ and للتركيز ٣٠,٣٧% (31% and حركة انتقال الخاليا ان مادة ١ MCP-قد زادت من حركة الخاليا، بينما قامت مادة التيموكينون من منع الحركة. كما اظهر اختبار التعبير الجيني ان مادة التيموكينون قامت بالتقليل من التعبير الجيني للجينات ١ ICAM-و ١ MCP-لذلك يمكن القول ان مادة التيموكينون لها اثار مضادة للالتهابات ويمكن استخدامها ضد مرض تصلب الشرايين.

In vitro Study of the Anti-atherogenic Actions of Thymoquinone in THP-1 Macrophages

Nouf Ahmed Gharawi

Supervised by Dr. Etimad Huwait

Abstract

Atherosclerosis, an inflammatory disease of the arteries is responsible for 37% of all deaths in Saudi Arabia. Thymoquinone (TQ), derived from *Nigella Sativa* is claimed to have anti-inflammatory and cardio-protective effects. In this study, we used THP-1 cell line (a well-established model to study atherosclerosis) and evaluated the anti-inflammatory effects of TQ. THP-1 cells (4x10⁴ cells/well/96-well plate) were exposed to TQ at different concentrations (1, 2.5, 5, 7.5 and 10 μ M) for 24h and cell inhibition assay were performed using WST-1 and LDH assays. Cell migration was done using Boyden chamber where THP-1 cells (1x10⁶ cells/well) were plated in the upper chamber and were exposed to medium with either chemo-attractant (MCP-1) or inhibitors (TQ5 μ M and TQ10 μ M) in the lower chamber, for 3h. Real-time PCR was done to study the expression of ICAM-1 and MCP-1 following treatment of THP-1 cells (3x10⁶ cells/25cm²) with TQ (2.5, 5, and 10 μ M) for 24h. WST-1 assay demonstrated concentration dependent mean decreases in THP-1 cell line by (28.69%, 57.25%, 69.09%, 70.61% and 71.83%) for TQ (1, 2.5, 5, 7.5 and 10 μ M) respectively. LDH assay demonstrated concentration dependent mean decreases in THP-1 cell line by (4.42%, 17.37%, 30.37% and 31%) for TQ (2.5, 5, 7.5 and 10 μ M) respectively. Cell migration assay demonstrated that MCP-1 led to migration of THP-1 cells while TQ inhibited them. qRT-PCR demonstrated decreased expression of ICAM-1 and MCP-1 with higher concentrations of TQ compared to untreated control. TQ also decreased cell migration and expression of genes that are involved in the pathogenesis of atherosclerosis. TQ, therefore has anti-inflammatory effects and can be considered for use against atherosclerosis.