Biochemical studies on rosiglitazone and\or hesperidin in diabetic irradiated experimental animals

A Thesis Submitted for the Degree of
Ph. D. in Biochemistry

By

Mohamed Khairy Mohamed Abdel-Rafei
Ass. Lecturer (Biochemistry), National Center for Radiation Research & Technology - Atomic Energy Authority

Supervised by

Prof. Dr. Nadia Yousef Sadek Morcos
Professor of Biochemistry, Biochemistry Department, Faculty of Science, Ain Shams University.

Prof. Dr. Soheir Abdel Azeim Osman
Professor of Biochemistry, Radiobiology Department, National Center for Radiation Research & Technology, Atomic Energy Authority.

Prof. Dr. Mahmoud Sayed Soliman Arbid
Emeritus professor of pharmacology, Medical Division, National Research Center.

Prof. Dr. Wafaa Ibrahim El-Eraky
Professor of Pharmacology, Medical Division, National Research Center.

Dr. Abdel-Rahman Badr Abdel-Ghaffar
Lecturer of Biochemistry, Biochemistry Department, Faculty of Science, Ain Shams University.

Department of Biochemistry
Faculty of Science
Ain Shams University
2012

دراسات كيميائية حيوية على دواء روزيجليتازون و/أو الهيسبردين في حيوانات التجارب المشععة المصابة بداء السكرى

رسالة مقدمة لنيل درجة دكتوراة الفلسفة في العلوم في الكيمياء الحيوية

من الطالب

محمد خيري محمد عبدالرافع

مدرس مساعد (الكيمياء الحيوية)- المركز القومي لبحوث وتكنولوجيا الإشعاع
هيئة الطاقة الذرية

تحت إشراف

الأستاذ الدكتور/ نادية يوسف صادق مرقس
أستاذ الكيمياء الحيوية - قسم الكيمياء الحيوية - كلية العلوم - جامعة عين شمس.

الأستاذ الدكتور/ سهير عبد العظيم عثمان
أستاذ الكيمياء الحيوية - قسم بحوث البيولوجيا الاشعاعية - المركز القومي لبحوث وتكنولوجيا الاشعاع - هيئة الطاقة الذرية.

الأستاذ الدكتور/ محمود سيد سليمان عربيد
أستاذ الفارماكولوجي المتفرغ – الشعبة الطبية – المركز القومي للبحوث.

الأستاذ الدكتور/ وفاء ابراهيم العراقي
أستاذ الفارماكولوجي– الشعبة الطبية – المركز القومي للبحوث.

الدكتور/عبد الرحمن بدر الدين عبد الغفار
مدرس الكيمياء الحيوية - قسم الكيمياء الحيوية - كلية العلوم - جامعة عين شمس

قسم الكيمياء الحيوية
كلية العلوم
جامعة عين شمس

2012

DECLARATION

I declare that this thesis entitled "***Biochemical studies on rosiglitazone and\or hesperidin in diabetic irradiated experimental animals***" is a bonafide and genuine research work carried out by me and has not been submitted for a degree at this or any other university.

Mohamed Khairy Mohamed Abdel-Rafei

Special thanks

To the soul of my beloved father and mother

Who, I owe an endless love and gratitude for their support and encouragement.

To my devoting wife: Rehab M. Sayed

She is always there with great understanding that supported me a lot to be able to achieve my goal and for her patience and sincere inspiration.

To my lovely sons: Omar & Marawan

Who are my back by their adorable smile and their patience.

To my brother: Shady Khairy Mohamed

Who is a close friend and great supporter to me at any time.

And to my father and mother in law:

For their continuous motivation and appreciation.

Faculty of Science

Approval Sheet

Ph. D. Thesis

Name: **Mohamed Khairy Mohamed Abdel-Rafei**

Title: **Biochemical studies on rosiglitazone and\or hesperidin in diabetic irradiated experimental animals**

This Thesis for Ph.D. in Biochemistry has been approved by:

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Prof. Dr. Nadia Yousef Sadek Morcos
Professor of Biochemistry, Biochemistry Department, Faculty of Science, Ain Shams University.

Prof. Dr. Soheir Abdel Azeim Osman
Professor of Biochemistry, Radiobiology Department, National Center for Radiation Research & Technology Atomic Energy Authority.

Date: / /

Ain Shams University
Faculty of Science
Biochemistry Department

Name: Mohamed Khairy Mohamed Abdel-Rafei

Degree: Ph. D. in Biochemistry.

Graduation:
B.Sc. in Biochemistry, 2001
M. Sc. Biochemistry, 2009

Faculty: Faculty of Science.

University: Ain Shams University.

كلية العلوم

رسالة: دكتوراه الفلسفة في العلوم
اسم الطالب: محمد خيري محمد عبدالرافع

عنوان الرسالة: دراسات كيميائية حيوية على دواء روزيجليتازون و/أو الميسبريدين في حيوانات التجارب المصابة بداء السكرى

اسم الدرجة: دكتوراه الفلسفة في العلوم في الكيمياء الحيوية

لجنة المناقشة

الأستاذ الدكتور/

الأستاذ الدكتور/

الأستاذ الدكتور/ نادية يوسف صادق مرقس
أستاذ الكيمياء الحيوية - قسم الكيمياء الحيوية - كلية العلوم - جامعة عين شمس.

الأستاذ الدكتور/ سهير عبد العظيم عثمان
أستاذ الكيمياء الحيوية - قسم بحوث البيولوجيا الاشعاعية - المركز القومي لبحوث وتكنولوجيا الاشعاع - هيئة الطاقة الذرية.

أجيزت الرسالة بتاريخ:

جامعة عين شمس
كلية العلوم
قسم الكيمياء الحيوية

اسم الطالب: **محمد خيري محمد عبدالرافع**

عنوان الرسالة: **دراسات كيميائية حيوية على دواء روزيجليتازون و/أو الميسبردين في حيوانات التجارب المشعة المصابة بداء السكرى**

الدرجة: دكتوراه الفلسفة في العلوم في الكيمياء الحيوية

المشرفون:

1. **الأستاذ الدكتور/ نادية يوسف صادق مرقس**
2. **الأستاذ الدكتور/ سهير عبد العظيم عثمان**
3. **الأستاذ الدكتور/ محمود سيد سليمان عربيد**
4. **الأستاذ الدكتور/ وفاء ابراهيم العراقي**
5. **الدكتور/ عبد الرحمن بدر الدين عبد الغفار**

الممتحنون:

1. الأستاذ الدكتور/
2. الأستاذ الدكتور
3. الأستاذ الدكتور/ **نادية يوسف صادق مرقس**
4. الأستاذ الدكتور/ **سهير عبد العظيم عثمان**

تاريخ البحث: / / .
أجيزت الرسالة: / / . مجلس قسم: / / .
مجلس الكلية: / / . مجلس الجامعة: / / .

جامعة عين شمس
كليةالعلوم
قسم الكيمياء الحيوية

اسم الطالب: *محمد خيري محمد عبدالرافع*

الدرجة: دكتوراه الفلسفة في العلوم في الكيمياء الحيوية

سنة التخرج:
بكالوريوس علوم (الكيمياء الحيوية)- جامعة عين شمس- 2001
ماجستير علوم (الكيمياء الحيوية) – جامعة عين شمس – 2009

القسم التابع له: قسم الكيمياء الحيوية

اسم الكلية: كلية العلوم

الجامعة: جامعة عين شمس

شكر وتقدير

أشكر السادة الأساتذة الذين قاموا بالاشراف:

1. **الأستاذ الدكتور/ نادية يوسف صادق مرقس**
2. **الأستاذ الدكتور/ سهير عبد العظيم عثمان**
3. **الأستاذ الدكتور/ محمود سيد سليمان عربيد**
4. **الأستاذ الدكتور/ وفاء ابراهيم العراقي**
5. **الدكتور/ عبد الرحمن بدر الدين عبد الغفار**

شكر للسادة الذين ساهموا في العمل:

1. أ.م.د/ كوكب عبد العزيز أحمد
   أستاذ الباثولوجي المساعد – قسم الباثولوجي – كلية الطب البيطري – جامعة القاهرة.

شكر الى:

1. قسم بحوث البيولوجيا الاشعاعية – شعبة البحوث الاشعاعية - المركز القومي لبحوث وتكنولوجيا الاشعاع.
2. قسم الفارماكولوجي - الشعبة الطبية - المركز القومي للبحوث.

Contents

	Page
Acknowledgment	**i**
List of Abbreviations	**iii**
List of Tables	**vi**
List of Figures	**viii**
Abstract	**xv**
Introduction	**xvii**
Aim of the Work	**xx**
1. Review of Literature	
1.1. Diabetes mellitus	**1**
1.2. Type 2 diabetes mellitus	**3**
1.3. Ionizing radiation	**35**
1.4. Thiazolidinediones	**38**
1.5. Hesperidin	**40**
2. Materials and Methods	
2.1. Materials	
2.1.1. Drugs	**44**
2.1.1.1. Rosiglitazone maleate (Avandia®)	**44**
2.1.1.2. Hesperidin	**44**
2.1.1.3. Indomethacin (Indocid®capsules)	**44**
2.1.1.4. Tramadol (Tramal®)	**45**
2.1.2. Chemicals	**45**
2.1.3. Experimental animals	**47**
2.2. Methods	
2.2.1. Preparation of drugs for biological investigation	**47**
2.2.2. Experimental induction of type 2 diabetes mellitus (insulin resistance model)	**48**
2.2.3. Characterization of type 2 diabetes mellitus	**48**

	Page
2.2.4. Gamma irradiation procedure	**48**
2.2.5. Experimental Design and Procedures	**48**
2.2.5.1. Blood samples collection	**52**
2.2.5.2. Biochemical studies	**52**
2.2.5.2.1. Determination of plasma glucose level	**52**
2.2.5.2.2. Determination of blood glycohemoglobin (HbA_{1c})	**54**
2.2.5.2.3. Determination of plasma insulin level	**56**
2.2.5.2.4. Determination of plasma adiponectin level	**59**
2.2.5.2.5. Homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR)	**61**
2.2.5.2.6. Determination of serum cholesterol level	**62**
2.2.5.2.7. Determination of serum triglycerides level	**63**
2.2.5.2.8. Determination of serum HDL-C level	**65**
2.2.5.2.9. Determination of serum LDL-C level	**66**
2.2.5.2.10. Determination of VLDL level	**68**
2.2.5.2.11. Atherogenic index	**68**
2.2.5.2.12. Percent protection	**69**
2.2.5.2.13. Determination of Lipid Peroxidation (MDA) level in serum	**69**
2.2.5.2.14. Determination of plasma GSH level	**70**
2.2.5.2.15. Determination of plasma SOD activity	**71**
2.2.5.2.16. Determination of serum creatine kinase- monoenzyme B (CK-MB)	**73**
2.2.5.2.17. Determination of LDH serum level	**75**
2.2.5.2.18. Determination of serum CRP level	**76**
2.2.5.2.19. Determination of serum NO level	**78**
2.2.5.2.20. Determination of packed cell volume (HCT; PCV)	
2.2.5.2.21. Determination of serum hyaluronidase level	**80**

Page

2.2.5.2.22. Determination of transaminases activity (AST and ALT) in serum 82

2.2.5.2.23. Determination of alkaline phosphatase activity (ALP) in serum 84

2.2.5.2.24. Determination of serum creatinine (Colorimetric kinetic method) 86

2.2.5.2.25. Determination of serum urea (Urease – Berthelot method) 87

2.2.5.3. Histopathological studies 88

2.2.5.4. Pharmacological studies

2.2.5.4.1. Study of the anti-inflammatory effect 89

2.2.5.4.2. Study of the analgesic effect (anti-nociceptive) 91

2.2.6. Statistical analysis 92

3. Results

3.1. Effect of rosiglitazone and hesperidin administration alone or in combination on blood glucose, glycosylated haemoglobin, plasma insulin, adiponectin and HOMA-IR in diabetic irradiated rats. 93

3.2. Effect of rosiglitazone and hesperidin administration alone or in combination on lipid profile (cholesterol, triglycerides, HDL-C, LDL-C and VLDL-C) and atherogenic index in diabetic irradiated rats . 98

3.3. Effect of rosiglitazone and hesperidin administration alone or in combination on serum lipid peroxide (TBARS; MDA), reduced glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) plasma levels in diabetic irradiated rats. 103

Page

3.4. Effect of rosiglitazone and hesperidin administration alone or in combination on serum creatine kinase-MB (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH), C-reactive protein (CRP) and nitric oxide (NO) levels in diabetic irradiated rats. 106

3.5. Effect of rosiglitazone and hesperidin administration alone or in combination on cardiac tissues in diabetic irradiated rats . 109

3.6. Effect of rosiglitazone and hesperidin administration alone or in combination on changes in body weight, heart weight, heart to body weight ratio, packed cell volume (PCV; HCT) and hyaluronidase serum activity in diabetic irradiated rats. 116

3.7. Effect of rosiglitazone and hesperidin administration alone or in combination on liver functions (AST, ALT and ALP) serum activity in diabetic irradiated rats. 121

3.8. Effect of rosiglitazone and hesperidin administration alone or in combination on liver tissue in diabetic irradiated rats. 124

3.9. Effect of rosiglitazone and hesperidin administration alone or in combination on kidney functions (creatinine and urea) serum level in diabetic irradiated rats 129

3.10. Effect of rosiglitazone and hesperidin administration alone or in combination on kidney tissue in diabetic irradiated rats 132

Page

3.11. Anti-inflammatory (acute inflammation) effects of rosiglitazone, hesperidin (alone or in combination) and indomethacin on carrageenan-induced paw edema in rats 137

3.12. Analgesic (anti-nociceptive) effect of rosiglitazone, hesperidin (alone or in combination) and tramadol in mice using hot plate test 141

4. Discussion 145

5. Referenceses 168

6. Summary and Conclusions 215

Arabic Summary