

تقييم فعالية عقار Cisplatin تجاه الاصابة بداء الوريقات Fascioliasis ودراسة

التأثيرات النسيجية المصاحبة لها في الفئران المختبرية

عزراء عبدالأمير عزيز الحلفي ومسلم عبد الرحمن محمد

قسم علوم الحياة - كلية العلوم - جامعة البصرة

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تقييم فعالية عقار الـ Cisplatin في الاصابة بطفيلي *Fasciola gigantica* داخل الجسم الحي ودراسة تأثيراته النسيجية على الكبد والكلى. سببت اصابة الحيوانات عند تجريعها فمويًا بـ 25 مكيسة/ فأر بعد شهر من الاصابة حدوث مسارات Tracks للطفيلي داخل متن الكبد وتلف في الاوعية الدموية، ووجد ان لعقار Cisplatin تأثير على الاصابة داخل الجسم الحي فقد سبب العقار موت الطفيلي داخل متن الكبد وخفض التأثيرات النسيجية على الكبد والكلى بالمقارنة مع العينات المصابة فقط. فقد لوحظ تجمع كثيف للخلايا الدفاعية وتذخر الخلايا الكبدية عند استخدام العقار بجرعة واحدة بينما تعرضت اكباد الحيوانات المصابة المعاملة بجرعتين الى تغيرات نسيجية تمثلت بوجود اجزاء متحللة من الطفيلي اسفل كبسولة الكبد. وظهرت التأثيرات على الكلى متمثلة في تكماش الكبيبة وتحلل في النديبات البولية

المقدمة

تعد امراض المنقوبات Trematoda من المشاكل الصحية الخطيرة وخاصة في

شمال شرق اسيا وغربها وفي افريقيا (Mas-Coma et al.,1999).

ينتج مرض داء الوريقات Fascioliasis عن الاصابة بطفيليات جنس *Fasciola*

وهو من اهم الامراض الطفيلية في المجتمعات والانسان

(Hurtrez-Bousses et al.,2001)

وينتشر المرض في المناطق التي تتوفر فيها المضائف الوسطية وتكون من السواحل

وMolluscan وتحتاج لتطورها فترة 5-7 اسابيع لتصل الى طور المذبذبة cercaria

التي تتكيس على الغطاء الخضري (Andrews,1999).

تنتقل الاصابة الى المضيف النهائي مسببة تغيرات مرضية قسمها العلماء الى الطور

حاد Acute phase ويبدأ عندما تصل الديدان الفتية الى النسيج الحشوي للكبد ويتميز

بالموت السريع للحيوان المصاب (Hurtrez-Bousses *et al.*, 2001) والطور المزمن Chronic phase الذي يبدأ عندما تصل الديدان الى القنوات الصفراوية ويتميز بفقدان الوزن في الحيوانات فضلاً عن قلة في انتاج الحليب وخفة وزن الصوف كما يحدث الهزال Cachaxia في حالات الإصابة الشديدة (Saba *et al.*, 2004) وتصاحب هذين الطورين اعراض مرضية خطيرة قد تؤدي الى موت المضيف.

طور العلماء العديد من الادوية لمعالجة داء الوريقات (Mansour-Ghanea *et al.*, 2003) الا ان اكثر الادوية المستخدمة تكون سامة وغير فعالة ضد المرض بطوريه الحاد والمزمن ، اذ تكون اكثر الادوية فعالة ضد الطور المزمن فقط ومنها عقار Bithional والذي لايجب استخدامه لماله من اثار جانبية (Mansour-Ghanea *et al.*, 2003) .

الا ان عقار Triclabendazole اكثرها فاعلية ولكن لوحظ ان طفيلي *Fasciola* بدء بطور مقاومة ضد هذا العقار كما يستخدم عقار Praziquantal لعلاج كل انواع اصابات الانسان بالمقنونات ويمتاز هذا العقار بفاعليته غير الثابتة (Savioli *et al.*, 1999) تعد المقاومة التي تظهرها الديدان ضد الادوية المستخدمة احدى اهم العقبات التي تقف بوجه السيطرة على انتشار هذا المرض الامر الذي يتطلب استمرار البحث عن علاجات اكثر فعالية وباقل سمية من العلاجات السابقة (Wolstenholme *et al.*, 2004) .

لذا طور الباحثين انتاج علاجات بديلة مثل ماقامت به الحلفي (2008) من دراسة تأثير عقار Cisplatin في علاج الاكياس العذرية ووجدت ان العقار سبب تحلل الطبقة المولدة المكونة للاكياس العذرية. كما درست النزال (2005) التأثير العلاجي لعقار Rafoxanide على الإصابة بداءيلي *Fasciola gigantica* وقد سبب العقار شفاء الحيوانات.

وهدفت الدراسة الحالية اختبار تأثير عقار Cisplatin في الإصابة بطفيلي

. *Fasciola gigantica*

المواد وطرائق العمل

جمعت القواقع من احد اروع شط العرب في منطقة كريمة علي ، شخصت على انها

Lymnaea auricularia بالاعتماد على صفاتها التشخيصية (Kendall and Parafit, 1999) نقلت القواقع الى المختبر وربيت في احواض زجاجية لا سماء جيل مختبري من القواقع ، جمعت عينات بيوض طفيلسي *Fasciola gigantica* باخذ اكراس الصفراء من الابقار والجاموس المصابة والمذبوحة في مجزرة البصرة العصرية وما ان فحصت اكبادهما وشخصت الاصابة مبدئياً بالاعتماد على بعض الصفات المظهرية ، لغدت البيوض (Wilson and Dension, 1980) وشخصت بالاعتماد على صفاتها التشخيصية (Kendall, 1965)

فقس البيوض بعد حضنها في الظلام لمدة 17 يوماً بتربيتها الى مصدر اضاءة لمدة اطلاق المهدبات واصيبت اربع مجاميع من القواقع المختبرية تجريبياً و باعداد متباينة من المهدبات 1 و 5 و 10 و 20 مهدبة لكل مجموعة على التوالي وذلك بوضعها منفردة في ترف وعاء التسحيح المجهري ولمدة ثلاثة ساعات بعدها نقلت الى احواض خاصة بعد مرور 10 يوماً فحصت لملاحظة اطلاق المذنبات .
اصيب في التجربة الحالية 15 فاراً سلالة Balb\c تراوحت اوزانها بين (20 - 25) غم فموياً بواقع 25 مذكيسة افر .

قسمت الحيوانات المصابة الى ثلاثة مجاميع وكل مجموعة مؤلفة من 5 فئران .
المجموعة الاولى بـ 100 ملغم/م² من Cisplatin عن طريق الحقن الوريدي بجرعة واحدة بعد اسبوع من الاصابة . اذ حقنت المادة عن طريق وريد الذنب . وحقنت المجموعة الثانية بـ 100 ملغم/م² من Cisplatin اسبوعياً ولمدة اسبوعين . وتركت المجموعة الثالثة دون معاملة للمقار كمجموعة سيطرة بعد معاملةها بالمحلول الفلجي 0.02 مل . شرحت الفئران بعد شهر من بدء الاصابة واخذت اجزاء من الكبد والكلى وثبتت بـ 10 % فورمالين لغرض الدراسة النسجية .

اعتمدت طريقة (Drury et al. (1967 في التحضير النسجي

النتائج:

الدراسة النسجية

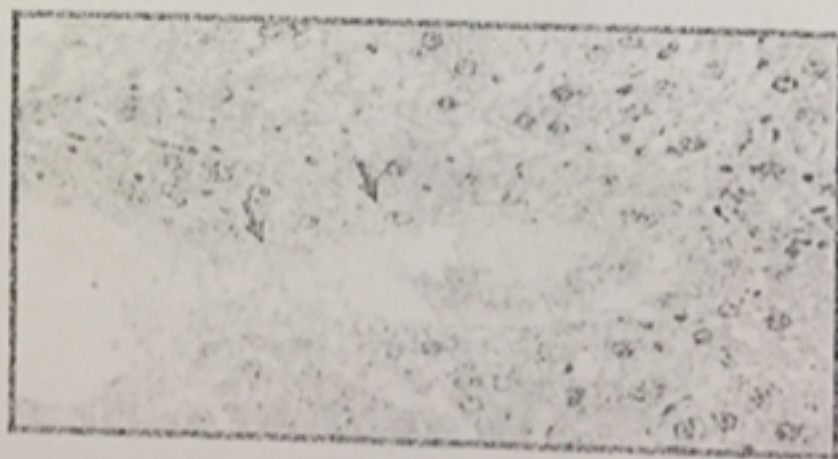
الكبد

أظهرت الدراسة النسجية للحيوانات المصابة غير المعاملة ان الطفيلي سبب تحلل في بعض خلايا الكبد، كما سببت هجرته مسارات Tracks وحدوث تلف في الاوعية الدموية القريبة (صورة 1).

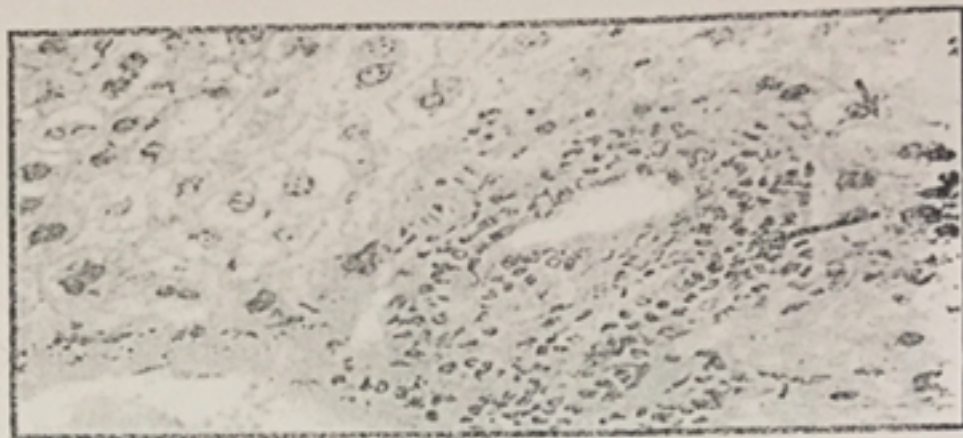
كما لوحظ تجمع كثيف للخلايا الدفاعية حول الوعاء الدموي مع تتخر بعض الخلايا للكبدية في كبد الحيوانات المصابة المعاملة بجرعة واحدة من العقار (صورة 2) بينما تعرضت اكباد الحيوانات المصابة المعاملة بجرعتين من العقار الى تغيرات نسجية تمثلت بوجود اجزاء متحللة من الطفيلي اسفل كبسولة الكبد (صورة 3) وسببت هجرة الطفيلي حدوث مسارات للطفيلي ملئى بكريات الدم الحمر (صورة 4)

الكلى

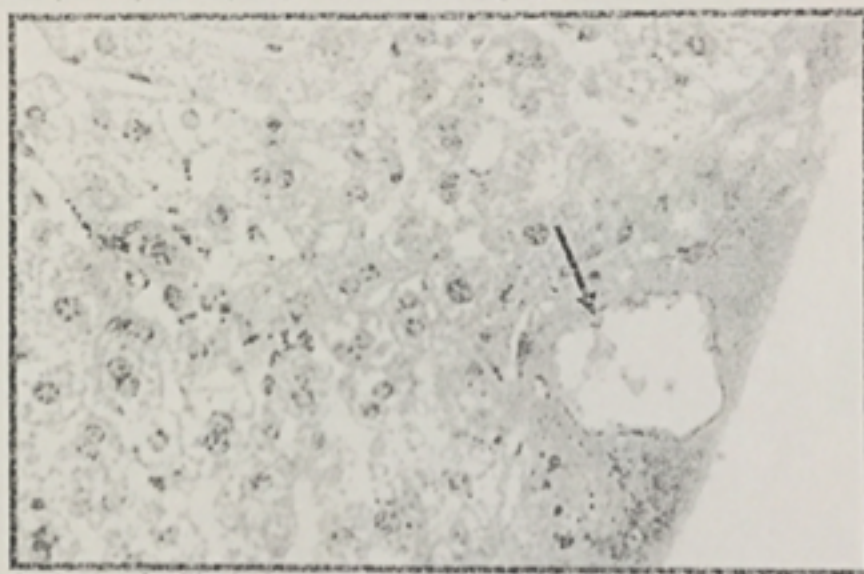
بينت نتائج الفحص النسيجي لكلى الحيوانات المصابة وغير المعاملة خلال فترة التجربة تغيرات مرضية نسجية ظهرت على شكل انحلال محدود في بعض خلايا النيبات الكلوية (صورة 5) واظهرت نتائج الفحص المجهرى لكلى الحيوانات المصابة المعاملة بجرعة واحدة من العقار وجود تغيرات مرضية تمثلت في انكماش الكبيبة وتحلل في النيبات البولية (صورة 6) ظهرت التغيرات المرضية على كلى الحيوانات المصابة المعاملة بجرعتين من العقار على شكل انحلال في النيبات الكلوية (صورة 7)



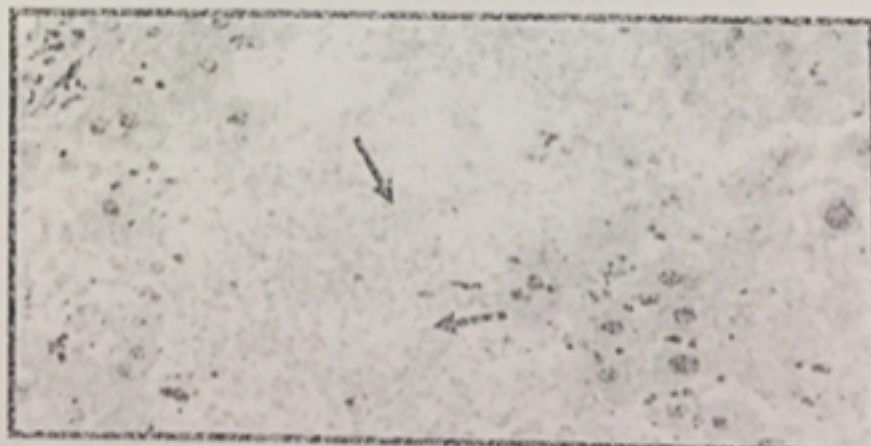
صورة (1) : مقطع في كبد فار مصاب يظهر فيه مسار الطفيلي وحدوث تلف في الاوعية الدموية الشعرية (H.E) وتحلل بعض الخلايا الكبدية (H.E) صبغة (H.E) . 475 X



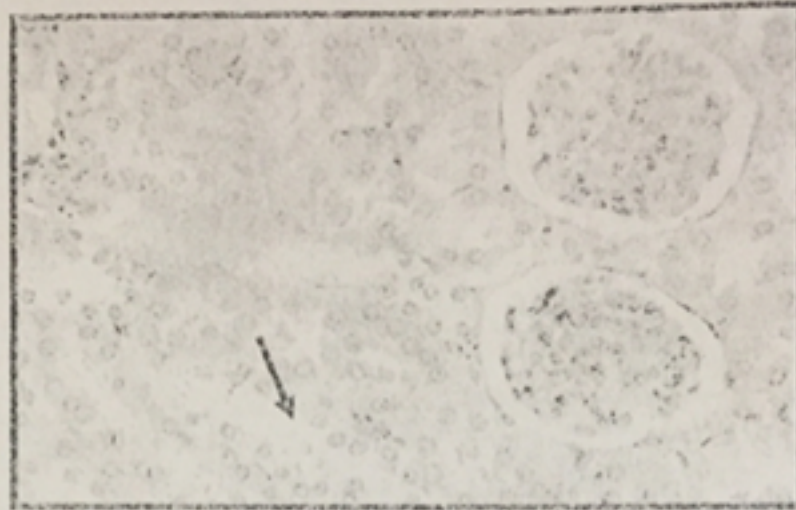
صورة (2): مقطع في كبد فار مصاب معاملة بجرعة واحدة من عقار Cisplatin يظهر فيه تجمع كثيف
للخلايا الدفاعية (←) حول الوعاء الدموي مع تآخر بعض الخلايا (←) صبغة (H.E) . X 475



صورة (3): مقطع في كبد فار مصاب معاملة بجرعتين من عقار Cisplatin يظهر فيه اجزاء متحللة
من الغشائي اسفل كبسولة الكبد (←) صبغة (H.E) . X 475

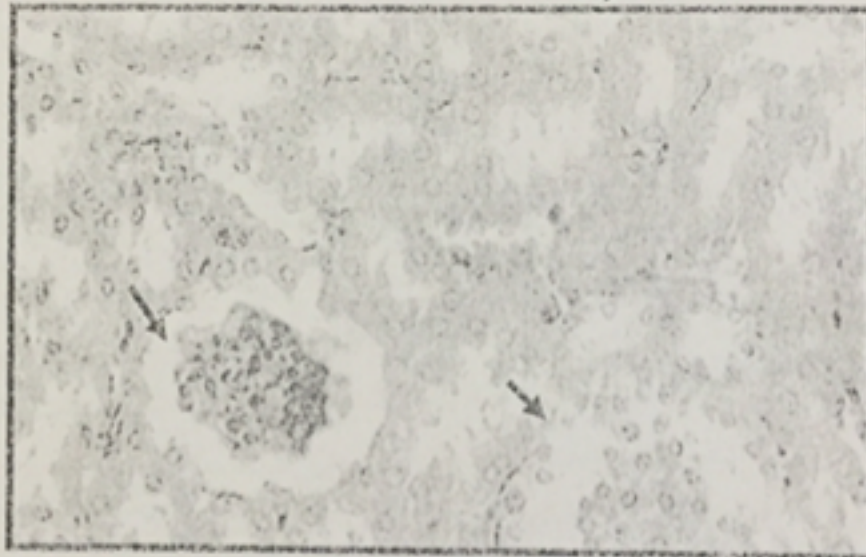


صورة (4): مقطع في كبد فار مصاب معاملة بجرعتين من عقار Cisplatin يظهر فيه مسار كبير الظفولي
(←) مائي بكريات الدم الحمراء (←) صبغة (H.E) . X 475



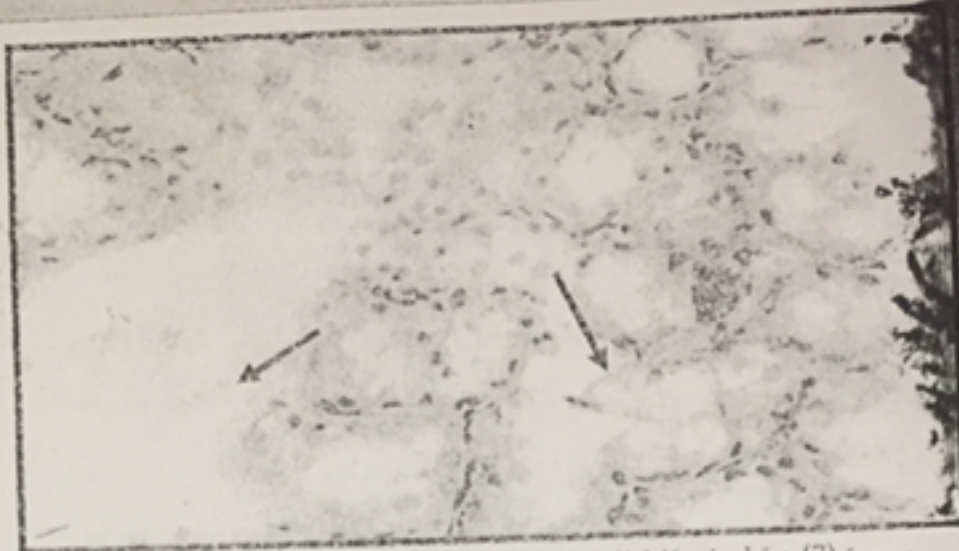
صورة (5): مقطع في كلية فئران مصاب يظهر فيه انحلال محدود في بعض خلايا النيفرون الكلوية

(→) صبغة (H.E) . X 475



صورة (6): مقطع في كلية فئران مصاب معاملة بجرعة واحدة من عقار Cisplatin يظهر فيه انكماش

الكبيبات (←) وانحلال النيفرون الكلوية (→) صبغة (H.E) . X 475



صورة (7) :مقطع في كلية فار مصاب معاملة بجرعتين من عقار Cisplatin يظهر فيه انحلال
النبيبات الكلوية (H.E) صبغة (H.E) . X 475

المناقشة

ان ظهور مسارات الطفيلي وحدوث تلف في الاوعية الدموية للتربة في الكبد
لحيوانات المصابة قد يكون ناجماً عن هجرة الطفيليات الفتية في متن الكبد ومزاجتها بالتغذية
لغرض النمو فضلاً عن اعدادها وهذا يتفق مع (Dawes 1963) الذي بين انه عند وصول
الديدان الفتية الى الكبد تبدأ بالزحف وتأف الخلايا الكبدية والوعية الدموية التي تقع في
طريقها . في حين كانت ايجاد الحيوانات المعاملة بجرعة واحدة من العقار تمتاز بتجمع
الخلايا الدفاعية وقد يكون هذا ناجم عن ان تحلل الخلايا الكبدية الذي أدى إلى تحرر مواد
ذات قابلية جذب كيميائي للخلايا الدفاعية الملتزمة بغية التخلص منها، وهذا يتفق مع ملاحظته
(Lindberg et al. 1997). أن الخلايا الكبدية المتضررة تطلق مركبات مثل
البروستاغلاندين Prostaglandin E1 لها القدرة على الجذب الكيميائي للخلايا المتعادلة
Neutrophils ، كما أشار (MacSween and Whaley 1997) إلى ان الخلايا المتعادلة
تهاجر إلى النسيج الملتهب وتفرز عاملاً للجذب الكيميائي لجذب المزيد من الخلايا المتعادلة
هذا فضلاً عن أن البروتينات المتحررة نتيجة لتحلل الخلايا تتعرض إلى إنحلال جزئي يؤدي
إلى جعل البروتينات ذات طبيعة جاذبة كيميائياً لمتعدلات الأشكال .

ولوحظ تأثير العقار في المقاطع الخاصة بالكبد من خلال انحلال سايتوبلازم الخلايا وقد
يعود ذلك إلى ان عقار Cisplatin يتميز بقابليته على إيقاف عملية تصنيع البروتين
من خلال ارتباطه مع DNA ومنع عملية استنساخه (Baek et al., 2000) إذ يرتبط

البلاطين مع الكوانين GPG او يرتبط مع الاندين والكوانين GPA وهي الميكانيكية التي يعتمد عليها المركب في القضاء على الامراض الخبيثة (Fuertes et al., 2003). وكان تأثير العقار اكثر فعالية عند معاملة الحيوانات بجرعتين فقد ابدى العقار فعل قاتل للطفيلي اذ سبب موت الطفيلي اثناء هجرته في الكبد ولوحظ الطفيلي بحالة متقدمة من التحلل مما يدل على موته المبكر.

كما يظهر مسار الطفيلي كبير وملين بكريات الدم الحمر ويعود ذلك الى ان هجرة الطفيلي خلال متن الكبد والتهامها للخلايا الكبدية ادى الى تمزيق الاوعية الدموية الواقعة في طريقها. اذ لاحظ (Charbon et al., 1991) عدد من المسارات البيضاء على سطح و برنكيما الكبد، ووجد انها تحتوي على المرشحات الحامضية والعديد من خلايا البلاعم الكبيرة وفي بعضها حبيبات Haemosiderin وأنسجة رابطة ليفية وحوامم الخلايا الكبدية وكريات الدم الحمر والفايبرين (Chen and Mott, 1990).

وكانت التغيرات النسيجية على كلى الحيوانات المصابة متمثلة بانحلال محدود في بعض الخلايا الكلوية ويعود ذلك الى افرازات الطفيلي السمية خلال مرحلة الإصابة (Meeusen et al., 1995) كما واثبتت ان هذه التغيرات والاستجابة الالتهابية تحت عادة بالانطلاق المستمر للمنتجات الابرازية - الافرازية من قبل الطفيلي (Martinez-Moreno et al., 1997)

وقد ادى استخدام العقار الى حدوث نتخرات مختلفة الشدة بالاعتماد على مدة المعالجة كما ان الإصابة تؤثر على الكلى وان هذه التغيرات تزداد بتقدم الإصابة كما أثبتت العلي (2003) وجود ارتباط بين شدة التغيرات المرضية في اعضاء الحيوانات المصابة و أعداد الطفيليات الموجودة فيها وعمر الإصابة، فقد أظهرت الحيوانات في الأسبوع الثامن من الإصابة تغيرات مرضية شديدة مقارنة مع الأسابيع الأولى من الإصابة ولحق هذا من قبل (Tliba et al., 2000) بحصول زيادة في المنتجات الإفرازية - الإفرازية وعدد التفريجات الموجودة بالكبد وحجمها بتقدم العمر، وأن هذه المنتجات والتفريجات ستحت تجمع الخلايا الدفاعية.

المصادر العربية

- العثقي ، عذراء عبد الامير عزيز. (2008) . دراسة مقارنة لتأثير عقاري الـ Cisplatin والـ Albendazole في الإصابة بداء الأكياس العذرية Echinococcosis في الفئران المختبرية سلالة Balb/c . رسالة ماجستير-كلية العلوم- جامعة البصرة . 85صفحة
- العلي، شيرين جواد (2003). تحضير مستضدين لطفيلي دودة الكبد العملاقة *Fasciola gigantica* (Cobbold, 1856) مع دراسة كفاءتها المستضدية في التشخيص المصلي للإصابة في المضائف التجريبية والطبيعية . رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة : 79 صفحة .
- النزال، حنان أحمد (2005). تأثير عقار Nandrolone Decanoate في إمرضية طفيلي *Ornithobilharzia turkestanicum* وطفيلي *Fasciola gigantica* المعاملة وغير المعاملة بعقار Rafoxanide في الأرانب. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة : 156 صفحة .

المصادر الأجنبية

- + Andrews,S.J.(1999).The life cycle of *Fasciola hepatica* in: Dalton,J.P.(ed.). Fasciolosis.CAB Intern., New York:1-29.
- + Baek , H ; Cho , Y ; Lee , C. O and Sohn , Y. S. (2000) . Anti - cancer Drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther. 11 : 715-725.
- + Charbon,J.L.Spahni,M.;Wicki,P.andpfister,k.(1991). Cellular reactions in the small intestine of rats after infectionwith *Fasciola hepatica*.parasitol.Res.,77:425-429.
- + Chen,M. and Mott,k.(1990).Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection.Trop.Dis. Bull., 87:1-38.

- + Dawes, B. (1963). *Fasciola hepatica* L., A Tissue Feeder. Nature, 198:1011-1012.
- + Drury, R. A. V ; Wallington, E. A and Cameron, R. (1967). Carleton's histological technique 4th ed Oxford university press, New York. And Toronto.
- + Fuertes, M.A ; Alosa, C. and Perez, J.M. (2003). Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: Enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. Chemical Rev.J. 103 (3): 645-662.
- + Hurtrez-Boussès, S.; Meunier, C.; Durand, P. and Renaud, F.(2001). Dynamics of host-parasite interactions: the example of population biology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). Microb. and Inf., 3:841- 849.
- + Lindberg, R.; Johansen M.V.; Montrad, J.; christensen, N. and Nansen, p.(1997). Experimental *schistosoma bovis* infection in goats: The inflammatory response in the small intestine and liver in various phases of infection and reinfection. J. Parasitol., 83:454-459.
- + MacSween, R. and Whaley, K. (1997). Muir's textbook of pathology. 13th ed., Edward Arnold, forme and London: 1245pp.
- + Mansour-Ghanae, F.; Shafaghi, A. and Fallah, M.(2003). The effect of Metronidazole in treating human fascioliasis. Med. Sci. Monit., 9:127-130.

- + Tliba, O.; Sibille, P.; Boulard, C. and Chauvin, A. (2000). Local hepatic immune response in rats during primary infection with *Fasciola hepatica*. Parasite, 7:9-18.
- + Wolstenholme, A.J.; Fairweather, I.; Prichard, R.; Samson-Himmelstjerna, G.V. and Sangster, N.C. (2004). Drug resistance in veterinary helminths. Trends in parasitol., 20:469-476.

Evaluation activity Cisplatin infection by *fascioliasis* and study of the associated histological changes in mice balb / C

Athraa Abd-Al-Ameer Aziz Al-Hilfy

Biology Department- College of Science- University of Basrah

Summary

The present study is included and evaluation activity cisplatin infection of *Fasciola gigantica in vivo*, also studying pathogenic effects on the liver and kidney,

Gave this mice dosage 25 metacercaria. This dosage causes for mice after 1 months from infection formed tracks in liver, This study appeared that cisplatin activity in killing parasite in liver and caused decrease histological change in liver and kidney compared with control group