دراسة مقارنة لتأثير عقاري الـ Cisplatin والـ Albendazole في الأصابة بداء الأكياس العدرية Echinococcosis في الفئران المختبرية سلالة Balb/c

رسالة مقدمة إلى

كلية العلوم / جامعة البصرة

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في

علوم الحياة / الطفيليات

من قبل

عذراء عبد الأمير عزيز الحلفي

بكالوريوس علوم حياة

2001

جمادى الاول/ 1429 هـ

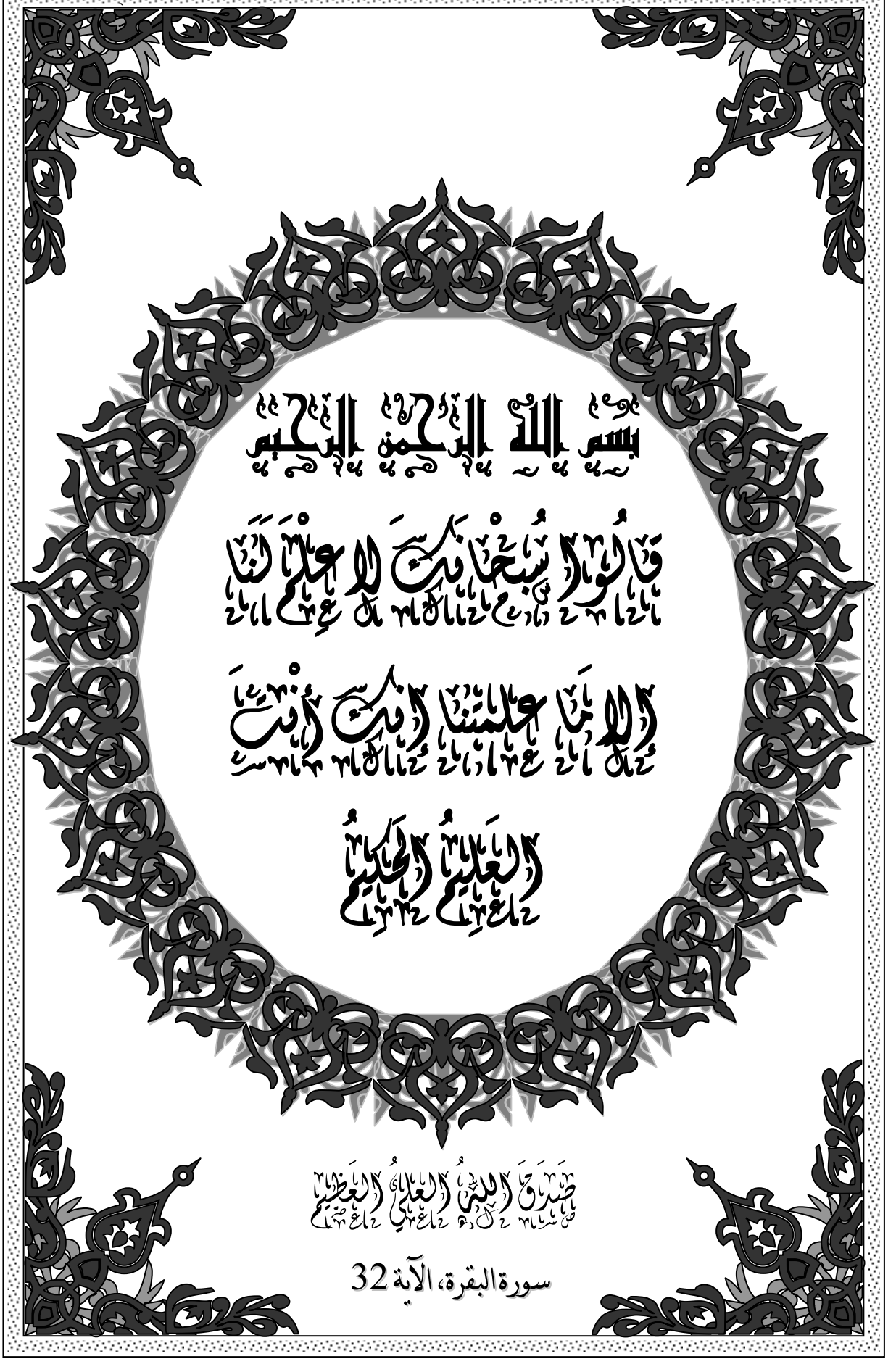
تموز/ 2008 م

Acomparative study of the effect of Cisplatin and Albendazole in the Echinococcosis infection in mice strain Balb/c

A thesis
Submitted to the college of
Science-University of Basrah in partial fulfillment of the
Requirements for Degree of Master of Science
In ***(Parasitology)***

By
Athraa Abdulameer Azeez AL-Hilfi
B. Sc. Of Biology
2001

july. 2008


بسم الله الرحمن الرحيم
قالوا سبحانك لا علم لنا
إلا ما علمتنا إنك أنت
العليم الحكيم
صدق الله العلي العظيم
سورة البقرة، الآية 32

بسم الله الرحمن الرحيم

قرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة نشهدبأننا أطلعنا على الرسالة الموسومة (دراسة مقارنة لتاثير عقاري الـ Cisplatin و الـ Albendazole في الاصابة بداء الاكياس العدرية Echinococcosis في الفئران المختبرية سلالة Balb/c) المقدمة من قبل الطالبة عذراء عبدالاميرعزيز وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها ونقر بأنها جديرة بقبول درجة ماجستير في علوم الحياة وبتقدير (امتياز) .

رئيس اللجنة
التوقيع:
الأسم: د.ضمياء قاسم سكر
المرتبة العلمية: أستاذ
العنوان:كلية العلوم / جامعة البصرة
التاريخ: / /2008

عضو اللجنة
التوقيع:
الأسم: د.صبيح هليل
المرتبة العلمية: أستاذ
العنوان: كلية التربية / جامعة البصرة
التاريخ: / /2008

عضو اللجنة
التوقيع:
الأسم: د.جاسم حميد رحمة
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان:كلية التربية للبنات/ جامعة الكوفة
التاريخ: / /2008

عضواً ومشرفاً
التوقيع:
الأسم: أ.م. مسلم عبد الرحمن محمد
المرتبة العلمية: استاذ مساعد
العنوان: كلية العلوم / جامعة البصرة
التاريخ: / /2008

مصادقة عميد كلية العلوم

أصادق على ماجاء في قرار لجنة المناقشة أعلاه
التوقيع:
الأسم: د.محمد جاسم الأسدي
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان:كلية العلوم /جامعة البصرة
التاريخ : / /2008

الخلاصة

اصيبت الكلاب بطفيلي *Echinococcus granulosus* مختبرياً بعد حقنها بالرؤيسات الاولية التي جمعت من الاغنام المصابة المذبوحة في مجزرة البصرة ووجد ان فترة 38 يوماً كافية لوصول الديدان الى النضج الجنسي وعزلت البيوض من القطع الحبلى كما سبب الطفيلي تاثيرات مرضية تمثلت بحالات تلف الطبقة الطلائية المغطية لسطح الزغابات في امعاء الكلاب المصابة.

كما اثبتت هذه الدراسة ان لعقار Cisplatin فعالية عالية في قتل الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي والتي بلغت 51.8% و 92.8% بعد اسبوع واسبوعين على التوالي، اذ استخدم العقار بتركيز (1 ملغم/مل) وقورن مع عقار Albendazole والتي بلغت نسبة فعاليته 26.6% و 54.2% عند استخدامه بالتركيز والفترة نفسها، وتبين ان لعقار Cisplatin قابلية على النفاذ داخل الاكياس العدرية خارج الجسم الحي وقتل الرؤيسات .

ووجد ان للطفيلي قابلية على احداث الاصابة بالفئران عند حقنها 150 بيضة/فأر وقد درس تطور الاكياس العدرية على مرحلتين 3 و 6 اشهر.

سببت اصابة الحيوانات عند حقنها 1500 رؤيس اولي/فار داخل الخلب بعد شهرين من الاصابة تكوين طبقة مولدة وطبقة صفائحية، واظهرت الحيوانات المصابة بعد (5,4,3) اشهر من الاصابة حالات تطور الاكياس العدرية اذ لوحظت الطبقة المولدة والطبقة الصفائحية ذات سمك كبير نسبياً مع وجود استجابة دفاعية للمضيف ولم تحتوي الاكياس على رؤيسات اولية خلال هذه الفترة، ووجد بان لعقار Cisplatin تاثير على الاكياس العدرية الناتجة عن الاصابة الثانوية داخل الجسم الحي فقد سبب العقار تحلل شبه كامل للطبقة المولدة وانكماش الطبقة الصفائحية بعد (4,3,2,1) اشهر من بدء العلاج بالمقارنة مع عقار Albendazoleالذي سبب تاخر في نمو الاكياس العدرية اذ شوهدت الرؤيسات الاولية متاخرة في النمو .

كما سبب استخدام عقار Cisplatin انخفاض في اعداد الاكياس العدرية المعزولة من الحيوانات المصابة وعلى عكس مالوحظ في العينات المعاملة بـ Albendazole والتي كانت اعدادها مقاربة لمجاميع السيطرة .

واظهرت التغيرات النسجية لاكباد الحيوانات المصابة حصول استجابة التهابية متباينة الشدة فقد كانت الاستجابة الالتهابية اقل شدة في الحيوانات المعاملة بـCisplatin بالمقارنة مع مجاميع السيطرة ، اما العينات المعاملة بـAlbendazole فقد كانت ذات استجابة التهابية واسعة .

كما سببت الاستجابة النسجية على مستوى الكلية في الحيوانات المصابة حالات من نزف وتنخرات في النبيبات البولية وتزداد شدة التغيرات بتقدم فترة الاصابة

المحتويات

الفصل الاول

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1	المقدمة واستعراض المراجع	1
1.1	المقدمة	1
1.1.1	انتشار الطفيلي	1
2.1.1	تصنيف الطفيلي	1
3.1.1	مراحل تطور الطفيلي	3
4.1.1	الشكل العام للطفيلي	3
5.1.1	الطور اليرقي (الكيس العدري)	4
6.1.1	اشكال الاكياس العدرية	4
7.1.1	طرق الاصابة	5
1.7.1.1	الاصابة الاولية	5
2.7.1.1	الاصابة الثانوية	5
8.1.1	دورة الحياة	5
9.1.1	الامراضية	8
10.1.1	التشخيص	9
11.1.1	علاج الاصابة بالاكياس العدرية	9
12.1.1	عقار Cisplatin	12
13.1.1	التلقيح والسيطرة ضد المرض	14
2.1	استعراض المراجع	15
3.1	اهداف الدراسة	17

الفصل الثاني		
2	المواد وطرائق العمل	18
1.2	جمع عينات الاكياس العدرية	18
2.2	عزل الرؤيسات الاولية	18
3.2	اختبار حيوية الرؤيسات الاولية	19
4.2	عد الرؤيسات الاولية	20
5.2	تربية المضيف النهائي (الكلاب)	20
6.2	تربية المضيف المتوسط (الفئران)	20
7.2	اصابة المضيف النهائي	20
8.2	فحص براز المضيف النهائي	21
9.2	تشريح المضيف الهائي	21
10.2	تصبيغ الديدان	21
11.2	تحضير الصبغة	22
12.2	عزل البيوض وعدها	22
13.2	اصابة المضيف المتوسط	22
1.13.2	الاصابة الاولية	22
2.13.2	الاصابة الثانوية	22
14.2	اختبار التاثير المباشر لعلاجي Cisplatin و Albendazole على الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي	23
15.2	اختبار التاثير المباشر لعلاجي Cisplatin و Albendazole على النفاذ داخل الاكياس العدرية خارج الجسم الحي	23
16.2	اختبار تاثير علاجي Cisplatin وAlbendazole على الفئران المختبرية المصابة بالرؤيسات الاولية داخل الجسم الحي	24
17.2	تشريح الحيوانات	24

18.2	الدراسة النسجية	25
19.2	التحليل الاحصائي	26
	الفصل الثالث	
3	النتائج	27
1.3	وصف الطفيلي	27
2.3	الدراسة النسجية للمضيف النهائي	29
3.3	اختبار التاثير المباشر لعلاجي Cisplatin و Albendazole على الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي	31
4.3	اختبار التاثير المباشر لعلاجي Cisplatin و Albendazole على النفاذ داخل الاكياس العدرية خارج الجسم الحي	32
5.3	الدراسة النسجية للمضيف المتوسط	34
1.5.3	الاصابة الاولية	34
2.5.3	الاصابة الثانوية	37
6.3	تاثير علاجي Cisplatin و Albendazole داخل الجسم الحي على:	40
1.6.3	الاكياس العدرية	40
2.6.3	اعداد الاكياس العدرية	45
3.6.3	الكبد	48
4.6.3	الكلية	52
	الفصل الرابع	
4	المناقشة	57
1.4	وصف الطفيلي	57
2.4	الدراسة النسجية للمضيف النهائي	58
3.4	اختبار التاثير المباشر لعلاجي Cisplatin و Albendazole على	58

	الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي	
4.4	اختبار التاثير المباشر لعلاجي Cisplatin و Albendazole على النفاذ داخل الاكياس العدرية خارج الجسم الحي	59
5.4	الدراسة النسجية للمضيف المتوسط	60
1.5.4	الاصابة الاولية	60
2.5.4	الاصابة الثانوية	62
6.4	تاثير علاجي Cisplatin و Albendazole داخل الجسم الحي على:	62
1.6.4	الاكياس العدرية	62
2.6.4	اعداد الاكياس العدرية	63
3.6.4	الكبد	64
4.6.4	الكلية	64
	الاستنتاجات والتوصيات	66
	الاستنتاجات	66
	التوصيات	67

المصادر

	المصادر العربية	68
	المصادر الانكليزية	70

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
1	يوضح فعالية كل من Cisplatin و Albendazole على حيوية الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي	31
2	يوضح قابلية علاجي Cisplatin و Albendazole على النفاذية داخل الاكياس العدرية لمدة اسبوع	33
3	يوضح معدلات اعداد الاكياس العدرية المعزولة من الحيوانات المعاملة بـ Cisplatin وAlbendazole ومجموعة السيطرة للفترات (2 و4 و5)اشهر	46

قائمة الاشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
1	يوضح دورة حياة طفيلي *Echinococcus granulosus*	7
2	يوضح التركيب الكيميائي لعقار Cisplatin	12
3	يوضح ميكانيكية ارتباط Cisplatin مع DNA	13
4	يوضح تاثير علاجي Cisplatin و Albendazole على حيوية الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي	32
5	يوضح قابلية علاجي Cisplatin و Albendazole على النفاذية	33

	داخل الاكياس العدرية لمدة اسبوع	
6	يوضح معدلات اعداد الاكياس العدرية المعزولة من الحيوانات المعاملة بـ Cisplatin وAlbendazole ومجموعة السيطرة للفترات (2 و4 و5)اشهر	46

قائمة الصور

رقم الصورة	العنوان	الصفحة
1	دودة بالغة لطفيلي *E.granulosus* يظهر فيها الرأس scolex والعنق والقطع الجسمية غير الناضجة والناضجةوالحبلى	27
2	راس طفيلي *E.granulosus* مزود بخطم Rostellum محاط بكلاليب Hook	28
3	قطعة حبلى لطفيلي *E.granulosus* تظهر وهي مملوءة بالبيوض	28
4	بيوض طفيلي *E.granulosus* الناضجة (m)وغير الناضجة(im)	29
5	مقطع في نسيج اللفائفي لكلب مصاب يظهر فيه تلف الطبقة الطلائيةالمغطية للزغابات	30
6	مقطع مكبر للزغابات يظهر فيها تلف الطبقة الطلائية	30
7	مقطع في كبد فأر مصاب بعد ثلاثة أشهر من الاصابة تظهرفيه حويصلات الكيس العدري مع تنخر الخلايا الكبدية	35
8	مقطع في كبد فأرمصاب بعد ستة أشهر من الاصابة يظهر فيه	35

	الكيس العدري الحاوي على طبقة مولدة محاطة بنسيج ليفي كثيف وارتشاح كثيف للخلايا الدفاعية	
9	مقطع في كبد فأر مصاب بعد ستة أشهر من الاصابة يظهر فيه الكيس العدري متكون من الطبقتين المولدة والصفائحية مع ارتشاح للخلايا الدفاعية	36
10	مقطع في كبد فأر مصاب بعد ستة أشهر من الاصابة تظهر فيه تكون اورام حبيبية	36
11	مقطع في كبد فأر مصاب بعد ستة أشهر من الاصابة تظهر فيه تجمع خلايا دفاعية حول الاقنية الصفراوية	37
12	مقطع في كيس عدري معزول من فأر مصاب غير معامل كمجموعة سيطرة بعد شهرين من الأصابة تظهر فيه الطبقة المولدة والطبقة الصفائحية	38
13	مقطع في كيس عدري من كبد فأر مصاب غير معامل كمجموعة سيطرة بعد ثلاثة أشهر من الأصابة تظهر فيه الطبقة المولدة والطبقة الصفائحية والاستجابة الدفاعية للمضيف	38
14	مقطع في كيس عدري معزول من فأر مصاب غير معامل كمجموعة سيطرة بعد أربعة أشهر من الاصابة تظهر فيه الطبقة المولدة والصفائحية	39
15	مقطع في كيس عدري من كبد فأر مصاب غير معامل كمجموعة سيطرة بعد 5 أشهر من الاصابة تظهر فيه الطبقة المولدة والطبقة الصفائحية	39
16	مقطع في كيس عدري معزول من فأر معامل بـ Cisplatin بعد	41

	شهر من الأصابة يظهر فيه انكماش الطبقة المولدة والطبقة الصفائحية.	
17	مقطع في كبد معزول من فأر معامل بـ Albendazole بعد شهر من الأصابة يظهر فيه رؤيس اولي يحتوي على الكلاليب	41
18	مقطع في كيس عدري معزول من فأر معامل بـCisplatin بعد شهرين من الأصابة يبين بدء التغيرات على خلايا الطبقة المولدة وانكماش الطبقة الصفائحية	42
19	مقطع في كيس عدري معزول من فأر معامل بـCisplatin بعد شهرين من الأصابة يظهر فيه تجمع خلايا الطبقة المولدة في احدى جهات الكيس	42
20	مقطع في كبد معزول من فأرمعامل بـAlbendazole بعد شهرين من الأصابة يظهر فيه الرؤيس الاولي في مرحلة التحول	43
21	مقطع في كيس عدري معزول من فأر معامل بـCisplatin بعد ثلاثة أشهر من الأصابة يظهر فيه التحلل الكامل للطبقة المولدة وانكماش الطبقة الصفائحية	43
22	مقطع في كيس عدري معزول من فأرمعامل بـ Cisplatin بعد أربعة أشهر من الأصابة يظهر فيه تحلل تام في الطبقة المولدة واختفاء الطبقة الصفائحية	44
23	مقطع في كيس عدري معزول من فأرمعامل بـ Cisplatin بعد أربعة أشهر من الأصابة يظهر فيه انكماش الطبقة الصفائحية واختفاء الطبقة المولدة	44
25	فأر مصاب بالاكياس العدرية معامل بـ Cisplatin بعد خمسة اشهر.	47
26	فأر مصاب بالاكياس العدرية معامل بـAlbendazole بعد خمسة	47

	اشهر.	
27	فأر مصاب بالاكياس العدرية غير معامل بعد خمسة اشهر	48
28	مقطع في كبد فأر مصاب غير معامل بعد شهر من الأصابة يظهر فيه تجمع كثيف للخلايا الدفاعية حول الاوعية الدموية كما بين تنخر الخلايا الكبدية	49
29	مقطع في كبد فأر مصاب غير معامل بعد أربعة أشهر من الأصابة يظهر فيه تجمع للخلايا الدفاعية كما بين تنخر الخلايا الكبدية	50
30	مقطع في كبد فأر معامل بـCisplatin بعد شهر من الأصابة تظهر فيه احتقان الوعاء الدموي مع تغلظ انوية بعض الخلايا	50
31	مقطع في كبد فأر معامل بـCisplatin بعد أربعة أشهر من الأصابة تظهر فيه احتقان الجيبانيات الكبديةمع تغلظ انوية بعض الخلايا	51
32	مقطع في كبد فأر معامل بـAlbendazole بعد شهر من الأصابة يظهر فيه احتقان الأوعية الدموية وارتشاح الخلايا الدفاعية	51
33	مقطع في كبد فأر معامل بـAlbendazole بعد أربعة أشهر من بدء الاصابة يظهر فيه تجمع كبير للخلايا الدفاعية قرب الوعاء الدموي وتنخر الخلايا الكبدية	52
34	مقطع في كلية فأر مصاب غير معامل بعد شهر من الأصابة يبين تجمع خلايا الدفاعية قرب الكبيبة	53
36	مقطع في كلية فأر مصاب غير معامل بعد أربعة شهر من الأصابة يوضح حالة النزف الدموي	54
37	مقطع في كلية فأر معامل بـ Cisplatinبعد شهر من الأصابة يوضح	45

	تحلل الكبيبة	
38	مقطع في كلية فأر معامل بـ Cisplatin بعد أربعة شهر من الأصابة يوضح تحلل النبيبات الكلوية	55
39	مقطع في كلية فأر معامل بـAlbendazole بعد شهر من الاصابةيوضح حالة النزف الدموي و تحلل لبعض النبيبات الكلوية	55
40	مقطع في كلية فأر معامل بـAlbendazole بعد أربعة شهر من الاصابةيوضح تجمع للخلايا الدفاعية قرب الوعاء الدموي مع تحلل بعض النبيبات الكلوية	56
41	مقطع في كلية فأر معامل بـAlbendazole بعد أربعة شهر من الاصابةيوضح تجمع للخلايا الدفاعية وتحلل النبيبات الكلوية.	56

الفصل الأول

المقدمة واستعراض المراجع

Introduction and Literature Review

1 المقدمة واستعراض المراجع Introduction Literature Reviews

1.1 المقدمة

1.1.1 انتشار الطفيلي Distribution of parasite

يعد داء الاكياس العدرية Hydatid disease من المشاكل الصحية والاقتصادية المهمة في العديد من دول العالم خاصة في المناطق الريفية، إذ ينتشر في اوربا واسيا وافريقيا وامريكا الجنوبية وهو من الامراض المتوطنة في ايطاليا والهند والعراق (Vicidomini *et al.*, 2007 ; Rafiei *et al.*, 2007;Smith and Rickman, 2001).

كما ينتشر المرض في العديد من الدول العربية مثل سوريا، الاردن، فلسطين، الكويت، السعودية ولبنان، وقد سجلت نسبة اصابة 33% في تونس من قبل Said *et al.* (2001) شملت العظام والعضلات، ويعد من الامراض الشائعة في العراق وخاصةً بين الاناث، إذ بلغت نسبة الاصابة 67.3% و 32.7% في الاناث والذكور على التوالي (Salih *et al.*, 1983)وهي نسبة مقاربة لما سجل في ايران إذ كانت نسبة الاصابة عند الاناث 56.5% و 43.5% في الذكور كما بلغت الاصابة في اكلات اللحوم حوالي 43.7% (Pezeshki *et al.*, 2007; Arbabi and Hosshyar,2005).

يعد طفيلي *Echinococcus granulosus* من اكثر انواع الجنس انتشاراً لتكيفه في اصابة مجموعة كبيرة من العوائل الوسيطة (Shoshtari *et al.*, 2007).

2.1.1 تصنيف الطفيلي Classification of parasite

يعود طفيلي *E. granulosus* الى شعبة الديدان المسطحة Platyhelmithus والى صنف الديدان الشريطية Cestoda وعائلة Taeniidae وجنس *Echinococcus* (Stewart ,2002).

إذ وجد ان هنالك اربعة انواع تعود الى هذا الجنس (Thompson, 2001).

E. granulosus Batsch, 1786

E. multilocularis Leuckart. 1863

E. oligarthrus Diesing, 1863

E. vogeli Rausch and Bernstein, 1972

من الصعب الاعتماد على اغلب الطرائق الكلاسيكية المستخدمة للتشخيص بين هذه الانواع لانها غيردقيقة، لذا توجهت الانظار نحو استخدام تقنية تفاعل السلسلة المتبلمرة PCR (Polymerase Chain Reaction)، وهي عبارة عن اختبار للعينات المرضية الماخوذة بعد اجراء العملية الجراحية والتي يستخدم فيها DNA الطفيلي إذ يمكن اخذه من خلايا الطبقة الداخلية (الطبقة المولدة Germ Layer) للكيس العدري وبينت التجارب العديدة التي اجريت في الاونة الاخيرة وجود اختلافات تشخيصية للكتل الكيسية والتي يمكن الكشف عنها باستخدام تقنية PCR (Dinkel *etal*.,1998).

اجريت دراسات عديدة في هذا المجال منها دراسة Kumar *et al.* (2004)، الذي استخدم قطعة من DNA واستنسخها الى 373 قطعة وقارن تسلسل القواعد النتروجينية مع العينات المرجعية لطفيلي *E. granulosus* ووجد ان نسبة التشابه بينها كانت98%.

3.1.1 مراحل تطور طفيلي *E. granulosus* Developmental Stages of

تلتهم الكلاب الاكياس العدرية المحتوية على الرؤيسات الحية،إذ ينمو كل رؤيس الى طفيلي بعد مروره بمراحل عدة ففي اليوم الاول يحتوي الرؤيس الاولي على جسيمات كلسية Calcareous Corpuscles وبعد مرور (11–14) يوماً على الاصابة يبدا بتكوين قناة ابرازية Excretory Canal واضحة، ويبدأ الطفيلي بتكوين القطع الجسمية segment، بعد مرور (14–17) يوماً،ثم تظهر القطعة الاولى بعد عشرين يوماً من الاصابة والتي تصل نضجها الجنسي عند اكتمال ثلاثين يوماً وتطرح بيوضاً ناضجة في اليوم السابع والثلاثين من الاصابة (Thompson, 1995).

4.1.1 الشكل العام لطفيلي *E. granulosus*

يعد طفيلي *E. granulosus* من اصغر الديدان الشريطية،إذ يبلغ طوله (3–6) ملم ذو راس كروي يحتوي على اربعة محاجم عضلية Sucker وخطم Rostellum محاط بصفين من الكلاليب hooks (30–36) ويتكون جسمه من (3–4) من القطع الجسمية احدهما غير ناضجة Immature Segment، واخرى ناضجةMature Segment ، وهناك قطعة حبلى Gravid segment ممتلئة بالبيوض التي تتحرر وتخرج مع براز الكلاب بعد انفصال القطعة من جسم الدودة بعملية تدعى Apolysis (WHO, 2002; Binhazim *etal.*,1992)

تتميز بيوض هذه الديدان بشكلها الكروي واحتوائها على الجنين السداسي الاشواك Hexacanth embryo الذي يمثل الطور اليرقي ، يبلغ قطر البيوض (30–40) ملي مايكرون وتحاط بعدة اغلفة ولايمكن تمييزها مظهرياً عن بيوض بقية اجناس الديدان الشريطية التابعة لرتبة Cyclophyllidae (Thompson and McManus, 2002)، كما تتميز بمقاومتها للظروف البيئية الخارجية ويمكنها البقاء حية لعدة اشهر في البيئات الرطبة وبدرجات الحرارة المنخفضة لكنها حساسة للجفاف (Marquardt *etal.*,2000).

5.1.1 الطور اليرقي (الكيس العدري) Hydatid cyst

يتالف الكيس العدري من مثانة محاطة بانسجة ليفية يكونها المضيف لحماية نفسه و طبقة خارجية طفيلية المنشأ لا تحتوي على انوية تدعى الطبقة الصفائحية Laminated Layer، واخرى داخلية تحتوي على انوية تدعى الطبقة المولدة germinal layer، وهي المسؤولة عن انتاج علب الحضن Brood Capsules المحتوية على اربعين رؤيس اولي تقريبا"، يملئ الكيس سائل حاوي على الرؤيسات الاولية الحرة التي تدعى الرمل العدري Hydatid Sand ويزيد عدد الرؤيسات وحجم الكيس بزيادة العمر، إذ تتراوح اقطارها ما بين (1–15) سم وقد تصل في بعض الاحيان الى اكبر من 20 سم(Duygulu *et al.*, 2006; Garippa, 2006).

6.1.1 اشكال الاكياس العدرية Morphology of Hyatid Cyst

1– الكيس العدري الكيسي Cystic Hydatid Cyst : يتميز بامتلاكه مثانة واحدة وهو النوع الاكثر شيوعاً في العالم و يحدث بسبب الاصابة بطفيلي *E. granulosus* (Czermak *etal*.,2001) .

2– الكيس العدري الحوصلي Alveolar Hydatid Cyst :وهو عبارة عن حويصلات متعددة تشبه جيوب الرئة منطمرة داخل نسيج المضيف ينتج عن الاصابة بطفيلي*E . multilocularis* .(Gottstein,2003)

3– الكيس العدري العظمي Osseous Hydatid Cyst : يمتاز بالشكل غير المنتظم ويمتد على طول القناة العظمية ويحتوي على قليل من السائل (Miladchricki, 2002).

7.1.1 طرائق الاصابة Modes of infection

تحدث الاصابة بالاكياس العدرية بطريقيين:-

1.7.1.1 الاصابة الاولية Primary infection

وتنتج عن طريق ابتلاع بيوض الطفيلي من قبل المضيف المتوسط، الذي يقوم بهضم اغلفة البيوض وتحرير الجنين السداسي الاشواك الذي يتطور داخل انسجة المضيف ليعطي الكيس الاولي، ويعد الكبد Liver والرئة Lung من اكثر الاعضاء عرضة للاصابة (Orthan *etal*.,2003).كما سجل Durakbasa *et al.*(2007) اصابة العضلات الهيكلية في امرأة في الاربعين من العمر.

2.7.1.1 الاصابة الثانوية Secondary infection

تحدث الاصابة الثانوية بسبب تحطم الاكياس العدرية داخل جسم المضيف المتوسط نتيجة الضغط او اثناء العمليات الجراحية، كما يمكن استحداثها بواسطة الحقن للرؤيس الاولي داخل الخلب Peritoneum Cavity ومن الممكن ان تصل الاصابة جميع اعضاء الجسم (Serrano *etal*.,1997).

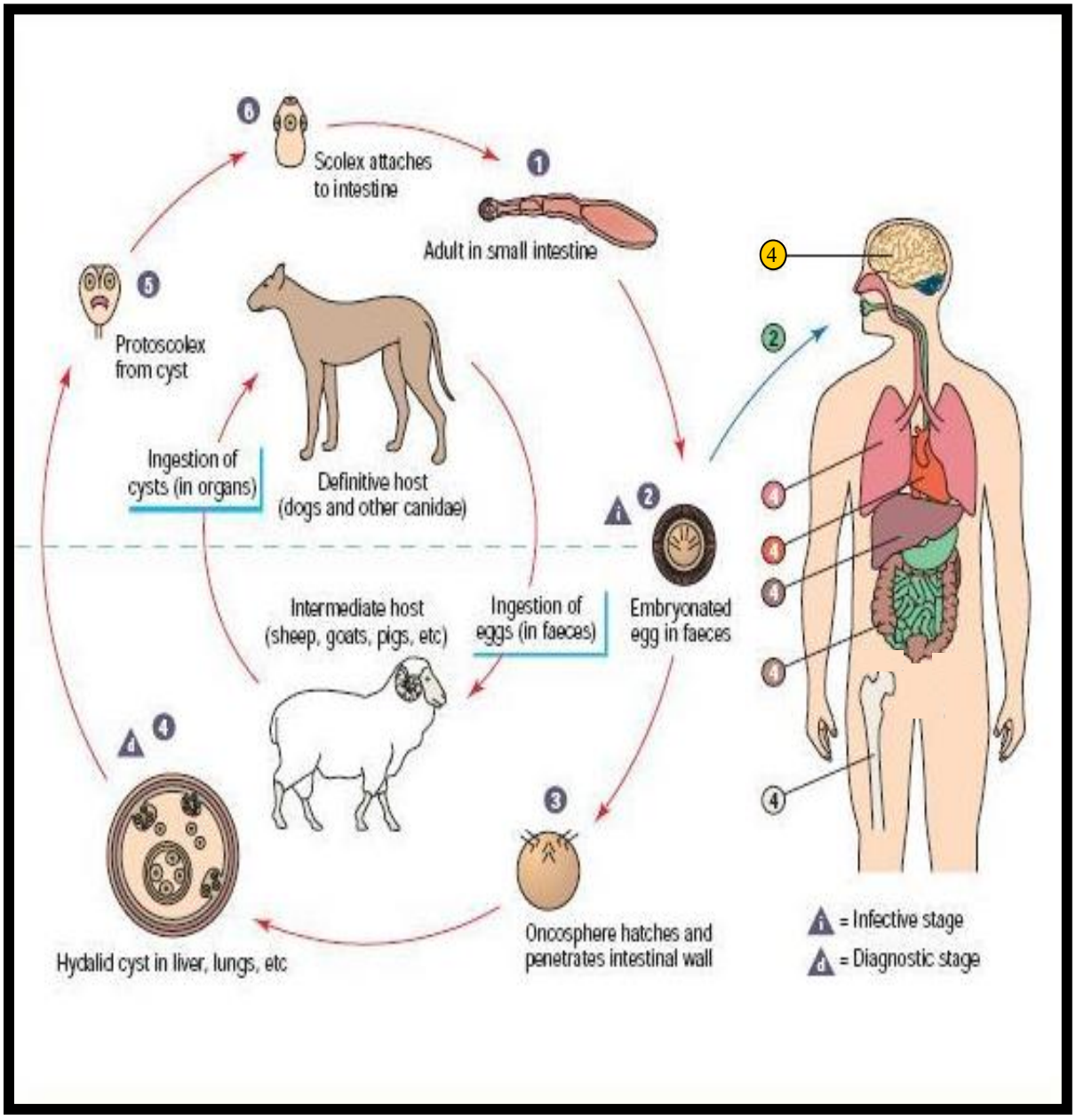
8.1.1 دورة الحياة Life cycle

تتضمن دورة الحياة وجود مضيفين المضيف النهائي من اكلات اللحوم المتمثل بـ الكلاب، الذئاب ،الثعالب وانواع اخرى من الفصيلة الكلبية، والمضيف المتوسط من اكلات الاعشاب يشمل (الاغنام، الجمال، الابقار) والانسان (Haag *etal*.,1999).

تعيش الدودة البالغة في الامعاء الدقيقة للمضيف النهائي وتصل الى النضج الجنسي بعد حوالي 6 اسابيع من الاصابة (Shah *et al*., 2006) لتبدأ بطرح البيوض مع البراز التي تتأثر بشدة بالرطوبة والحرارة وتنتقل لمسافات بعيدة خلال فترة زمنية قصيرة عن طريق الحشرات مثل الذباب والنمل او عن طريق الطيور والهواء (Acha and Szyfres,2003) .

عندما يبتلع المضيف المتوسط البيوض مع الغذاء الملوث ببراز المضيف النهائي تفقس عن اجنة سداسية الاشواك في الاثنى عشر بفعل عصارات الصفراء وتخترق هذه الاجنه جدار الامعاء وتدخل المجرى الدموي لتصل الى الكبد عن طريق الوريد البابي الكبدي وتستقر معظمها فيه في حين تستطيع بعض اليرقات العبور الى القلب ثم الرئة إذ يضخ بعضها مع الدم الى جميع اعضاء الجسم مثل القلب والدماغ والكلية والطحال والعظام والعضلات (Gogus *et al.*, 2003)،

عند استقرار الجنين داخل الاعضاء يتكون الكيس العدري الذي ينتج بدوره الرؤيسات الاولية بفترات تعتمد على نوع المضيف ويسمى هذا النوع بالاكياس الخصبة Fertile Cysts وتسمى الاكياس التي لاتكون رؤيسات اولية بالاكياس العقيمة Sterile Cysts التي تتكون بسبب عوامل تخص المضيف وسلالة الطفيلي وتتحول الرؤيسات الاولية الى ديدان بالغة عند ابتلاعها من قبل المضيف النهائي مع الاعضاء المصابة وتعاد دورة الحياة(WHO, 2003) .



شكل (1) يوضح دورة حياة طفيلي *Echinococcus granulosus* عن

(Leder *et al*., 2008)

9.1.1 الامراضية Pathoglogy

لا تظهر الاعراض على الشخص المصاب الا عندما يصل الكيس العدري الى حجم ووزن مؤثرين ويمكن ان يبقى الكيس (5–20) سنة ويصل قطره (3–15) سم (White and Weller, 2005)، وتبدأ الاعراض بالظهور نتيجة ضغط الكيس على العضو المصاب والاخلال بوظائفه الحيوية ويختلف الضرر باختلاف حجم الكيس والمكان الذي يتواجد فيه ويعد الكبد Liver من اكثر الاعضاء عرضه إذ تبلغ نسبة اصابتة 50–70 % تليه الرئة Lung 20–30% ثم الكليةKidney 2–4% والعضلات Muscles 4% والطحال Spleen 2% والعظام Bone 1% وممكن ان تصل الاصابة الى القلب Heart والدماغ Brain والعين (Kilciler *etal*.,2006 ;Taori *etal*.,2004)

تختلف امراضية الطفيلي باختلاف العضو المصاب ففي الكبد تظهر اعراض اليرقانJaundice وتضخم الكبد Hepatomegaly والحبن Ascites والتهاب الاقنية الصفراوية Cholestasis والتشمع الصفراوي Biliary cirrhosis (Ezer *et al*., 2007).

عندما تكون الاصابة في الرئة تظهر على المريض اعراض تتضمن السعال المزمن Chronic cough والم في منطقة الصدر, ضيق التنفس, ذات الرئة, التهاب الجنب Pleuritis وخراج الرئة Lung abscess وحصول انسدادات في المسارات التنفسية (Sehitogullari, 2007) ويحصل الفشل الكلوي في حالة وصول الكيس الى الكلية (Gelman *et al*., 2000) .

اما عند وصوله الى العظام فقد يسبب حدوث هشاشة العظم Bone fragility و صعوبة المشي، وتظهر حالات عصبية وتشنجات مع الم في الظهر في حالة وجود الكيس في المخ (Pawlowski *et al*., 2002) .

تسبب اصابة القلب اخلال في ضرباته وعدم كفاءته Cardic insufficiency وحصول انسدادات في الاوردة التاجية (Ceviz *et al*., 2001)، كما قد تحصل الوفاة في حالة انفجار

الكيس وحصول فرط الحساسية او تأثيرها على احد المراكز الحيوية في المخ (Agayev, 2002).

10.1.1 التشخيص Diagnosis

ان من اهم مشاكل الاصابة بالاكياس العدرية هو تأخر تشخيصها إذ تكون الاصابة المبكرة غير مصحوبة في الغالب باعراض، وان من اكثر طرائق التشخيص استخداماً هي:

1- استخدام الاشعة السينية X-Ray

2- صور الرنين المغناطيسي Magnetic Resonance Imaging

3- الفحص بالموجات فوق الصوتية Ultrasound.

4- الفحص بجهاز المفراز المبرمج Computurized Tomography

(Fahim and Al-Salamah,2007 ;Von Sinner ,1997)

هنالك طرائق مصلية Serological Method تستخدم في تشخيص المرض منها اختبار تثبيت المتمم Complement Fixation Test والاختبار الجلدي Casoni Test واختبار الامتصاصية المناعية المرتبطة بالانزيم Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay (ELISA) إذ يمكن بواسطتها تحديد وجود الاجسام المضادة لسائل الكيس او للرؤيسات الاولية في المصل (Moreno *et al*., 2004).

11.1.1 العلاج Treatment

ان الازالة الجراحية Surgical Treatment هي العلاج الوحيد المعتمد لمرض الاكياس العدرية وهي محفوفة بالخطر لاحتمال تمزقها وانسياب السائل المحتوي على الرؤيسات الاولية (Joshi *et al*., 2005).

يستخدم العلاج الكيمياوي قبل اجراء العملية لتجنب حدوث الاصابة الثانوية ومن ضمن هذه العلاجات مركبات Benzimedazole التي اثبت بانها تصغر حجم الاكياس مما يسهل ازالته جراحياً كما يستخدم كعلاج بعد اجراء العملية الجراحية (Franchi *et al*., 1999).

الا انه يتعذر استخدام الازالة الجراحية للمرضى في بعض الحالات مثل المراحل المتقدمة من الاصابة والمرضى المتقدمين في العمر والنساء الحوامل والاشخاص المصابين بامراض مزمنة (Krige and Beckingham, 2001; Uchino and Sato, 1996).

لذا طور العلماء تقنية الثقب والسحب والحقن واعادة السحب (PAIR) Puncture Aspiration Injection Reaspiration والتي تتضمن توجيه موجات فوق صوتية على موقع الاكياس ثم سحب كمية من السائل بواسطة ابرة خاصة وحقن كمية من الكحول الاثيلي 95% بداخل الكيس وبعد 10 دقائق يعاد سحب محتويات الكيس.

يستخدم العلاج الكيمياوي قبل وبعد اجراء التقنية لقتل الرؤيسات ومنع حدوث الاصابة الثانوية (Ciftci *et al*., 2007; Hunter and Strickland, 2000). ولا يمكن استخدام هذه التقنية في حالة الاكياس السطحية إذ تتسبب في اراقة محتوى الكيس داخل البطن (Garcia and Bruckner, 2001).

اهتم العديد من الباحثين بانتاج علاج كيمياوي للمرض الا ان محاولاتهم لاتزال في مراحلها المبكرة و اثبتت بعض الدراسات الحديثة ان استخدام عدد من مركبات Benzimedazole مثل Albendazole و Mebendazole ومركبات اخرى مثل Praziquentel لفترة طويلة في القوارض المصابة لها امكانية اتلاف الطور اليرقي بشكل غير تام (Reuter *et al*., 2003).

ويستخدم Praziquantel في علاج الاصابة بداء المنشقات البشرية Schistosomasis وقد استخدم في علاج مرض الاكياس العدرية Echinococcosis والديدان المعوية Intestinal worms والمثقوبات الكبدية Liver flukes (Jenkins and Romingo, 2000) .

دلت التجارب ان هذا العلاج يزيد من نفاذية اغشية خلايا الطفيلي لايونات الكالسيوم وخاصة في طفيلي المنشقات *Schistosoma* إذ يستحث تقلص الطفيلي ويؤدي الى شلله ومن ثم

موته. ومن تأثيراته الجانبية حصول صداع وخمول وتقيؤ واسهال دموي وطفح جلدي وانخفاض في ضغط الدم وعدم انتظام ضربات القلب (Fukase *etal* .,1996).

كما استخدم عقاري Albendazole و Mebendazole لعلاج الاصابات الطفيلية ومنها الاكياس العدرية ودودة الاسكارس والدودة الدبوسية إذ يقومان بقتل الطفيلي من خلال منعه من امتصاص سكر الكلوكوز وهذا بدوره يؤدي الى فقدان طاقة الطفيلي وموته ويتعذر استخدامها في فترة الحمل إذ من الممكن ان يسبب تشوهات ولادية ، ومن الاضرار الجانبية الاخرى حصول طفح جلدي واسهال وتساقط الشعر ونقص في كريات الدم البيض وزيادة في نسبة انزيمات الكبد بسبب حدوث اضرار في الكبد وحصول احمرار الجلد وحساسية العيون (Rigter *etal*.,2004 ; Dziri *etal* ., 2004).

اجريت عدة دراسات حول استخدام العقاقير المصنعة كيميائياً في علاج الاصابات الطفيلية ومنها الاكياس العدرية، ومن هذه الدراسات، دراسة اجريت من قبل Prano *et al*.(2007)بينت امكانية استخدام عقارين Praziquantel و Albendazole معاً لعلاج الاصابة بالاكياس العدرية واظهرت ان لهما فاعلية علاجية جيدة افضل من استخدام كلاً من العقارين على حده.

كما اوضح Santos *etal* .(2008) امكانية استخدام Albendazole في علاج الاغنام المصابة بالاكياس العدرية ووجد ان لهذا العقار فعالية في اختزال حجم الاكياس وانحلالها .

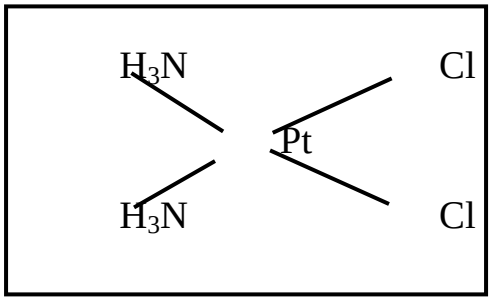
ووجد Stettler *et al*.(2001) ان استخدام مشتقات Albendazole (Alb-sulfoxide و Alb-sulfone) ذي فعالية عالية ضد الاصابة بالاكياس العدرية .

وفي كينيا اظهرت الدراسة التي قام بها Blanton *et al*.(1991) فاعلية الـAlbendazole في علاج عدد من حالات الاصابات الطفيلية مثل الاصابة بالاسكارس والدودة الدبوسية والديدان الشريطية مثل *E. granulosus* . ووضحت الدراسة التي قام بها Xiao *etal*.(1993) كفاءة عقار Mebendazle في علاج مرضى الاكياس العدرية المتسبب بطفيلي *E. granulosus*.

12.1.1 عقار Cisplatin

يعد من العقاقير الكيمياوية المستخدمة في علاج العديد من الحالات المرضية إذ اجريت في بداية الستينيات العديد من التجارب لاختبار تأثير Cisplatin على الخلايا السرطانية والتي اثبتت فعاليته كعقار مناسب ضد السرطان (Fuertes *etal*.,2003).

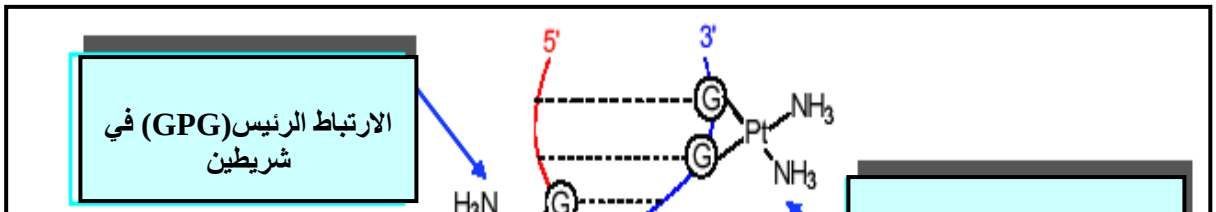
اكتشف عقار Cisplatin عام 1845م وفي عام 1965م وجد ان له تأثير مثبط على نمو وانقسام جرثومة *Escherichia coli* (Kelland,1993) .ويتكون التركيب الكيميائي لهذا العقار من قلب من البلاتين يرتبط بذراعين فعالتين من الامونيا واخرى من الكلور(Yachnin,2005) شكل (2)



شكل (2)يوضح التركيب الكيميائي لعقار Cisplatin

وبينت الدراسات ان لهذا العقار فعالية في علاج انواع عديدة من السرطانات ومنها سرطان الخصى، المبيض، المثانة، المعدة، الامعاء، المرى، والغدد اللمفاوية وسرطان الدم والثدي (Bethesda, 2007).

ان ميكانيكية تأثير Cisplatin اتجاه الخلايا السرطانية تتم من خلال تفاعل الجزء النيكلوتيدي في DNA مع البلاتين ،الارتباط الرئيس يكون بين البلاتين واثنين من الكوانين GPG في نفس الشريط او على نقطتين متجاورة في شريطين مختلفة.اما الارتباط الثانوي يكون بين الكوانين والادنين GPA في شريط واحد .كما يوجد ارتباط احادي للبلاتين مع DNA إذ يرتبط جزء من العقار مع DNA والجزء الاخر مع جزيئات مثل البروتين او الشحوم المفسفرة (Boutikas and Vougiouka,2003;Roy,2000) شكل (3)



شكل (3) يوضح ميكانيكية ارتباط Cisplatin مع DNA عن (Bertini *etal* .,2005)

كذلك بينت الدراسات ان لهذا العقار فعالية مضادة للفطريات وخاصةً الخمائر، إذ اشار كلا من Kesavan *et al*.(2005); Watanabe *et al*.(2000) الى ان لعقار Cisplatin القابلية على قتل خلايا خميرة *Candida albicans* من خلال تدمير الاغشية الخلوية وتثبيط عملية تصنيع البروتين مما يؤدي الى موت الخلية الفطرية كما لاحظ ان تعريض بروتويلاست نفس الخميرة الى هذا المركب يؤدي الى تحلل اغشيتها .كما اوضح Cardenas *etal*.(1999) ان عقار Cisplatin يؤدي الى تثبيط انزيمات Topoisomerases المسؤولة عن تضاعف DNA في خميرة *Saccharomyces cerevisiae* .

كما ان للعقار تأثير على خلايا الجراثيم إذ وجد ان تعريض جرثومة *Escherichia.coli* لهذا المركب ادى الى موتها من خلال تحطيم الـ DNA ووجد ان مركب Cisplatin قد يستهدف جينات محددة إذ ان هذا المركب يقتل جرثومة *E. coli* المحتوية على الجين المقاوم للمضاد الحيوي Tetracyclin واقترح استخدامه كعلاج ساند مع Tetracyclin في الحالات التي تبدي مقاومة (Essigmann, 2005 ; Elhag *et al*.,1999) .

واوضح كلاًمن Wysor and Zwelling ,(2007);Sheader *etal*.(2004) ان للعقار فعالية ضد الطفيليات إذ استخدم ضد *Trypanosoma rhodesiense* و *Trypanosoma brucei* من خلال تثبيط بناء DNA .كما سجل Pinto *etal*.(2003) ان طفيلي *Trypanosoma cruzi* حساس لمركب Cisplatin.

13.1.1 التلقيح والسيطرة على المرض Vaccination and Control

نتيجة لعدم توصل الباحثين لعلاج كيمياوي مناسب وفعال ضد الاصابة بالاكياس العدرية اجريت العديد من المحاولات في الدراسات الحديثة لايجاد لقاحات للاصابة بطفيلي *E. granulosus* . وان تطوير مثل هذه اللقاحات بطئ بسبب التعقيدات في دورة حياة الطفيلي (Heath *et al*., 2003).

من بين المحاولات الناجحة لانتاج لقاح مضاد للطفيليات ماقام به Manderson *etal*.(2006) من انتاج لقاح ضد *E. granulosus* من خلال كلونة الجين الخاص بالمستضد السطحي لاجنه بيوض *E. granulosus* في بلازميد ونقلها الى بكتريا *E.coli* كعامل محفز ووجد ان المستضد ينتج داخل الخلية البكتيرية.

اما بالنسبة لطرائق السيطرة على مرض الاكياس العدرية فانها تختلف باختلاف البلدان، ففي اليونان وضعت قوانين للسيطرة على المرض من خلال السيطرة على الكلاب السائبة فضلاً عن حماية الكلاب المنزلية من الاصابة باستخدام عقاقير مضادة للديدان ومراقبة اماكن الذبح، اما

في البرتغال فقد انتهجت طرائق سيطرة اخرى تعتمد على بيانات الصحة البيطرية وهذا البرنامج مرتبط مع برنامج الوقاية من الاصابة بداء الكلب Rabis إذ يتم معالجة الكلاب السائبة بلقاحين احدهما مضادة لداء الكلب والاخر مضاد للطفيليات كما يضم البرنامج وسائل تثقيف مربي الكلاب والمزارعين عن كيفية الاصابة بالمرض(Lander, 2001).

2.1 استعراض المراجع

تعد الاصابة بالاكياس العدرية من الامراض الخطرة والواسعة الانتشار لذا تعددت الدراسات حول هذا الموضوع في العديد من دول العالم ومنها العراق إذ اجريت دراسة وبائية ومصلية للاكياس العدرية في الاغنام والابقار والجمال ووجد ان هنالك نسبة عالية للاصابة في مناطق العراق الشمالية والوسطى والجنوبية (مبارك، 1978) .

في حين تناول العبادي (1984) التركيب اللاعضوي للسائل العدري والطبقتين المولدة والصفائحية لاكياس الطفيلي *E. granulosus* وبين ان هناك اختلاف في التركيب اللاعضوي لمكونات السائل العدري للاكياس في الاعضاء المختلفة للمضيف نفسه والاعضاء المتناظرة من المضائف المختلفة فضلاً عن الاختلاف في اغلفة الكيس.

كما درست الحياوي (1988) بعض التأثيرات المرضية التي يسببها طفيلي *E. granulosus* في مضيفه المتوسط واظهرت دراستها ان للطفيلي انتشار واسع في محافظة البصرة وبشكل خاص في الاغنام.

و تناول الزبيدي (1989) دراسة حول التركيب الكيمياوي العضوي للسائل العدري والطبقة الصفائحية لطفيلي *E. granulosus*.

واشار السيمري (1990) ان لاستخدام الاشعاع دوراً مهماً في السيطرة على المرض وظهرت كفاءة عالية في القضاء على الاكياس العدرية الثانوية في الفئران البيضاء والحد من خطورتها من خلال تدمير الطبقتين المولدة والصفائحية.

في حين بينت دراسة المؤنس (1998) ان مرض الاكياس العدرية متوطن في محافظة البصرة وان نسبة اصابة الاناث اكثر من الذكور فضلاً عن استخدامه لطرائق مناعية ومصلية لتشخيص بعض الحالات المرضية خلال الدراسة.

كما قامت التميمي (1999) بدراسة تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنبات الحرمل والشيح وقشور الرمان اتجاه الرؤيسات الاولية لطفيلي *E. granulosus* خارج الجسم الحي إذ كان لمستخلص بذور الحرمل كفاءة عالية في قتل الرؤيسات.

ودرس الساقي وجماعته (2002) انتشار الاكياس العدرية في الحيوانات المذبوحة في مدينة بغداد واوضحت الدراسة ان نسبة اصابة الاغنام والماعز والابقار بلغت (3.30–0.7–3.0)% على التوالي وتزداد نسب الاصابة مع تقدم العمر وفي اصابة الاناث مع الذكور.

كما اوضح رهيف و الفتلاوي (2002) انتشار مرض الاكياس العدرية في الابل وبينا ان نسبة اصابة الابل بلغت 42.18 % ونسبة اصابة الاناث اكثر من الذكور ووجود علاقة طردية بين نسب الاصابة وعمر الابل.

كما اشار الكناني وعلي(2004) الى فعالية المستخلص المائي لنبات عنب الذئب *Solanum nigrum L.* وبتركيز 10% على حيوية الرؤيسات الاولية داخل وخارج الجسم الحي إذ لوحظ انخفاض في عدد الاكياس فضلاً عن فشل الاكياس الثانوية في نسيج الكبد .

وتناول الخزاعي (2005) دراسة حول تقييم فعالية مستخلص الحبة السوداء وبعض الادوية والتيار الكهربائي على حيوية الرؤيسات واظهرت الدراسة خارج الجسم الحي بان طريقة التيار الكهربائي المباشر هي الافضل والاسرع في قتل الرؤيسات الاولية .

كما اسفرت الدراسة التي قامت بها حميد (2006) والتي شملت تحضير مستضدين لطفيلي *E. granulosus* مع دراسة كفاءتها المستضدية في التشخيص المصلي ووجد ان لهما كفاءة عالية في التشخيص.

وبينت دراسة الجلبي (2007) مدى تأثير بعض المستخلصات النباتية وعقاري التينيدازول والبرازيكونتيل على حيوية الرؤيسات الاولية ووجدت ان عقار التيندازول هو الافضل والاسرع في قتل الرويسات الاولية.

3.1 أهداف الدراسة

نظراً للمخاطر الصحية والاقتصادية الناجمة عن الاصابة بطفيلي الاكياس العدرية ولعدم توفر علاج شافي ضد الاصابة لذا جاءت هذه الدراسة لمعرفة :

1- مدى فاعلية استخدام عقار الـ Cisplatin كعلاج للاصابة من خلال تاثيره على الطبقة المولدة بمراحل مختلفة من تطور الكيس العدري ومقارنة ذلك مع عقار Albendazole.

2-اختبار قابلية اصابة الفئران المختبرية ببيوض طفيلي *E. granulosus* .

3- دراسة التغيرات التطورية للاكياس العدرية الناتجة عن الاصابة الاولية والثانوية بتقدم الفترة الزمنية.

4-دراسة التأثيرات المرضية التي تحدثها الاصابة بالاكياس العدرية الاولية والثانوية باختلاف فترة الاصابة.

الفصل الثاني

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

2. المواد وطرائق العمل

1.2: جمع عينات الاكياس العدرية

جمعت عينات الاكياس العدرية Hydatid cyst من اكباد ورئات الاغنام المصابة المذبوحة في مجزرة البصرة بعد فحصها بالعين المجردة من قبل الاطباء البيطريين اذ كانت بهيئة اكياس مختلفة الحجم والموقع . نقلت العينات بعد وضعها في اكياس بلاستيكية الى المختبر وتم التعامل معها في اليوم نفسه.

2.2: عزل الرؤيسات الاولية

استخدمت طريقة Agosin *et al*. (1957) لعزل الرؤيسات الاولية بفتح الكيس العدري وجمع السائل والرؤيسات إذ انتزعت الاكياس من الاعضاء المصابة بواسطة شفرة حادة وازيلت اجزاء النسيج العالقة بعناية ثم عقم السطح الخارجي لها باستخدام هايبو– كلورات الصوديوم وبعدها سحبت كمية من السائل العدري بواسطة محاقن طبية سعة 10 مل لتخفيف ضغط الكيس ونقل السائل العدري المسحوب الى قناني ذات غطاء .فتحت الاكياس وسحب السائل المتبقي المحتوي على الرؤيسات الاولية ووضع في دورق زجاجي معقم . استخرجت الطبقة المولدة وقطعت الى قطع صغيرة وغسلت بمحلول هانك الفسلجي Hank ’s Physiological Saline ثم رشحت مرات عديدة للحصول على اكبر عدد من الرؤيسات الاولية التي غسلت بالمحلول نفسه، فحص التركيب الداخلي للكيس عيانياً لغرض التشخيص الاولي.

وقد حضر محلول هانك الفسلجي بالاعتماد على Humason (1972) من اذابة المواد التالية:

بوتاسيوم –ثنائي الهيدروجين اورثروفوسفيت	0.06g	KH_2PO_4
ثنائي–صوديوم هيدروجين اورثروفوسفيت	0.048g	Na_2HPO_4
بيكاربونات الصوديوم	0.35g	$NaHCO_3$
كبريتات المغنيسيوم	0.1g	$MgSO_4.7H_2O$
كلوكوز	1g	$C_6H_{12}O_6$
كلوريد المغنسيوم	0.1g	$MgCl_2.6H_2O$
كلوريد الكالسيوم	0.185	$CaCl_2.2H_2O$
كلوريد البوتاسيوم	0.4g	KCl
كلوريد الصوديوم	8g	NaCl
بنسلين	100وحده/مل	Pencillin
ستريبتومايسين	100وحده/مل	Stryptomycin

اذيبت المواد تدريجياً في كمية من الماء المقطر وكمل الحجم الى حد العلامة وعدلت الدالة الحامضية pH الى 7.2 وعقم باستخدام ورق ترشيح Milipore 0.45 مايكرون.

3.2 :اختبار حيوية الرؤيسات الاولية

اخذت كمية من السائل العدري المحتوي على الرؤيسات الاولية بواسطة ماصة، ونقلت الى طبق بتري واضيف اليه قطرات من صبغة الايوسين المائية 0.1 %، ثم نقلت بضع قطرات من السائل الى شريحة لغرض الفحص المجهري اذ ظهرت الرؤيسات الحية باللون الاخضر اما الرؤيسات الميتة فاصطبغت باللون الاحمر (Himonas *et al*., 1994)

4.2 :عد الرؤيسات الاولية

حُسب عدد الرؤيسات الاولية باستخدام طريقة نقل الحجم الثابت بالماصة الدقيقة سعة 10 مايكروليتر وباستعمال صبغة الايوسين ،اذ تم حساب عدد الرؤيسات الحية في هذا الحجم باستخدام المجهر التشريحي وبحساب معدل اربعة قراءات لتحديد العدد الواجب حقنه في الفئران المختبرية لاستحداث الاصابة الثانوية.

عدد الرؤيسات / مل = عدد الرؤيسات في (10µl) × 100

5.2: تربية المضيف النهائي (الكلاب)

استخدمت ثلاثة كلاب بعمر(2–3)اشهر وربيت في البيت الحيواني التابع لكلية العلوم واعطيت الكلاب مضاد حيوي Ampicilin 5 ملغم/كغم ومضاد الديدان Peprazin 3 ملغم/كغم لغرض التخلص من الاصابات البيئية .

6.2: تربية المضيف المتوسط (الفئران)

استخدمت 150 فار مختبري نوع Balb/c تراوحت اوزانها مابين (23-25) غم وربيت في اقفاص بلاستيكية خاصة في البيت الحيواني التابع لكلية العلوم إذ غذيت الحيوانات بغذاء معد حسب قواعد العليقة القياسية.

7.2: اصابة المضيف النهائي

اصيب المضيف النهائي المتمثل بالكلاب بعد التأكد من حيوية الرؤيسات الاولية إذ جرعت بسائل الكيس العدري المحتوي على الرؤيسات بمحقنة التجريع الفموي Stomach Tube وغذيت بالطبقة المولدة.

8.2 : فحص براز المضيف النهائي

اختبرت امكانية نضج الديدان اذ بدا الفحص اليومي بعد مرور 38 يوماً من الاصابة بأخذ كمية من البراز واضيف اليها كمية قليلة من 10% فورمالين.ثم نقلت قطرة من البراز الى شريحة وفحصت للتاكد من وجود البيوض .استمرت عمليةالفحص لغاية 50 يوماً بعد الاصابة.

9.2: تشريح المضيف النهائي

شرحت الكلاب المعرضة للاصابة بعد مرور 50 يوماً من الاصابة اذ خدرت الحيوانات بمادة الكلوروفورم Chloroform وشرحت باستخدام ادوات تشريح ملائمة واستخرجت امعاؤها الدقيقة وفتحت لملاحظة الديدان في اجزائها المختلفة, عزلت الديدان ووضعت في اطباق بتري واضيف اليها المحلول الفسلجي Normal saline (NaCl 0.85%) ووضعت في الثلاجة. في حين ثبت القسم الاخر باستخدام كمية قليلة من 10% فورمالين لغرض تصبيغها ,اخذت اجزاء من الامعاء وثبتت لغرض الدراسة النسجية .

10.2: تصبيغ الديدان

صبغت الديدان المثبتة المعزولة من المضيف النهائي بعد غسلها بالماء الجاري بصبغة Kirkpatrick Carmalum (Drury *et al*., 1967) لمدة 24 ساعة ثم نقلت الى قناني زجاجية صغيرة واضيف اليها محلول التمييز المكون من كحول اثيلي 70 % مع بضع قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز وتركت حتى ظهرت الديدان بشكل واضح ثم سحب الماء باستخدام سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (100,90,70) % لمدة ساعتين لكل تركيز ووضعت بين شريحتين وغمرت بالزايلين لمدة 24 ساعة .بعدها حملت الديدان بمادة D.P.X (Distrine Plastisizer Xylene) ثم وضع غطاء الشريحة وفحصت الديدان وقيست ابعادها وصورت بمجهر مركب تصويري نوع Nikon.

11.2: تحضير الصبغة Kirkpatrick Carmalum

حضرت الصبغة بالاعتماد على Drury *et al*. (1967) من المواد التالية :

كارمين	25g	Carmine
حامض الخليك الثلجي	25ml	Glacial acetic acid
شب البوتاسيوم	25g	Potassium alum
ماء مقطر	600ml	Distilled water

وضع 100مل من الماء المقطر في دورق سعة 250 مل واضيف اليه حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid وضبغة الكارمين Carmine وترك المزيج لمدة 15 دقيقة بعدها وضع في حمام مائي water Bath بدرجة حرارة 100 م° لمدة ساعة . اذيب 25 غرام من شب البوتاسيوم في 500 مل ماء مقطر في دورق اخر ومزجت محتويات الدورقين مع بعضها ووضعت في الحمام المائي وبدرجة حرارة 100م° لمدة ساعة .

12.2: عزل البيوض وعدها

استخدمت طريقة (Williams and Colli , 1970) لعزل البيوض وعدها إذ عزلت البيوض من الديدان المحفوظة في المحلول الفسلجي تحت مجهرتشريحي نوع Wild MB3 وذلك بفتح القطع الحبلى وسحب البيوض بواسطة ماصة باستور كما عدت البيوض باستخدام طريقة العد المباشر

13.2: اصابة المضيف المتوسط

1.13.2: الاصابة الاولية

اصيب 30 فاراً بالبيوض المعزولة بواقع 150 بيضة / فأر بواسطة محقنة التجريع الفموي. (Williams and Colli , 1970)

2.13.2: الاصابة الثانوية

اصيب 100 فأر بواقع 1500 رؤيس/ فأر وحقن في التجويف الخلبي Intraperitoneal Cavity .

14.2: اختبار التاثير المباشر لعلاجي Cisplatin وAlbendazole على الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي

اخذت كميات متماثلة من سائل الكيس العدري المحتوي على الرؤيسات الاولية وغسلت بمحلول هانك الفسلجي وقدرت حيوية الرؤيسات إذ وضعت في 4 دوارق حجم 250 مل واضيف علاج Cisplatin الى كل دورق بالتراكيز (1,0.5,0.25) ملغم/مل في حين عوملت مجموعة اخرى بعلاج Albendazol بالتراكيز (1,0.5,0.25) ملغم/مل مع اخذ عينة سيطرة لاتحتوي على العلاج وبواقع مكررين لكل مجموعة واختبر مدى تأثير العلاج من خلال قياس حيوية الرؤيسات كما في الفقرة(3.2) للفترات 7 و 14 يوم بعد المعاملة .

15.2: اختبار التاثير المباشر لعلاجي Cisplatin وAlbendazole علىالنفاذ داخل الاكياس العدرية خارج الجسم الحي

لاختبار قابلية Cisplatin على النفاذ داخل الكيس العدري أخذت عينات من الاكياس العدرية وعقم سطحها الخارجي بـ هايبوكلورات الصوديوم 6% ثم غسلت جيداً بالماء المقطر ووضعت كل عينة في دورق حجمه 250 مل يحتوي على محلول هانك الفسلجي مضاف اليه علاج Cisplatin بالتراكيز (1,0.5,0.25) ملغم/مل في حين عوملت مجموعة اخرى من الاكياس بعلاج Albendazol بالتراكيز (1,0.5,0.25) ملغم/مل مع اخذ عينة سيطرة للاكياس تحتوي على محلول هانك فقط. وبواقع مكررين لكل مجموعة واختبر مدى تأثير العلاج بعد 7 ايام إذ فتح الكيس وسحب السائل وفحص مجهرياً بعد اضافة صبغة الايوسين وقدرت النسبة المئوية لحيوية الرؤيسات الاولية .

16.2: اختبار تأثير علاجي Cisplatin و Albendazole على الفئران المختبرية المصابة بالرؤيسات الاولية داخل الجسم الحي

أخذ 80 فأراً من الفئران التي اصيبت كما في الفقرة (2.14.2) وقسمت الحيوانات المصابة على 4 مجاميع وكل مجموعة مؤلفة من 20 فأراً وعوملت المجاميع الاربع بعلاجي Cisplatin و Albendazol بعد مرور (4,3,2,1) أشهر من بدء الاصابة . اذ جرعت 5 فئران من كل مجموعة بـ 50 ملغم/كغم من Albendazol اسبوعياً ولمدة ثلاث اسابيع كما عوملت 5 فئران من كل مجموعة بـ100ملغم/م^2 من Cisplatin عن طريق الحقن الوريدي اسبوعياً ولمدة ثلاثة اسابيع .اذ حقنت المادة عن طريق وريد الذنب وتركت مجموعة مصابة غير معاملة من كل فئة .

17.2:تشريح الحيوانات

شرحت الحيوانات المصابة اصابة اولية (بالبيوض) بعد مرور 3 و6 اشهر بعد الاصابة وبواقع 8 حيوانات للمجموعة الاولى و 6 للمجموعة الثانية في حين شرحت الحيوانات المصابة اصابة ثانوية بعد (5,4,3,2) اشهر من بدء الاصابة. اذ خدرت الحيوانات بمادة الكلوروفورم وشرحت باستخدام ادوات تشريح ملائمة .واخذت اجزاء من الكبد والكلية وثبتت بكمية من 10 % فورمالين لغرض الدراسة النسجية كما عدت الاكياس العدرية و ثبتت بعضها بـ10 % فورمالين لغرض الدراسة النسجية .

18.2:الدراسة النسجية Histological Study

اعتمدت طريقة Drury *et al*. (1967) في التحضير النسيجي كما يلي:

1- التثبيت Fixation

ثبتت القطع المأخوذة من الاعضاء المختلفة لحيوان التجربة بكمية مناسبة من 10 % فورمالين لمدة 24 ساعة.

2- الغسل Washing

غسلت النماذج باستخدام الماء الجاري .

3- سحب الماء (الانكاز) Dehydration

مررت النماذج بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (50-70-90) % ساعتين لكل تركيز ثم نقلت الى كحول اثيلي مطلق 100% مرتين (ساعة لكل تركيز).

4-الترويق Clearing

روقت النماذج بمادة الكلوروفورم لمدة (12-24)ساعة .

5- التشريب infiltration

شربت النماذج بمنصهر شمع البرافين النقي بوضعها بأوعية معدنية خاصة إذ تركت على الصفيحة الحارة بدرجة 60 م° .

6- الطمر Embedding

طمرت النماذج بعد وضعها في القوالب الخاصة بالطمر واضيف اليها منصهر شمع البرافين النقي بدرجة 60 م°مع مراعاة توجيه النماذج باتجاه القطع المطلوب وتركت القوالب لتتصلب بدرجة حرارة الغرفة .

7- التقطيع Sectioning

قطعت النماذج بسمك (5-6) مايكرون باستخدام جهاز المشراح الدوار Rotary Microtome (Reichert-Jung) وبعدها نقلت المقاطع الى حمام مائي بدرجة حرارة 45 م° لغرض فرش المقاطع ثم التقطت بواسطة شرائح زجاجية مطلية بمادة زلال ماير Mayer's

Albumine ووضعت على صفيحة حارة نوع Fisher slide warmer بدرجة حرارة 50 م° لمدة 24 ساعة .

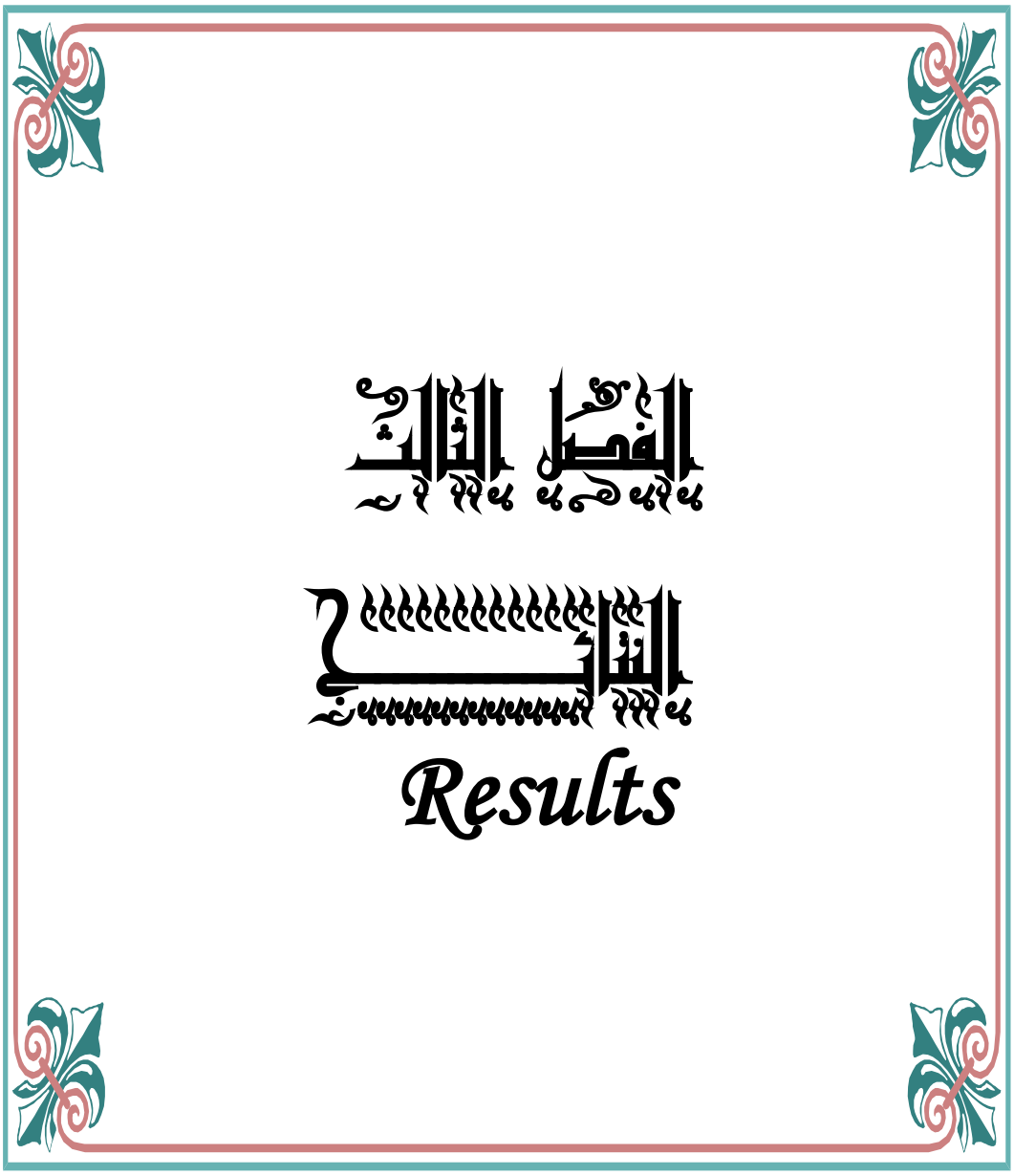
8-التصبيغ Staining

صبغت المقاطع النسجية بصبغة كول هيماتوكسيلين – ايوسين (Cole's Eosin-Haematoxylin) وحملت بمادة D.P.X ثم وضع غطاء الشريحة وفحصت وصورت بمجهر مركب تصويري نوع Nikon .

19.2: التحليل الاحصائي :

حللت النتائج بأستخدام جدول تحليل التباين ANOVA (الراوي وخلف الله و1980) بعد تصحيح النسب المئوية للقتل بأستخدام معادلة ابوت وحسب المعادلة التالية :

$$\text{معادلة ابوت} = \frac{\text{المعاملة} - \text{المقارنة} \times 100}{100 - \text{المقارنة}}$$



الفصل الثالث

النتائج

Results

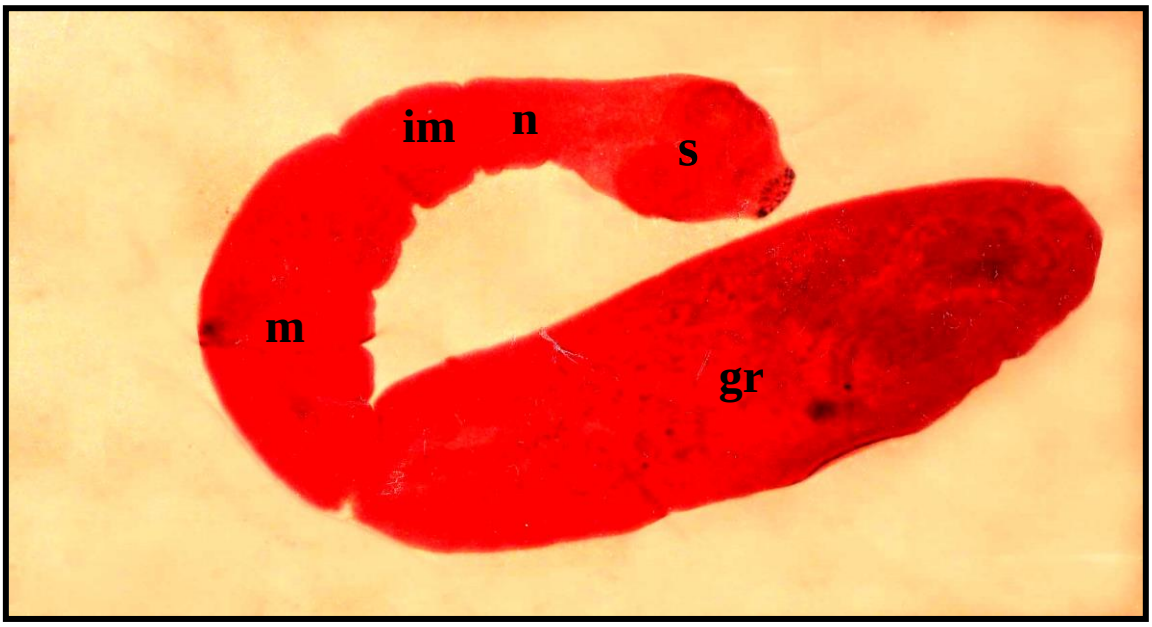
3 - النتائج

1.3 وصف الطفيلي Description of parasite

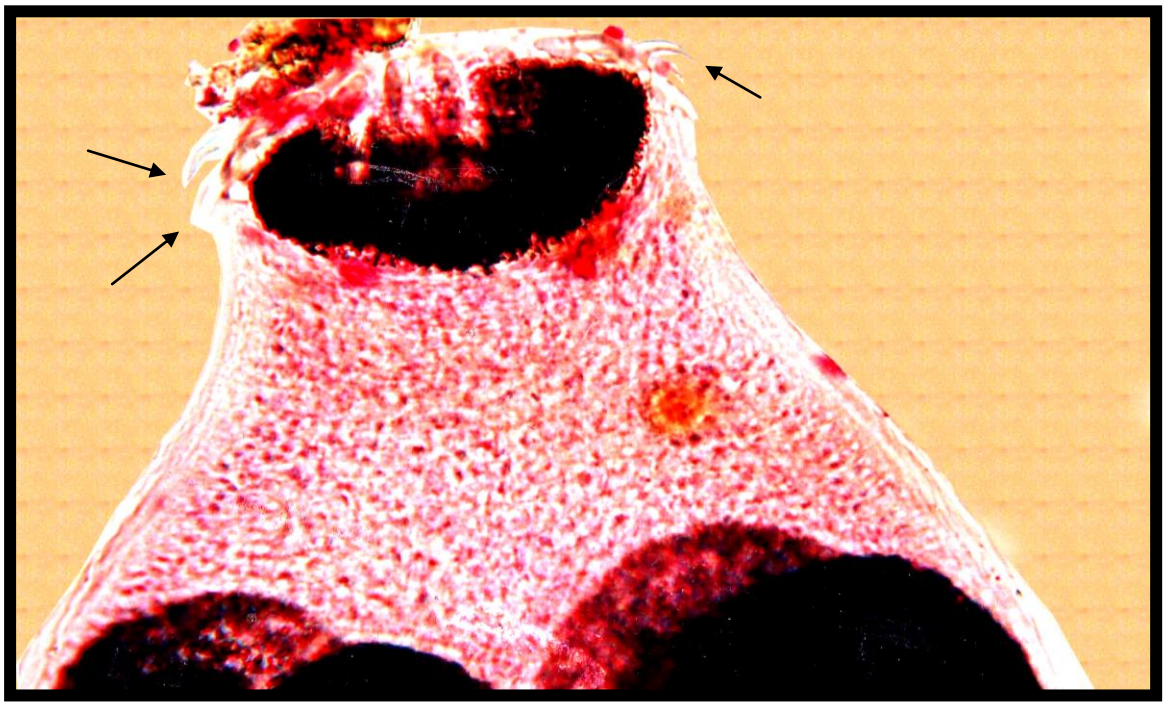
عزلت الديدان الناضجة جنسياً لطفيلي *Echinococcus granulosus* بعد 50 يوماً من الاصابة من امعاء الكلاب وكانت غالبية الديدان داخل اللفائفي illeum وظهر البعض الاخرمنها ينتشر في الاثني عشر duodenum والصائم jejunum.

تراوحت اطوال الديدان ما بين (2.66 – 2.71)ملم وبمعدل(2.68) ملم . تتكون الديدان من رأس scolex يحتوي على خطم محاط بالكلاليب ثم العنق وهي منطقة قصيرة غير متميزة ثم قطعة غير ناضجة و قطعة ناضجة ثم قطعة حبلى حاوية على اعداد كثيرة من البيوض (صورة 1 و2 و 3).

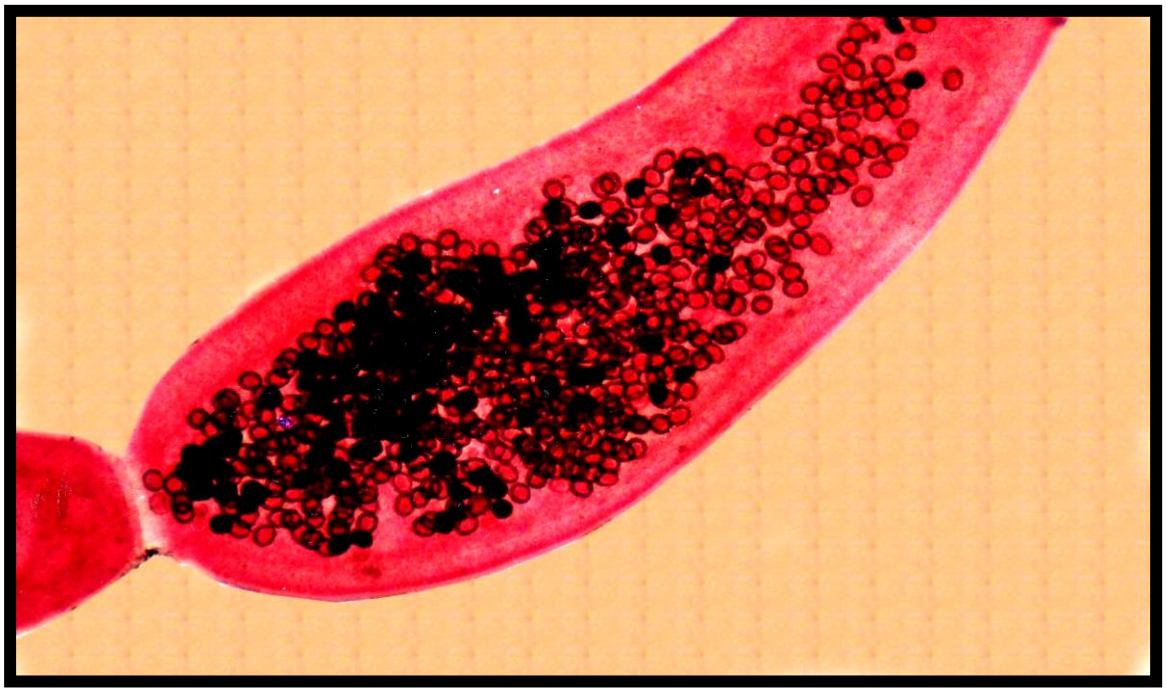
حددت فترة النضج الجنسي للطفيلي وكانت بعد 38 يوماً من الاصابة اذ لوحظت البيوض بشكلها الكروي وباقطار تراوحت مابين (43.9–45.4) مايكرون وبمعدل (44.9)مايكرون (صورة 4).



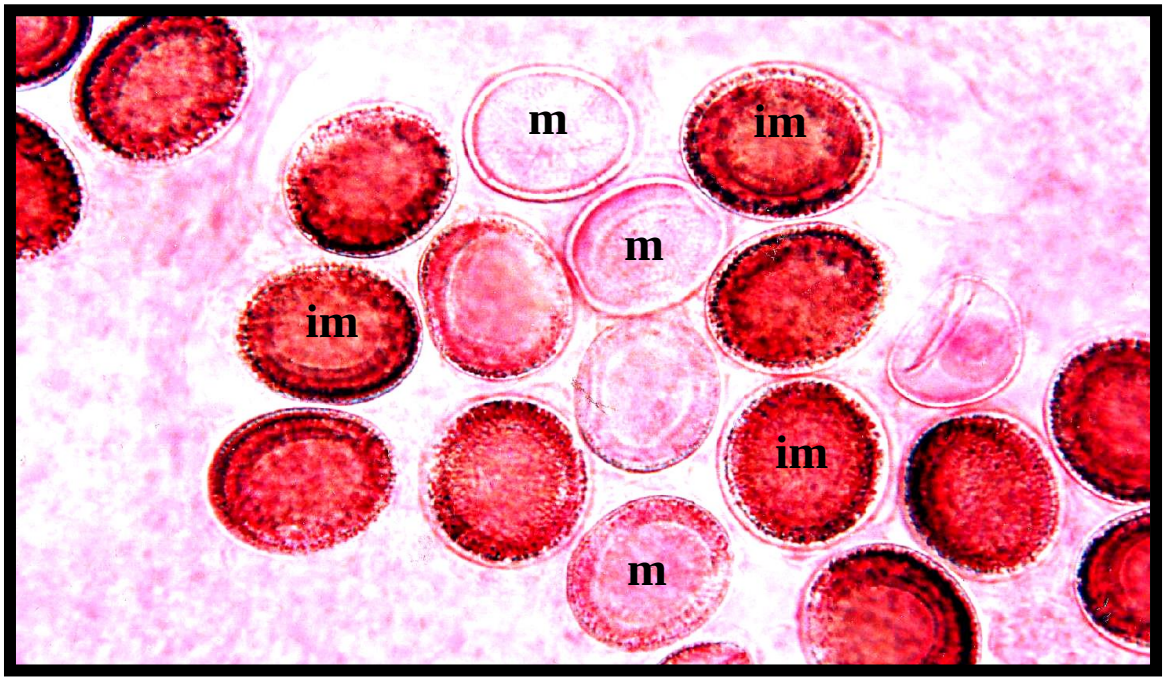
صورة (1): دودة بالغة لطفيلي *E.granulosus* يظهر فيها الرأس scolex (s) والعنق(n) والقطع الجسمية غير الناضجة(im) والناضجة(m) والحبلى (gr) .صبغة (H.E).X76



صورة (2): راس طفيلي *E.granulosus* مزود بخطم Rostellum محاط بكلاليب Hook (←) صبغة(H.E).X475



صورة (3) :قطعة حبلى لطفيلي *E.granulosus* تظهر وهي مملوءة بالبيوض في مراحل مختلفة من النضج.صبغة(H.E).X 190

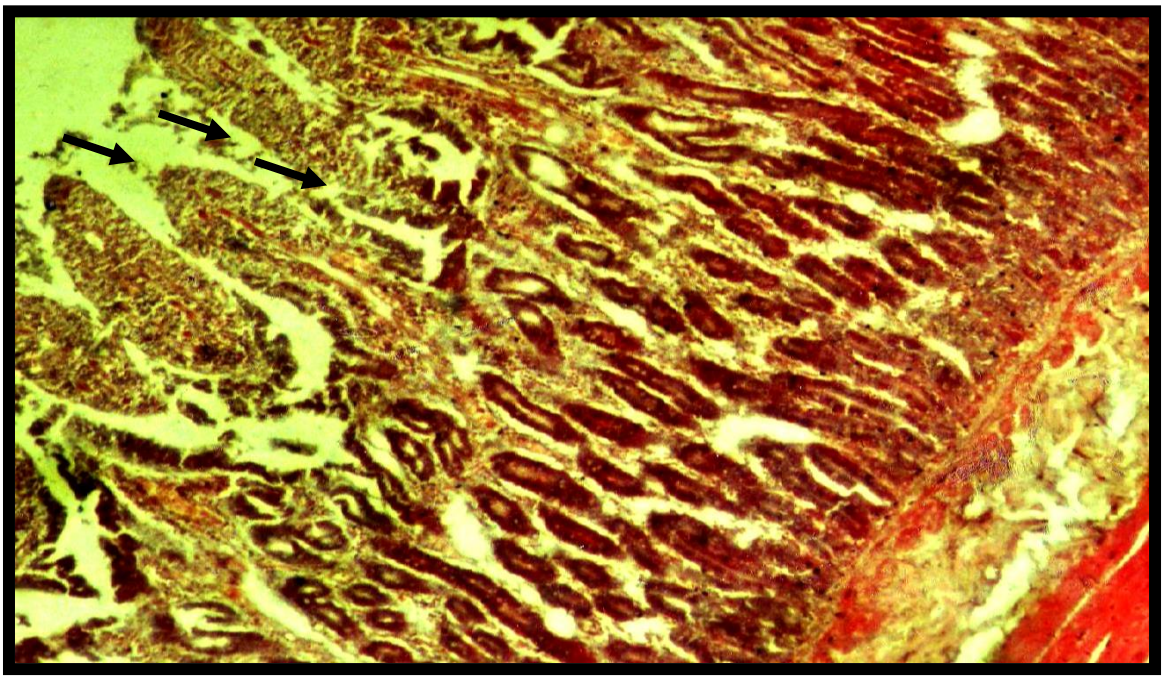


صورة (4): بيوض طفيلي *E.granulosus* الناضجة (m)وغير الناضجة(im) .صبغة(H.E).760 X

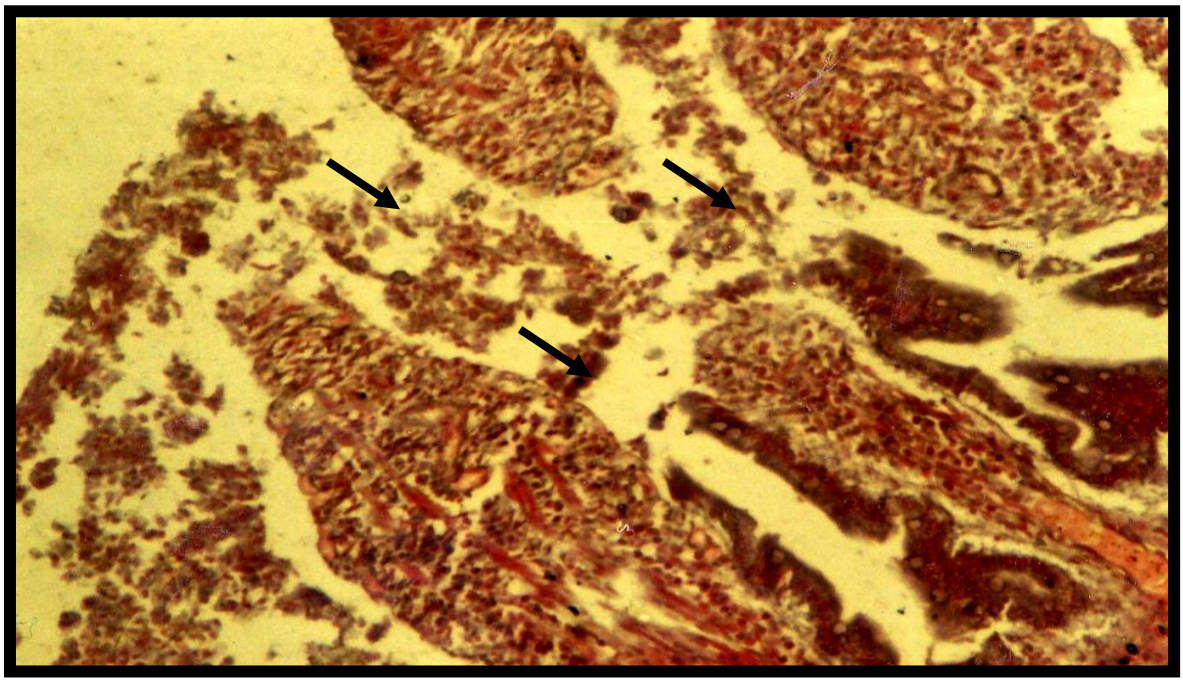
2.3:الدراسة النسجية للمضيف النهائي

Histilogical study on definitive host

اظهرت الدراسة ان الكلاب المصابة بطفيلي *E.granulosus* والمشرحة بعد 50 يوماً حدوث تغيرات مرضية في الطبقة الطلائية المبطنة لمنطقة اللفائفي ظهرت على شكل ازالة كاملة لهذة الطبقة ،وتركزت تلك التغيرات في اعلى منطقة الزغابة واستمرت باتجاه خبايا ليبركان (صورة 5 و 6) .



صورة (5): مقطع في نسيج اللفائفي لكلب مصاب يظهر فيه تلف الطبقة الطلائية (←)المغطية للزغابات .صبغة(H.E) .X76



صورة (6): مقطع مكبر للزغابات يظهر فيها تلف الطبقة الطلائية (←).صبغة(H.E) .X76

3.3 اختبار التأثير المباشر لعلاجي Cisplatinو Albendazole على الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي

اثبتت نتائج الدراسة الحالية وعند مستوى احتمال للتحليل الاحصائي ($P<0.01$)التأثير المباشر لعقار Cisplatin على الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي وفعاليتة العالية في نسبة القتل اذ بلغت نسبة القتل عند التركيز 1ملغم/مل 51.8 %خلال الاسبوع الاول و 92.8 % في الاسبوع الثاني ، وانخفضت نسبة القتل بانخفاض تركيز المادة وكان عقار Cisplatin اكثر فعالية من Albendazole في القضاء على هذه الرؤيسات.

اذ اظهر استخدام Albendazole بتركيز 1ملغم/مل قتل 26.6 % وهي اقل مما في علاج Cisplatin في حين كانت نسبة القتل بعد اسبوعين 54.2 % انخفضت كفاءة القتل بأنخفاض التركيز الانها كانت اقل نسبة من التراكيز المتماثلة لعقار Cisplatin جدول (1).

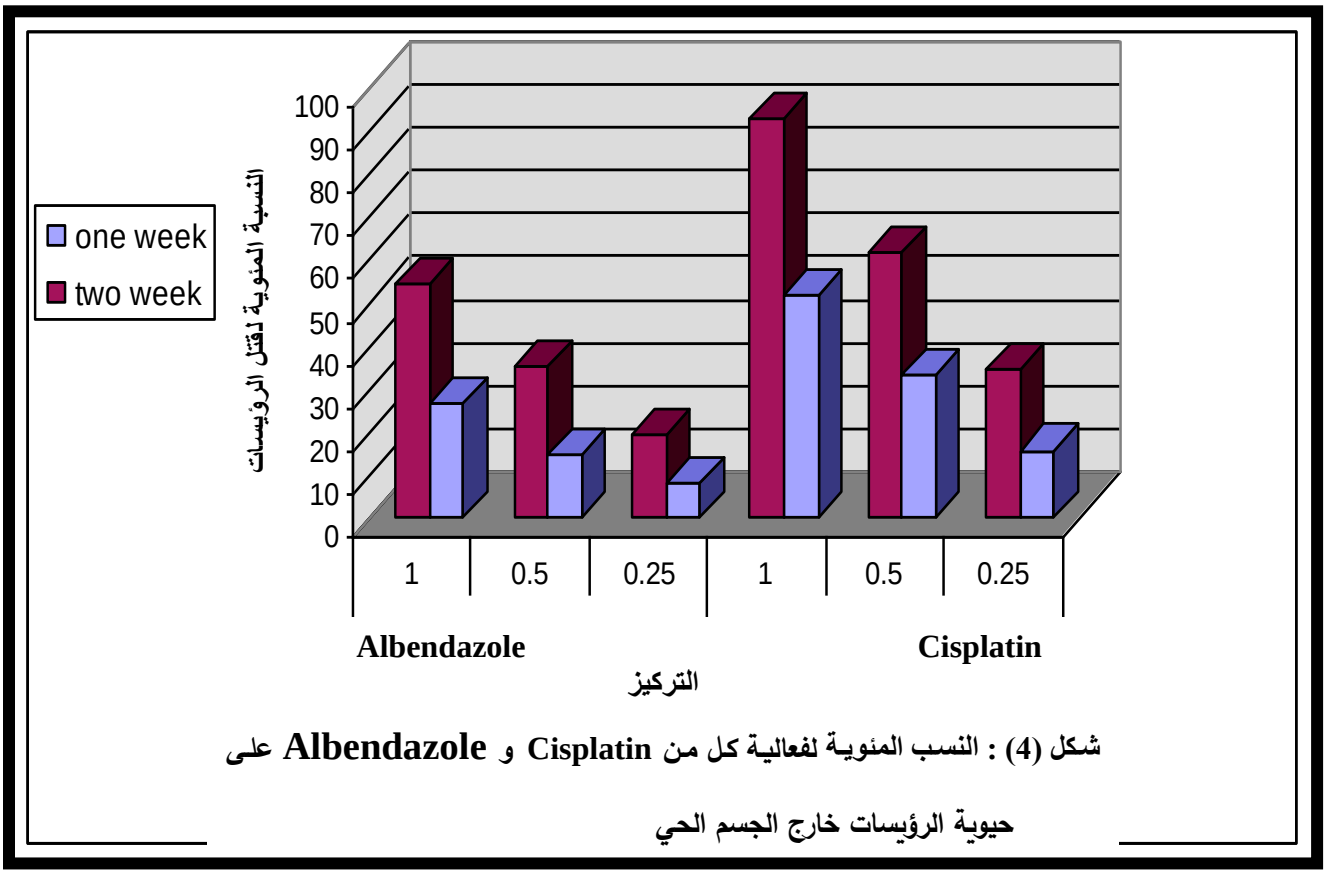
جدول (1) النسب المئوية لفعالية كل من Cisplatin وAlbendazole على حيوية الرؤيسات خارج الجسم الحي.

نسبة القتل % / التركيز ملغم /مل	عقار cisplatine		عقار Albendazole	
	اسبوع	اسبوعين	اسبوع	اسبوعين
0.25	%15.5	%34.2	%7.7	%19
0.5	%33.26	%61.8	%14.4	%35.2
1	%51.8	%92.8	%26.6	%54.2

R.L.S.D للعقار = 2.55 R.L.S.D للتركيز= 3.13

R.L.S.D للوقت = 2.55 R.L.S.D العقار التركيز= 4.43

R.L.S.D التركيز الوقت = 4.54 R.L.S.D العقار الوقت = 3.7



شكل (4) : النسب المئوية لفعالية كل من Cisplatin و Albendazole على حيوية الرؤيسات خارج الجسم الحي

4.3 اختبار التأثير المباشر لعلاجي Cisplatin و Albendazole على النفاذ داخل الاكياس العدرية خارج الجسم الحي

اثبتت الدراسة الحالية قدرةعقار Cisplatin على النفاذ داخل الاكياس العدرية، اذ بلغت نسبة القتل في الرؤيسات الاولية عند التركيز 1ملغم/مل 72.6% وهي بهذا اكثر فاعلية من Albendazole اذ بلغت النسبة 30.6%عند نفس التركيز ، كما انخفضت نسبة القتل مع انخفاض التركيز جدول (2).

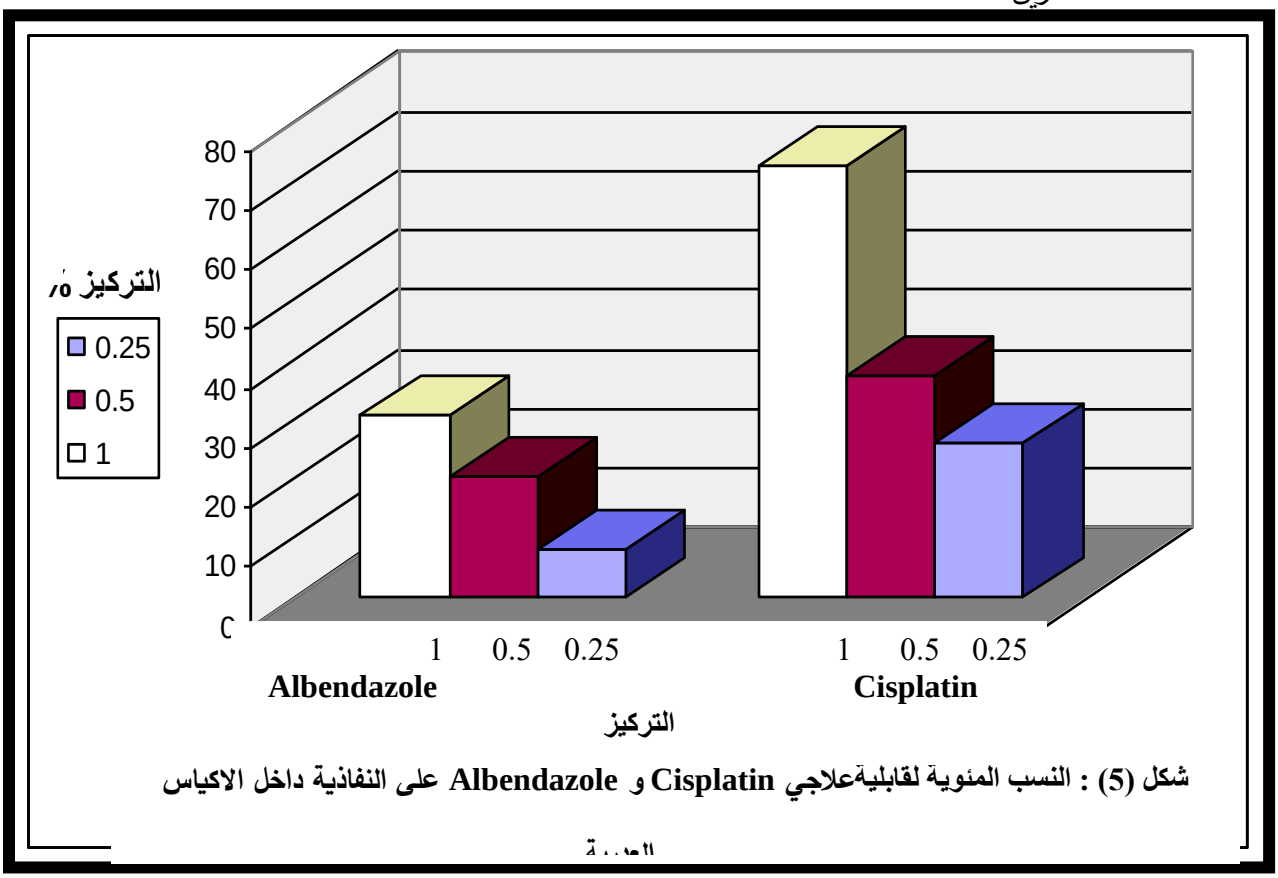
جدول (2) النسب المئوية لقابلية علاجي Cisplatin و Albendazole على النفاذية داخل الاكياس العدرية لمدة اسبوع.

عقار Albendazole	عقار cisplatine	نسبة القتل % / التركيز ملغم/مل
%7.9	%26.1	0.25
%20.4	%37.1	0.5
%30.6	%72.6	1

R.L.S.D للعقار الاول = 2.38

R.L.S.D للعقار الثاني = 2.69

R.L.S.D للعقارين = 20.71



شكل (5) : النسب المئوية لقابليةعلاجي Cisplatin و Albendazole على النفاذية داخل الاكياس العدرية

5.3 الدراسة النسجية للمضيف المتوسط (الفئران)

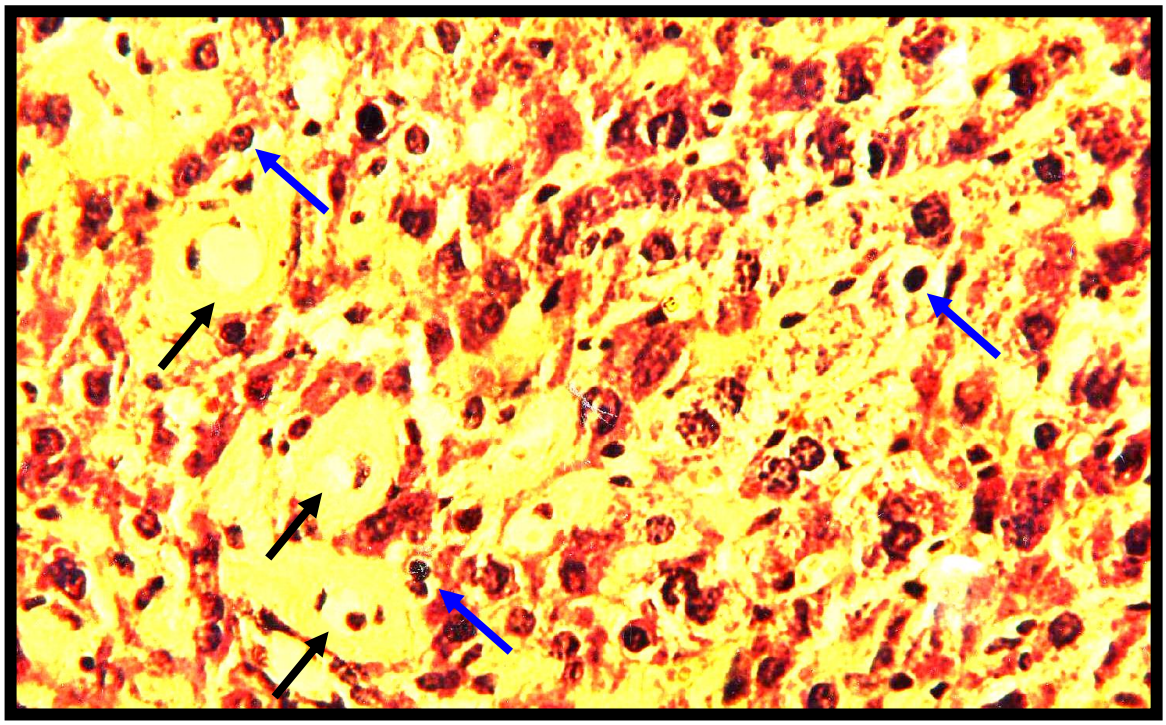
1.5.3 الاصابة الاولية Primary infection

اثبتت هذه الدراسة قابلية بيوض طفيلي *E.granulosus* على تكوين اكياس عدرية في الفئران المختبرية عند حقنها بما يقارب 150 بيضة/ فأراً.

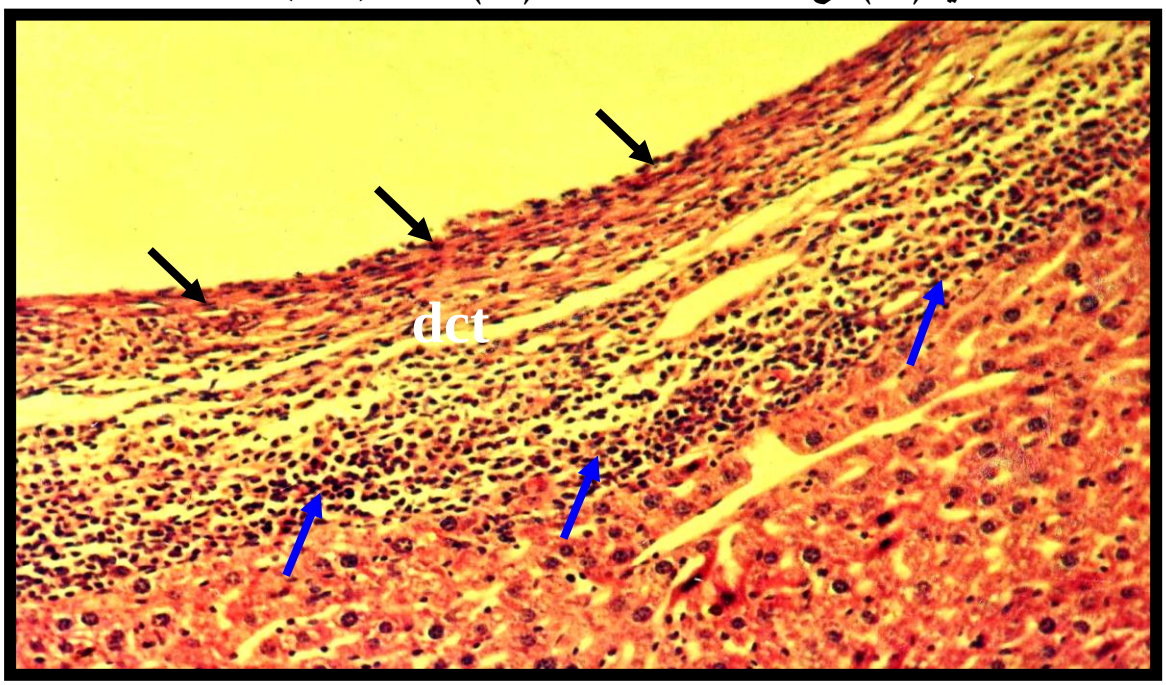
لوحظت الاكياس العدرية في الكبد بعد مرور ثلاثة أشهر من الاصابة بهيئة حويصلات تراوحت اقطارها مابين(23– 68)مايكرون ولم تظهر هذه الاكياس تمايزاً واضحاً الى الطبقتين الصفائحية والمولدة خلال هذه الفترة واقتصرت على تكوين حويصلة تحتوي على بعض الخلايا ،وكانت التغيرات النسجية واضحة في اكباد الحيوانات المصابة خلال هذه الفترة فقد لوحظ تنخر Necrosis الخلايا الكبدية (صورة 7) .

تطورت الاكياس العدرية بعد مرور ستة أشهر من الاصابة وتمثل ذلك بظهور الطبقة المولدة للكيس العدري محاطة من الخارج بطبقة من النسيج الرابط الليفي الكثيف dence connective tissue مع ارتشاح كثيف للخلايا الدفاعية (صورة 8) وفي مقاطع اخرى من الكبد انتجت الطبقة المولدة الياف دقيقة لتكوين طبقة صفائحية تقع مع ارتشاح كثيف للخلايا الدفاعية (صورة 9).

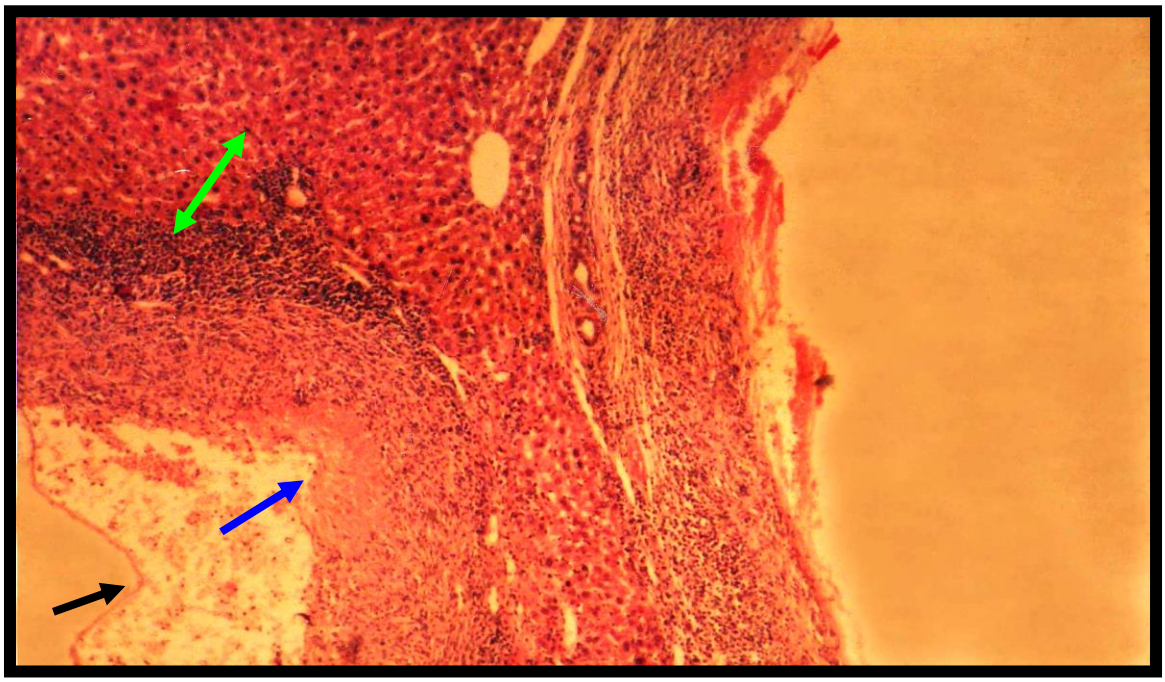
ترافق نمو وتطور الاكياس العدرية مع تغيرات مرضية نسجية واضحة على الكبد ظهرت بشكل اورام حبيبية Granuloma تشغل مساحة قريبة من الطفيلي (صورة 10) وانتشار للخلايا الدفاعية تركزت حول الاقنية الصفراوية Bile ducts(صورة11) .



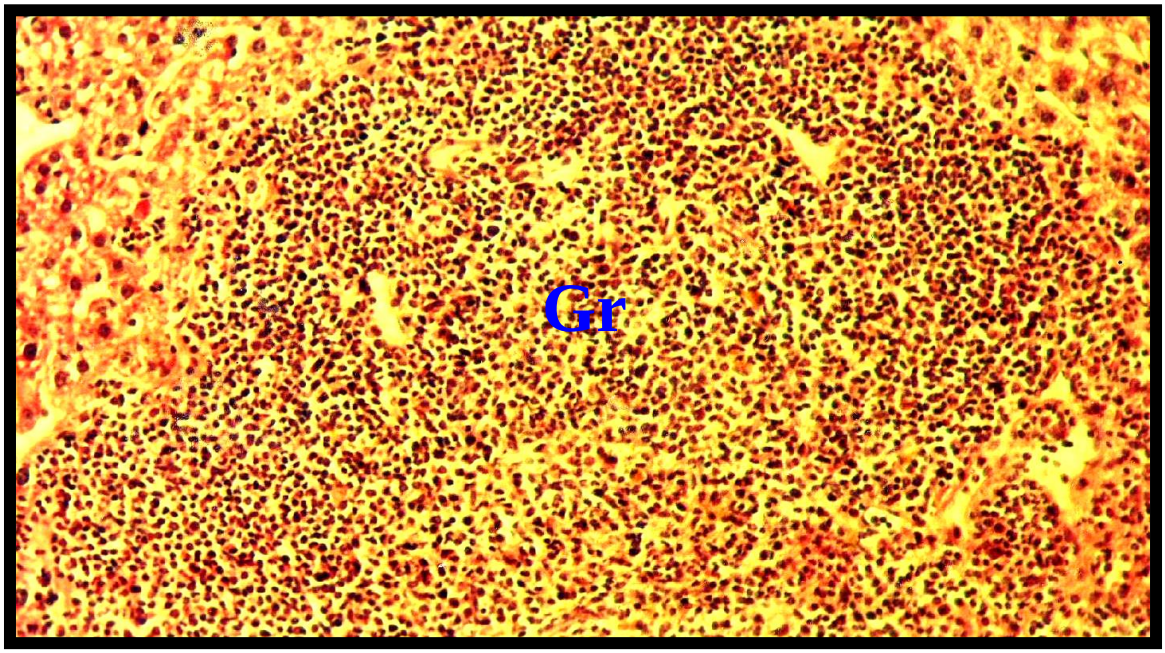
صورة (7) :مقطع في كبد فأر مصاب بعد ثلاثة أشهر من الاصابة تظهرفيه حويصلات الكيس العدري (←) مع تنخر الخلايا الكبدية (←) .صبغة(H.E). X475



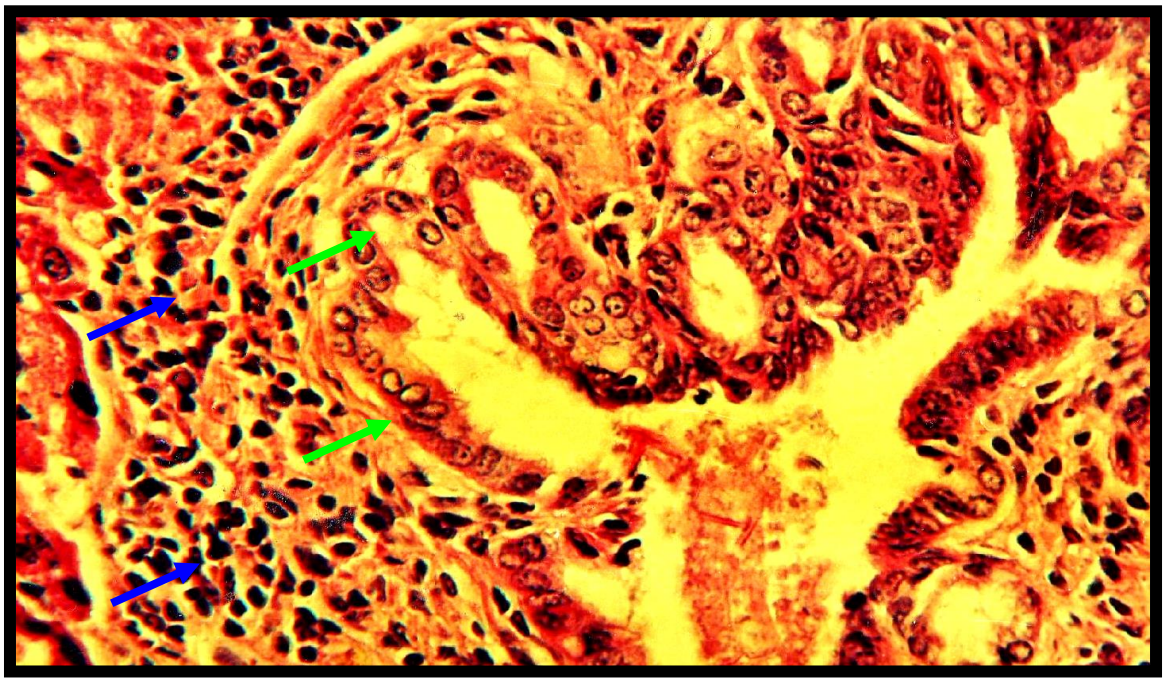
صورة (8): مقطع في كبد فأرمصاب بعد ستة أشهر من الاصابة يظهر فيه الكيس العدري الحاوي على طبقة مولدة (←) محاطة بنسيج ليفي كثيف (dct)وارتشاح كثيف للخلايا الدفاعية (←).صبغة(H.E). X 190



صورة (9): مقطع في كبد فأر مصاب بعد ستة أشهر من الاصابة يظهر فيه الكيس العدري متكون من الطبقتين المولدة(←) والصفائحية (←)مع ارتشاح للخلايا الدفاعية(↔) صبغة(H.E). X76.



صورة (10) :مقطع في كبد فأر مصاب بعد ستة أشهر من الاصابة تظهر فيه تكون اورام حبيبية (Gr). صبغة(H.E). X 190

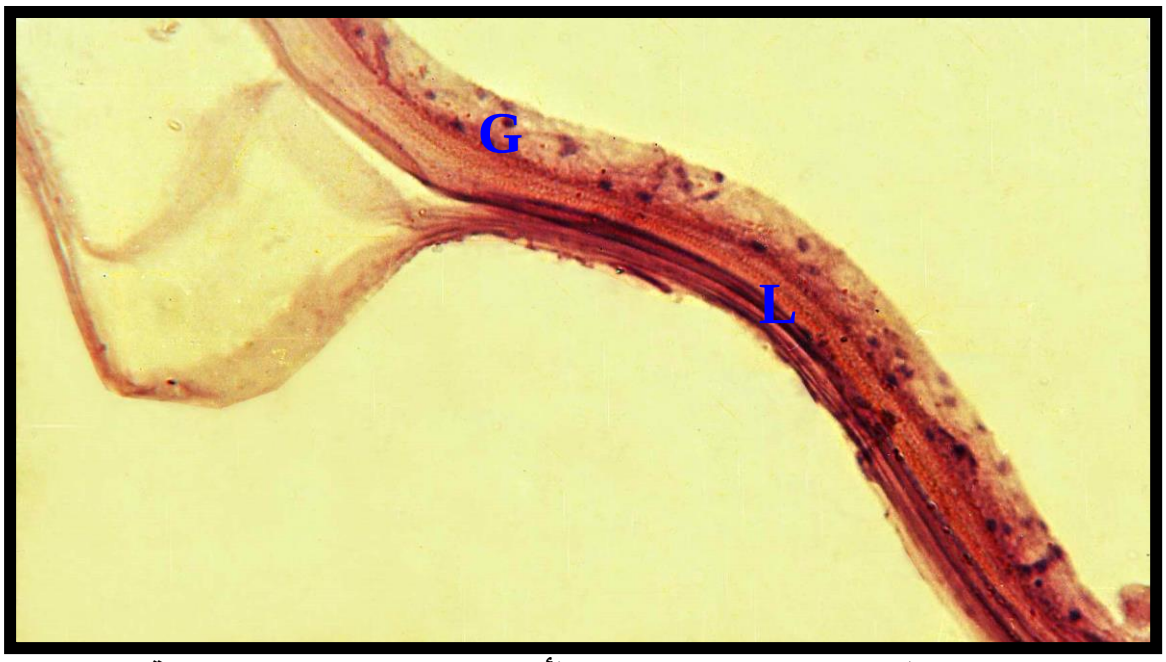


صورة (11):مقطع في كبد فأر مصاب بعد ستة أشهر من الاصابة تظهر فيه تجمع خلايا دفاعية (←)حول الاقنية الصفراوية (←) .صبغة(H.E) .X475

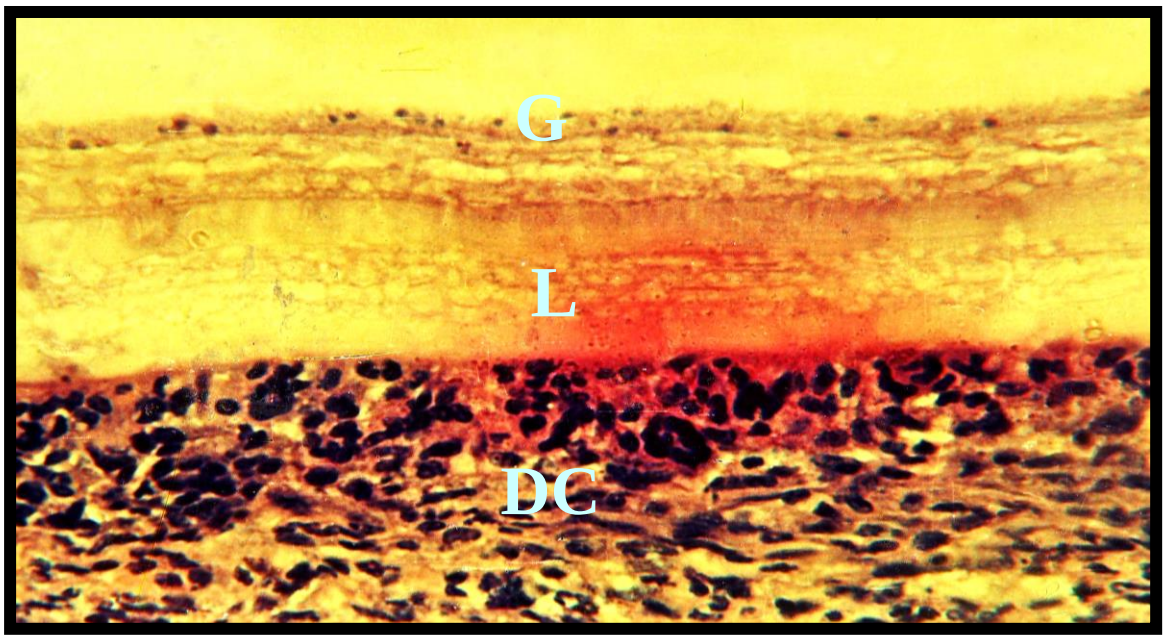
2.5.3 الأصابة الثانوية

بعد شهرين من بدء إصابة الحيوانات بالرؤيسات الاولية لطفيلي *E.granulosus* أظهرت المقاطع النسجية تطور تلك الرؤيسات الى أكياس عدرية فظهرت الطبقة المولدة التي انتجت طبقة صفائحية رقيقة تحيط بها من الخارج (صورة 12).

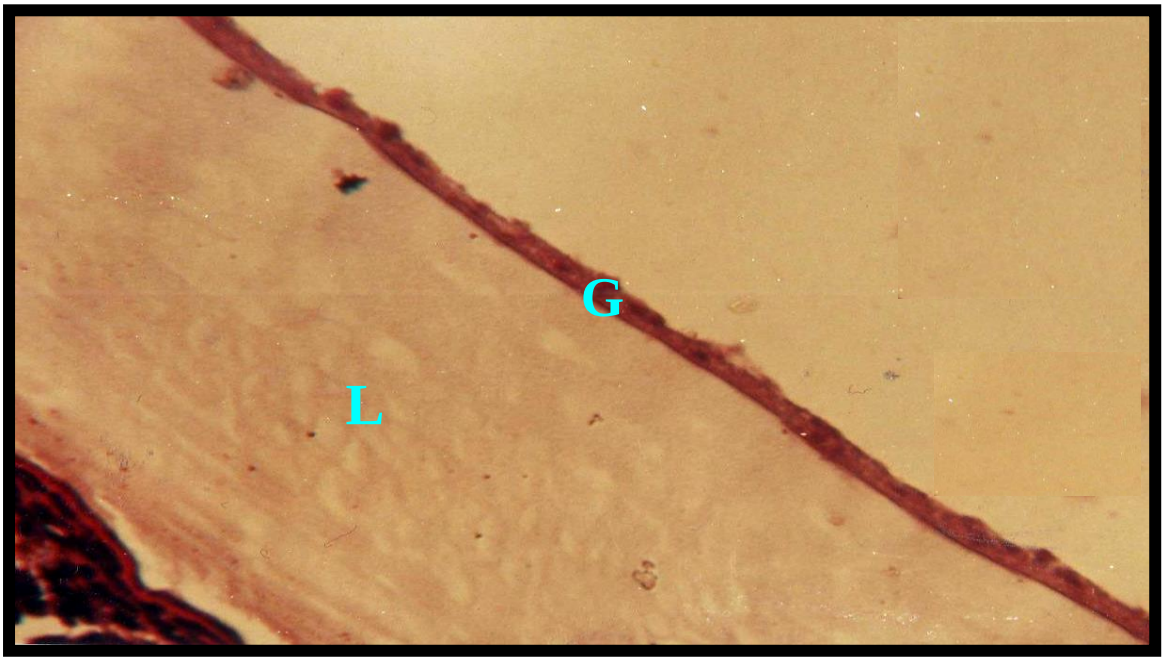
ازداد سمك الطبقة الصفائحية للاكياس العدرية بعد (3 و 4 و 5) أشهر من الاصابة وخلال ذلك اظهر المضيف استجابة دفاعية ظهرت على شكل طبقة سميكة من خلايا دفاعية تحيط بالطفيلي (صورة 13 و 14و 15) .



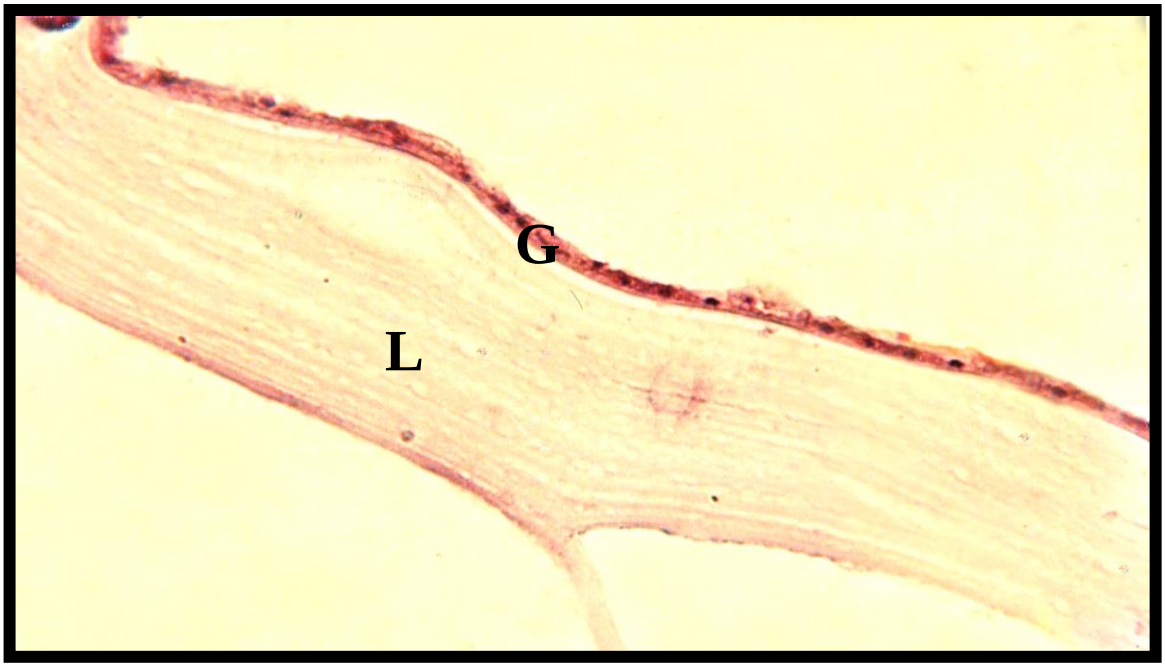
صورة (12): مقطع في كيس عدري معزول من فأر مصاب غير معامل كمجموعة سيطرة بعد شهرين من الأصابة تظهر فيه الطبقة المولدة (G) والطبقة الصفائحية (L) صبغة(H.E).X760.



صورة (13): مقطع في كيس عدري من كبد فأر مصاب غير معامل كمجموعة سيطرة بعد ثلاثة أشهر من الأصابة تظهر فيه الطبقة المولدة (G) والطبقة الصفائحية (L)والاستجابة الدفاعية للمضيف (DC). صبغة(H.E). X475.



صورة (14): مقطع في كيس عدري معزول من فأر مصاب غير معامل كمجموعة سيطرة بعد أربعة أشهر من الاصابة تظهر فيه الطبقة المولدة(G) والصفائحية (L).صبغة(H.E) .X475



صورة (15): مقطع في كيس عدري من كبد فأر مصاب غير معامل كمجموعة سيطرة بعد 5 أشهر من الاصابة تظهر فيه الطبقة المولدة (G) والطبقة الصفائحية(L) .صبغة (H.E) .X475

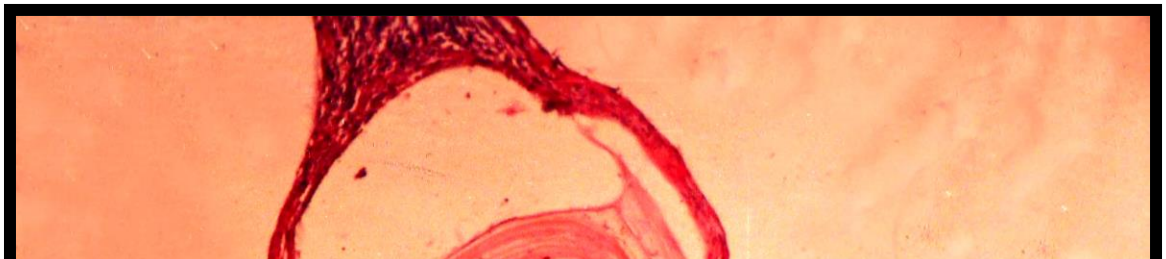
6.3 تاثير علاجي Cisplatin و Albendazole داخل الجسم الحي على :

1.6.3 الاكياس العدرية

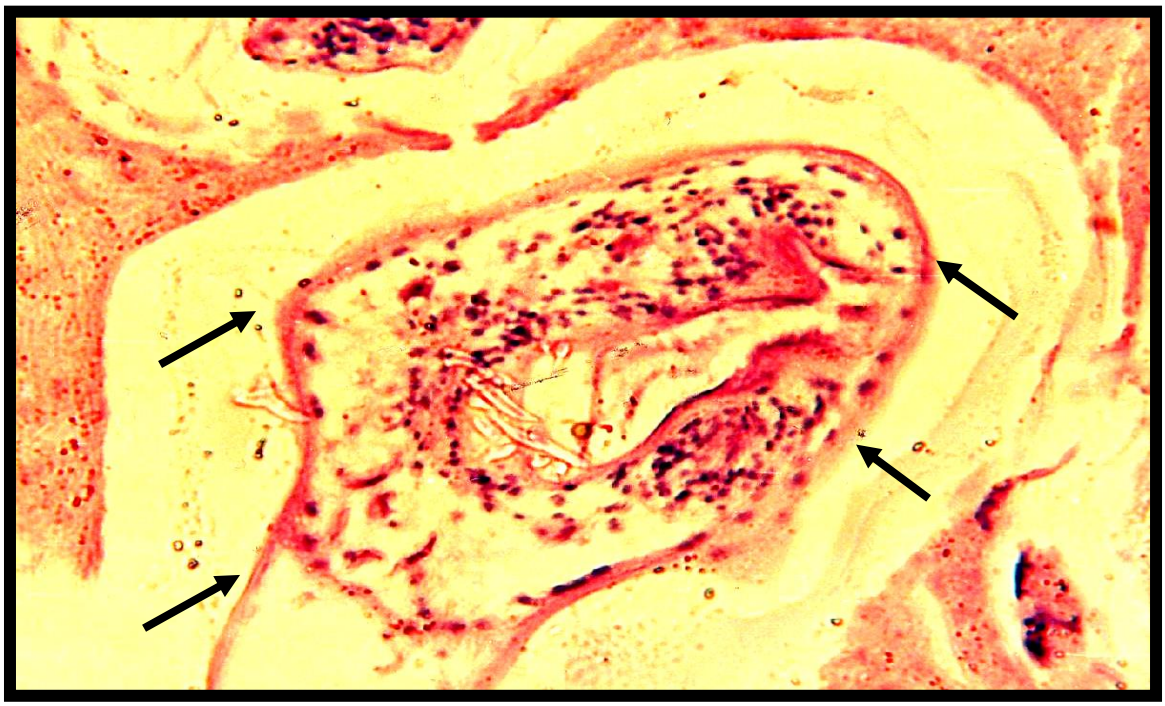
أظهرت الدراسة الحالية تأثير واضح لعقار Cisplatin على تطور الأكياس العدرية في حالة الاصابة الثانوية للحيوانات ،مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة وغير المعاملة (صورة 12)، اذ لوحظ انكماش الاكياس العدرية بعد شهر من معاملة الحيوانات بهذا العقار وذلك بانكماش كل من الطبقتين (المولدة والصفائحية) (صورة 16)، بينما تاخر تطور الكيس العدري في الحيوانات المصابة للفترة نفسها بعد شهر من المعاملة بـ Albendazole اذ ظهرت الرؤيسات الأولية محتفظة بالكلاليب (صورة 17).

أستمرت التغيرات على الاكياس العدرية بعد شهرين من معاملة الحيوانات المصابة بعقار Cisplatin وتتركز على خلايا الطبقة المولدة فتبدو متجمعة في احدى جهات الكيس (صورة 18و 19)،ويبقى الكيس العدري على حاله دون تطور في الحيوانات المصابة والمعاملة بـ Albendazole (صورة 20) ، مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة وغير المعاملة (صورة 13).

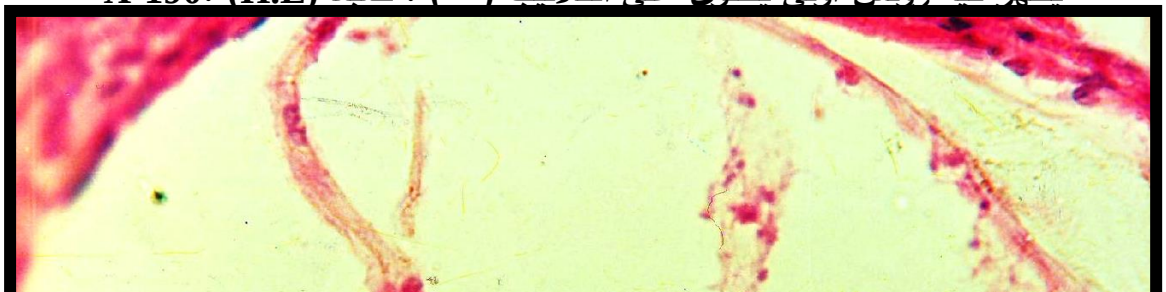
أزدادت شدة التغيرات على الاكياس العدرية بعد ثلاثة وأربعة أشهر من معاملة الحيوانات المصابة بعقار Cisplatin فتبدو بعض الاكياس متحللة ويظهر بقايا منها في المقطع النسيجي (صورة 21 و 22) ،بينما يظهر البعض الاخر مكون فقط من طبقة صفائحية منكمشة اذ اختفت الطبقة المولدة من الكيس(صورة 23)،واظهرت المقاطع النسجية تكون الاكياس العدرية في الحيوانات المصابة والمعاملة بعقار Albendazole لنفس الفترة لكن تميزت الطبقة المولدة بقلة خلاياها (صورة 24)،مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة وغير المعاملة (صورة 14 و15).



صورة (16): مقطع في كيس عدري معزول من فأر معامل بـ Cisplatin بعد شهر من الأصابة يظهر فيه انكماش الطبقة المولدة (G) والطبقة الصفائحية (L).صبغة(H.E) .X76

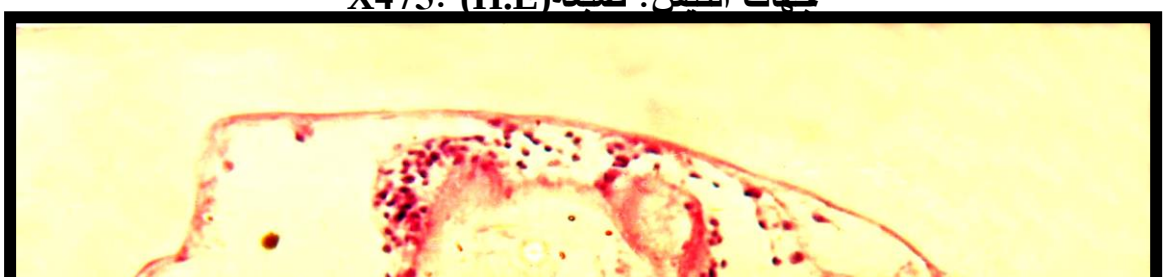


صورة (17): مقطع في كبد معزول من فأر معامل بـ Albendazole بعد شهر من الأصابة يظهر فيه رؤيس اولي يحتوي على الكلاليب (←) . صبغة(H.E) .X 190

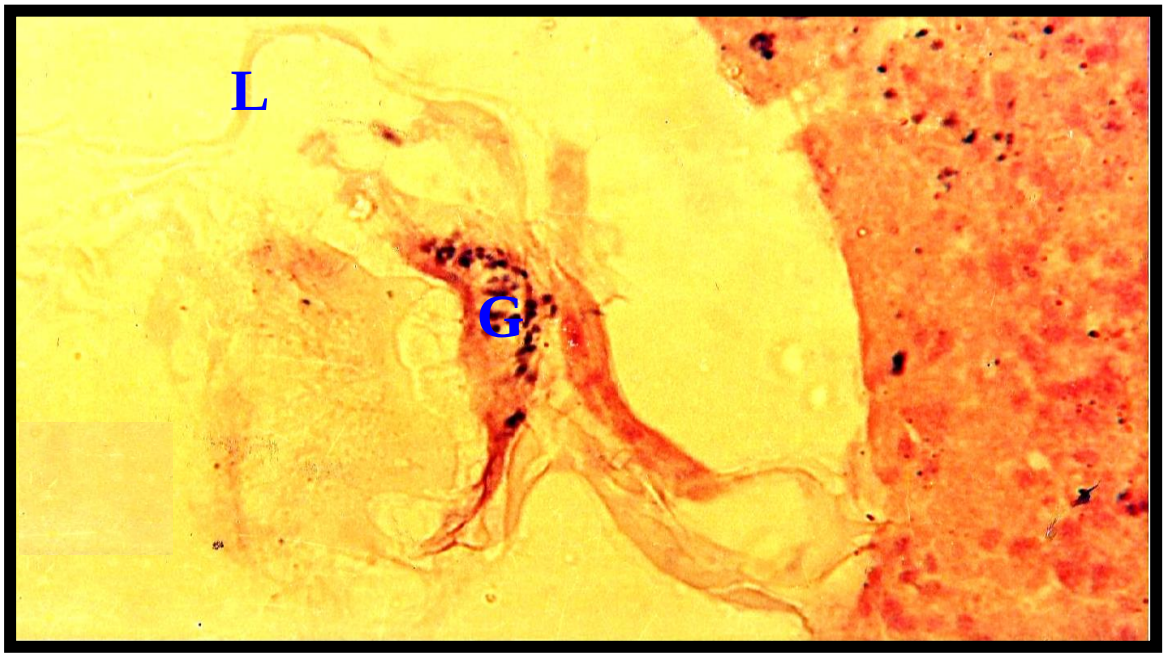


صورة (18) :مقطع في كيس عدري معزول من فأر معامل بـCisplatin بعد شهرين من الأصابة يبين بدء التغيرات على خلايا الطبقة المولدة (G) وانكماش الطبقة الصفائحية(L).صبغة(H.E) .X475

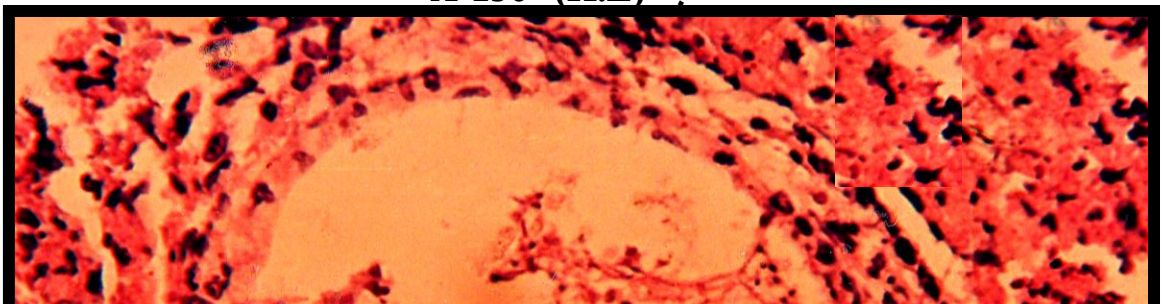
صورة (19) :مقطع في كيس عدري معزول من فأر معامل بـCisplatin بعد شهرين من الأصابة يظهر فيه تجمع خلايا الطبقة المولدة (G) في احدى جهات الكيس. صبغة(H.E) .X475



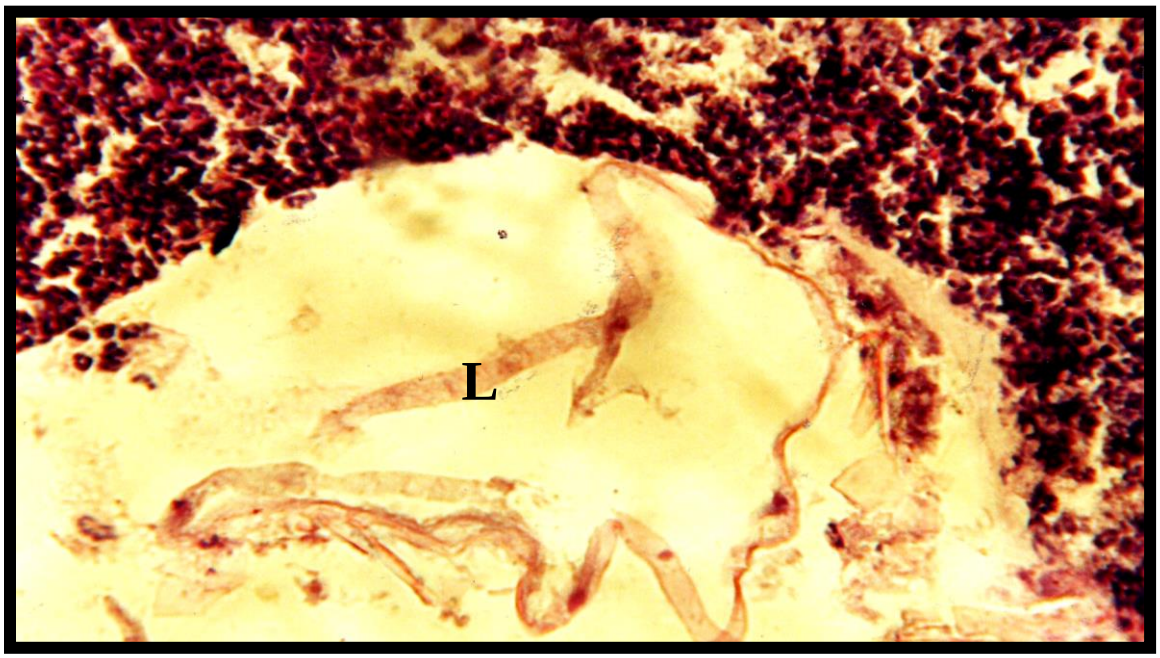
صورة (20) :مقطع في كبد معزول من فأرمعامل بـAlbendazole بعد شهرين من الأصابة يظهر فيه الرؤيس الاولي في مرحلة التحول (←) .صبغة(H.E) .X 190



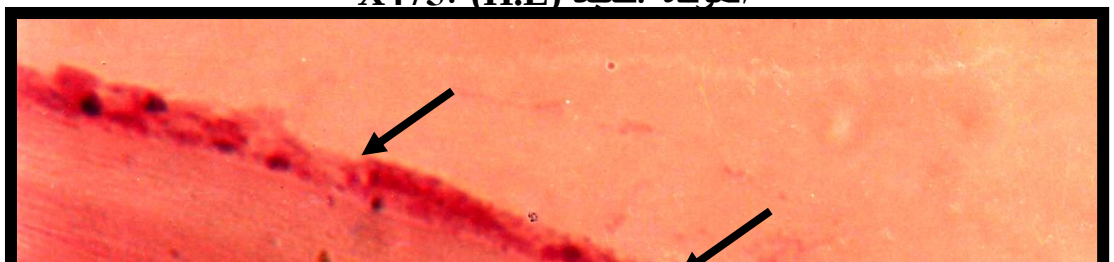
صورة (21): مقطع في كيس عدري معزول من فأر معامل بـCisplatin بعد ثلاثة أشهر من الأصابة يظهر فيه التحلل الكامل للطبقة المولدة (G) وانكماش الطبقة الصفائحية(L) صبغة(H.E) .X 190.



صورة (22): مقطع في كيس عدري معزول من فأرمعامل بـ Cisplatin بعد أربعة أشهر من الأصابة يظهر فيه تحلل تام في الطبقة المولدة (G) واختفاء الطبقة الصفائحية.صبغة(H.E) X475.



صورة (23): مقطع في كيس عدري معزول من فأرمعامل بـ Cisplatin بعد أربعة أشهر من الأصابة يظهر فيه انكماش الطبقة الصفائحية (L) واختفاء الطبقة المولدة .صبغة(H.E) X475.



صورة (24) :مقطع في كيس عدري معزول من فأرمعامل بـAlbendazole بعد أربعة أشهر من الأصابة يظهر فيه قلة خلايا الطبقة المولدة (←) .
صبغة(H.E) .190 X

2.6.3:أعداد الاكياس العدرية

اظهرت الدراسة الحالية ان لعقار Cisplatin بعد شهرين من بدء الاصابة تأثير واضح على أعداد الاكياس العدرية الناتجة عن الاصابة الثانوية فقد كانت معدلات أعداده (10.4) كيس /فأر وهي اقل من مجموعة Albendazole ومجموعة السيطرة البالغة (16.8) و(17.6) على التوالي.

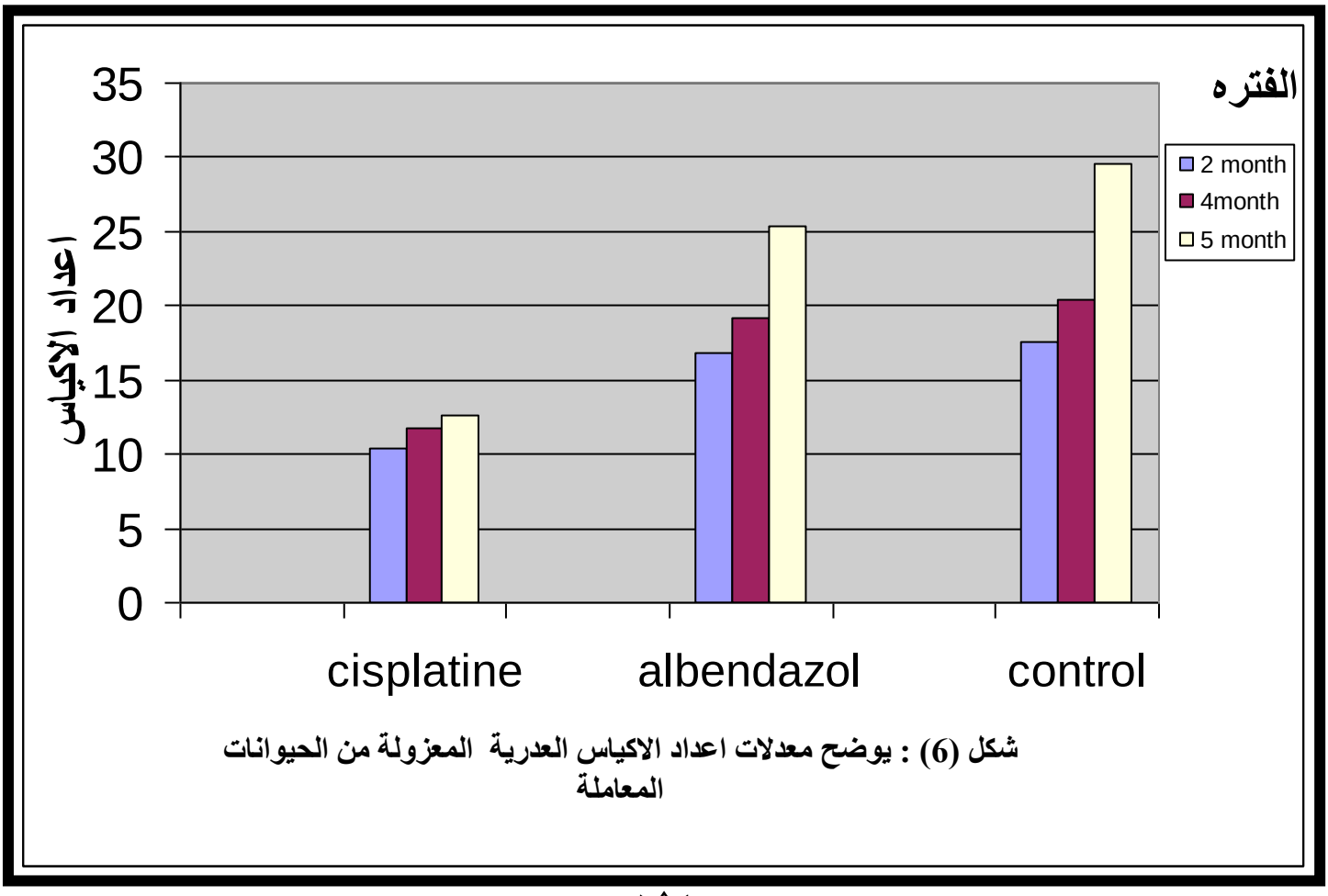
ولم يختلف الحال مع مجموعتي أربعة وخمسة أشهر اذ كانت معدلات اعداد الاكياس المعزولة من الفئران المصابة والمعاملة بـ Cisplatin اقل من مجموعة السيطرة ومجموعة Albendazole(صورة 25 و26 و 27) جدول (3).

جدول (3) يوضح معدلات أعداد الاكياس العدرية المعزولة من الحيوانات المعاملة بـ Cisplatin و Albendazole ومجموعة السيطرة للفترات (5,4,2) أشهر .

الفترة بالأشهر	عدد الاكياس		
	Cisplatin	Albendazole	control
2	10.4±1.96	16.8±1.96	17.6±1.96
4	11.8±1.96	20.4±1.96	20.4±1.96
5	12.6±1.96	29.6±1.96	29.6±1.96

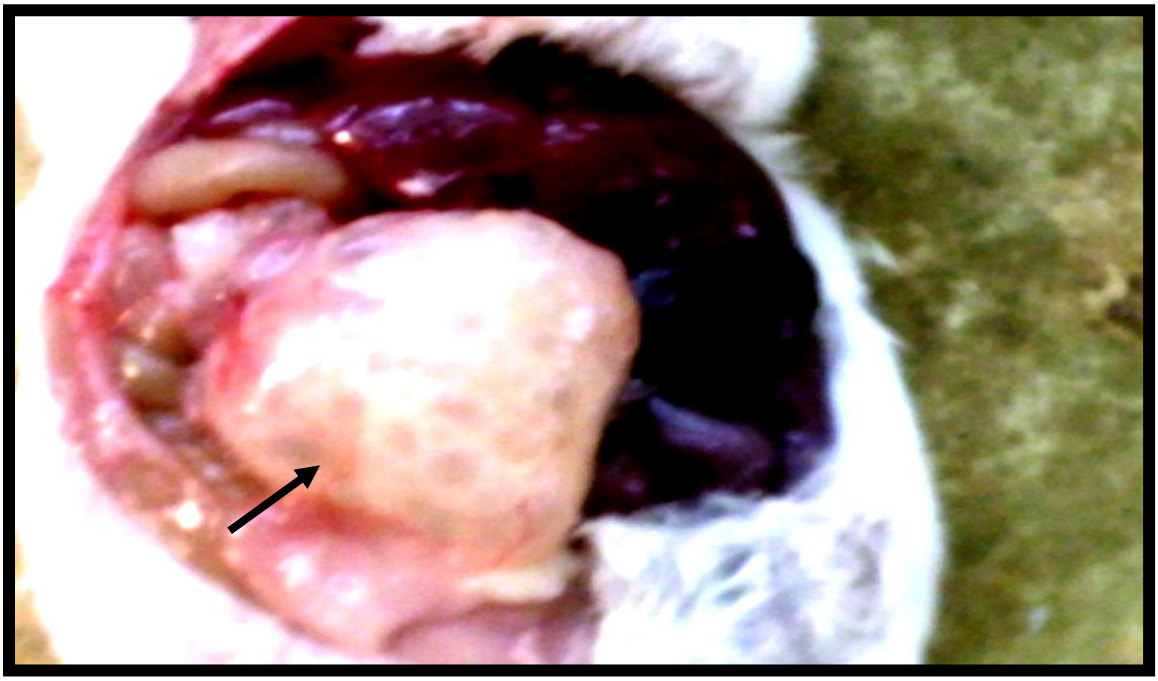
RLSD للمعاملات= 3.68

RLSD للوقت= 4.68

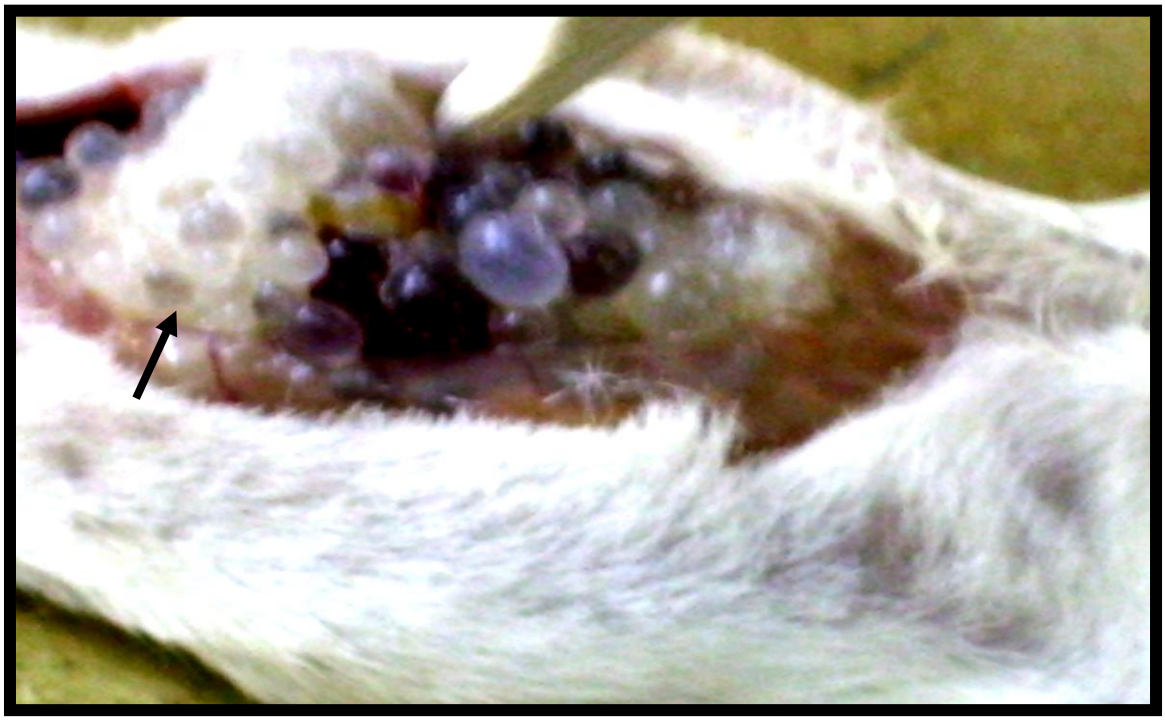


شكل (6) : يوضح معدلات اعداد الاكياس العدرية المعزولة من الحيوانات المعاملة

صورة (25) : فأر مصاب بالاكياس العدرية معامل بـ Cisplatin بعد خمسة اشهر.



صورة (26) : فأر مصاب بالاكياس العدرية معامل بـAlbendazole بعد خمسة اشهر.



صورة (27) : فأر مصاب بالاكياس العدرية غير معامل بعد خمسة اشهر

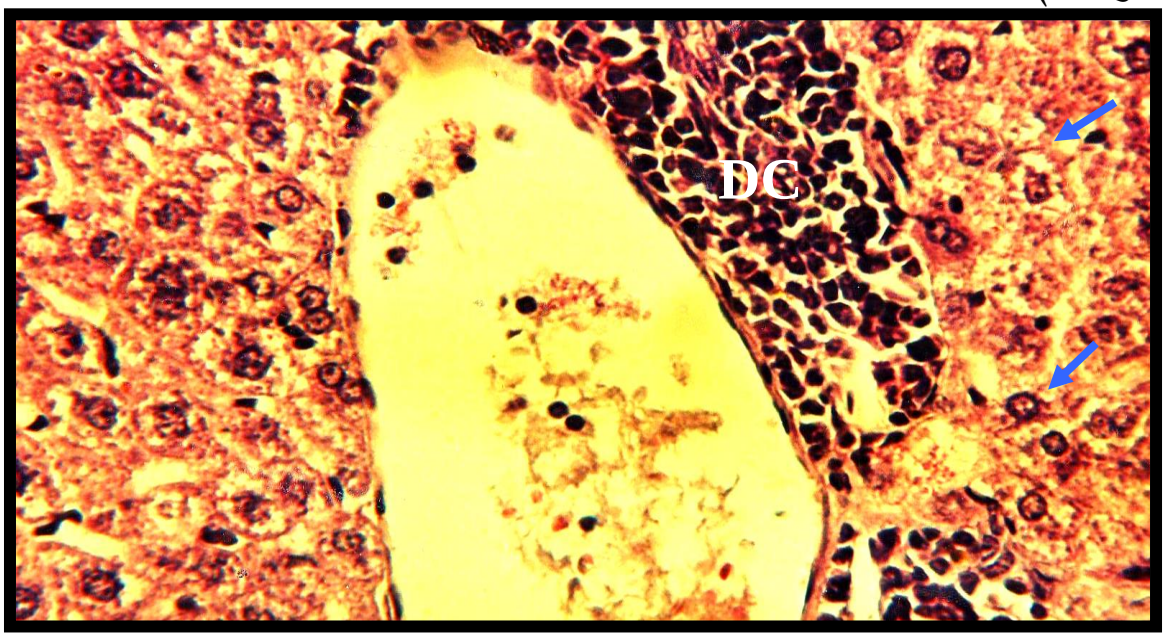
3.6.3 الكبد Liver

بينت نتائج الفحص النسيجي لاكباد الحيوانات المصابة بالاكياس العدرية وغير المعاملة خلال فترة التجربة تغيرات مرضية نسجية واضحة ظهرت على شكل استجابة دفاعية اذ تجمعت الخلايا الدفاعية حول الوعاء الدموي كما ظهرت الخلايا الكبدية متنخرة (صورة 28 و29).

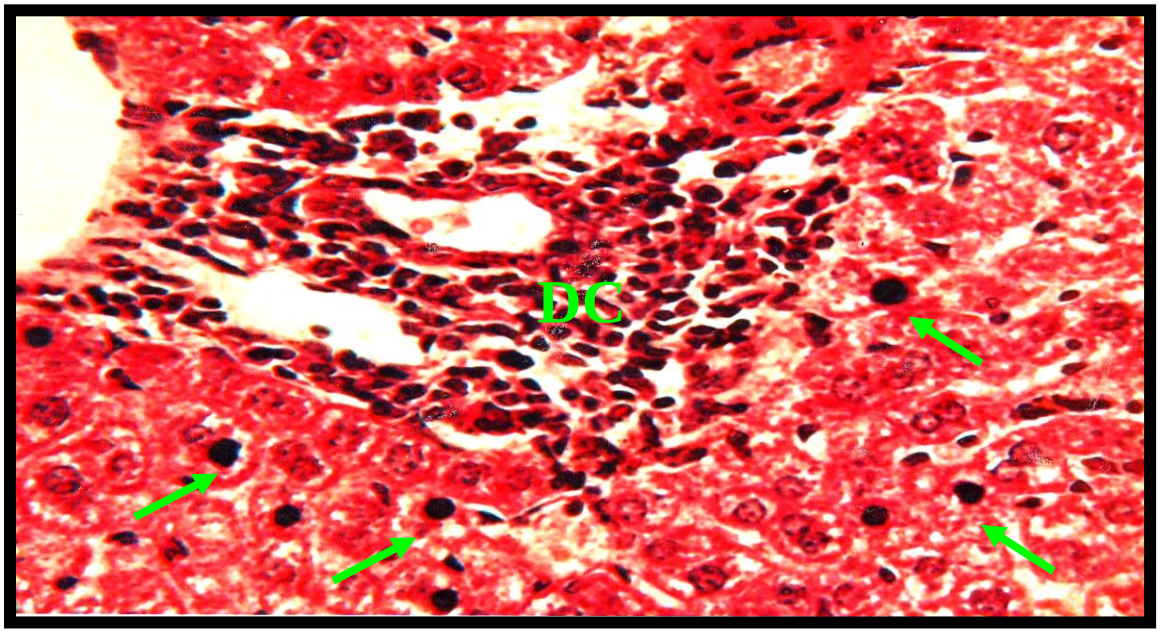
وأظهرت نتائج الفحص المجهري لاكباد الحيوانات المصابة والمعاملة بـCisplatin خلال فترة المعالجة (من شهر الى أربعة أشهر) وجود تغيرات ضئيلة على الاكباد تمثلت باحتقان Congestive شديد للاوعية الدموية وتغلظ انوية بعض الخلايا الكبدية (صورة30 و 31).

بينما تعرضت اكباد الحيوانات المصابة والمعاملة بـ Albendazole خلال نفس الفترة الى تغيرات مرضية نسجية كبيرة ظهرت في الشهر الاول على شكل أحتقان للاوعية الدموية مع ارتشاح للخلايا الدفاعية قرب هذه الاوعية وأزدادت شدة التغيرات في الشهر الرابع اذ لوحظت

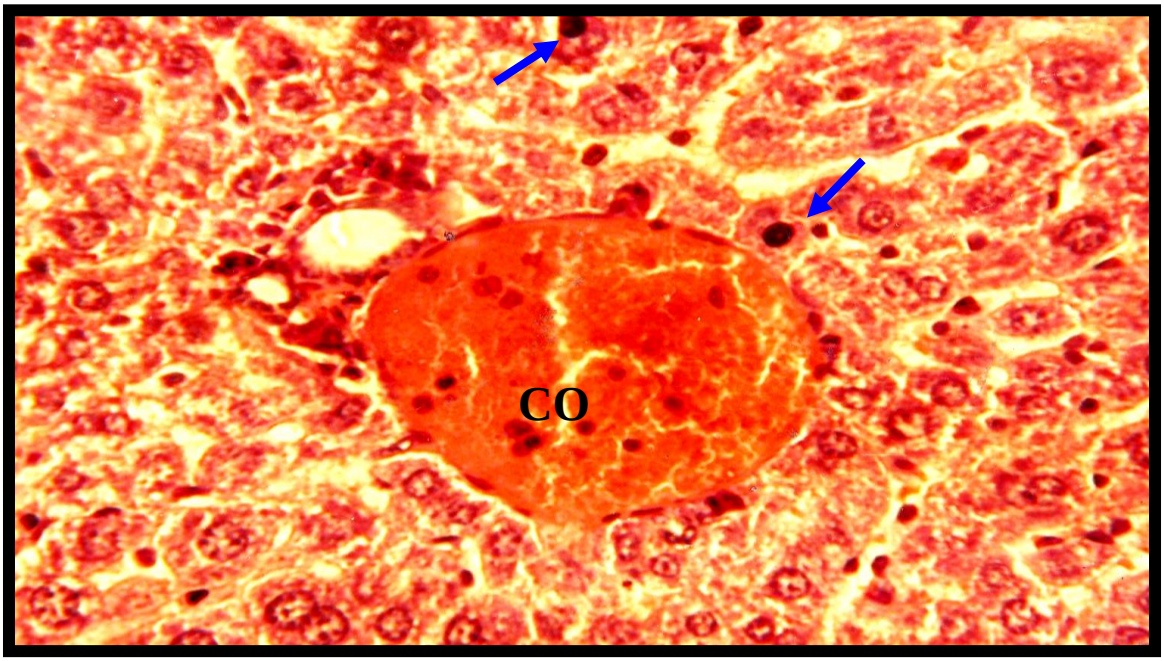
تجمعات كبيرة من الخلايا الدفاعية قرب الاوعية مع تنخر الخلايا القريبة من الوعاء الدموي (صورة 32 و 33) .



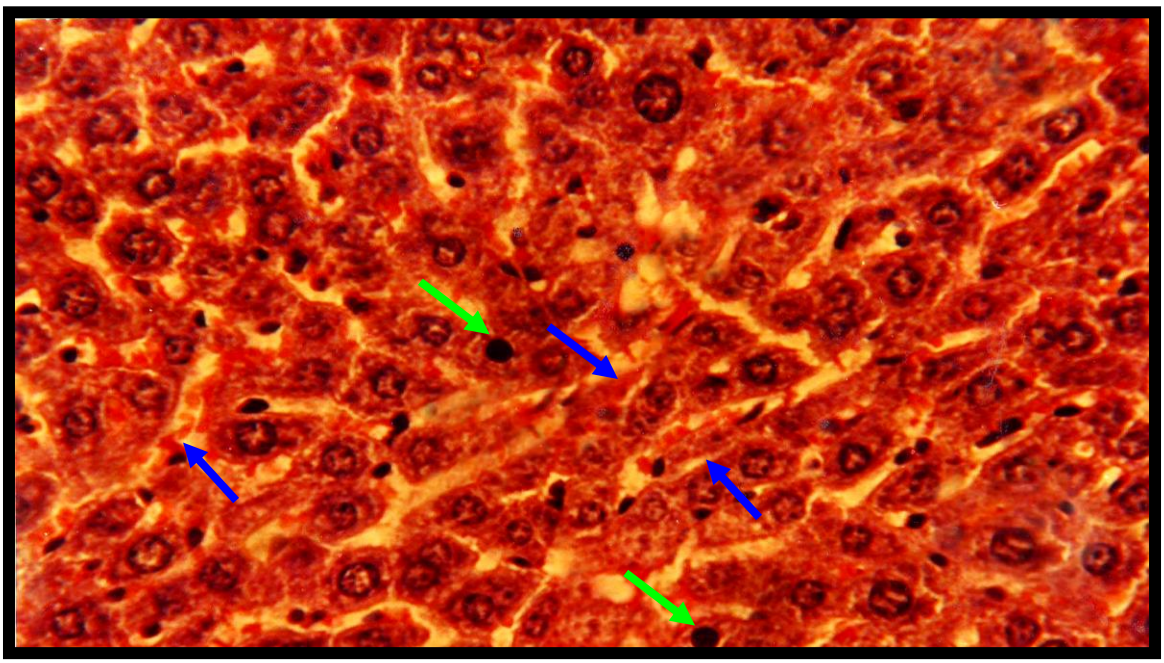
صورة (28): مقطع في كبد فأر مصاب غير معامل بعد شهر من الأصابة يظهر فيه تجمع كثيف للخلايا الدفاعية (DC) حول الاوعية الدموية كما بين تنخر الخلايا الكبدية (←).صبغة(H.E) .475



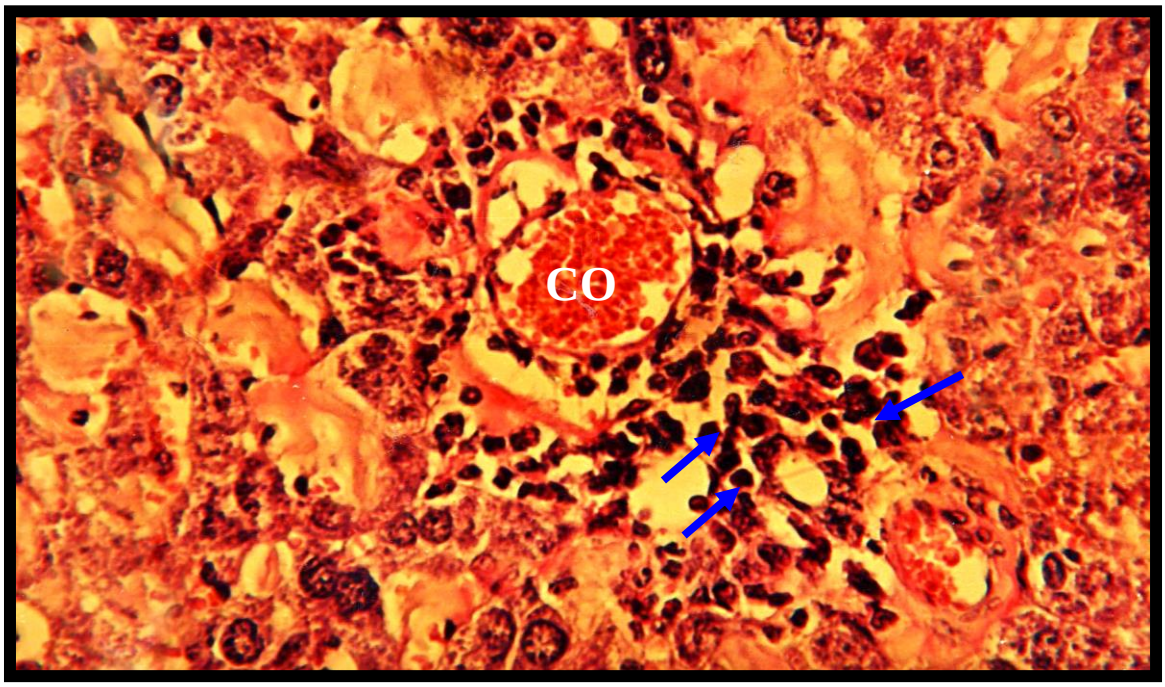
صورة (29): مقطع في كبد فأر مصاب غير معامل بعد أربعة أشهر من الأصابة يظهر فيه تجمع للخلايا الدفاعية (DC) كما بين تنخر الخلايا الكبدية (←).صبغة(H.E) .X475



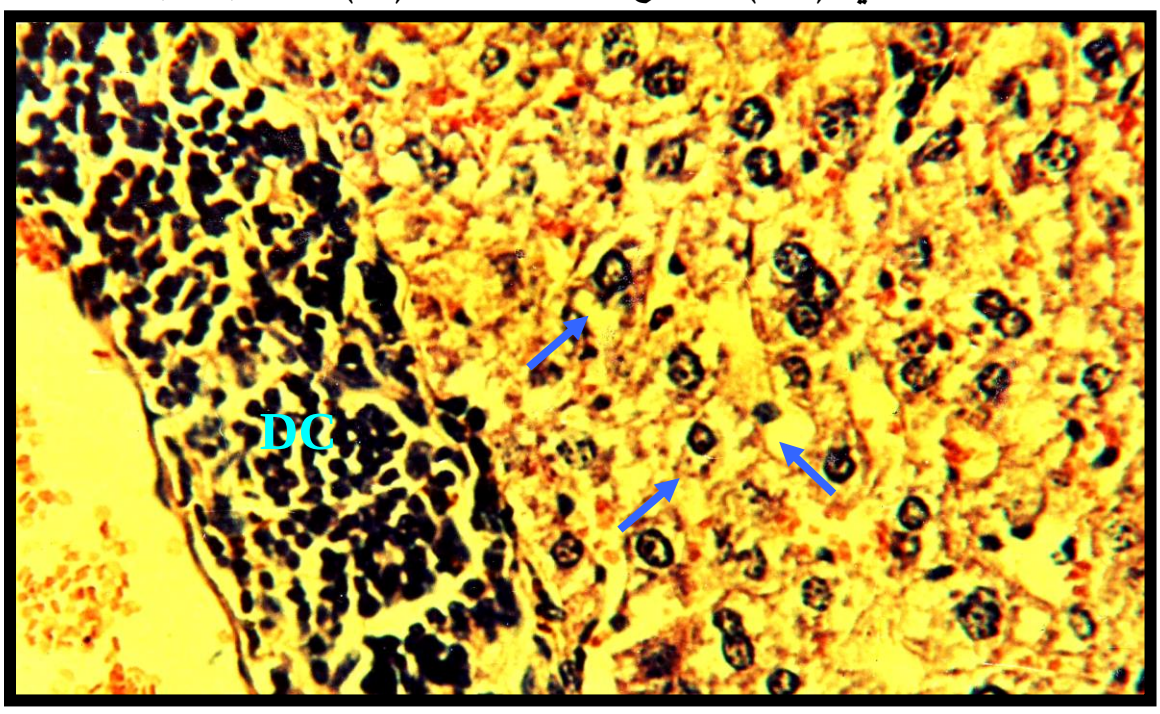
صورة (30): مقطع في كبد فأر معامل بـCisplatin بعد شهر من الأصابة تظهر فيه احتقان الوعاء الدموي (CO) مع تغلظ انوية بعض الخلايا (←).صبغة (H.E) .X475



صورة (31): مقطع في كبد فأر معامل بـCisplatin بعد أربعة أشهر من الأصابة تظهر فيه احتقان الجيبانيات الكبدية (←) مع تغلظ انوية بعض الخلايا (←). صبغة(H.E) .X475



صورة (32): مقطع في كبد فأر معامل بـAlbendazole بعد شهر من الأصابة يظهر فيه احتقان الأوعية الدموية (CO) وارتشاح الخلايا الدفاعية (←) .صبغة(H.E) .X475



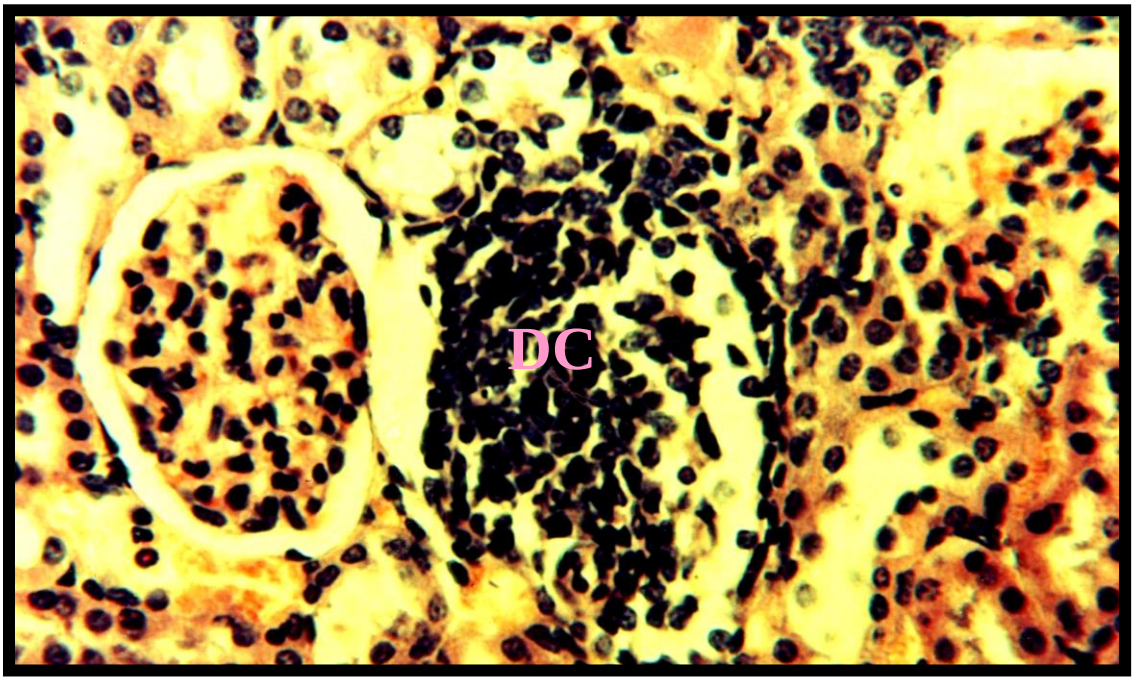
صورة (33): مقطع في كبد فأر معامل بـAlbendazole بعد أربعة أشهر من بدء الاصابة يظهر فيه تجمع كبير للخلايا الدفاعية (DC) قرب الوعاء الدموي وتنخر الخلايا الكبدية (←).صبغة(H.E) .X475

4.6.3 :الكلية Kidney

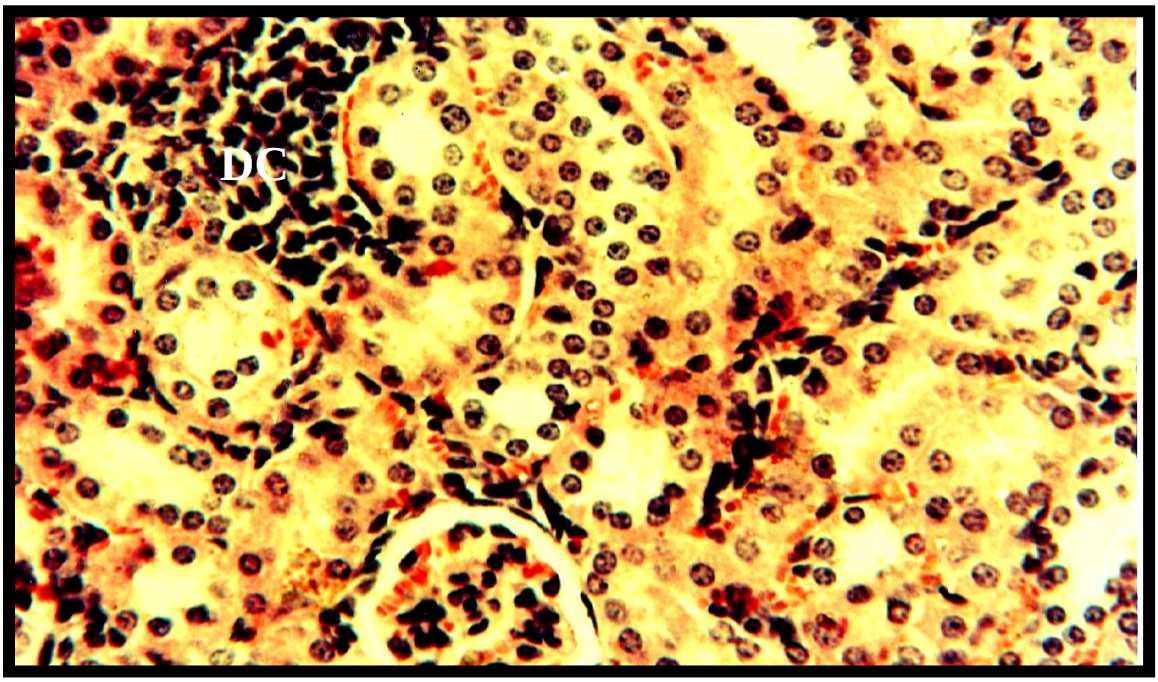
ظهرت التغيرات المرضية على كلى الحيوانات المصابة و غير المعاملة على شكل تجمع للخلايا الدفاعية تشغل مساحة بين النبيبات الكلوية و قرب الكبيبات مكونة بقع التهابية كما ظهرت حالة نزف دموي (صورة 34 و35 و36)

وبينت نتائج الفحص المجهري لكلى الحيوانات المصابة بالأكياس العدرية والمعاملة بالـCisplatin خلال فترة المعالجة (من شهر الى اربعة اشهر) وجود تغيرات مرضية نسجية تمثلت بتحلل النبيبات الكلوية نتيجة تنخر خلاياها كما لوحظ تحلل عدد قليل من الكبيبات الكلوية Glomerulus (صورة 37 و 38).

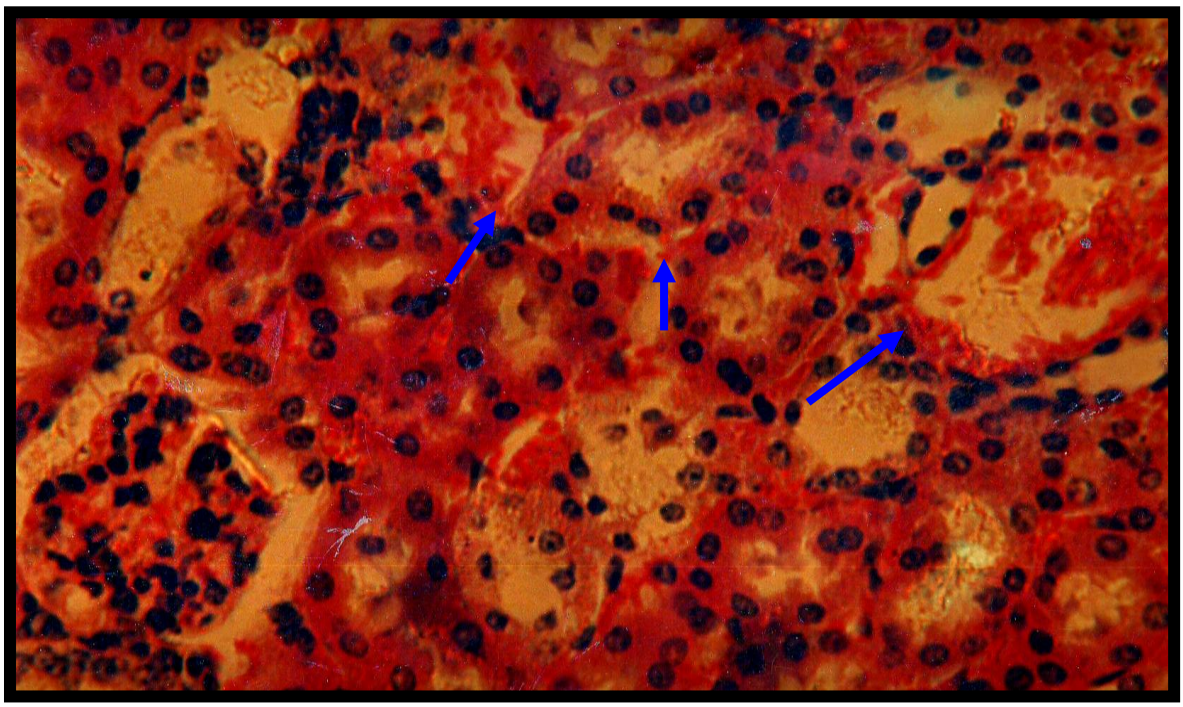
لوحظ زيادة شدة التغيرات المرضية عند استخدام عقار Albendazole لنفس فترة الاصابة و المعاملة اذ يزداد تحلل النبيبات الكلوية اضافة لحدوث استجابة التهابيةInflammation ظهرت على شكل تجمع للخلايا الدفاعية قرب الاوعية الدموية وحدوث نزف دموي Hemorrhage (صورة 39 و40 و41)



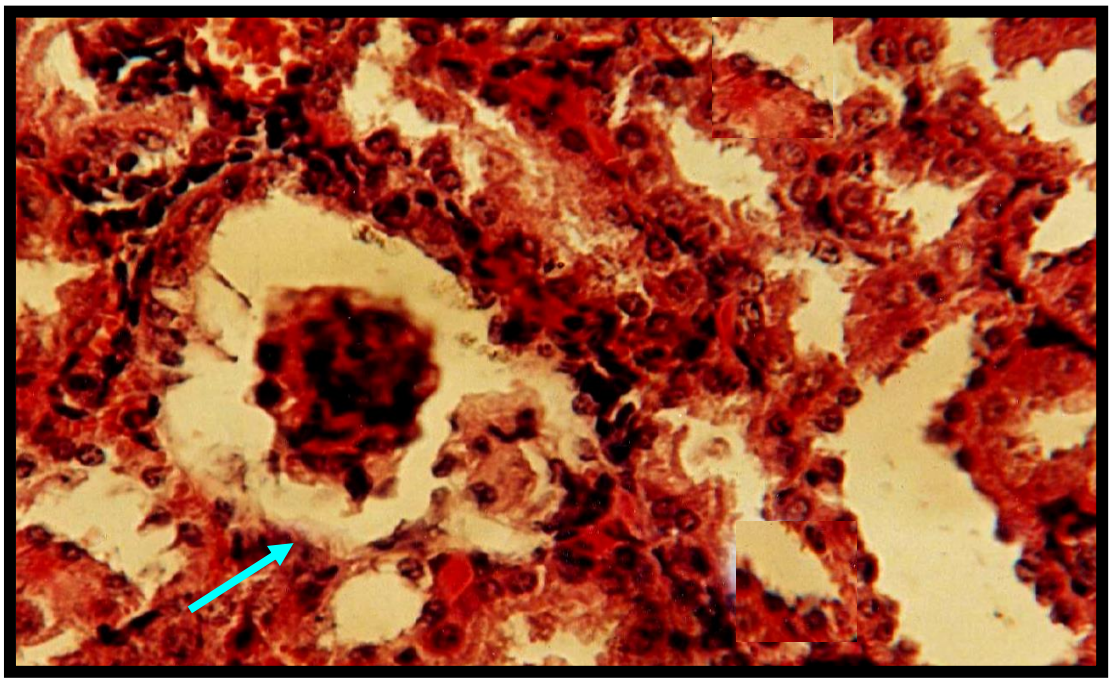
صورة (34) : مقطع في كلية فأر مصاب غير معامل بعد شهر من الأصابة يبين تجمع خلايا الدفاعية (DC) قرب الكبيبة.صبغة(H.E) .X475



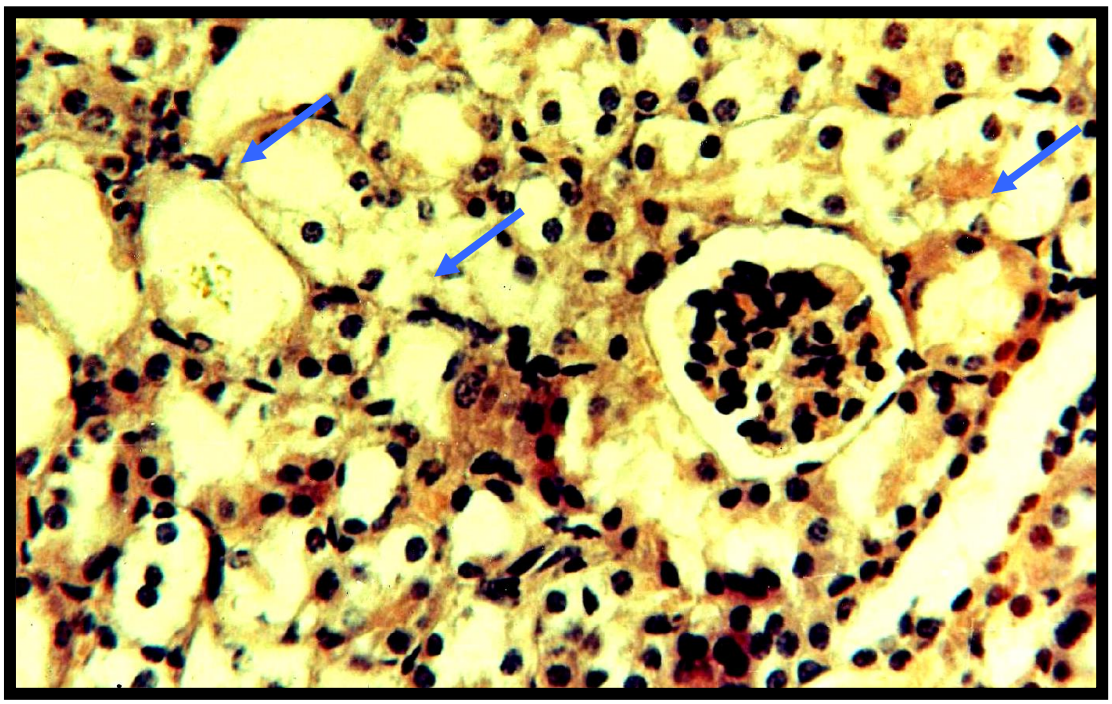
صورة (35) : مقطع في كلية فأر مصاب غير معامل بعد أربعة شهر من الأصابة يبين تجمع خلايا الدفاعية (DC) بين النبيبات الكلوية .
صبغة(H.E) .X475



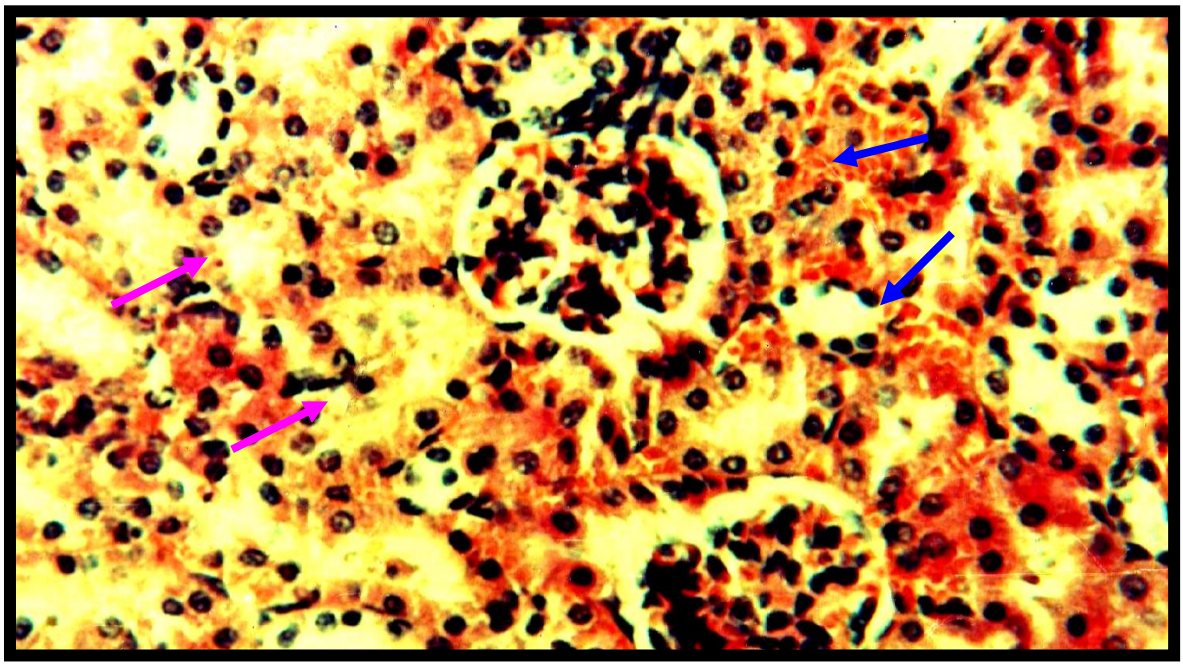
صورة (36) : مقطع في كلية فأر مصاب غير معامل بعد أربعة شهر من الأصابة يوضح حالة النزف الدموي (←).صبغة(H.E) .X475



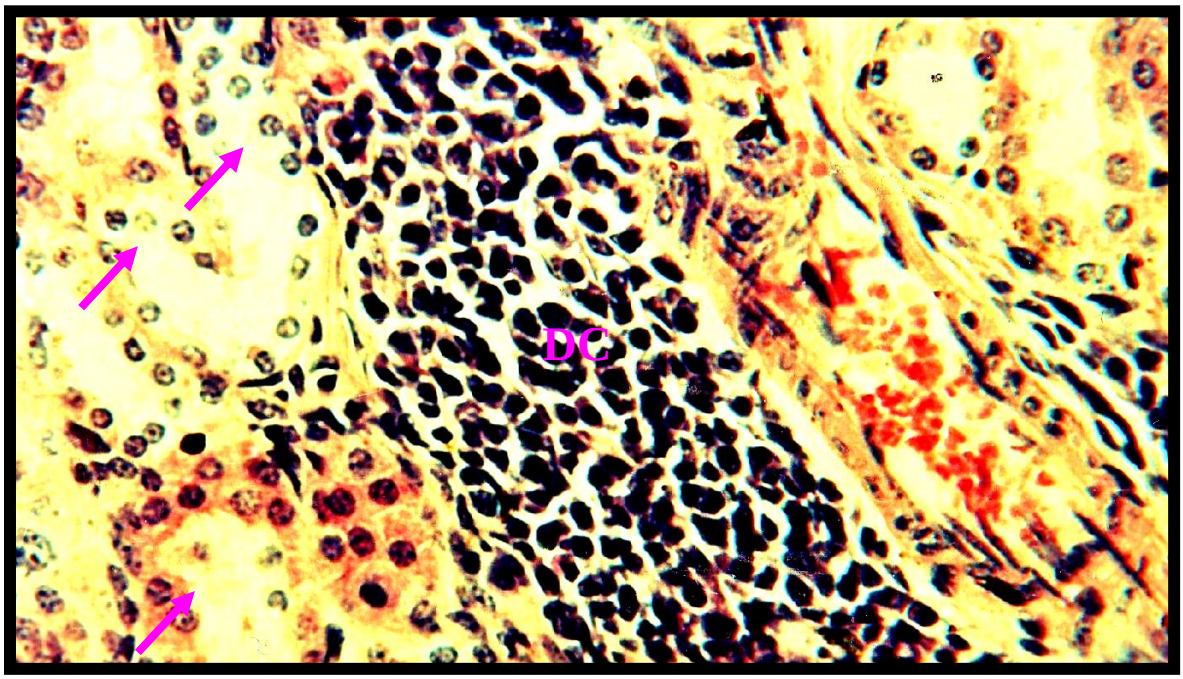
صورة (37): مقطع في كلية فأر معامل بـ Cisplatinبعد شهر من الأصابة يوضح تحلل الكبيبة(←).صبغة(H.E) .X475



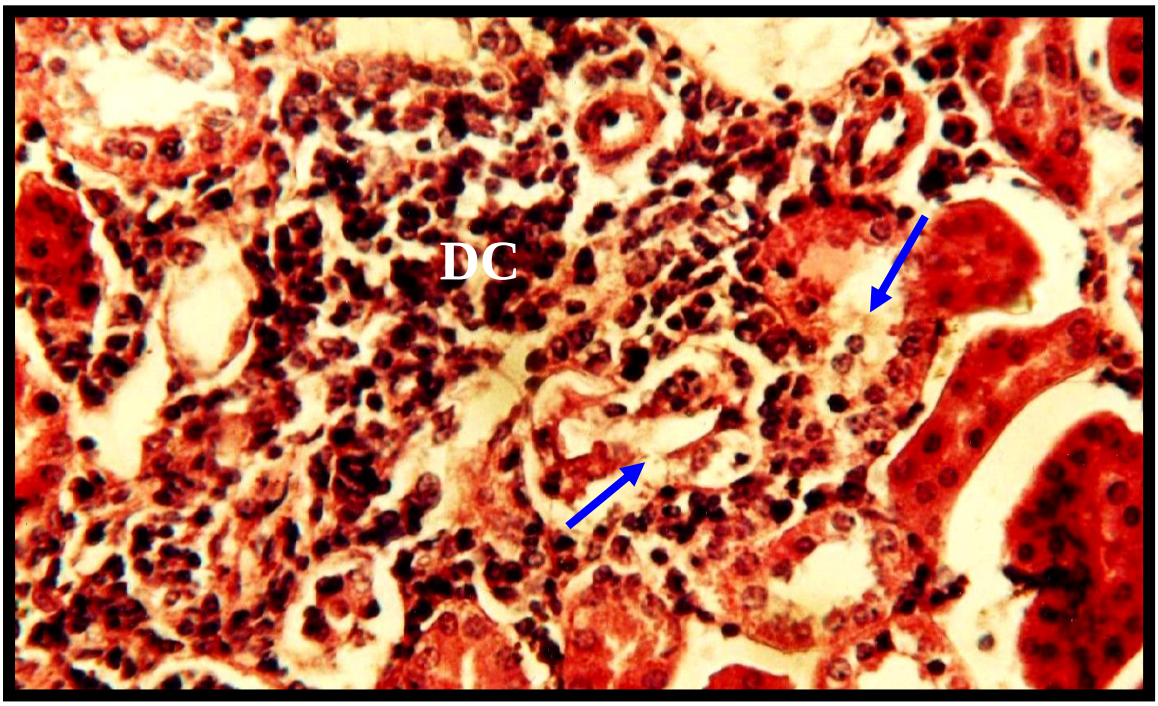
صورة (38): مقطع في كلية فأر معامل بـ Cisplatin بعد أربعة شهر من الأصابة يوضح تحلل النبيبات الكلوية(←).صبغة(H.E) .X 475



صورة (39): مقطع في كلية فأر معامل بـAlbendazole بعد شهر من الاصابةيوضح حالة النزف الدموي(←) و تحلل لبعض النبيبات الكلوية(←).صبغة(H.E) .X475



صورة (40): مقطع في كلية فأر معامل بـAlbendazole بعد أربعة شهر من الاصابةيوضح تجمع للخلايا الدفاعية (DC) قرب الوعاء الدموي مع تحلل بعض النبيبات الكلوية(←) صبغة(H.E) .X475.



صورة (41): مقطع في كلية فأر معامل بـAlbendazole بعد أربعة شهر من الاصابةيوضح تجمع للخلايا الدفاعية (DC) وتحلل النبيبات الكلوية(←) .صبغة(H.E) .X475

الفصل الرابع

المناقشة

Discussion

4 المناقشة

1.4 وصف الطفيلي

تم في الدراسة الحالية اصابة الكلاب بطفيلي *E. granulosus* عن طريق التجريع الفموي بالرؤيسات الاولية وهذا يتفق مع ماشاراليه (2000) Saeed *etal.* و (2001) Alwan and Faleh من ان الكلاب هي المضيف الاساسي لطفيلي الاكياس العدرية في العراق. كما تعد الذئاب وبنات اوى و الثعالب و القطط بالاضافة الى الكلاب مضائف نهائية للطفيلي (Babero and Al-Dabagh ,1963)

وقد لوحظ تركز الاصابة في منطقة اللفائفي illeum وقد يكون سبب ذلك ملائمة هذا الجزء من الامعاء لنمو الطفيلي وهذا لا يتفق مع ما اشاراليه (1994)Deplazes و Anderson(1997) ان الاصابة تتركز في الجزء العلوي من الامعاء الدقيقة للكلاب المصابة.

كما ان تواجد الطفيلي في الاجزاء الاخرى من الامعاء الدقيقة يعزى الى شدة الاصابة والتي ادت الى التنافس حول الحيز المتيسر للطفيلي وبالتالي انتشاره في اجزاء اخر من الامعاء الدقيقة وهذا يتفق مع ماذكره Lucas and Gottstein(2001) من ان الطفيلي ينتشر في كل اجزاء الامعاء الدقيقة .

واثبتت هذه الدراسة ان الديدان تصل النضج الجنسي بعد 38 يوماً من الاصابة ، ان اختلاف فترة النضج الجنسي خلال الدراسة بالمقارنة مع ماوجده Zhang *etal* .(2003) من ان الطفيلي يحتاج 42 يوماً لاكمال دورة حياته قد يعود ذلك الى اختلاف السلالات الطفيلية المستخدمة في الدراسات اذ يمتلك طفيلي *E. granulosus* عدة سلالات مثل سلالة الاغنام و سلالة الجاموس و سلالة الجمل و سلالة الابقار .(Roratto *etal.*, 2006)

كما ان صغرحجم الديدان في هذه الدراسة بالمقارنة مع دراسة(2004).Garner *etal* الذي اشار فيها الى ان اطوال الطفيلي تتراوح مابين 3–6 ملم قد يعود الى شدة الاصابة التي تؤدي الى المنافسة والتزاحم حول المكان والغذاء الا ان هذا الاختلاف في اطوال الديدان يقع ضمن حدود تغاير النوع فقد اشار (2003)Morar and Felman من ان اطوال الديدان تتراوح ما بين 2–7 ملمتر .

2.4 الدراسة النسجية للمضيف النهائي (الكلاب)

سببت اصابة الكلاب بطفيلي *E. granulosus* حالات تلف و تنخر واسع للنسيج الطلائي المبطن للامعاء و يمكن تعليل ذلك الى الفعل الميكانيكي الضار الناتج عن احتكاك جسم الطفيلي باغشية الامعاء مما ادى الى تاكلها وهذا يتفق مع ماذكره Derbala and El-massary (1999) من حصول التلف في بطانة الامعاء.

كما ان حدوث الضرر الواسع لخبايا ليبركان يمكن تعليله الى ان تعلق الديدان ببطانة الامعاء بواسطة غرزالخطم والتصاق ممصاتها ويزداد هذا الضرر بزيادة شدة الاصابة و هذا يتفق مع ما اشار اليه Thompson(1977) من حدوث التلف في خبايا ليبركان نتيجة لتواجد الطفيلي .

3.4 أختبار التأثير المباشر لعلاجي Cisplatin و Albendazole على الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي

سببت معاملة الرؤيسات الأولية بتركيز 1ملغم/مل من عقار الـ Cisplatin خارج الجسم الحي ارتفاع نسبة القتل لتصل الى 51.8 %خلال اسبوع و92.8 %خلال اسبوعين وهو اعلى من نسبة القتل عند استخدام عقار Albendazole بنفس التركيز إذ بلغت النسبة 26.6 % و 54.2%على التوالي ويمكن تعليل ذلك الى احتمالية إن عقار الـ Cisplatin اثر عن طريق ايقاف تصنيع البروتينات الضرورية لبقاء الطفيلي فضلاً عن اتلاف المادة النووية للرؤيسات الأولية مما ادى الى موتها المبكر إذ يتميز عقار الـ Cisplatin بقابليته على ايقاف عملية تصنيع البروتين من خلال تأثيره على الـDNA (Baek *etal*., 2000)

وفي دراسات اخرى لوحظ إن لهذا العقار تأثير قاتل على الطفيليات فقد وجد Pinto *etal.* (2003) إن العقار ذو فعل قاتل على عدة سلالات من طفيلي *Trypanosoma cruzi* .

في حين كان Albendazole اقل تأثيراً ربما يعود ذلك الى كون هذا العقار يوثر على عملية امتصاص السكر اذ اوضح Manouras *etal*.(2007) إنAlbendazole يمنع

امتصاص السكر ويعمل على تثبيط عملية البلمرة لبروتين Tubulin المسؤول عن تكوين النبيبات الدقيقة Microtubule مما يؤدي الى ايقاف فعل الأفراز والأبراز والنفاذية خلال اغشية الرؤيسات الأولية.

كما اوضح (2007).Ma *et al* إن نسبة قتل الرؤيسات الأولية المعاملة بـ Albendazole ممكن ان تصل الى 66٪ خلال اسبوع في حين سجل Serrano *etal.* (1994) إنAlbendazole يسبب موت جميع الرؤيسات الأولية خلال 12 يوماً وأشار Taylor *et al.* (1990) الى إن للـAlbendazole قابلية على قتل الرؤيسات خلال 28 يوماً .

4.4 أختبار التأثيرالمباشر لعلاجي Cisplatin و Albendazole على النفاذ داخل الاكياس العدرية خارج الجسم الحي

عند دراسة تأثير Cisplatin بتركيز 1ملغم/مل على الرؤيسات الأولية داخل الاكياس العدرية ادى الى ارتفاع نسبة القتل إذ بلغت 72.6 %خلال اسبوع وهي أكثر مما سجل عند معاملة الرؤيسات وحدها خارج الكيس العدري ،ويمكن تعليل ذلك بان الرؤيسات خارج الكيس العدري كانت موجودة ضمن محلول هانك الفسلجي إذ يحتوي على اهم المغذيات التي يحتاجها الطفيلي منها الكلوكوز وهذا المحلول قد يكون خفض من الفعل القاتل للعقار إذا ماقورن مع الرؤيسات الموجود داخل الكيس العدري والتي كانت داخل السائل العدري المحتوي على مواد ابرازية ضارة للطفيلي، إذ يحتوي سائل الكيس العدري على مكونات كيميائية مختلفة منها الأمونيا والبيلروبين (Frayha and Haddad , 1980) .

كما اشار (2005), Rahif and Al-Fetlawi الى إن هنالك علاقة عكسية مابين كبر الأكياس وحيوية الرؤيسات الأولية وقد علل ذلك بزيادة تركيز المواد الابرازية .

واثبتت هذه الدراسة قابلية مركب الـ Cisplatin على النفاذ خلال طبقات الكيس العدري وامكن ملاحظة ذلك من خلال ارتفاع نسب قتل الرويسات بالمقارنة مع مجاميع السيطرة و

Albendazole وقد يكون سبب ذلك تضرر الطبقة المولدة بفعل العقار اذ تعد هذه الطبقة هي المسوؤلة عن خاصية النفاذية الأختيارية للكيس العدري (Frayha, 1970).

5.4 الدراسة النسجية للمضيف المتوسط (الفئران)

1.5.4 الاصابة الاولية

اثبتت الدراسة الحالية قابلية بيوض طفيلي *E. granulosus* على احداث الاصابة في الفئران المختبرية عند تجريعها 150 بيضة /فأر، كما اوضح (2005) Thevent *etal.* امكانية اصابة الفئران المختبرية بالبيوض في حالة تجريعها باعداد كبيرة تصل الى 1200 بيضة وقد يكون سبب اصابة الفئران بالرغم من تجريعها باعداداً قليلةً نسبياً الى اختلاف سلالات الطفيلي .

الا انه من الممكن ان تصاب الفئران بشكل طبيعي بانواع الطفيلي الاخر مثل *E. multilocularis* (Petary *etal.* , 2003) ومع هذا فان (1976) Smyth ذكر بان الفئران لا تصاب ببيوض ديدان *Echinococcus* ولكنها تصاب بالاكياس العدرية عند حقنها بالرؤيسات الاولية داخل الخلب .

ووجد خلال هذه الدراسة ان اقطار الاكياس بعد مرور 3 اشهر على الاصابة اصغر بكثير مما لاحظه(1985) Symth الذي اكد على ان قطر الاكياس يصل الى 1 ملم خلال شهرواحد وقد يعزى ذلك الى اختلاف المضيف المتوسط.

كما شوهدت بعض الخلايا الدفاعية متجمعة حول الاكياس العدرية اذ اشار Khalifa (2000) الى ان انجذاب الحمضات نحو الطفيلي يحدث بفعل افرازات الخلايا البدينة للهستامين المحفزة بفعل IgE المنتج ضد الطفيلي.

و يمكن تفسير التنخر الحاصل في الخلايا القريبة من موقع الاصابة في الكبد الى ان نمو الكيس العدري داخل الكبد ادى الى انسداد في الجيبانيات الدموية نتيجة لتواجد الطفيلي و بالتالي توليده ضغط على الخلايا الكبدية القريبة مما ادى الى ضعف تجهيز الخلايا بالغذاء و الدم الضروري و الذي قد يكون السبب في موت الخلايا و تنخرها وهذا ماكده

Bresson *etal.*(1994)من ان تنخر الخلايا الكبدية في الحيوانات المصابة بالاكياس العدرية ناتج عن الضغط الذي تولده هذه الاكياس .

ولوحظ بعد مرور 6 اشهر تكون طبقة مولدة و بدايات تكون الطبقة الصفائحية الا ان الفترة كانت غير كافية لتكون الرؤيسات الاولية ، فقد لاحظ Bauder *etal.*(1999) عند دراسته مراحل تطور طفيلي *E. granulosus* ان مدة 6 اشهر غير كافية لتكون الرؤيسات الاولية ووجد ان الرؤيسات تبدا بالتكون بعد 8 اشهر من الاصابة.

كما ان حدوث التليف ربما يكون ناتج عن رد فعل الجهاز المناعي للفئران كي تعزل الطفيلي عن انسجة الجسم و يحدث التليف نتيجة لتحول الخلايا البلعمية الى ليفيية اذ تقوم الاخيرة بافراز الياف الكولاجين (Thomas and Kothare , 1975) .

ولوحظ في هذه الدراسة كبر منطقة تجمع الخلايا الدفاعية وقد يكون سبب ذلك طول مدة الاصابة اذ يزداد تطور الاستجابة المناعية بتقدم مدة الاصابة (Arias and Senent , 1995) .

اوضحت الدراسة الحالية تجمع الخلايا الدفاعية حول الاقنية الصفراوية والذي يمكن تفسيره على ان الاقنية الصفراوية هي احد طرائق تخلص الجسم من بعض المركبات الضارة(Policy , 2008) وقد تكون النواتج الثانوية للطفيلي احدى هذه المواد مما يؤدي الى تركزها داخل الأقنية الصفراوية والذي قد تكون عاملاً محفزاً لتجمع الخلايا الدفاعية، كما اشار Bacciarini *et al.* (2004) من إن الأصابة بالأكياس يسبب تجمع الخلايا الدفاعية حول الأقنية الصفراوية كما قد تسبب الأصابة بالأكياس العدرية انفجاراً في بعض القنوات الصفراوية وتسرب محتوياتها الى انسجة الكبد مما يؤدي الى تجمع الخلايا الدفاعية قرب القنوات الصفراوية (Ustunsoz and Akhano ,1999).

2.5.4 الأصابة الثانوية

أثبتت الدراسة الحالية إن فترة 5 اشهر غير كافية لتكوين رؤيسات اولية وهذا يتفق مع ما اشار الي Araj *etal.*(1977) من أن الرؤيسات تتكون داخل الاكياس العدرية بعد مرور 6 اشهر من الاصابة.

كما اثبتت الدراسة ان الطبقة المولدة تتكون بعد مرور شهرين من بدء الاصابة وان الطبقة الصفائحية كانت قليلة السمك بالمقارنة مع المراحل الاخرى وقد يكون سبب صغر الطبقة الصفائحية كونها تفرز من قبل الطبقة المولدة حديثة التكوين كما اوضح Hemphill and Gottstein, (1995) ان الطبقة المولدة هي التي تكون الطبقة الصفائحية من خلال خيوط سايتوبلازمية دقيقة تعمل على نقل المواد المصنعة وافرازها الى الخارج.

وبينت الدراسة ان مدة 3 اشهر كانت كافية لتكوين طبقة مولدة و طبقة صفائحية سميكة و منتظمة فضلاً عن وجود الطبقة الكاذبة فقد اشار Goldman and Bannett, (2000) ان معظم الاكياس العدرية تحاط من الخارج بنسيج ليفي ضام ناتج عن رد فعل المضيف لمنع مرور افرازات الطفيلي وهذا يتفق مع ما توصل اليه Delabre *et al.*(1986) و التميمي (1999) والجلبي (2007) ان الاكياس العدرية تتميز الى طبقة مولدة و صفائحية و طبقة كاذبة .

6.4 تأثير علاجي Cisplain وAlbendazole داخل الجسم الحي على :

1.6.4 الأكياس العدرية

اثبتت الدراسة الحالية ان عقار Cisplatin سبب تحلل شبه كامل للطبقة المولدة و انكماش الطبقة الصفائحية بعد (4,3,2,1) اشهر من بدء العلاج وقد يكون سبب ذلك ان العلاج اوقف كافة العمليات الايضية للطفيلي اذ يمتاز هذا العقار بقابليته على الارتباط بمادة DNA ومنع عملية استنساخه (Wei *et al.*, 2002) ،

وان تفاوت تاثير العلاج على الاكياس العدرية بمراحلها المختلفة يمكن ان يعود الى تطور نوع من المقاومة ضد العلاج فقد اشار Mayer *et al.*(2002) الى ان احتمالية تكون مقاومة ضد العلاج .

اما الاكياس المعاملة بـAlbendazole فقد سبب هذا العقار تاخر في نموها اذ شوهدت الرؤيسات متاخرة في النمو بالمقارنة مع مجاميع السيطرة وقد يكون سبب ذلك ان العقار ذو تاثير مباشر على ايض الطفيلي مما ادى الى تاخر نموه ، وهذا يتفق مع ما توصل اليه Njoroge *etal.*,(2005);Paksoy *etal.*(2004) الى ان عقار Albendazole يسبب تخلف نمو الطفيلي .

كما ان تحول الرؤيسات الاولية الى اكياس يتطلب من الطفيلي التخلص من بعض اجزائه ومنها الكلاليب والتي اظهرت في الدراسة الحالية بحالة متحررة من الطفيلي وقد اكد هذا Pan and Hunter,(2007) ان الرؤيسات الاولية تطلق الكلاليب اثناء عملية تحولها الى اكياس عدرية ولوحظ ان بعضها يبقى داخل تجويف الكيس.

2.6.4 اعداد الأكياس العدرية

أثبتت الدراسة الحالية إن لعقار الـ Cisplatin تأثير على اعداد الأكياس العدرية المعزولة من الحيوانات المصابة بعد (2 و4 و5) اشهر بعد الأصابة فقد بلغت (12.6،11.8،10.4) كيس/فأر وهو اقل مما عزل من الحيوانات المعاملة بـAlbendazole وحيوانات السيطرة ويمكن تعليل ذلك بان عقار الـ Cisplstin ادى الى قتل الرؤيسات الأولية في مراحل تطورها المبكرة مما منع نموها وادى الى تقليل اعدادها وهذا يتفق مع ماتم ملاحظته من تأثير العقار القاتل للرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي.

كما إن للعقار تأثير أكبر على الأكياس العدرية في قيد النضج إذ تكون الطبقة المولدة في اوج نشاطها وبالتالي فان تاثرها الشديد بالعقار لما لهذا العقار من تأثير على الخلايا النشطة بالأنقسام اذ تعد الطبقة المولدة هي المسؤولة عن التكاثر اللاجنسي (Galindo *et.al.*,2003) وعلى عكس مما لوحظ في العينات المعاملة بـAlbendazole والتي كانت اعدادها مقاربة لمجاميع السيطرة .

3.6.4 الكبد

ان السمة السائدة لاكباد الحيوانات المصابة المعاملة و غير المعاملة بالعقارين هي حصول استجابة التهابية متباينة الشدة و يمكن تعليل حصول هذه الاستجابة نتيجة لتكون الاكياس على سطح الكبد و هذا يتفق مع ما توصل اليه

Stadecker and Villanueva ,(1994) من ان اصابة الكبد بالاكياس العدرية تسبب استجابة التهابية شديدة متمثلة بتجمع الخلايا الدفاعية .

ان حدوث التنخر للخلايا الكبدية ربما يكون ناتج عن حدوث التفاعل الالتهابي و هذا يتفق مع ماوجده Bresson *etal.*(1994) من ان الاصابة بالاكياس العدرية تسبب استجابة التهابية تؤدي الى تنخر الخلايا .

كما اختلفت شدة الاستجابة الالتهابية باختلاف المعاملة فقد كانت الاستجابة الالتهابية اقل شدة في الحيوانات المعاملة بـCisplatin بالمقارنة مع مجاميع السيطرة وقد يعود سبب ذلك الى فعالية العقار المثبطة للجهاز المناعي (perry,2001) كما ان العقار قد يكون اثر سلباً على العمليات الايضية للطفيلي من خلال تاثيره على الطبقة المولدة التي بداخل الكيس العدري مما ادى الى انخفاض العمليات الايضية للطفيلي وبالتالي قلت الاستجابة الالتهابية، كما اوضح (Richards *et.al.* ,1984) ان الطبقة المولدة هي المسؤولة عن ايض الطفيلي.

اما العينات المعاملة بـ Albendazole كانت ذات استجابة التهابية واسعة وهذا يتفق مع ما توصل اليه Njoroge *etal.*(2005) الى ان المعاملة بـAlbendazole تسبب ارتشاح كثيف للخلايا الدفاعية في كافة اجزاء الكبد .

4.6.4 الكلية

لوحظ خلال الدراسة الحالية ان الاصابة بالاكياس العدرية الثانوية قد سبب حالات من نزف و تنخرات في النبيبات البولية و تزداد شدة التغيرات بتقدم فترة الاصابة.

وان حصول النزف قد يكون بسبب حصول تفاعل بين نواتج الطفيلي مع الاجسام المضادة وهذا التفاعل ادى الى حدوث ثغرات في بطانة الاوعية الدموية مما سبب خروج كريات الدم الحمر من داخل الاوعية الدموية مما ادى الى حالة النزف وهذا يتفق مع مااورده Macsween and Whaley,(1992) عندما فسر حالة النزف بالتهاب بطانة الاوعية الدموية اذ تطرح الخلايا الحمراء خارج الاوعية الدموية من خلال ثغرات بين الخلايا الاندوثيلية .

كما ازدادت شدة التغيرات النسجية بتقدم مدة الاصابة وهذا قد يعود الى تطور الاستجابة المناعية كما اشار Daeki *etal*.(2000) الى ان الاستجابة المناعية تزداد بتقدم المرض .

اما فيما يخص العينات المعاملة بـAlbendazole فقد وجد ان التغيرات النسجية في الكلية كانت اكثر شدة عند مقارنتها بعينات السيطرة وقد يكون سبب ذلك اجتماع عاملي الاصابة وتأثير العقار اذ تعد الكلية اكثر الاعضاء تأثراً بالمواد الكيمياوية اذ انها من اكثر وسائل تخلص الجسم من المواد السامة (Hill,1997)

في حين كانت العينات المعاملة بـCisplatin ذات استجابة التهابية اقل عند مقارنتها بالمجاميع السابقة وقد يعود ذلك الى ان للعقار تأثيراً مثبط للجهاز المناعي كما اوضح (Bae *etal*.,2007) من ان للعقار تاثيراً مثبطاً للجهاز المناعي او قد يكون هذا العقار اثر على حيوية الرؤيسات الاولية و بالتالي قلة نواتجها العرضية المحفزة لتجمع الخلايا الدفاعية.

الاستنتاجات والتوصيات
Conclusions and Recommendation

الاستنتاجات

اعتماداً على ماتوصلت اليه دراستنا الحالية نستنتج مايلي :

1- تمتلك بيوض طفيلي *Echinococcus granulosus* قابلية على احداث الاصابة في الفئران المختبرية نوع Balb\c عند حقنها 150 بيضة /فار.

2- لاتتميز الاكياس العدرية الناتجة عن اصابة الفئران بالبيوض الى طبقة صفائحية ومولدة بعد مرور 3 اشهر من الاصابة وتبدا الاكياس بالتميز وتكوين الطبقات بعد مرور 6 اشهر، وتسبب الاصابة تغيرات نسيجية واضحة على الكبد.

3- تتميز الاكياس العدرية الناتجة عن اصابة الفئران بالرؤيسات الاولية الى طبقة صفائحية ومولدة وكاذبة بعد مرور 3 اشهر من الاصابة ، ولاتكون الاكياس العدرية رؤيسات اولية حتى بعد مرور 5 اشهر من الاصابة، وتسبب الاصابة تغيرات نسجية واضحة على الكبد والكلية .

4- قابلية مادة Cisplatin على النفاذ داخل الاكياس العدرية وقتل الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي وبنسبة اعلى من Albendazole .

5- سبب حقن عقار Cisplatin داخل الجسم الحي قلة في اعداد الاكياس العدرية وله تاثير واضح على الطبقة المولدة وبالتالي قتل الاكياس الناتجة عن الاصابة بالرؤيسات الاولية .

التوصيات

اعتماداً على ماتوصلت اليه دراستنا الحالية نوصي بمايلي :

1- دراسة كروموسومية لتاثير Cisplatin على الطبقة المولدة .

2- دراسة تاثير عقار Cisplatin على الاكياس العدرية الناتجة عن الاصابة الاولية.

3- دراسة التاثيرات المرضية الناتجة عن الاصابة الاولية والثانوية وتحديد فترة تكون الرؤيسات الاولية .

4-اجراء دراسة كيمو نسجية وفسلجية للحيوانات المصابة المعاملة وغير المعاملة بعقار Cisplatin .

5- معاملة الحيوانات المصابة بالاكياس العدرية بتراكيز وفترات مختلفة لتحديد اقل فترة علاج بـ Cisplatin وباقل تركيز .

المصادر

References

المصادر العربية

- **التميمي ، ايمان حسين عبد الصاحب .(1999)** . عزل وتشخيص الحرمين والحرملين من بذور نبات الحرمل ودراسة تأثيرها المضاد على طفيلي الأكياس المائية *Echinococcus granulosus* في الفئران المصابة مختبرياً . رسالة ماجستير – كلية العلوم– جامعة البصرة. 130 صفحة .
- **الجلبي ، فاتن عبد الجبار .(2007)** تأثير بعض المستخلصات النباتية وعقاري البندازول والبرازيكونتل على حيوية الرؤيسات الأولية لطفيلي *Echinococcus granulosus* .اطروحة دكتوراة – كلية التربية– جامعة البصرة . 173 صفحة .
- **حميد ، شيماء عبد الرزاق. (2006)** تحضير مستضدين لطفيلي *Echinococcus granulosus* مع دراسة كفائتهما المستضدية في التشخيص المصلي لمرض الأكياس العدرية في الأنسان . رسالة ماجستير – كلية العلوم– جامعة البصرة. 86 صفحة .
- **الحياوي ، بشرى حسين شناوة .(1988)** . بعض التأثيرات المرضية النبي يسببها طفيلي الأكياس المائية *Echinococcus granulosus* في المضيف المتوسط .رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة البصرة. 100 صفحة .
- **الخزاعي ، جاسم حميد .(2005)** تقييم فعالية مستخلص الحبة السوداء وبعض الأدوية والتيار الكهربائي على حيوية الرؤيسات الأولية لطفيلي المشوكة الحبيبية *Echinococcus granulosus* .اطروحة دكتوراة – كلية التربية –جامعة القادسية . 99 صفحة .
- **الراوي ، خاشع وخلف الله ، عبد العزيز محمد (1980)** تصميم وتحليل التجارب الزراعية، جامعة الموصل ،دار الكتب للنشر
- **رهيف ، رعد حربي والفتلاوي ، منير عبد الأمير. (2002)** انتشار الأكياس العدرية في الأبل في العراق . المجلة الطبية البيطرية العراقية مجلد 26 ، عدد 1 : 35–45 .
- **الزبيدي ، علي بناوي. (1989)** . التركيب الكيميائي للسائل العدري والطبقة الصفائحية للمشوكات الحبيبية. رسالة ماجستير –كلية العلوم– جامعة الموصل 163صفحة.

- **الساقي ، هادي مهدي ؛ الشنوي ، فوزية احمد ؛ الهاشمي ، وليد خالد. (2002)** انتشار الأكياس العدرية في الحيوانات المذبوحة في مدينة بغداد . المجلة الطبية البيطرية العراقية ، مجلد 26 ، عدد 2 : 44-51 .
- **السيمري ، احسان عيدان عبد الكريم. (1987)** . دراسة العلاج الأشعاعي في السيطرة على مرض الأكياس المائية مع دراسة بكترويلوجية ومناعية وكيمائية لبعض المضائف الوسطية . رسالة ماجستير – كلية العلوم– جامعة بغداد . 138 صفحة .
- **العبادي، فاضل عباس منشد. (1984)** . التركيب الكيميائي اللاعضوي للسائل العدري والطبقتين الجرثومية والصفائحية للمشوكات الحبيبية في الأنسان. رسالة ماجستير –كلية العلوم – جامعة الموصل . 164 صفحة .
- **الكناني ، انتصار رحيم وعلي ، فواز فاضل . (2004)** دراسة مقارنة لتأثير المستخلص المائي لنبات عنب الذئب وعقار البندازول على حيوية الرؤيسات الأولية المعزولة من اكياس عدرية في الزجاج وداخل الجسم الحي .كلية القادسية لعلوم الطب البيطري المجلد 3 ، عدد1 : 64-69 .
- **المؤنس ، محمود سالم ثامر. (1988)** . دراسة وبائية ومصلية مناعية لمرض الأكياس العدرية في محافظة البصرة (جنوب العراق) . اطروحة دكتوراة – كلية التربية– جامعة البصرة. 169 صفحة .
- **مبارك، صباح كاطع .(1978)** . دراسة وبائية ومصلية في الأكياس المائية للـ *Echinococcus granulosus* في الأغتام والأبقار والجمال . رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري جامعة بغداد . 112 صفحة .

المصادر الاجنبية

- **Acha , P. N. and Szyfres , B. (2003) .** Zoonoses and Communicable disease common to man and animals . volum 3 . Parasitoses . 3rd ed . Washington DC : PAHO ; Scientific and Technical publication No. 580. Hydatidosis ; 184-199 .

- **Agayev , R. M. O. (2002) .** Diagnosis and surgical treatment of complicated liver echinococosis . Turk . J. Gastroenterol . 13 (1) : 11-16.
- **Agosin , M. T ; Von Brand . F. R and Mc Mahon , P. (1957)** . Studies on the metabolism of *Echinococcus granulosus* 1 – general clinical composition and Respiration Reaction Parasitol . J. 6: 37-51 .
- **Alwan , M. J and Faleh , A. B. (2001) .** Experimental studies infected dogs with *Echinococcus granulosus* origin from goat and cattle . J. Veterinary medicine 25 (2) : 14-26.
- **Anderson , F. I. (1997) .** Introduction to Cystic echinococcosis and description cooperative research . projection Morocco oxford university press , New York . And Toronto .
- **Araj , G. F ; Matossian , R and Malakian , A. H. (1977) .** The host response in secondary hydatidosis of mice . Cell mediated immunity . parasitol . J. 52 : 31-38 .
- **Arbabi , M and Hosshyar , H. (2005) .** Survey of Echinococcosis and Hydatidosis in Kashan reigon , Central Iran . Iranian . J. Publ Health 35 (1) : 75-81 .
- **Arias , I. and Senent , C. J. (1995) .** Toxocariasis : a cause of hyper IgE and eosinophilia . J. Investig . Allergal . Clin. Immunal . 5 : 232-234.
- **Babero , B. B and Al-Dabagh , M. A. (1963) .** The zoonosis of animal parasites in Iraq . XII , the dog as reservoir for human cestode infection . J. Fac. Med. Baghdad . 5 : 149-158.
- **Bacciarini , L. N ; Gottstein , B ; Pagan , O ; Rehmann , P and Grone , A. (2004) .** Hepatic Alveolar Echinococcosis in Cynomolgus Monkeys (Macaca fasacularis). Vet. Pathal. J. 41 : 229 – 234.
- **Bae , S. H ; Park , Y ; Park , J .C ; Kim , M. S and Sin , J. (2007) .** Therapeutic Synergy of Human papilloma virus E_7 Subunit vaccines

plus Cisplatin in an Animal tumor Moder : Causal Involvement of Increased Sensitivity of cisplatin – Treated tumors to CTL – Mediated killing therapeutic synergy . Clinical cancer Research . 13 (1) . Pp 341-349 .

- **Baek , H ; Cho , Y ; Lee , C. O and Sohn , Y. S. (2000) .** Anti – canicer Drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther. 11 : 715-725.
- **Bauder , B ; Auer , H ; Schilcher , F ; Gabler , C ; Roming , T ; Bilger , B and Aspock , H. (1999)** . Experimental investigations the Band T. cell immune response in primary cystic echinococcosis parasite Immunology. J. Immunol . 21 : 409-421.
- **Bertini , I ; Gray, H.B and Valentine, J.S. (2005).** Biological Inorganic Chemistry: Structure and Reactivity. Science Books, Mill - Valley, CA, Publ., 114 .
- **Bethesda , M. D. (2007) .** Cisplatin , cisplatinum or Cis – diamminedichlor oplatinum (II) . American Society of Health – system pharmacists 301 : 657-3000.
- **Binhazim , A. A ; Harmon , B. G ; Rberson , E. L and Boerner , M. (1992) .** Hydatid disease in hourse . J. Am. Vet. Med. Assoc. 200 : 60-958.
- **Blanton , R. E ; Okelo , G. B. A ; Kijobe , J and King , C. H. (1991) .** Antibody Responses to *In Vitro* translation products following Albendazole therapy for *Echinococcus granulosus*. J. American Society for Microbiology . 35 (8) : 1674-1676.
- **Boutikas, T and Vougiouka, M. (2003).** Cisplatin and platinum drugs at the molecular level. Review, Oncol. Reports, 10: 1663-1682.
- **Bresson , H. S ; Petitjean , O and Monnot , J. B. (1994) .** Cellular locations of interleukin – 1 B , interleukin-6 and tumor necrosis factor -α m RNA in parasitic granulomatous disease of the liver , alveolar echincoccosis . J. European cytokine Network 5 : 461-468.

- **Cardenas , M.E ; Cruz , M. C ; Delpoeta , M ; Chung , N ; Feet , J. R and Heitman , J. (1999) .** Antifungal Activities of Antineoplastic agents : *Saccharomyces cerevisia* as a model system to study Drug Action .Clinical Microbiology Review . 12(4) : 583-611.
- **Ceviz , M ; Becit , N and Kocak , H. (2001) .** Infected cardiac hydatid cyst . J.Clin.Infect.Dis .86 : 5-13.
- **Ciftci, I. H ; Esme , H ; Sahin , D. A ; Solak , O; Sezer , M and Dilek , O. N. (2007) .** Effect of Octeidine dihydrochloride on viability of protoscoleces in hepatic and pulmonary hydatid disease . National medical association . J. 99 (6) : 674 – 677.
- **Czermak , B. V ; Vnsinn , K. M ; Gotwald , T ; Niehoff , A ; Freund , M. C ; Walden berger , P. ; Vogel , W and Jaschke , W. R. (2001)** . *Echinococcus granulosus* Revisited Radiologic patterns seen in ediatric and Adult patients . American . Roeutgen Ray society . J. 177 : 1051-1556.
- **Dacki , A. O ; Craig , P. S and Shambesh , M. K. (2000) .** IgG . Subdass anibody responses and the natural history of hepatic Echinococcosis in asymptomatic patients Ann . Trop. Med. Parasitol . J.94 : 319-328 ..
- **Delabre , I ; Cland , G ; Froncois , C ; Annfrancois , P. and Stephan , D. (1986) .** The susceptibility of the mouse strain to *Echinococcus multilocularis* . Ultra structural . parasitology . J.17 (3) : 773-778 ..
- **Deplazes , P ; Thompson , R. C. A and Penmale , W. J. (1994) .** Primary infection of dog with *Echinococcus granlosus* systemic and local (payers patches) immune response . Vet. Immunopath .J. 40 : 171-178.

- **Derbala , A. A and El- massry , A. A. (1999) .** Some studies on growth and development of *Echinococcus granulosus* , Camel origin in experimental infection in dog . vet. Para sitol.J. 83 : 25-36.
- **Dinkel , A ; Vonnickisch – rosenegk , M ; Bilger , B ; Merli , M ; Lucius , R and Thonroming , T. (1998) .** Detection of *Echincoccus multilocularis* in the Definit host : copor diagnosis by PCR as an alternative to Necropsy . J. Clin. Microbiol. 36 : 1871-1876.
- **Drury , R. A. V ; Wallington , E. A and Cameron , R. (1967) .** Carleto´s histological techninqua 4th ed Oxford university press , New York . And Toronto .
- **Durakbasa , M.O ; Kose , O ; Islam , N. C and Kilicoglu , G. (2007) .** A primary Hydatid Cyst of the Gracilis : a case report . J. Orthopaedic surgery.6: 2-4.
- **Duygulu , F ; Karaoglu , S ; Erdogan , N and Yildi , O. (2006)** Primary hydatid cyst of thigh : a case report of an unsual of Turk . J. Pediatr . 48(3) : 9-256.
- **Dziri , C ; Haouet ,K and Fingerhut , A. (2004) .** Treatment of hydatid cyst of the liver : where is the evidence ?. world .J. surg . 28 : 6-731 .
- **Elhag , H ; Mossa, J.S and El-Olemy, M.M. (1999).** Antimicrobial and cytotoxic activity of the extracts of Khat Callus cultures. Ethiop.J. Health Dev. 18(2) : 663-666.
- **Essigmann , J. M. (2005) .** Cisplatin cytotoxicity associated with tetracycline resistance determinats in *Escherichia coli* . Pharmacol.J.8:1-4.
- **Ezer, A ; Nursal , T. Z ; Noyan , T and Moray , G. (2007).** Giant hepatic hydatid cyst : A case report . Worls .J. Of Gastroenterology . 13 (16) : 2388-2389.

- **Fahim , F. and Al- Salamah , S.M.(2007).** Cystic echinococosis in central Saudi Arabia : A 5- year experience . . Turk . J. Gastroenterol. 18 (1) : 22-27.
- **Franchi , C ; Divico , B and Teggi , A. (1999)** . Long – term evaluation patients with hydatidosis treated with benzimidazole carbamates. Clin infect Dis .J. 29: 9-30.
- **Frayha , G. J. (1970) .** Studies on hydatid disease in Lebnan . leb. Med. J. 23 : 135-150 .
- **Frayha , G. J. and Haddad , R. (1980) .** Comparative chemical composition of protoscoleces and hydatid cyst fluid of *Echinococcus granulosus*. Int. J. parasital . 10 : 359-364 .
- **Fuertes, M.A ; Aloso, 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.
- **Fukase , T ; Petry , G ; Dorn , H ; Akihama , S. and Itagaki , H. (1996) .** Praziquantal Droncit formationas an anthelimintic against *Dipylidium caninum* and *Taenia taeniaefromis* in domestic cats . Parasitologia (Rome) .J. 38-233.
- **Galindo , M** ; **Paredes , R ; Marchant , C ; Mino , V and Galanti , N. (2003)** .Regionalization of DNA and protein synthesis in developing stages of the parasitic platyhelminth *Echinococcus granulosus* .J Cell Biochem. 90 (2) : 249- 303.
- **Garcia , L. S. and Bruckner , D. A. (2001)** , Tissue cestodes : larval forms . In : Diagnostic medical parasitology . 4th ed . Washington , D. C. : ASM press : 387 – 403.
- **Garippa , G. (2006) .** Updates on cystic echinococcosis (CE) in Italy . Parasitologia.J. 48 : 57-59 .

- **Garner , G ; Saville , P and Fediaevsky , A. (2004) .** Manual for the recognition of exotic disease of live stock : Arefrenco guid for animal health staff . Food and Agriculture organization of the united Nation .
- **Gelman , R ; Brook , G ; Green , J ; Ben – Itzhak , O and Nakhoul , F. (2000).** Minimal change glomerulonephritis associated with hydatid disease . Clin Nephral .J. 53 : 152-155.
- **Gogus , C ; Safak , M ; Baltaci , S. and Turkolmez , K. (2003) .** Isolated rend hydatidosis : experience with 20 cases . J. Ural . 169 : 9 – 186.
- **Goldman , L. and Bannett,J. C. (2000) .** Text book of medicine . 21st ed Acad. Press , New York .
- **Gottstein , B. (2003) .** Hydatid disease In : Cohen J, Powderly W, editors . Infections disease , 2nd ed . London : Mosby . 1691-1696 .
- **Haag , K. L ; Araujo , A. M and Zaha , A. (1999) .** Breeding systems in *Echinococcus granulosus* . (cestodac taeniida) . Selfing or out crossing . Parasitology .J. 118 : 63-71 .
- **Heath , D. D ; Jensen . O and Light owlers , M. W. (2003) .** Progress in control of hydatidosis using vaccination – areview of formulation and delivery of the vaccine and recommendation for practical use in control programmes . Acta Tropica.J. 85 : 133-143.
- **Hemphill , A and Gottstien , B. (1995) .** Immunology and morphology studies the proliferation of in *In vitro* . cultivated *Echinosoccus multilocularis* . Metacestoda parasitol . Res.J. 81 : 605-614 .
- **Hill , M. (1997) .** Harrison´s principles of internal medicine . New York. CA, Publ. 140.
- **Himonas , C ; Antonindon , S and Popaelopoulos , E. (1994) .** Hydatidosis of feed animal in Greece . Frevalence of Cysts containing viable protoscoleses . J. Helminthol . 68 : 311-320 .

- **Humason , G. I. (1972) .** Animal and tissue techniques 3rd ed Freeman and company , San Francisco . 534 .
- **Hunter , G. W and Strickland , G. T. (2000) .** Hunter´s Tropicd medicine an emerging infections disease . 8th ed . Philadelphia : Sauners . 76 – 866.
- **Jenkins , D. J and Romingo , T. (2000) .** Efficacy of Droncit (praziquantel) 4% W/V againsts immature and mature *Echinoccocus multilocularis* in cats . Int. J. parasitol . 30 : 959-962.
- **Joshi , R. M ; Palep , J. H ; Sayed , S. and Mehta , S. (2005) .** Hepatic resection : An insight . Indian . J. of surgry . 67 (1) : 13-20.
- **Kelland, L. R. (1993).** New platinum antitumor complexes. Critical Reviews in Oncology-Hematology, 15(**3**): 191-219.
- **Kesavan , C ; Raghumathan , M. and Genesam, N. (2005) .** Morphological and growth altering effects of cisplatin in candida albicans using fluoresces microscopy Annals of clinical microbiology and AntimicrobialsJ. 4 (7) : 1-4 .
- **Khalifa , A. R. (2000) .** principles of Immunology .High education ministry .Mousel.
- **Kilciler , M ; Bedir , S ; Erdemir , F ; Coban , H ; Sahan , B and Ozgok, Y. (2006)** . Isolated unilocular renal hydatid cyst : arare diagnostic difficulty with simple cyst . Urol.Int.J.77: 4-371.
- **Krige , J. E. J and Beckingham , I. J. (2001)** ABC of disease of liver , pancreas and biliary system liver abscesses and hydatid disease . BMJ . 322 (7285): 537 – 540.
- **Kumar , S ; Tamura , K and Nei ,M. (2004) .** MEGA3 : Integrated software for Mole Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment . Brief Bioinform . J. 5. : 63-15
- **Lander , F. (2001) .** Human echinococcosis trades and sources of zoontic agenst in the European Union and Norway.Review. 227-233.

- **Leder , K ; Weller , P.F and Baron, E.L.(2008).** Life cycle and Epidemiology of ecchinococal species . Review version 16.1: 1-4 .
- **Lucas , M. S. and Gottstein , B. (2001) .** Molecular tools for the diagnosis of cystic and alvcolar echincoccosis J. Tropical medicine and international health . 6 (6) : 463-475.
- **Ma , X. M ; Bao , G. S. H ; Wan , J. M ; Liao . D. J ; Yin , S. H. F ; Meng , X. Q ; Zhou , G. K ; Lu , X and MandLi , H. Y. (2007) .** Therapeutic effects of *Sophora moorcroftiana* alkaloids in combination with albendazole in mice experimentally infected with protoscolices of *Echinococcus granulosus* . Brazilian J. of medicat and Biological Research , 40 : 1403-1408 .
- **Macsween , R. M. N and Whaley , K. (1992) .** Muirs , Text book of pathology . 13th ed . ; Edward Arnold , London.
- **Manderson , D ; Dempster , R and Chisti , Y. (2006) .** Arecom binant vaccine against hydatidosis : production of the antigen in *Escherichia Coli* . J. Ind. Microbail Biotechnol 33 : 173-182.
- **Manouras , A ; genetzakis , M ; Lag oudianakis , E. E ; Papdima A; Triantafillou , C ; Kekis , P. V ; Filis , K and Katerginnakis , V. (2007) .** Intact germinal layer of liver hydatid cyst removed after administrain of albendazole . van zuiden communication .J.Medicine. 65 (3) : 1-5.
- **Marquardt , W. C ; Demaree , R. S and Griere, R. B. (2000)** Parasitology and vector biology . 2nd ed . Harcourt Academic press , Toronto . 353-339.
- **Mayer , F ; Gillis , A. J ; Dinjens , W ; Oosterhuis , J. W and Bokemeyer , C. (2002)** . Microsatellite instability of germ cell tumors is associated with resistance to systemic treatment.J. cancer . Res .62 : 2758-2760 .

- **Miladchricki , M. D. (2002) .** Echinococcosis An Emerging Parasite in the Immigrant Population American Academy of family physicians . J. 1 : 1-5.
- **Morar , R and Felman , C. (2003) .** Pulmonary echinococcosis . Eur Respir J. 21 : 1069 1077.
- **Moreno , M ; Benavidez , V ; Car , H ; Rosenkranz , C ; Welle , M; Carmona , C ; Nieto , A and Chabalgoity,M. J. A. (2004) .** Local and systemic immune responses o *Echinococcus grounlosus* in expermentally infected dogs . Veterinary parasitology . J.119 : 37-50 .
- **Njoroge , E ; Mbihi , P ; Wachira , T ; Gathuma, J ; Gathura , P ; Maitho , T. E ; Magambo , J and Zeyhle , E. (2005) .** Comparative study of Albendazole and Oxferdazole in the treatment of Cystic Echincoccosis in sheep and Goats intern. J. APpl. Res. Vet. Med. 3 (2) : 97-101.
- **Orthan , Z ; Kara , H ; Tuzuner , T; Sencan , I. and Alper , M. (2003).** Primary subcutaneous cyst hydatic disease in proximal thigh . BMC Musculoskeletal Disorders . J. 4(25):1-6.
- **Paksoy , Y ; Oden , K ; Sahin , M ; Arslan , A. and Koc , O. (2004) .** Percutaneous treatment of liver hydatid cysts : Comparison of Direct Injection of albendazole and hypertonic saline solution . American Roentgen ray Society . 185 : 727-734.
- **Pan , Z. and Hunter , W. J. (2007) .** Hydatid cyst of the liver : A case Report and review of the literature . The internet journal of parasitic disease . 1:1-6
- **Pawlowski , Z. S ; Eckert , J ; Vuitton , D. A ; Ammann , R. W ; Kern , P ; Craig P. S ; Dar , K. F ; De Rosa , F ; Filice , C ; Gottstein , B ; Grimm , F ; Macpherson , C. N. L ; Sato , N; Todorov , T ; Uchino , J; Vonsinner , W and Wen , H. (2002) .** Echinococcosis in human : clinical aspect , diagnosis and treatment .

WHO / OIE manual on echinococcosis in human and animals . Paris 20-70.

- **Perry , E. (2001)** . The chemotherapy . 3rd edition .Pharmaceutical press .Britain.
- **Petary , A. F ; Tenora , F. and Deblock , S. (2003)** Co – Occurrence of metacestodes of *Echincoccus multilocularis* and *Taenia teaniaeformis* (costoda) in *Arvicola terrstris* (Rodentia) in France . Folia parasitological .J.50 : 157-158.
- **Pezeshki , A ; Kia , E. B ; Ghlizadeh , A and Koohzare , A. (2007) .** Ananalysis of hydatid cyst surgeries in Tehran milad hospital , Iran , During 2001-2004 . Pak.J. med - Sci 23(1) : 138-140 .
- **Pinto , L. A ; Teixeira , S. M. R ; Pena , S. D. J and Mechado , C. R. (2003) .** Single –Nucleotide polymorphisms of the *Trypanosoma cruzi* MSH_2 Gene suPport the Existence of three phylogenetic lineages presenting Differences in mismatch – Repair Efficiency . Genetics .J. 164 : 117-126.
- **Policy ,P. (2008)** . Making safer drug .Pharmacol. J. 3 (2) : 1-5.

- **Proano , J. U ; Madrazoo , I ; Garcia , L ; Garcia – Torres , E and Correa , D. (2007) .** Albendazole and praziquantel treatment in neurocysticercosis of the fourth Ventricle . J. Neurosury . 87 (1) : 29-33.
- **Rafiei , A ; Hemadi , A ; Maragh , S ; Kaikhaei ,B and Craiag , P. S. (2007) .** Human cystic echinococcosis in nowads of south – west Islamic.Eastern Mediteranean Health . J. B (1) : 41-48.
- **Rahif ,R.H and Al-fetlawi, M.A. (2005) .** Biological characteristics o Buffaloes Hydatid cysts veterinary medicine .J. 29 (2) : 26-34 .

- **Reuter , S ; Merkle , M ; Brehm , K ; kern P ; and Manfras , B. (2003) .** Effect of Amphtericin B. on Larval Growth of *Echinococcus multilocularis* . American socity for Microbiology . 47 (2) : 620-625.
- **Richards , K.S ; Arme, C and Bridges ,J.F. (1984)** . *Echinococcus granulosus* equines : variation in the germinal layer of murine hydatids and evidence of autophagy .parasitology .J. 89 (1) : 35- 47.
- **Rigter , I . M ; SchiPper , H. G ; Koopmans , R. P; vankan , H. J and Frijlink , H. W. (2004).** Relative bio availability of three newly develoed albendazole formulations : arandomized cross over study with healthy volunteers . Antimicrobial Agent and chemotherapy .J . 48 : 54-1501.
- **Roratto , P. A ; santos , M. L. B ; Gutierrez , A. M ; Kamentzky , L; Rosenzvit , M. C and Zaha , A. (2006) .** detection of genetic poly morphism among and within *Echinococcus graunulosus* strains by heteroduplex analysis of microsatellite from the V1 Sn RNA genes . Genetic and molecular research .J. 5 (3) : 542-552.
- **Roy, M. (2000).** The role of base excision repair in cisplatin –DNA adduct repair and cellular resistance to cisplatin. bug journal , 3: 63-69.
- **Saeed , I ; Kapel , C ; Saida , L. A ; Willingham , L and Nansen , P. (2000)** . Epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Arbil province , northern Iraq , 1990 – 1998 . J. Lidminthol 74 (11) : 3-83.
- **Said , M ; Babba , H ; Goli , M and Ganouni , A. (2001)** . Can we Really have Coexistence of Hydatid Cyst and Tapeworm in humans . American . J. of Roeutgenology . 176 : 252 – 253 .
- **Salih , N. E; Hakem , M. N and Mekhlef , A. F. (1983).** The incidence of human hydatideous in Mosul Iraq . J. Egypt .Soc. Parasitol 13 (2) : 501-508.
- **Santos , H. T ; Santos , A. F and delarue , M. L. (2008) .** The action of albendazole on hydatid Cyct in sheep experimentally infected with

eggs of *Echinococcus granulosus* . Helminthology Cambridge . J. 97- : 105-900.

- **Sehitogullari , A. (2007).** Our Results in surgical treatment of hydatid cyst of the lungs . Eur.J.Med. 4 (1) : 5-8.
- **Serrano , J. P ; Casado , N ; Gulillermo , D and Caabeiro , F. R. (1994) .** The effects of albendazole and albendazole sulphoxide combination therapy on *Echinococcus granulosus invitro* . Introduction . J. for Parasitology 24 (2) : 219-224.
- **Serrano , J. P; Denegri , G ; Cascdo , N and Caabiro , F. R. (1997) .** *In vivo* effect of oral albendazole and albendazole sulphoxide on development of secondary echinococcosis in mice. International .J. For parasitology . 27 (11) : 1341-1345 .
- **Shah , D. S ; Parikh , H ; shah , B ; Banuprakash , S and shah , J. (2006) .** Hydatid Cyst of liver . Indian . J. Radiof Imaging (16) : 533-535 .
- **Sheader , K ; Tevruchte , D and Rudenko , G. (2004) .** Blood stream From – specific up – regulation of silent VSG Expression Site and procyclin in *Trypansoma brucei* after Inhibition of DNA synthesis or DNA Damage originally Published . J. Biol . chem.. 279 (14) : 13363-13374.
- **Shoshtari , M. Z ; Shadpour , P. ; Moradi , N. R. and Moslemi , M. (2007) .** hydatid Cyst of Vrinary Tract Eleven cases at a single center . Urology . J. 4 (1) : 5-41.
- **Smith , S. M. and , Rickman , l. S. (2001) .** Echinococcosis : Adrop of water review on human disease , Clin practice . 10 : 9-355.
- **Smyth , T. D. (1976) .** Introduction to animal parasitology 2nd ed . Hodder and Stoughton . London . Sydery , Toronto.
- **Smyth ,J .D .(1985)** .Introduction of animal parasitology .2nd ed. High education ministry and scientific research.Mousel university.

- **Stadecker , M. J. and Villanueva , F. (1994) .** Accessory Signals regulate Th – cell responses : from basic immunology to a model of helminthic . Immunology Today 15 : 571 – 574.
- **Stettler , M ; Lucas , M. S ; Sarciron , E ; Lawton , p ; Gottstein , B and Hemphill . A. (2001) .** *Echinococcus multilocalaris* Alkalinephosphatase as a marker for metacestoda Damage Induced by *In vitro* drug treatment with albendazole Sulfoxide and Albendazole Sulforne . American Society for microbiology .J. 45 (8) : 2256-2262.
- **Stewart , T.(2002).** Detaild taxonomy the parasitic helminthes . Cam. university press .Cambrige . 1-22.
- **Taori , K.B ; Mahajan , S.M ; Hirawe , S.R and Mundhada , R.G. (2004) .** Hydatid disease of Breast . Indian . J. Radiol Imaging . 14 : 57-60.
- **Taylor , D. H ; Morris , D. L and Richards , K. S. (1990) .** Peri operative prophylactic chemotherapy of *Echinococcus granulosus* : Determination of minimum effective length of Albendazole Therapy in *invitro* protoscolex culture . HPB surgery 2 (3) : 159-164.
- **Thevent , P. S ; Jensen , O ; Drat , R ; Crone , G. E ; Grenorero , M. S ; Alvarez , H. M ; Tragovnik , H. M. and Basualdo , J. A. (2005) .** Viability and infectiousness of egg of *Echinococcus grnulosus* aged under natural consition of inferior arid climate . veterinary Parasitology . J. 133 (1) : 71-77.
- **Thomas , J. A. and kothare , S. N. (1975) .** Tissue response in hydatidosis . Indian . J. Med. Res. 3 (8) : 161-1766.
- **Thompson , R. C. A. (1977) .** Growth segmentation and maturation of British horse and sheep strain of *Echinococcus granulosus* in dog . ind . J. Parasite . 7 : 1-28.

- **Thompson , R. C. A. (1995)** . Biology and systematics of Echinococcous . In Echinococcus and hydatid disease . A. B. International , walling food . 1-50.
- **Thompson , R. C. A. (2001) .** Echinococcosis . In principles and practice of Clinical parasitology. John Wiley , Chichester . 1-16.
- **Thompson , R. C. A. and Mcmauus ; D. P. (2002) .** Aetiology : Parasites and life – cycles . WHO l OIE manual on echinococcosis in humans and animals Paris . 1-11.
- **Thompson , R.C.A.(1977)** . Growth segmentation and maturation of British horse and sheep strain of *Echinococcus granulosus* in dog .Ind .J.Parasite .7 : 1-28.
- **Uchino , J. and Sato , N. (1996) .** Alveolar echinococcosis strategy for eradication of alveolar echinococcosis of liver . Fuji Shoin , SaPporo . 1-327 Pp.
- **Ustunsoz , B and Akhano , K. M. A.(1999) .** Percutaneous treatment of hydatid Cyst of the liver long term result . AJR . Am. J. Roentgenal . 172 : 91-96.
- **Vicidomini , S ; Cancrini , G ; Gabrielli , S ; Naspetti , R and Bartoloni A. (2007) .** Muscular cystic hydatidosis : case report . BMC Infection Disease . J. 7 (23) : 1-8 .
- **Von Sinner , W. N. (1997) .** Imaginary of Cystic echinococcosis . acta trop. 67 : 67-89.
- **Watanabe , T ; Takano , M ; O. Gasa wara , A ; Mikami , T ; Kobayashi , T. ; Watabe , M. and Matsumoto , T. (2000) .** Anti – Candida Activity of a new platinum derivative . American Society for microbiology .J. 44 (10) : 2853-2854.
- **Wei , M ; Burenkova , O and LiPpard , S. J. (2002)** . Cisplatin sensitivity in $Hmgb1^{-/-}$ and $Hmgb1^{+/+}$ mouse cells . American Society for Biochemistry and Molecular Biology . Inc. 1 – 19 .

- **White , A. C. J. R. and Weller , P. F. (2005) .** Helminthic infections cestodes . In : Kasper , D. L. ; Braun Wald , E. ; Fauci , A. S. ; Hauser , S. L. ; Long, D. L. and Janeson , A. L. Editors Harrisons principles of internal medicine 16 th ed.New York : McGrow- Hill. 72-1253.
- **WHO . (2002)** . Manual on Echincoccosis in humans and animals : a public Health problem of Global Concern . (Eckert , J. ; gemmell , M. A. ; meslin , F. X. and Pawlowski , Z. S.) World Health organization Paris . 1-107.
- **WHO . (2003) .** Informal working Group : International classification of ultra sound Images in Cystic echinococcosis for aPplication in clinical and field epidemiological settings . Acta Trop . J. (2) : 61-253 .
- **Williams , J.**F**. and Colli , C.W. (1970)** . Primary cystic infection with *Echinococcus granulosus* and *Taenia hydatigena* in Meriones unguiculatus. The Journal of Parasitol . 56 (3) : 509.
- **Wysor , M. S. and Zwelling , L. A. (2007) .** Anti –trypanosomal activity of platinum Co-ordination compounds . Antimicrobial Agent and chemotherapy .J . 424-649.
- **Xiao , S. H ; Feng , J. J ; Guo , H. F ; Jiao , P. Y ; yao , M. Y and Chai , J. J. (1993) .** Effect of mebendazole on glucose , glycogen , lactic acid , and lactate dehydrogenase in *Echinococcus granulosus* cyst wall . Chungikuo . Yao. Li. Hsueh. Pao . 15 : 521-525.
- **Yachnin, J. R. (2005).** Chemical, pharmacokinetic and biological aspects of platinum –based drugs. Ph.D Thesis, Karolinska Insitute, Stockholm, Sweden 60.
- **Zhang , W ; Li , J and Mcmanus , D. P. (2003).** Concepts in Immunology Diagnosis of hydatid Disease American society for microbiology. J. 16 (1) 18-36.

Summary

The results showed the dogs infected with parasite *Echinococcus granulosus* when it was inoculated with protoscolices , the period 38 days enough sexual maturation of worm .

The eggs isolated from gravid segment , the parasite caused pathogenic effect such as damage of epithelial layer which covered the villi surface.

This study appeared that cisplatin has ahigh activity in killing of protoscolices *In Vitro* which reached for percentage (51.8 , 92.8) % after (1,2) weeks subsequently in concentration (1 mg / ml) in compared with Albendazole drug which reached for percentage (26.2 , 54.2) % when used it in the same concentration .

Also this study improved capability of cisplatin to enter the hydatid cyst *In Vitro* and lethal protoscolices.

Echinococcus granulosus capability for infected mice when inoculated it in 150 egg / mice in two period (3,6) months .

The mice when inoculated with 1500 protoscolices in peritoneum after 2 months from infection formed germinal and laminated layer where the infected mice appeared after (3,4,5) months from infection developed hydatid cysts it was observed the germinal and laminated layer have big diameters proportion with pseudolayer , but it has not protoscolex during this period .

The cisplatin drug effect on the hydatid cyst which result it from secondary infection *In Vivo* . The drug effect by lysis semi complete for

germinal layer and non – arrangement the laminated layer after (1,2,3,4) months from start the treatment by cisplatin compare with Albendazole which it cause relay the hydatid cyst and protoscolex growth .

The cisplatin caused decrease in hydatid cyst number which it isolated from infected mice in contrast with the mice treatment with Albendazole which appeared number of hydatid cyst near from control group .

The histological change in liver of mice treatmented with cisplatin appeared variation in inflammation response but it was less in compared with control group . The infected mice which treated with Albendazole appeared high inflammation response.

The histological effects on the kidney which it was bleeding and necrosis in urinary tubules and the effects and change on the kidney increase with progress infection period .