تأثير عقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي في بيوض وبالغات دودة الكبد العملاقة Fasciola gigantica في الزجاج في محافظة النجف

جميل جري يوسف
كلية التربية للبنات
جامعة الكوفة

الخلاصة:

استهدفت الدراسة أختبار تأثير عقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي في بيوض وبالغات دودة الكبد العملاقة Fasciola gigantica في الزجاج.
اظهرت النتائج أن العقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي تأثيراً معنوياً($P<0.05$) في خفض النسب المئوية لفقس البيوض وزيادة النسب المئوية لهلاك الديدان البالغة كلما زاد تركيز العقار وبالاعتماد على قييم التركيز اللازم لهلاك ٥٠% من الديدان البالغة تبين بان عقار السايكلوسبورين اكثر كفاءة بحوالي ١.٩٠ مرة من عقار الشحمون الخصوي في هلاك بالغات دودة الكبد العملاقة في الزجاج.

وقد اعطت مؤشرات واعده في هذا المجال منها عقار Triclabendazole ضد مكيسات الطفيلي في الجاموس والاغنام(Sanyal,1996;Santra et al. , 1999) وعقار Ivomec-Fضد الديدان البالغة في الاقنية الصفراوية والمرارة والكبد للابقار والاغنام والجاموس (Chompoochan et al., 1998).
لوحظ ان للعقارين السايكلوسبورين Cyclosporine والشحمون الخصوي Testosteroneتأثيراً في الديدان الطفيلية في الزجاج وداخل الجسم الحي للانسان والحيوانات المختبرية. فقد ذكر ان لعقار السايكلوسبورين بجرعة ٢٠ مايكرو غرام/ مل فعالية في تثبيط استنساخ الطور الاغتذائي trophozoite لطفيلي Toxoplasma gondii في الزجاج (Mack & Mcleod, 1984) كما ان لعقار السايكلوسبورين تأثيراً في اختزال ديدان البلهارزيا المعوية Schistosoma mansoni في الفئران التجريبيه(Chappell et al., 1987) كما استعمل عقار السايكلوسبورين كمضاد للبلهارزيا المعوية S. mansoni عند المرضى المصابين بهذه الديدان (Gargione et al.,1998). ودرس (١٩٩٣) Hurd et al تأثير عقار السايكلوسبورين في الرؤيسات الاولية والاكياس العدرية لطفيلي المشوكات الحبيبية Echinococcus granulosus ، في حين اشار Nakazawa et al.(1997) ان ذكور الفئران اقل استعداداً للاصابة بالبلهارزيا المعوية S mansoniمن الاناث وان السبب في ذلك يعزى الى وجود الشحمون الخصوي بمستويات اعلى مما هو عليه في الاناث وذكرMorales-montor et al.(1999) ان نقصان الشحمون الخصوي في مصل الفئران المصابة بالكيسانيات المذنبة الطفيلي Taenia crassiceps يصاحبه زيادة في الاذى المتسبب عن الطفيلي. ونظراً لعدم وجود دراسات حول تأثير العقارين السايكلوسبورين والشحمون الخصوي في الديدان المسببة لمرض تعفن الكبد ،لذا اقترحت هذه الدراسة والتي تهدف الى تقييم فعالية عقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي في البيوض والبالغات لدودة الكبد العملاقة F gigantica في الزجاج.

المواد وطرائق العمل:

١- جمع بيوض دودة الكبد العملاقة F. gigantica

جلبت اكياس الصفراء للابقار والجاموس المصابة طبيعيا بدودة الكبد العملاقة و البالغ عددها ٢٠ كيس صفراء من مجزرة النجف وفتحت الاكياس في مختبر الحيوان/كلية التربية/ جامعة الكوفة حيث غسلت ورسبت محتويات الكيس عدة مرات بالماء المقطر وتم تشخيص البيوض اعتماداً على Kendall(1965) ثم وضعت البيوض المعزولة في دوارق زجاجية مع الماء المقطر.

٢- جمع بالغات دودة الكبد العملاقة F.gigantica

تم الحصول على الديدان البالغة من ٥٠ كيس صفراء للابقار والجاموس المصابة طبيعيا بالطفيلي من مجزرة النجف، واجريت عملية عزل الديدان في مختبر الحيوان /كلية التربية/ جامعة الكوفة،حيث عزلت الديدان من اكياس الصفراء وذلك بفتح الكيس بوساطة سكين حادة داخل اناء معدني وغسلت عده مرات بالمحلول الملحي الفسلجي ٠.٨٥%، كذلك تم الحصول على الديدان الموجودة داخل القنوات الصفراوية وذلك بالضغط بهدوء على الكبد لعزل الديدان منها (Abbas,1980;Boray,1969)، ثم وضعت الديدان البالغة المعزولة في دوارق زجاجية مع المحلول الملحي الفسلجي.

٣- تحضير تراكيز مختلفة من عقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي.

استعمل في هذه الدراسة عقار السايكلوسبورين ٥٠ ملغم/مل المجهز من شركة Novartis السويسرية اذ حضرت تراكيز مختلفة منه باستعمال محلول التخفيف المتكون من ٩:١زيت الزيتون بنقاوة ١٠٠% الى كحول أثيلي مطلق ٩٩.٩% (Chapell et al., 1987) كما استعمل عقار الشحمون الخصوي ١٠٠ ملغم/ مل المجهز من شركة N. V. Organon Oss Holland الهولندية وحضرت تراكيز مختلفة منه بأستعمال سائل التخفيف زيت الزيتون ١٠٠% (Bora & Ahmed,1972).

٤- تجارب الاختبار الحيوي

٤-١- تأثير عقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي في بيوض دودة الكبد العملاقة F. gigantica

استعملت ٤٠٠ بيضة بالنسبة لعقار السايكلوسبورين اذ قسمت الى ٤ مجموعات، كل مجموعة تحتوي على ١٠٠ بيضة، وبدورها قسمت الى ٤ مجموعات ثانوية، كل مجموعة تحتوي على ٢٥ بيضة، كما استعملت ٥٠٠ بيضة بالنسبة لعقار الشحمون الخصوي، قسمت الى ٥ مجموعات، كل مجموعة تحتوي على ١٠٠ بيضة، وبدورها قسمت الى ٤ مجموعات ثانوية، كل مجموعة تحتوي على ٢٥ بيضة، وضعت كل مجموعة في وعاء زجاجي صغير الحجم مع ١٠٠ مللتر من الماء المقطر، اضيفت التراكيز ١٠، ٢٠، ٤٠ مايكروغرام/ مل بالنسبة لعقار السايكلوسبورين والتراكيز ١٠، ٢٠، ٤٠، ٨٠ مايكروغرام/ مل بالنسبة لعقار الشحمون الخصوي ولمدة ٢٤ ساعة، تم تغيير الماء المقطر كل ٤٨ ساعة والى نهاية فترة التجربة، اما مجموعة السيطرة الخاصة بعقار السايكلوسبورين فقد اضيف محلول التخفيف ٩:١ زيت الزيتون الى كحول اثيلي، كما اضيف زيت الزيتون للسيطرة الخاصة بعقار الشحمون الخصوي، تركت مجموعات البيوض في الضلام داخل الحاضنة بدرجة حرارة ٢٥م ولمدة ١٧ يوماً (المياح،٢٠٠٢)

٤-٢- تأثير عقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي في بالغات دودة الكبد العملاقة F. gigantica

استعملت ١٢٠ دودة بالنسبة لعقار السايكلوسبورين، قسمت الى ٤ مجموعات، كل مجموعة تحتوي على ٣٠ دورة التي بدورها وزعت على ٣ مجموعات ثانوية كل مجموعة تحتوي على ١٠ دودة في حين استعملت ١٥٠ دودة بالنسبة لعقار الشحمون الخصوي التي قسمت على ٥ مجموعات كل مجموعة تحتوي٣٠ دودة التي بدورها وزعت على ٣ مجموعات كل مجموعة تحتوي على ١٠ دودة، وضعت كل مجموعة من الديدان في وعاء زجاجي صغير الحجم مع ١٠٠ مللتر من المحلول الملحي الفسلجي، ثم اضيفت التراكيز ٢٥، ٥٠، ١٠٠مايكرو غرام/ مل من عقار السايكلوسبورين والتراكيز ٢٥ ، ٥٠، ١٠٠، ١٢٥ مايكروغرام/ مل من عقار الشحمون الخصوي ،أما مجموعات السيطرة فقد أضيف محلول التجفيف ٩:١ زيت الزيتون الى كحول اثيلي مطلق بالنسبة لسيطرة السايكلوسبورين كما أضيف زيت الزيتون بالنسبة لسيطرة الشحمون الخصوي، سجلت الهلاكات بعد مرور ١٠دقيقة من التعرض الى تراكيز مختلفة من العقاقير ،عدت الدودة ميتة عند عدم قدرتها على تحريك جسمها أو محجمها الفمي أو مخروطها الأمامي (المياح،٢٠٠٢).

٥- التحليل الاحصائي:

أستعمل اختبار تحليل التباين Analysis of variance في تحليل النتائج التي تم الحصول عليها واستخرج اقل فرق معنوي LSD لاستعماله فيما اذا كانت الفروقات معنوية ام لا بالاعتماد علىDaniel(1988) ولغرض الحصول على قييم التركيز اللازم لهلاك ٥٠% (LC50) من الديدان المختبرة تم تطبيق طريقة المربعات الصغرىLeast square method لانحراف القييم واعتمدت هذه القييم في حساب كفاءة العقار (Finney, 1977).

النتائج والمناقشة:

تم اختبار فعالية عقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي وبتراكيز مختلفة على النسبة المئوية لفقس بيوض الطفيلي، فقد اظهرت النتائج المبينة في الجدولين ١، ٢ ان للعقارين تأثيراً معنوياً ($p<0.05$) في خفض النسبة المئوية لفقس البيوض بزيادة تراكيز العقار مقارنة بالسيطرة فقد كان معدل النسب المئوية لفقس البيوض٢١.٤ و ٦١.٢% لعقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي على التوالي، عند المعاملة بالتركيز ٢٠ مايكروغرام/ مل في حين لم يحصل فقس للبيوض في التراكيز ٤٠و٨٠ مايكروغرام/ مل من عقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي على التوالي كما أبدى العقارين تأثيراً معنوياً ($p<0.05$) في زيادة النسب المئوية لهلاك الديدان البالغة، كلما زاد تركيز العقار مقارنة بالسيطرة حيث كان معدل النسب المئوية لهلاك الديدان البالغة ٢٠.٨و ١٠.٢% لعقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي على التوالي عند المعاملة بالتركيز ٢٥ مايكروغرام/ مل في حين كانت النسبة المئوية لهلاك الديدان البالغة ١٠٠% عند المعاملة بالتراكيز ١٠٠و ١٢٥ مايكروغرام/ مل من عقاري السايكلوسبورين والشحمون الخصوي على التوالي(الجدولين ٣ ،٤).

وعند مقارنة كفاءة العقارين في تأثيرهما على الديدان البالغة وبالاعتماد على قييم التركيز اللازم لهلاك ٥٠%(LC50) من الديدان البالغة(جدول ٥) تبين بان عقار السايكلوسبورين اكفأ بحوالي ١.٩٠ مرة من عقار الشحمون الخصوي حيث كان LC50 لعقار السايكلوسبورين ١٨.١٩ مايكروغرام/ مل بينما كان LC50 لعقار الشحمون الخصوي ٣٤.٦٧ مايكروغرام/ مل.

إن قابلية عقار السايكلوسبورين في هلاك المهدبات في البيوض وكذلك الديدان البالغة ربما تعود الى فاعلية هذا العقار في التأثير على انتاج الطاقة من خلال تأثيرة على المايتوكوندريا مسبباً انتفاخها وكذلك زيادة عدد الفجوات في الطفيلي مما يؤدي الى انتفاخه كذلك حدوث ضرر في الغشاء البلازمي لخلايا الطفيلي وانخفاض في المخزون الغذائي(الكلايكوجين) وتحطم في ارضية الخلية (Chappell et al., 1987; Gargione et al., 1998) Matrix اما فاعلية عقار الشحمون الخصوي في تأثيرة في المهدبات داخل البيوض وبالغات دودة الكبد العملاقة ربما تعود الى التأثير السام والمثبط للسلسلة التنفسية المايتوكوندرية للطفيلي(Nakazawa et al., 1997; Fantappie et al., 1999)

نستنتج من خلال هذه الدراسة ان لعقار السايكلوسبورين فعالية كبيرة في هلاك المهدبات داخل البيوض والبالغات لدودة الكبد العملاقة ويليه عقار الشحمون الخصوي في الزجاج.

جدول(١) تأثير تراكيز مختلفة من عقار السايكلوسبورين في فقس بيوض دودة الكبد العملاقة *F. gigantica*

التركيز مايكروغرام/ مل	مدة التعريض بالساعات	عدد البيوض المختبرة	معدل النسبة المئوية لفقس البيوض
سيطرة	٢٤	١٠٠	٨٤.٦
١٠	٢٤	١٠٠	٢١.٤
٢٠	٢٤	١٠٠	٨.٢
٤٠	٢٤	١٠٠	٠
اقل فرق معنوي تحت مستوى ٠.٠٥	—	—	١٠.٦

جدول(٢) تأثير تراكيز مختلفة من عقار الشحمون الخصوي في فقس بيوض دودة الكبد العملاقة *F gigantica*

جدول)٣) تأثير تراكيز مختلفة من عقار السايكلوسبورين في بالغات دودة الكبد العملاقة *F. gigantica*

التركيز مايكروغرام/ مل	مدة التعريض بالدقائق	عدد الديدان المختبرة	معدل النسبة المئوية لهلاك الديدان
سيطرة	١٠	٣٠	٦.٦
٢٥	١٠	٣٠	٦٤.٢
٥٠	١٠	٣٠	٨٥.٢
١٠٠	١٠	٣٠	١٠٠
اقل فرق معنوي تحت مستوى ٠.٠٥	—	—	١٢.٢

جدول(٤) تأثير تراكيز مختلفة من عقار الشحمون الخصوي في بالغات دودة الكبد العملاقة *F. gigantica*

التركيز مايكروغرام/ مل	مدة التعريض بالدقائق	عدد الديدان المختبرة	معدل النسبة المئوية لهلاك الديدان
سيطرة	١٠	٣٠	٨.٣
٢٥	١٠	٣٠	٣٦.٣
٥٠	١٠	٣٠	٦٤.١
١٠٠	١٠	٣٠	٨٣.٨
١٢٥	١٠	٣٠	١٠٠

جدول(٥) التراكيز اللازمة لهلاك ٥٠% لبالغات دودة الكبد ا

نوع العقار	التركيز اللازم لهلاك ٥٠% مايكروغرام/ مل	
السايكلوسبورين	١٨.١٩	
الشحمون الخصوي	٣٤.٦٧	

قيمة التركيز اللازم لهلاك ٥٠% لاقل العقارات ك

* كفاءة العقار= ــ

قيمة التركيز اللازم لهلاك ٥٠% للعقار الاخ

this experiment was to bioassay the effect of estosterone on ova and adults of *Fasciola gigantica*

wed a significant effect for both cyclosporine and epression of the percentage of ova hatching and mortality percentage of adult worms when, an centrations of the drugs.

s of LC50 to the adult worms, it was found that the porine was 1.90 times as that of testosterone.

المصادر

المياح، زهرة عباس حسن(٢٠٠٢). تأثير المستخلص المائي لقشور الرمان في دودة الكبد العملاقة *Fasciola gigantica* رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة البصرة، ١٠١ صفحة.

عبد الرزاق، احلام طارش(١٩٨٨). بعض التأثيرات التي تسببها ديدان الكبد *Fasciola gigantica* في الابقار. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة، ٨٥ صفحة.

Abbas, M. K.(1980). Laboratory studies on some aspects of fascioliasis *Fasciola gigantica* in Iraq. M. Sc. Thesis, Univ. Baghdad.

Altaif, K. I.(1979). Effect of anthelmintic treatment on the performance of Awas sheep in Iraq. Trop. Anim. Hilth. Prod.,11: 241-245.

Bora, A. C. and Ahmed, A.(1972). Effect of glucosteroids and sex hormones on duration of pentobarbitone sleep in mice. Ind. J. pharmacy.,4(4): 233- 237.

Boray, J. C.(1969). Experimental fascioliasis in Australia- In: Advan parasitology, Dawes, B. (Ed.) Acad. Press, London and New York, 7: 95-210.

Chappell, L. H.; Thomson, A. W.; Borker, G. C. and Stuart, W.(1987). Dosage, timing and route of administration of cyclosporine A and nonimmunosuppresive derivatives of dihydrocyclosporin A and cyclosporine C against *Schistosomea mansoni In vitro* and In vivo. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 31: 1567- 1571.

Chompoochan, T .; Nithiuthai, S. and Prasittirat, P.(1998). A field evaluation of Ivomec- F for the treatment of naturally ecquired *Fasciola gigantica* and other gastrointestinal nematode infections in cattle and buffaloes. J. Vet. Med., 28: 49- 59.

Daniel, W. W.(1988). Biostatistics. A foundation for analysis in health sciences, 4thed., John wiley & Sons, Inc.

Eichler, W. D.(1968). Outline of Iraqi parasitology. Trop. Med.(Leipzig), 5:263- 309.

Fantappie, M. R.; Galina, A.; Luis de Mendonca, R.; Furtado, D. Dr.; Secor, W. E.; Colley, D. G.; Correa- Oliveira, R.; Freeman, G. J.; Tompone, A.J.; Lannnes de Camargo, L., and Rumjanck, D. F.(1999). Molecular characterization of a NADH ubiquinone oxidoreductase subunit 5 from *Schistosoma mansoni* and inhibition of mitochondrial respiratory chain function by testosterone. Mol. Cell. Biochem., 202: 149- 158.

Finney, D. J.(1977). Probit analysis, 3rd ed., London- Cambridge, University press, 333pp.

Gargione, C.; Vellosa, S. A.; Hashino- shimizu, S,; okumura, M. and Chiodelle, S G.(1998). Immunosupperssion and parasitic diseases: Experimental *Schistosomiasis mansoni*. Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Sao. Paulo., 53(3): 122- 8.

Hurd, H,; Mackenzie, K. S. and Chappell, L. H.(1993). Anthelmintic effects of cyclosporine A on protoscoleces and secondary hydatid cysts of *Echinococcus granulosus* in the mouse. Int. J. parasitol., 23(3): 315-320.

Kendall, S. B.(1965). Relationships between the species of *Fasciola* and their molluscan hosts. In: Dawes, B(ed.) Advances in parasitology, Acad. Press, London and New York, 3: 59- 95.

Mack, D. G. and Mcleod, R. (1984). New micro method to study the effect of antimicrobial agents on *Toxoplasma gondii:* Comparison of sulfadoxine and sulfadiazine individually and in combination with pyrimethamine and study of clindamycin, metronidazole, and cyclosporine A. Antimicrob. Agents Chemother., 26(1): 26-30.

Morales- Montor, J.; Rodriguez- Dorantes, M. and Cerbon, M.(1999). Modified expression of steroid 5α– reductase as well as aromatase, but not cholesterol side- chain cleavage enzyme, in the reproductive system of male mice during(*Taenia crassiceps*) cysticercosis. Parasitol. Res., 85: 393- 398.

Nakazawa, M.; Fantappie, M. R.; Freeman, G. L.; Eloi- Santots,; Olson, N. J.; Kovacs, W. J.; Secor, W. E. and College, D. G.(1997). *Schistosoma mansoni* susceptibility differences between male and female mice can by mediated by testosterone during early infection. Exp. Parasitol. ., 85: 233- 240.

Santra, P. K.; Prasad, A. and Ghosh, S.(1999). Efficacy of triclabendazole against experimental fasciolias is in lambs. J. Vet. Parasitol., 13: 111- 114.

Sanyal, P. K.(1996). Kinetic disposition and critical efficacy of triclabendazol against experimental bovine and bubaline fascioliasis. J. Vet. Parasitol., 10: 147- 152.

Soulsby, E. J. L.(1982). Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals, 7th ed, Bailliere Tindall, London, 809 pp.

بسم الله الرحمن الرحيم

من المسلم به ان الكون والحياة والتاريخ يتحرك نحو هدف وغاية وينتهي تحت هيمنة الغيب التي تعني الحاكمية وان الكون يدور حول محور الخالقية لذا يسبح له مافي الوجود وهذا يعني ان الحاكمية المدعاة لغيره لا بقاء لها وهي حاكمية جهل وانحطاط وتردي لا رقي فيها ولا تكامل لأنها تتحرك بمعزل عن حركة الكون والوجود.
ولهذا جاء في مقدمة السورة (يسبح لله مافي السموات ومافي الارض) الكل يسبح له سواء كان في السماء او في الارض قال تعالى: (تسبح له السموات السبع والارض ومن فيهن وان من شئ الا يسبح بحمده ولكن لا تفقهون تسبيحهم انه كان حليما غفورا) (١) المهم في المسألة انهم كلهم يسبحون أي هناك حركة واحدة اسمها التسبيح، التي تعني الاعتراف للحاكم والخالق ولكن نوع الاعتراف والخضوع لم يكن نوعاً اخلاقياً ولا مصلحياً وانما خضوع لمخطط فيه العزة والعزة تعني زيف وكذب الادعياء والسلاطين ، ولذا قال تعالى: