بعض التشوهات المظهرية والآفات النسجية المحدثة بعقار الريليف (Relief) في كبد وكلى الأرانب البالغة

عزيز خالد حميد

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

(تاريخ الاستلام: ١٩ / ٥ / ٢٠١١ ---- **تاريخ القبول:** ٢٧ / ٩ / ٢٠١١)

الملخص

صممت الدراسة لتقييم التغيرات المظهرية والافاتالنسجية للجرعات العلاجية وفوق العلاجية في كبد وكلى الأرانب ، استخدمت تسعة أرانب بالغة في هذه الدراسة ، Relief لعقار الريليف وتم تقسيم الحيوانات الى ثلاثة مجاميع ، كل مجموعة متكون من ٣ أرانب المجموعة الاولى كانت مجموعة السيطرة ، المجموعة الثانية كانت المجموعة المجرعة بالجرعة العلاجية وجرع افرادها ١٠,٧ ملغم /كغم /يوم من العقار ، والمجموعة الثالثة هي المجموعة فوق العلاجية التي جرع افرادها ٢١,٤ ملغم /كغم / يوم من العقار . لمدة سبعة ايام لكل جرعة تحتوي على انبوب رفيع ملتوي gavage باستخدام المجرَعة الخاصة Orally وجرعت الأرانب عن طريق الفم لتوصيل العقار الى داخل المرئ وتناولت الدراسة الكبد والكلية واظهرت النتائج حدوث تغيرات مظهرية وافات نسجية تفاوتت في شدتها حسب تركيز الجرعة ومدة التعريض وتناسبت تلك التغيرات طرديا مع التركيز ومدة التعريض وتراوحت التغيرات في الأنسجة بين التنكس وانتفاخ الخلايا وتحللها وتنخر النسيج بصورة عامة وحدوث النزف الشديد في مناطق تحطم الخلايا وتحطم الكبيبات في الكلى وخلايا الصفائح الكبدية .

وقد كانت الجرعة الاقل تأثيراً مع الانسجة هي الجرعة الثانية (١٠,٧ ملغم /كغم / يوم) بينما كانت الجرعة الثالثة (٢١,٤ ملغم /كغم/يوم) هي الاكثر تأثيرا .

المقدمة Introduction

هناك الكثير من العقاقير شائعة الاستخدام تعطي تأثيرات جانبية غير مرغوب بها رغم ضرورة استخدامها كأدوية علاجية ، فالأدوية والعقاقير تعطى للانسان او الحيوان بهدف الحصول على تأثيرات علاجية مرغوبة وللحصول على هذه الاهداف فأن الدواء غالبا ما يتسبب في الكثير من التأثيرات غير المرغوبة او سمية جانبية (١) فهناك عدة تأثيرات جانبية يمكن ان تحدثها المواد الدوائية وان الحقيقة التي يجب التأكد منها هي ان الحدود الفاصلة بين المواد الدوائية والمواد السامة هي خدود غير واضحة المعالم ولكل مادة دوائية تأثير سمي بطبيعة الحال وان الفرق بين الجرعة الشافية والجرعة السامة من أي دواء معين هو فرق ضئيل نسبيا (٢) ان اكثر الناس الذين يدخلون المستشفيات او عند مراجعتهم الاطباء الذين حوالي ٥ % هم من الذين يتناولون الادوية فوق الجرعة العلاجية وان تناول هذه الادوية على المدى البعيد يسبب

حالات خطرة او مميتة بعض الاحيان (٣).

ان الجرعات الواطئة على المدى البعيد تولد تراكم المواد الكيمياوية ، ولهذا فلا توجد مادة غير سامة وتأثيرها يكون بعد فترة من الزمن يعتمد على نوع ، عمر ووزن الكائن الحي .

في الجرعات العالية تهاجم اكثر من مكان في الجسم ولكن في الجرعات القليلة جزيئات المادة تهاجم مكون واحد من المكونات في الجسم (٤) وان الهدف من الدراسة هو ايجاد التغييرات النسجية المحدثة في كبد وكلى الارانب البالغة نتيجة استعمال عقار الريليف(Relief) يمتلك كل فرد من اللبائن بما فيها القوارض والانسان زوجا من الكلى يقعان في الجهة الظهرية من البطن وعلى جانبي العمود الفقري . ونسجيا هي غدة نبيبية مركبة تحاط بمحفظة رقيقة من الانسجة الليفية والكلية متكونة من منطقة خارجية تسمى القشرة cortex ومنطقة داخلية تسمى اللب medulla (٥).

تعمل كل كلية على تنظيم وتوازن السوائل في الجسم وتؤدي الكلية وظيفتين رئيسيتين هما طرح معظم النواتج الضارة للعمليات الايضية والسيطرة على معظم المواد في السوائل الجسمية أي لها القابلية على الامتصاص الانتقائي مثل امتصاص الماء، الكلكوز، الاملاح والايونات التي يحتاجها الجسم من الادرار الموجود في النبيبات البولية من قبل الخلايا الظهارية البطانية في النبيبات البولية (٦) .

المواد وطرائق العمل Materials and methods

تم استعمال ٩ ارانب بالغة بعمر ٦ اشهر بوزن ٥٠٠– ١,٥٠٠ غم وتم الحصول على حيوانات التجربة من معمل الادوية في سامراء (معمل ادوية سامراء لصناعة الادوية والمستلزمات الطبية) ووضعت الحيوانات في اقفاص ذات ابعاد ١٠٠×٥٠×٣٠ سم وكل قفص يحتوي على ثلاث حيوانات.

مجاميع الحيوانات Animal groups

حيوانات هذه الدراسة قسمت الى ثلاث مجاميع كألاتي

١- المجموعة الاولى مجموعة السيطرة وقد جرع افرادها بالماء المقطر فقط

٢- المجموعة الثانية وقد جرع افرادها بالجرعة العلاجية (١٠,٧ ملغم/كغم/يوم) متمثلة بجرعة واحدة يوميا ولمدة اسبوع

٣- المجموعة الثالثة وقد جرع افرادها بالجرعة فوق العلاجية (٢١,٤ ملغم/كغم/يوم) متمثلة بجرعة واحدة يوميا لمدة اسبوع .

التحضيرات النسجيةHistological prepration

شرحت الارانب في اليوم (٨) من بداية التجريع بعد تخدير الحيوانات باستعمال الكلوروفورم وتم شق المنطقة البطنية على شكل حرف (T) واخذت الاعضاء المراد دراستها والمتمثلة بالكبد والكلى وبعدها وضعت العينات من الاعضاء وهي اجزاء صغيرة حوالي (١ سم^3) في انابيب صغيرة sample tubes تحتوي ١٠% فورمالين ولمدة ٧٢ ساعة ثم غسلت العينات بماء الحنفية الجاري لمدة (٣٠) دقيقة لازالة اكبر قدر ممكن من المثبت . ثم سحب الماء بصورة تدريجية بوضع النماذج في التراكيز المتصاعدة للكحول الاثيلي (٥٠% ، ٧٠% ، ٨٠% ، ٩٠% ، ١٠٠%، ١٠٠%) كل منها لمدة (٣٠) دقيقة . استعمل الزايلول النقي في عملية الترويق بوضع النماذج في الزايلول مرتين وفي كل مرة لمدة (٢٥) دقيقة . استعمل شمع البارافين لعملية التشريب ووضعت النماذج في خليط من الزايلول وشمع البارافين وعلى ثلاث مرات على التوالي (½ شمع + ½زايلول) و (¾ شمع + ¼زايلول) وشمع نقي فقط وكل تبديلة (٤٥) دقيقة ، ثم نقلت الى شمع قد صب في قوالب وبعد التشذيب تم التقطيع باستعمال

المقطاع الدوار Rotary microtome بسمك (٧) مايكرون وحملت النماذج النسجية على شرائح زجاجية باستعمال اح ماير Mayer's albuminوصبغت باستعمال كل من صبغة الهارس هيماتوكسلينوالايوسين الكحولي (٧) بواقع (١٠) دقائق في الاولى (١,٥) دقيقة في

الثانية .

الفحص المجهري والتصوير microscopical examination and photographs

فحصت الشرائح ومقاطعها النسجية باستخدام المجهر الضوئي المركب من نوع (altay) وصورت المقاطع النسجية باستخدام كاميرا رقمية (camera digital) من نوع (sony) يابانية المنشأ .

النتائج Results :

التغييرات المظهرية للأعضاء Morphological changes of organs

بينت النتائج وجود تغيرات مظهرية في الكبد عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة (شكل ١) تمثلت بوجود مناطق غامقة اللون واخرى حمراء فاتحة اللون للكبد (شكل ٢،٣) . اما في الكلى فعند مقارنتها بمجموعة السيطرة (شكل ٤) فقد تمثلت التغييرات المظهرية بوجود بقع بيضاء اللون ومناطق غامقة اللون (شكل ٥ ، ٦) .

التغيرات النسجية للأعضاء Histological changes of organs

١ – الكبد Liver

بينت نتائج الفحص النسجي للمقاطع النسجية وجود تغيرات نسجية في الكبد عند مقارنتها بمجموعة السيطرة (شكل ٧) حيث تمثلت هذه التغيرات بالنسبة لمجموعة الارانب المجرعة بالجرعة العلاجية من العقار ، ان هناك افات نسجية في نسيج الكبد شملت التنكس للخلايا الكبدية degeneration وارتشاح الخلايا اللمفية infiltration of lymphocytes وتحلل الانويةkaryolysis وانتفاخ الجيبانيات swelling sinusoid (شكل ٨) اما بالنسبة لافراد المجموعة الثالثة المجرعة بالجرعة فوق العلاجية فقد تبين من نتائج الفحص النسجي للمقاطع النسجية حصول افات نسجية الا انها كانت اكثر حدة من الجرعة العلاجية شملت حصول نزف في نسيج الكبد وارتشاح الخلايا الالتهامية وحدوث النخر necrosis

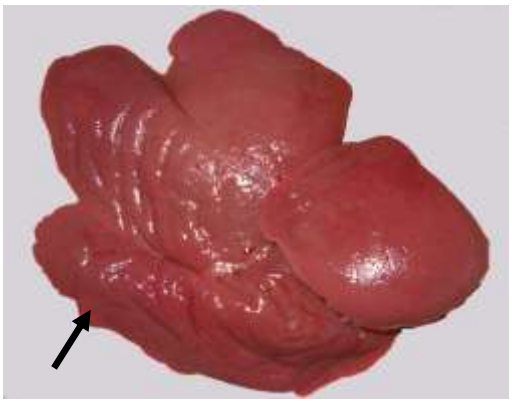
وتنكس الخلايا الكبدية واتساع الجيبانيات وفي بعض الاماكن تندمج مع مناطق التنخر فتشكل مناطق فجوية (شكل ٩)

٢ – الكلية kidney

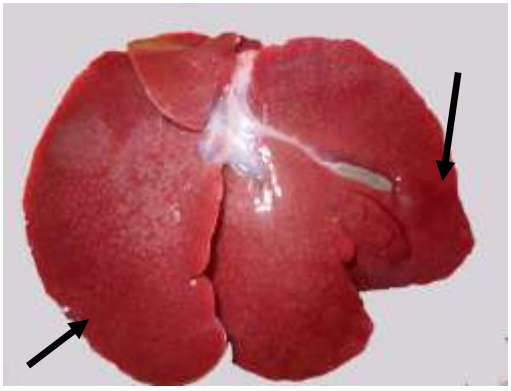
بينت النتائج وجود تغييرات نسجية في الكلى عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة (شكل ١٠) حيث تمثلت هذه التغيرات بالنسبة لمجموعة الارانب المجرعة بالجرعة العلاجية حصول افات نسجية تمثلت بحصول ضمور الكبيبات atrophy of glomeruli وتلف في الانابيب القريبة والبعيدة damaged tubes في الكلية وحصول نزف (شكل ١١) .

اما بالنسبة لافراد المجموعة الثالثة المجرعة بالجرعة فوق العلاجية فقد بين الفحص النسجي للمقاطع النسجية حصول افات نسجية بليغة وكانت اكثر حدة مما سجلت في مقاطع افراد المجموعة المعاملة بالجرعة العلاجية وتمثلت بحصول تنكس للانابيب القريبة والبعيدة بحيث اصبحت مناطق فجوية ونزف في هذه المناطق وحصول ضمور ونزف في الكبيبات وتقشر او انسلاخ desquamation الخلايا الظهارية الموجودة في بطانة النبيبات البولية القريبة والبعيدة ، بحيث تظهر مجموعة هذه الخلايا في وسط الانيبيبات وتلف الغشاء القاعدي لهذه الخلايا besment membrane (شكل ١٢) .

شكل (١) كبد مجموعة السيطرة (Control)

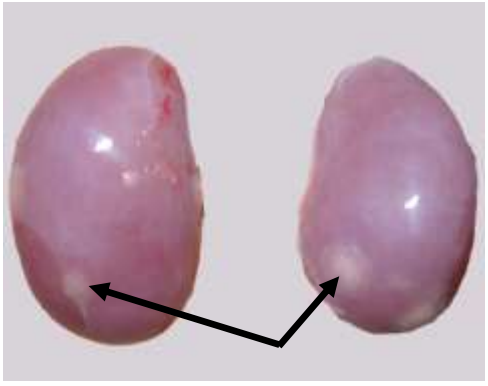


شكل (٢) كبد المجموعة العلاجية يوضح احمرار بعض المناطق (السهم)



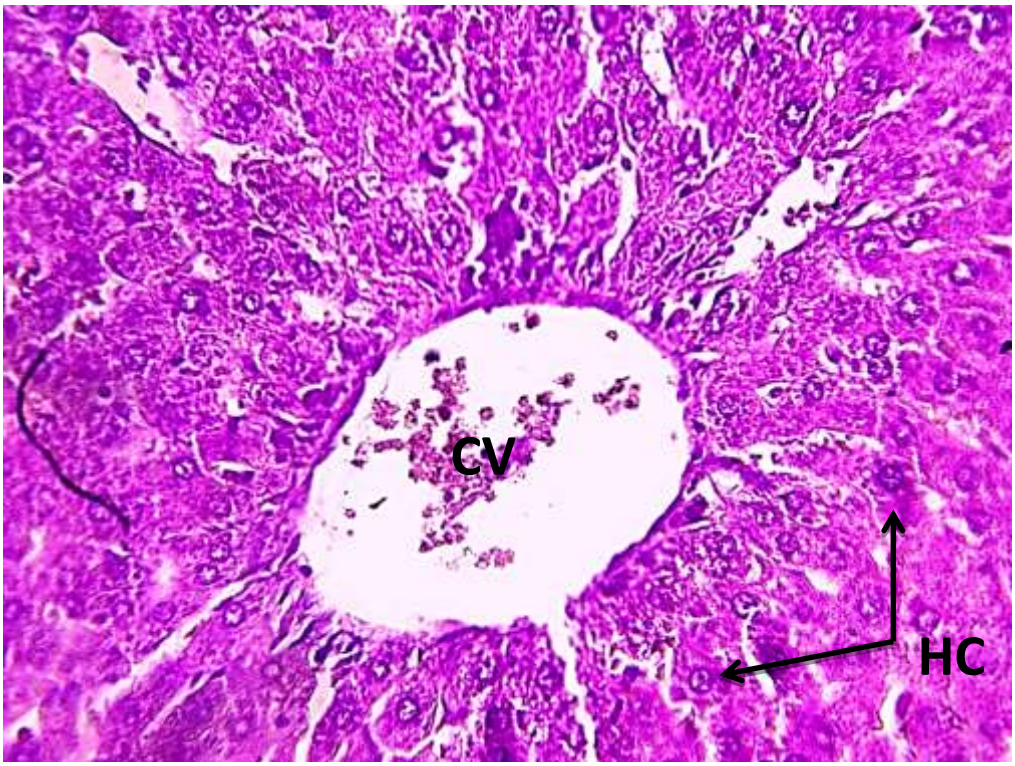
شكل (٣) كبد المجموعة فوق العلاجيةيوضح احمرار بعض المناطق (السهم)

شكل (٤) كلية مجموعة السيطرة (Control)

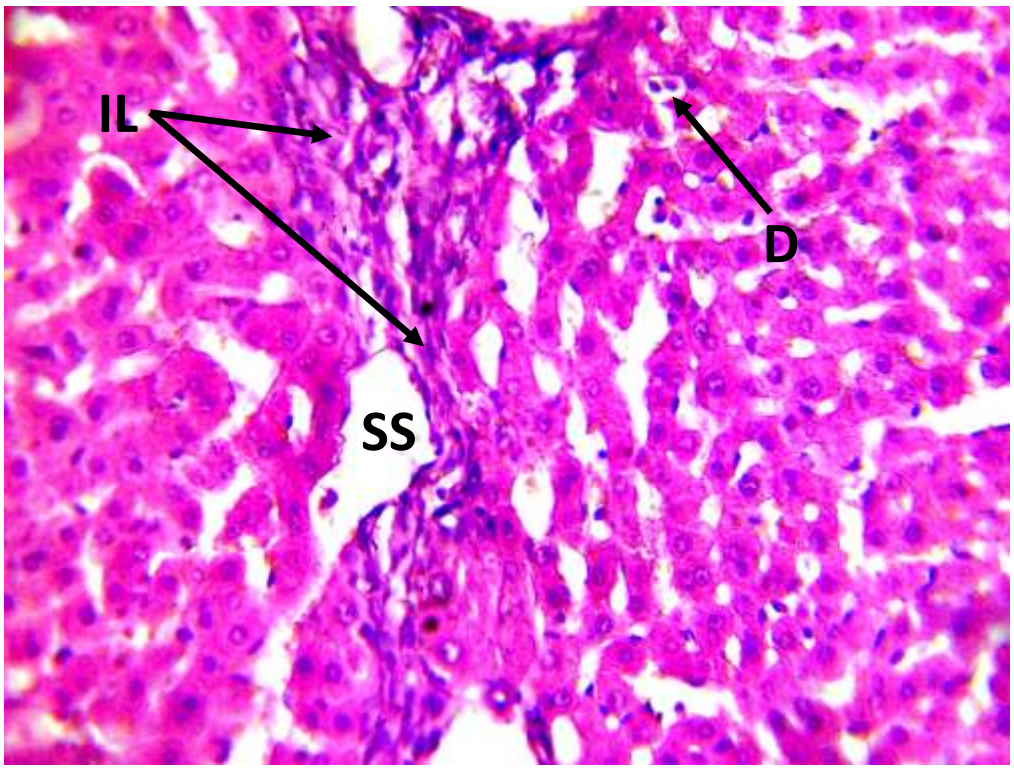


شكل (٥) كلية المجموعة العلاجية توضح وجود بقع بيضاء اللون (السهم)

شكل (٦) كلية المجموعة فوق العلاجيةتوضح وجود مناطق غامقة اللون (السهم)

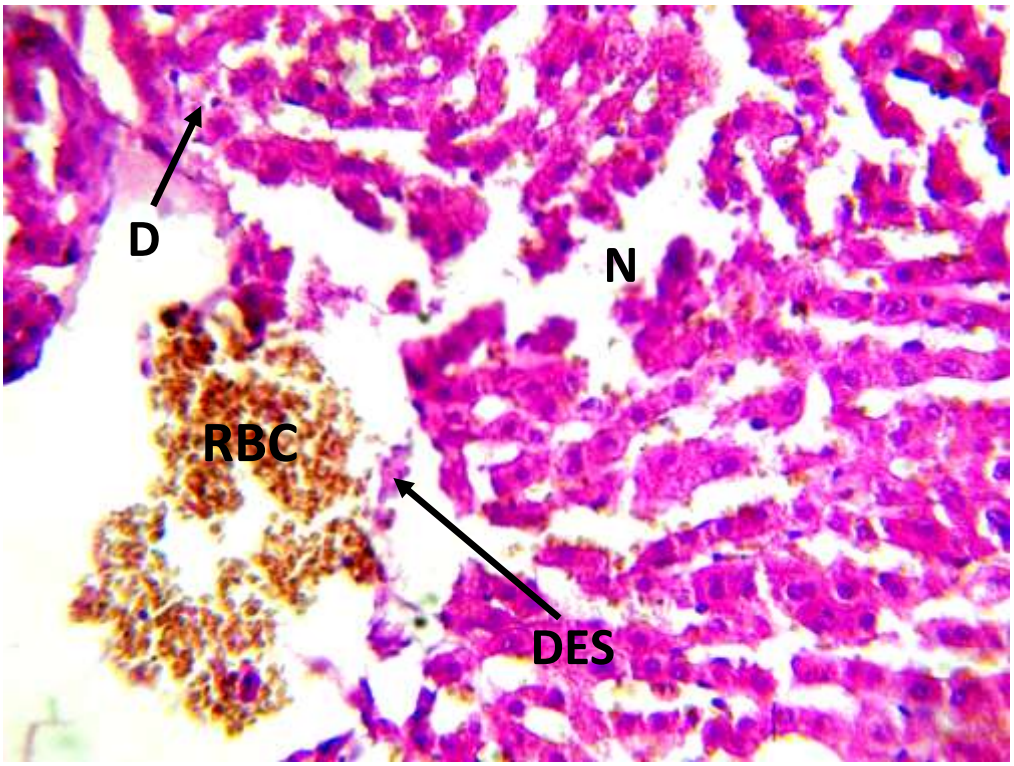


شكل (٧) لكبد ارنب غير معامل توضح ترتيب الصفائح الكبدية حول الوريد المركزيCVو الخلايا الكبدية HCالصبغة: H&E، X٤٠٠



شكل (٨) لكبد المجموعة العلاجية يوضح ارتشاح الخلايا اللمفية ILوتنكس (D) الخلايا الكبدية وتوسع الجيبانيات (SS) الصبغة: H&E، X٤٠٠.

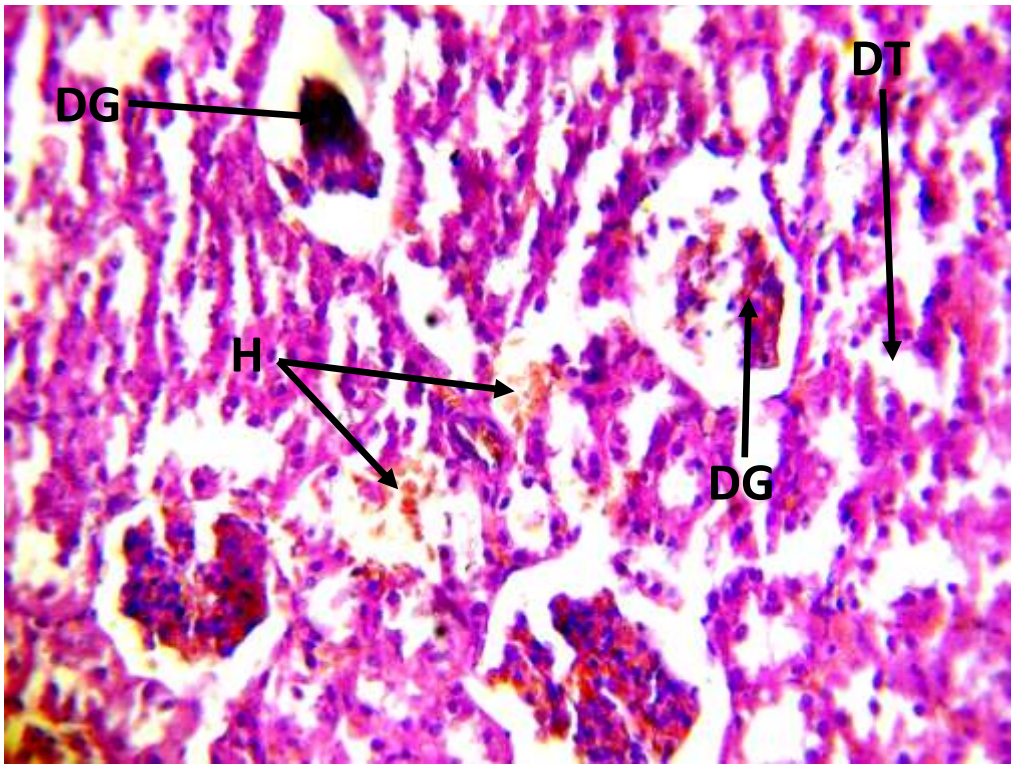
CV: Central Vein	HC: Hepatocytes	D: Degeneration
SS: Swelling Sinusoids	IL: Infiltration of Lymphocytes	



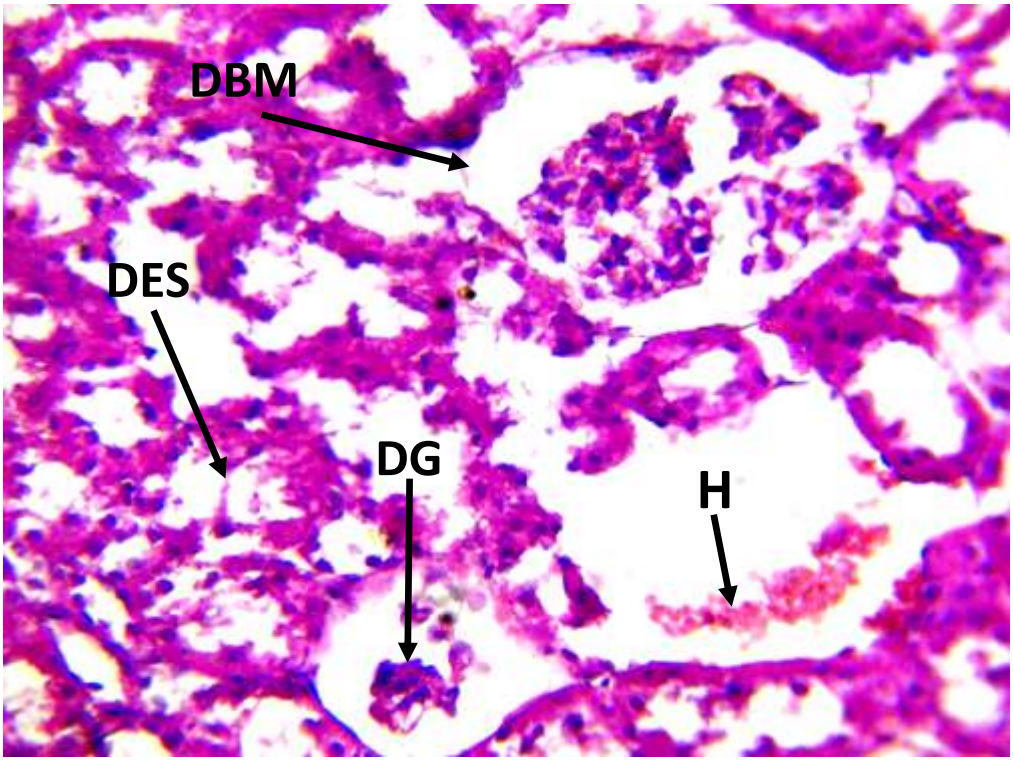
شكل (9) لكبد المجموعة فوق العلاجية يوضح تنكس (D) ، تنخر (N) الخلايا الكبدية و تجمعكريات الدم الحمر(RBC) وانفصال الخلايا الظهارية (البطانية) للوريد المركزي (DES)الصبغة: H&E، ٤٠٠X.

شكل (١٠) لكليةارنب غير معامل توضح الشكل الطبيعي للكبيبة (G) والنبيباتالجامعة (CT) الصبغة: H&E، ٤٠٠X

D: Degeneration	N: Necrosis	G: Glomeruli
CT: Convoluted Tubules	DES: Desquamation of endothelium	



شكل (11) لكلية المجموعة العلاجية يوضح ضمور الكبيبات(DG) وتنكس النبيبات الجامعة (DT) ونزف دموي (H)الصبغة: H&E، X٤٠٠.



شكل (12) لكلية المجموعة فوق العلاجية يوضحضمور حاد للكبيبات(DG) وتحطم الغشاء القاعدي (DBM) وانفصال الخلايا البطانية (DES) ونزف دموي (H)الصبغة: H&E، X٤٠٠.

DG: Atrophy of Glomeruli DT: Damage of Tubules

DES: Desquamation DBM: Damage of Basement Membrane H: Hemorrhage

المناقشة Discussion

ان الارانب المعاملة بعقار الريليف تظهر تغييرات سلوكية من التعب والانطواء وقلة تناول الطعام وشرب الماء والميل الى النوم وان هذه ظهرت في الجرعات العلاجية وفوق العلاجية ولكن كان اكثر في الجرعات فوق العلاجية ، وهذا يتفق مع تعريض الكلاب للسغبstarvaition يوميا حيث يظهر الكلاب أكثر تعبا من الكلاب المعرضة للسغب بين يوم واخر (٨) وعند تعريض الارانب الى غاز الفورمالديهايد تظهر قليلة الحركة مع قلة تناولهم الطعام وشرب الماء (٩) ومن الاثار الجانبية لعقار الباراستيمول هو الذي يتضمن فقدان الشهية وظهور التعب على الحيوانات التي تجرع بعقار الباراستيمول (١٠) ان اختلال عمل الكبد قد يحرمه من المغذيات الضرورية مؤديا الى نقصان الوزن وظهور التعب ان الجرعة الزائدة من عقار الباراستيمول تسبب الوفاة للحيوانات ، فعند اعطاء ذكور الجرذان ١٠٠٠ ملغم/ كغم /يوم من الباراستيمول لوحظ حصول تغيير في مستوى الانزيمات في الكبد مع نضوب الكلوتاثيون (١١) ان التسمم بالجرعة العلاجية لعقار الريليف يعود الى الخلل في فعالية انزيمات الكبد ، وسوء التغذية وفعالية cyt p450 (عن طريق هذا الانزيم يتأكسدالباراستيمول الى مركب سام) وتزال السمية عن طريق الكلوتاثيون وهي من الوسائل الدفاعية الوقائية التي توجد داخل الخلية ، اما اذا لم تزال السمية فأنه يرتبط مع الخلايا الكبدية ويسبب تنخرها (١٢). والباراستيمول يقلل من مستوى الكلوتاثيون وبذلك تضعف مقاومة الخلايا الكبدية للمواد السامة وبالتالي تموت الخلايا ويتليف الكبد ، وتتشتت البوليمرات وتتراكم الكلسريدات الثلاثية في بيوت الطاقة mitochondria مع تلف الاعراف وانحلال العضيات والنواة (4) .

تمثلت الافات النسجية في ارتشاح الخلايا اللمفاوية وتجمعها ، تنخر الصفائح الكبدية ، تنكس الخلايا مع حصول نخر فجوي في الخلايا وجدران الاوعية الدموية وهذا ناتج عن نشاط الكبد الايضي حيث يزداد عند تعرضه للمواد السامة اثناء عملية ازالة السموم detoxification لغرض موازنة الاجهاد الناتج من فعل السموم وهذه الزيادة لاجل تحرير الطاقة من مصادرها مثل الكلكوز تكون مصحوبة بموت الخلايا وتحللها والتنخرفالأجزاء الصغيرة يتخلص منها بواسطة الخلايا البلعمية والباقي يصبح مع السائل اللمفي ويدخل اللمف والاوردة (١٣) .

ان السموم تغير من نفاذية الغشاء الخلوي بسبب تأثيرها على تراكيب الاغشية ونفوذيتها تكون غير طبيعية إما تمنع بعض المواد مثل مصادر الطاقة (الكلكوز) من الدخول او ان النواتج الايضية تمنع من الخروج وتكون هذه مصاحبة مع جذور حرة وتتفاعل مع مركبات معقدة تؤثر على الخلايا ومركباتها ويسبب التنخر وموت الخلايا (١٤،١٥).

وقد اشار الباحثون ان المواد السامة تؤدي الى انتفاخ النبيبات البولية حيث تكون الخلايا كبيرة الحجم وذات سايتوبلازم حبيبي وفي بعض الاحيان يؤدي هذا الانتفاخ الى انسداد تجويف النبيبات البولية وبالتالي يؤدي الى تنخر الخلايا بسبب ترسب الكالسيوم وهذا ناتج عن نقص الاوكسجين الذي يعيق عمل المايتوكوندريالانتاج الطاقة (ATP) للعمل على موازنة الضغط الازموزيويحدث خلل في وجود الصوديوم الذي يؤدي تخلخل الضغط وتجمع السوائل في الخلايا وكذلك تنخرالنبيبات ناتج عن وجود مواد لها الفة نحو الكالسيوم وقد اقترح بان حامض الفوسفوريك والحوامض الدهنية لها دور في التكلس الحادث في خلايا الكلية (١٦) .

ومن المواد السامة المستعملة لتوضيح دور الكلى ايضا هي معاملة الفئران البيض بالميثانول حيث لوحظ حدوث تنخر مع تغير في التركيب النسجي للكلية وازدياد التنخر وتغير النسيج مع طول فترة المعاملة وان البرولاكتين يؤثر على الوظيفة الكلوية للجرذان بصورة مباشرة عن طريق النفرون الكلوي أو بصورة غير مباشرة عن طريق التأثير في معدل جريان البلازما ومعدل الترشيح الكبيبي (١٧) وان ضمور الكبيبة وتلف الخلايا البطانية في النبيبات البولية ونخر الخلايا من استعمال المسكن الريليف (Relief) هي مطابقة لهذه الدراسات التي اجريت وان هذا المسكن يستعمل بشكل واسع بين افراد المجتمع وخاصة عندما يكون هناك صداع ويؤخذ هذا المسكن اكثر من الجرعة العلاجية وباستمرار .

المصادر References

١. **الشاعر ، عبد المجيد والطالب،ربى وقطاش ، رشدي (2004)** .علم الدواء ، الطبعة العربية .دار اليازوري العلمية للنشر والتوزيع ، عمان –الاردن:ص .172.

٢. **حمزة،لمياء. (2003)**علم الدواء .دار يافا العلمية للنشر والتوزيع , عمان-الاردن:ص . 184-21

٣. **عفيفي ، فتحي عبد العزيز.(2000)**اسس علم السموم ، الطبعة الاولى .دارالفجرللنشروالتوزيع –القاهرة :ص . 36

٤. محمد ، عبد الله ابراهيم (٢٠٠٢) . علم السموم اسس ومفاهيم ، الطبعة الاولى . دار الكتب الوطنية ، جامعة قاريونس _بنغازي : ص ٢١٧-٣٥٧ .

5. Faller , A.; Schuenke ,M . and Schuenek , G (2004) the human body : an introduction to structure and function . thieme , stuttagart , New york . pp: 423 – 426 , 442 – 452.

6. Watson , R. (2000) Anatomy and physiology for nurses . 11th ed . Elsevier science , China . pp : 303 – 340 .

7. **Bancroft,** J.D. & Stevens A. 1987. Theory and practice of histological techniques. Edinburgh: Churchill Livingston. Pp: 482-502.

8. Mueller , L . (1995). The countrys top traners offer their nutrients for keeping dogs hunting hard all season . out door life .196 – 78 .

9. Kamata , E.; Nakadate , M.; Uchida , O.; ogaway , Y.; Suzuki , S.; Kaneko , T.; Saito , M. and

14.Hinton , h. and girgis , F.(1993) liver ultrastracture alteration accompanying chronic toxicity in rat . Bull. Environ . Toxicol. A87:81-89 .
15.Davidson, D.G.D. and Eastham, W.N. (1996).Acute liver necrosis following overdose of paracrtamol. Br, J ,Med,2:497- 499 .
16.Morrissey , S.E.; New th , T.; Rees, R.; Barr, A.; Shora, F. and Laycock , J.F.(2001) . Renal effects of recombinant prolactin in anaesthetized rat.Eur . J . Endocrinol. 145:6 – 71
17.Howard , T . and Karsener , M . D. (1986) . Human pathology , School of medicine Western , Reserve University , Cleveland , OHIO , pp . 30 – 42 , 77 – 90 .
kurokawa, Y.(1997) . Results of a 28 month chronic in halation toxicity study of formaldehyde in male fisher – 344 rats .J , Toxicol . Sci , 22 (3) : 54-239 .
10.Boutis , K. and Shannon , M. (2001) . Nephrotoxicity after acute severe acetaminophen poisoning in adolescents . J, toxicology clintoxicol , 39 (5) : 5-411 .
11.Strngth , M. (2007) .Effect of sesame oil against acetaminophen –Induced acute oxidative hepatic damage in rat s .J, shock . 9358 (9293) : 1612 .
12.Curitchely , J.A.J.; Nimmo , G.R.; Gregson , C. A.; woolhouse , N.M.and Prescott , L.F. (1986) .Inter subject and ethnic differencecs in paracetamol metabolism . Br, J, clin pharm , 22:649-657 .
13.Murray ,R.K.; Granner, D .K.; Mayes , P. and Rodwell, V.W. (2003). Harpers illustrated biochemistry 26th edalange .

Some morphological and histological malformation induced of Relief drug on liver and kidney of adult rabbit

Aziz khalidhameed
Dept.. of Biology , College of Science , Tikrit University , Tikrit , Iraq
(**Received:** 19 / 5 / 2011 ---- **Accepted:** 27 / 9 / 2011)

Abstract
This study was desined to evaluate the morphological change and histological malformation for therapeutic and over therapeutic doses of Relief drug in liver and kidney of the rabbit .
Nine rabbits were used in this study and divided in to three groups , each group consis of three rabbit first group was used as acontrol group , second group was treated therapeutic dose at adose 10.7 mg/kg/day of the drug . third group was treated with over therapeutic dose atadose 21.4 mg/kg/day of the drug seven days for each dose the groups were given the drug orally inside the esophagus by using gavage that consist of delicate bent or curved tube.
In this study liver and kidney were taken in the results reveal morphological changes in histological malformation disparate in their stringency according to concentration in duration of the dose , these changes in direct proportion forward with the concentration and duration of the doses , these tissues changes includes degeneration, cells swelling , histolysis and necrosis of the tissues , in general severe hemorrhage happened in the damaged cells regions, in the damaged glomeruli of the kidney and hepatocytes cells of the liver .
The therapeutic dose second dose 10.7 mg/kg/day was the less effective while the over therapeutic dose (21.4 mg/kg/day) was most effective.