تقييم فعالية عقار Cisplatin تجاه الاصابة بداء الوريقات Fascioliasis ودراسة التاثيرات النسجية المصاحبه لها في الفئران المختبرية

عذراء عبدالأميرعزيزالحلفي ومسلم عبد الرحمن محمد

قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة البصرة

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تقييم فعالية عقار الـ Cisplatin في الاصابة بطفيلي *Fasciola gigantica* داخل الجسم الحي ودراسة تاثيراته النسجية على الكبد والكلية . سببت اصابة الحيوانات عند تجريعها فموياً بـ 25 متكيسة/ فأر بعد شهر من الاصابة حدوث مسارات Tracks للطفيلي داخل متن الكبد وتلف في الاوعية الدموية، ووجد ان لعقار Cisplatin تاثير على الاصابة داخل الجسم الحي فقد سبب العقار موت الطفيلي داخل متن الكبد وخفض التاثيرات النسجية على الكبد والكلية بالمقارنة مع العينات المصابة فقط .فقد لوحظ تجمع كثيف للخلايا الدفاعية وتنخر الخلايا الكبدية عند استخدام العقار بجرعة واحدة بينما تعرضت اكباد الحيوانات المصابة المعاملة بجرعتين الى تغيرات نسجية تمثلت بوجود اجزاء متحللة من الطفيلي اسفل كبسولة الكبد وظهرت التاثيرات على الكلية متمثلة في انكماش الكبيبة وتحلل في النبيبات البولية

المقدمة

تعد امراض المثقوبات Trematoda من المشاكل الصحية الخطرة وخاصة في جنوب شرق اسيا وغربها وفي افريقيا (Mas-Coma *et al*.,1999) .

ينتج مرض داء الوريقات Fascioliasis عن الاصابة بطفيليات جنس *Fasciola* ،ويعد من اهم الاصابات الطفيلية في المجترات والانسان (Hurtrez-Bousses *et al*.,2001)

وينتشر المرض في المناطق التي تتوفر فيها المضائف الوسطية وتكون من النواعم عادة Molluscan وتحتاج لتطورها فترة 5–7 اسابيع لتصل الى طور المذنبة cercaria التي تتكيس على الغطاء الخضري(Andrews,1999) .

تنتقل الاصابة الى المضيف النهائي مسببة تغيرات مرضية قسمها العلماء الى الطور الحاد Acute phase ويبدا عندما تصل الديدان الفتية الى النسيج الحشوي للكبد ويتميز بالموت السريع للحيوان المصاب (Hurtrez-Bousses *et al*.,2001) والطور المزمن Chronic phase الذي يبدأ عندما تصل الديدان الى القنوات الصفراوية ويتميز بفقدان الوزن في الحيوانات فضلاً عن قلة في انتاج الحليب وخفة وزن الصوف كما يحدث الهزال Cachaxia في حالات الاصابة الشديدة (Saba *et al*.,2004) وتصاحب هذين الطورين اعراض مرضية خطيرة قد تؤدي الى موت المضيف.

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

الا ان عقار Triclabendazole اكثرها فاعلية ولكن لوحظ ان طفيلي *Fasciola* بدء يطور مقاومة ضد هذا العقار ،كما ويستخدم عقار Praziquantal لعلاج كل انواع اصابات الانسان بالمثقوبات ويمتاز هذا العقار بفعاليته غير الثابته (Savioli *et al*.,1999)

تعد المقاومة التي تظهرها الديدان ضد الادوية المستخدمة احدى اهم العقبات التي تقف بوجه السيطرة على انتشار هذا المرض الامر الذي يتطلب استمرار البحث عن علاجات اكثر فعالية وباقل سمية من العلاجات السابقة (Wolstenholme *et al*.,2004)

لذا طور الباحثين انتاج علاجات بديلة مثل ماقامت به الحلفي (2008) من دراسة تاثير عقار Cisplatin في علاج الاكياس العذرية ووجدت ان العقار سبب تحلل الطبقة المولدة المكونة

للاكياس العذرية. كما درست النزال (2005) التاثير العلاجي لعقار Rafoxanide على الاصابة بطفيلي *Fasciola gigantica* وقد سبب العقار شفاء الحيوانات.

وهدفت الدراسة الحالية اختبار تاثير عقار Cisplatin في الاصابة بطفيلي *Fasciola gigantica* .

المواد وطرائق العمل

جمعت القواقع من احد فروع شط العرب في منطقة كرمة علي ، شخصت على انها *Lymnaea auricularia* بالاعتماد على صفاتها التشخيصية Kendall and Parafit ,(1999) نقلت القواقع الى المختبر وربيت في احواض زجاجية لاعطاء جيل مختبري من القواقع ، جمعت عينات بيوض طفيلي *Fasciola gigantica* باخذ اكياس الصفراء من الابقار والجاموس المصابة والمذبوحة في مجزرة البصرة العصرية بعد ان فحصت اكبادها وشخصت الاصابة مبدئياً بالاعتماد على بعض الصفات المظهرية ، نقيت البيوض Wilson and Dension ,(1980) وشخصت بالاعتماد على صفاتها التشخيصية Kendall,(1965)

فقست البيوض بعد حضنها في الظلام لمدة 17 يوماً بتعريضها الى مصدر اضاءة لتحفيز اطلاق المهدبات واصيبت اربع مجاميع من القواقع المختبرية تجريبياً وباعداد متباينة من المهدبات 1 و5 و10 و20 مهدبة لكل مجموعة على التوالي وذلك بوضعها منفردة في غرف وعاء التسحيح المجهري ولمدة ثلاثة ساعات بعدها نقلت الى احواض خاصة بعد مرور 40 يوماً فحصت لملاحظة اطلاق المذنبات .

اصيب في التجربة الحالية 15 فاراً سلالة Balb\C تراوحت اوزانها بين (20 –25) غم فموياً بواقع 25 متكيسة \ فار .

قسمت الحيوانات المصابة الى ثلاثة مجاميع وكل مجموعة مؤلفة من 5 فئران . حقنت المجموعة الاولى بـ100ملغم/م^2 من Cisplatin عن طريق الحقن الوريدي بجرعة واحدة بعد

اسبوع من الاصابة .اذ حقنت المادة عن طريق وريد الذنب. وحقنت المجموعة الثانية بـ100ملغم/م^2 منCisplatin اسبوعياً ولمدة اسبوعين . وتركت المجموعة الثالثة بدون معاملة للعقاركمجموعة سيطرة بعد معاملتها بالمحلول الفسلجي 0.02 مل . شرحت الحيوانات بعد شهر من بدء الاصابة واخذت اجزاء من الكبد والكلية وثبتت بـ 10 % فورمالين لغرض الدراسة النسجية .

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

النتائج:

الدراسة النسجية

الكبد

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

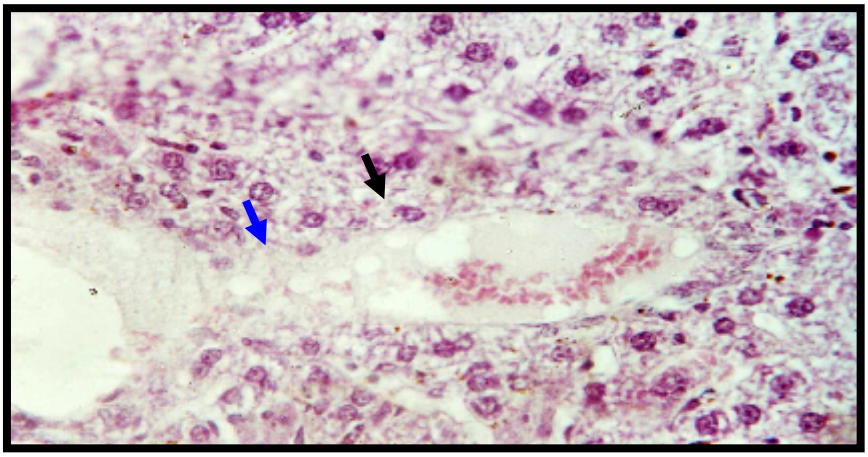
كما لوحظ تجمع كثيف للخلايا الدفاعية حول الوعاء الدموي مع تنخر بعض الخلايا الكبدية في اكباد الحيوانات المصابة المعاملة بجرعة واحدة من العقار (صورة2)

بينما تعرضت اكباد الحيوانات المصابة المعاملة بجرعتين من العقار الى تغيرات نسجية تمثلت بوجود اجزاء متحللة من الطفيلي اسفل كبسولة الكبد(صورة 3) وسببت هجرة الطفيلي حدوث مسارات للطفيلي مليئ بكريات الدم الحمر (صورة 4)

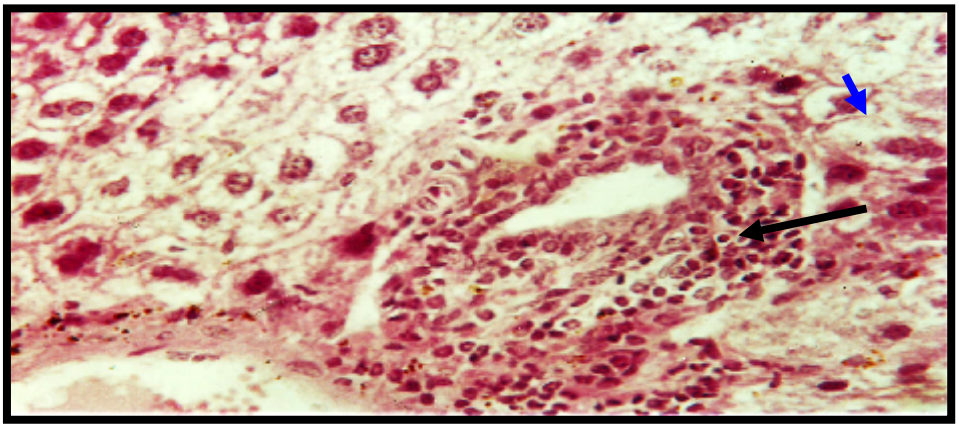
الكلية

بينت نتائج الفحص النسيجي لكلى الحيوانات المصابة وغير المعاملة خلال فترة التجربة تغيرات مرضية نسجية ظهرت على شكل انحلال محدود في بعض خلايا النبيبات الكلوية (

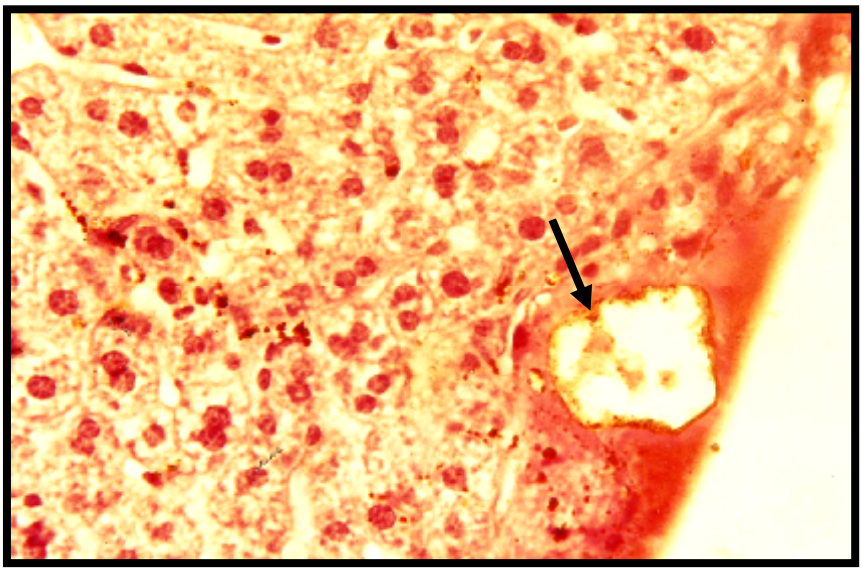
صورة 5) واظهرت نتائج الفحص المجهري لكلى الحيوانات المصابة المعاملة بجرعة واحدة من العقار وجود تغيرات مرضية تمثلت في انكماش الكبيبة وتحلل في النبيبات البولية (صورة 6) ظهرت التغيرات المرضية على كلى الحيوانات المصابة المعاملة بجرعتين من العقار على شكل انحلال في النبيبات الكلوية (صورة 7)



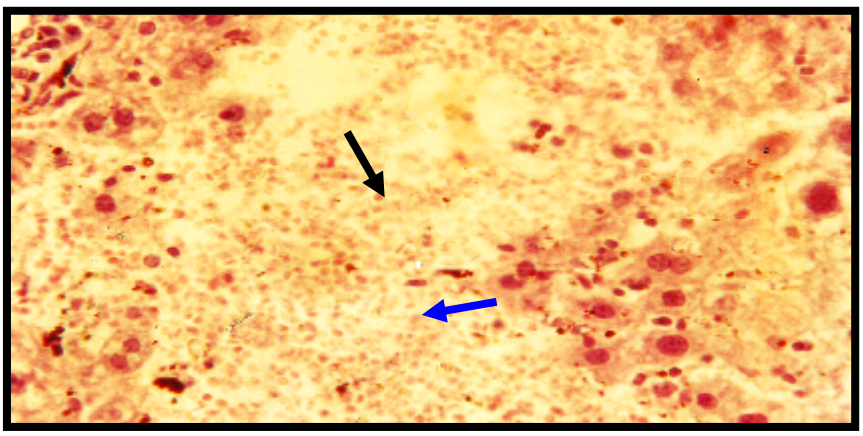
صورة (1):مقطع في كبد فار مصاب يظهر فيه مسار الطفيلي وحدوث تلف في الاوعية الدموية الشعرية(←) وتحلل بعض الخلايا الكبدية(←) صبغة (H.E) . X 475



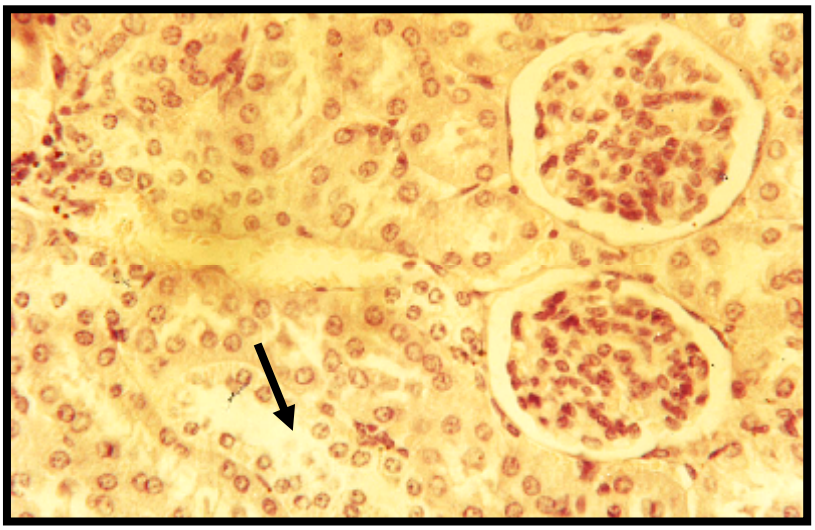
صورة(2):مقطع في كبد فار مصاب معامل بجرعة واحدة من عقار Cisplatin يظهر فيه تجمع كثيف للخلايا الدفاعية (←) حول الوعاء الدموي مع تنخربعض الخلايا (→) **صبغة (H.E) . X 475**



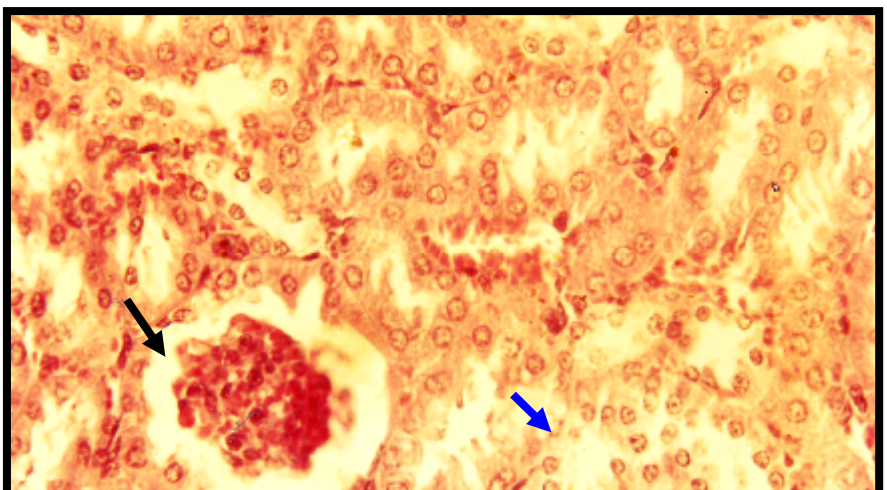
صورة (3)مقطع في كبد فار مصاب معامل بجرعتين من عقار Cisplatin يظهر فيه اجزاء متحللة من الطفيلي اسفل كبسولة الكبد(⟶) **صبغة (H.E) . X 475**



صورة (4): مقطع في كبد فار مصاب معامل بجرعتين من عقار Cisplatin يظهر فيه مسار كبير للطفيلي (
) مليئ بكريات الدم الحمر ( ) صبغة (H.E) . X 475

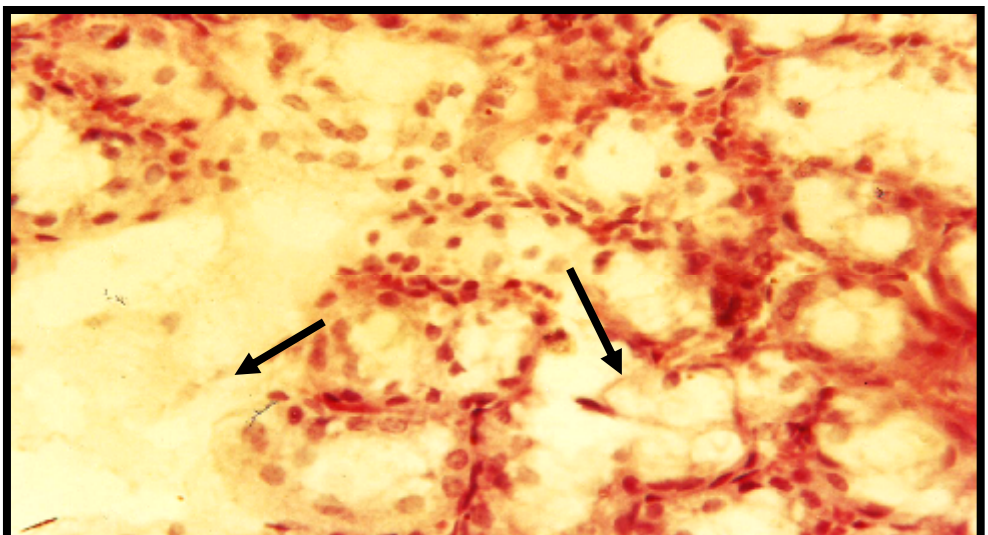


صورة(5):مقطع في كلية فار مصاب يظهر فيه انحلال محدود في بعض خلايا النبيبات الكلوية (
) صبغة (H.E) . X 475



صورة(6):مقطع في كلية فار مصاب معامل بجرعة واحدة من عقار Cisplatin يظهر فيه انكماش الكبيبات (

)وتحلل النبيبات البولية( )صبغة (H.E) . X 475



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

المناقشة

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

ولوحظ تاثير العقار في المقاطع الخاصة بالكبد من خلال انحلال سايتوبلازم الخلايا وقد يعود ذلك الى ان عقار الـ Cisplatin يتميز بقابليته على ايقاف عملية تصنيع البروتين من خلال ارتباطه مع DNA ومنع عملية استنساخه (Baek *et al.*, 2000) اذ يرتبط البلاتين مع الكوانين GPG او يرتبط مع الادنين والكوانين GPA وهي الميكانيكية التي يعتمد عليها المركب في القضاء على الامراض الخبيثة (Fuertes *et al.*,2003).

وكان تاثير العقار اكثر فعالية عند معاملة الحيوانات بجرعتين فقد ابدى العقار فعل قاتل للطفيلي اذ سبب موت الطفيلي اثناء هجرته في الكبد ولوحظ الطفيلي بحالة متقدمة من التحلل مما يدل على موته المبكر.

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

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

وقد ادى استخدام العقار الى حدوث تنخرات مختلفة الشدة بالاعتماد على مدة المعالجة كما ان الاصابة تؤثر على الكلى وان هذه التغيرات تزداد بتقدم الاصابة كما أثبتت العلي (2003) وجود إرتباط بين شدة التغيرات المرضية في اعضاء الحيوانات المصابة و أعداد الطفيليات الموجودة فيها وعمر الإصابة ،فقد أظهرت الحيوانات في الأسبوع الثامن من الإصابة تغيرات

مرضـــية شـــديدة مقارنـــة مـــع الأســـابيع الأولـــى مـــن الإصـــابة وفســـر هـــذا مـــن قبـــل Tliba *et al.* (2000) بحصول زيادة في المنتجات الإفرازية – الإبرازية وعدد التقرحات

الموجـودة بالكبـد وحجمهـا بتقـدم العمـر ، وأن هـذه المنتجـات والتقرحـات سـتحث تجمـع الخلايـا الدفاعية .

المصادر العربية

- **الحلفـــي ، عـــذراء عبـــد الاميـــر عزيـــز.(2008)** . دراســة مقارنــة لتــأثير عقــاري الــ Cisplatin والـــ Albendazole فـــي الأصـــابة بـــداء الأكيـــاس العدريـــة Echinococcosis فـي الفئـران المختبريـة سـلالة Balb/c .رسـالة ماجسـتير –كليـة العلوم– جامعة البصرة .85صفحة
- **العلـــي، شـــيرين جـــواد (2003)**. تحضـير مستضـدين لطفيلـي دودة الكبـد العملاقـة *Fasciola gigantica* (Cobbold, 1856) مـع دراسـة كفاءتهـا المستضـدية فـي التشخيص المصلي للإصابة في المضائف التجر يبية والطبيعية . رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة : 79 صفحة .
- **النـزال، حنـان أحمـد (2005)**. تأثير عقار Nandrolone Decanoate في إمراضية طفيلـي *Ornithobilharzia turkestanicum* وطفيلـي *Fasciola gigantica* المعاملـة وغيـر المعاملـة بعقـار Rafoxanide فـي الأرانـب. رسـالة ماجسـتير، كليـة العلوم،جامعة البصرة : 156 صفحة .

المصادر الاجنبية

- **Andrews,S.J.(1999).**The life cycle of *Fasciola hepatica* in: Dalton,J.P.(ed.). Fasciolasis.CAB Intern., New York:1-29.
- **Baek , H ; Cho , Y ; Lee , C. O and Sohn , Y. S. (2000) .** Anti – cancer Drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther. 11 : 715-725.
- **Charbon,J.L.Spahni,M.;Wicki,P.andpfister,k.(1991).** Cellular reactions in the small intestine of rats after infectionwith *Fasciola hepatica*.parasitol.Res.,77:425-429.
- **Chen,M. and Mott,k.(1990).**Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection.Trop.Dis. Bull., 87:1-38.
- **Dawes,B. (1963).** *Fasciola hepatica* L., A Tissue Feeder. Nature,198:1011-1012.
- **Drury , R. A. V ; Wallington , E. A and Cameron , R. (1967) .** Carleto's histological techninqua 4th ed Oxford university press , New York . And Toronto .
- **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.
- **Hurtrez-Boussès, S.; Meunier, C.; Durand, P. and Renaud, F.(2001)**.Dynamics of host-parasite interactions: the example of population biology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). Microb. and Inf., 3:841- 849.
- **Lindberg,R.; JohansenM.V.; Montrad,J.; christensen,N. and Nansen, p.(1997).**Experimental *schistosoma bovis* infection in

goats:The inflammatory response in the small intestine and liver in various phases of infection and reinfection. J. Parasitol.,83:454-459.

- **MacSween, R. and Whaley,K. (1997**). Muir's textbook of pathology. 13 th ed., Edward Arnold , forme and London: 1245pp.

- **Mansour-Ghanae,F.; Shafaghi,A. and Fallah,M.(2003**). The effect of Metronidazole in treating human fascioliasis. Med. Sci. Monit.,9:127-130.

- **Martinez-Moreno,A.;Martinez-Moreno,F.J.;Acosta,I.;Gutierrez,P.N.;Becerra,C.And Hernandez,S.(1997)** Humoral and cellular immune responses to experimental *Fasciola hepatica* infections in goats .Parasitol.Res.,83:680-686.

- **Mas-Coma, S.; Esteban, J.G. and Barquses, M.D.(1999**). Epidemiology of Human Fascioliasis: Areview and Proposed New Classification. Bull. W.H.O., 77:340-346.

- **Meeusen,E.N.T.; Lee, C.S.;Richard, M.D. and Brandan,M.R.(1995)**.Cellular responses during liver fluke infection in sheep and its evasion by parasite .Parasite Immunol.,17:37-45.

- **R.A.Wilson and J.Dension,Z.Parasitenkol.,61,109,(1980).**

- **S.B.Kendall and J.W.Parafit,Br.Vet.J.,118,1,Cited by C.A.,Behm, and N.C., Sangster .(1999).**

- **S.B.Kendall.In:B.Dawes .(Ed).Academic press, London and New York.3.59.(1965).**

- **Saba,R.; Korkmaz,M.; Ian,D.; Mamikoğlu,L.; Turhan,Ö. ; Günseren,F.;Çevikol,C. and Kabaağlu,A. (2004).** Human Fascioliasis .Clin.Microbiol.Infect.,10:385-387.

- **Savioli,L.; Chitsulo,L. and Montresor,A. (1999**). New opportunitities for control of fascioliasis. Bull. of the WHO,77(4):300.

- **Tliba,O.; Sibille, P.; Boulard, C. and Chauvin, A. (2000**). Local hepatic immune response in rats during primary infection with *Fasciola hepatica* . Parasite,7:9-18.

- **Wolstenholme, A.J.;Fairweather, I.;Prichard, R.;Samson-Himmelstjerna,G.V.andSangster,N.C.(2004).** Drug resistanc in veterinary helminths. Trends in parasitol., 20:469-476 .

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

Athraa Abd-Al-Ameer Aziz Al-Hilfy

Biology Department- College of Science- University of Basrah

Summary

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

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