دراسة هستولوجية عن دور الميلاتونين

في حماية الكلي من الاعتلال الناتج عن الجنتاميسين في ذكور الجرذان البيضاء البالغة

رسالة مقدمة توطئة للحصول علي درجة الماجستير في العلوم الطبية الاساسية (الهستولوجيا)

مقدمة من الطبيب

الطبيبة / مروة عبد العزيز صوفي

كلية الطب- جامعة الفيوم

المشرفون

الأستاذة الدكتورة / فاتن رياض عمر عثمان

أستاذ الهستولوجيا

كلية الطب- جامعة القاهرة

الدكتورة / ميرا فاروق يوسف

أستاذ مساعد الهستولوجيا

كلية الطب- جامعة القاهرة

الدكتورة / نهي عبد اللطيف إبراهيم

مدرس الهستولوجيا

كلية الطب- جامعة الفيوم

قسم الهستولوجيا

كلية الطب- جامعة الفيوم

٢٠١٢

الملخص العربى

الاعتلال الوظيفي الكلوي والإصابات الثانوية للأدوية شائعة. ويشيع استخدام الأمينوغليكوزيد، بما في ذلك الجنتاميسين، للوقاية والعلاج من الأمراض المعدية. الأثر الجانبي الأساسي لهذه الفئة من المضادات الحيوية هو الاعتلال الكلوي. قد تلعب أنواع الأكسجين التفاعلية دورا هاما في إصابة الكلى. الميلاتونين هو كاسح قوي للجذور الحرة. الميلاتونين لديه خصائص قوية مضادة للالتهابات، وقد وجد انه يحمي الأنسجة من التلف التأكسدي الناتج عن مجموعة متنوعة من المواد السامة بما فيها المضادات الحيوية من نوع أمينوغليكوزيد.

ويهدف هذا العمل إلى دراسة تأثير إعطاء الميلاتونين على الاعتلال الكلوي الناتج عن الجنتاميسين في ذكور الجرذان البيضاء البالغة. واستخدمت دراسات مقارنة بالمجهر الضوئي وقياسات الأشكال لتقييم التغييرات الكلوية بين العينات المستخدمة في البحث.

في هذه الدراسة، تم استخدام ٥٠ من ذكور الجرذان البيضاء البالغة، (يزن الواحد ١٥٠-١٧٠ جرام تقريبا). تم تقسيمهم إلى خمس مجموعات (١٠ فئران لكل منهم):

- **المجموعة الأولى (الضابطة):** أعطت ٥ ملجم من الماء المقطر لكل فأر بواسطة أنبوب في المعدة عن طريق الفم في الوقت نفسه مع حيوانات التجارب وتم إعدامها في الوقت نفسه مع المجموعات التجريبية المقابلة.
- **المجموعة الثانية (الميلاتونين):** أعطت الميلاتونين بجرعة يومية ٥ملجم/كجم بالفم بواسطة أنبوب في المعدة لمدة أسبوعين.
- **المجموعة الثالثة (الجنتاميسين):** أعطت جنتاميسين بجرعة يومية ٤٠ ملجم/كجم بالعضل لمدة أسبوعين.
- **المجموعة الرابعة (الجنتاميسين والميلاتونين):** أعطت الجنتاميسين ٤٠ ملجم/كجم بالعضل بالإضافة للميلاتونين في جرعة يومية ٥ ملجم/كجم بالفم بواسطة أنبوب في المعدة لمدة أسبوعين (جرعة يومية).
- **المجموعة الخامسة (الانتعاش):** أعطت الجنتاميسين ٤٠ ملجم/كجم بالعضل لمدة أسبوعين، ثم أوقف العلاج لمدة ثلاثة أسابيع لاختبار الشفاء التلقائي.

وأعدمت الفئران بعد أسبوعين للمجموعات الأربعة الأولي وخمسة أسابيع للمجموعة الخامسة من بدء التجربة. تم إجراء شق خط الوسط في كل حيوان و قطعت الكليتين. وتم تثبيت العينات على الفور في ١٠٪ فورمالين معادل وتقطيعها للدراسات النسيجية: كصبغتي الهيماتوكسيلين والإيوسين وتفاعل شيف الدوري الحامضي وصبغة الماسون ثلاثية الألوان. كما استخدمت الدراسات المناعية ضد الكوكس٢ وقطعت أنسجة البارافين إلى مقاطع رقيقة من سمك ٥ ميكروميتر.

تم قياس الأشكال باستخدام جهاز تحليل الصورة بالكمبيوتر لقياس النسبة المئوية لمساحة توزيع ألياف الكولاجين بواسطة صبغة الماسون ثلاثية الألوان و الكثافة البصرية لسمك الغشاء القاعدي والحدود الفرشاتية للأنابيب الكلوية بواسطة تفاعل شيف الدوري الحامضي والنسبة المئوية لمساحة كوكس٢. وأجريت التحليلات الإحصائية للنتائج التي تم الحصول عليها باستخدام اختبار تحليل التباين واختبار بوست هوك.

وأظهرت **المجموعة الضابطة** تركيب طبيعي للقشرة والنخاع. أظهرت صبغة الماسون ثلاثية

الألوان الحد الأدنى من النسيج الضام في النسيج الخلالي الكلوي. أظهر تفاعل شيف الدوري الحامضي تفاعل ايجابي في الصفيحة القاعدية ولمعة الحدود الفرشاتية من الأنابيب الكلوية وكبيبات الكلى في القشرة والنخاع. وأظهرت الصبغة المناعية ضد كوكس٢ تفاعل ايجابي معتدل للكوكس٢ في سيتوبلازم الأنابيب الكلوية في القشرة والنخاع ولكن ليس في الكبيبات.

أظهرت مقاطع الكلى **لمجموعة الميلاتونين** قشرة شبه طبيعية مع توسع في كبسولة بومان ونخاع طبيعي تقريبا مماثل للمجموعة الضابطة. بعض المناطق أظهرت أنابيب نخاعية متوسعة وتكاثر ملحوظ للغشاء المبطن للأنابيب بدون تفسير معروف. أظهرت صبغة ماسون ثلاثية الألوان في النسيج الخلالي الكلوي حدا أدنى من النسيج الضام مماثل للمجموعة الضابطة. أظهر تفاعل شيف الدوري الحامضي زيادة ذات قيمة إحصائية في سماكة الصفيحة القاعدية من الأنابيب الكلوية وكبيبات الكلى في القشرة والنخاع بالمقارنة مع المجموعة الضابطة. وأظهرت الصبغة المناعية ضد كوكس٢ لهذه المجموعة وجود مكثف ليس له قيمة إحصائية للكوكس٢ في سيتوبلازم الأنابيب الكلوية في القشرة والنخاع بالمقارنة مع المجموعة الضابطة.

أظهرت المقاطع الكلوية **لمجموعة الجنتاميسين** كبيبات مجزأة وتكلس في الكبيبات وتوسع في كبسولة بومان وكبيبات ضامرة واحتقان في الأوعية الدموية. كان هناك ضمور في الخلايا الأنبوبية وتوسع كيسي في الأنابيب. كانت هناك خلايا رد الفعل الإلتهابي أحاديات النوى. وأظهر النخاع تخشر وتسطيح في ظهارة الأوعية الدموية. لوحظ أيضا وجود اسطوانات زجاجية وأنابيب متقطعة وخلايا متساقطة ونزيف في النخاع. أظهرت صبغة الماسون ثلاثية الألوان زيادة ذات قيمة إحصائية لتراكم الكولاجين بالمقارنة مع المجموعة الضابطة. أظهر تفاعل شيف الدوري الحامضي لهذه المجموعة رد فعل قوي في الصفيحة القاعدية والحدود الفرشاتية التجويفية. وأظهرت الصبغة المناعية ضد كوكس٢ لهذه المجموعة وجود زيادة ذات قيمة إحصائية في سيتوبلازم الخلية الأنبوبية الكلوية في القشرة والنخاع بالمقارنة مع المجموعة الضابطة.

أظهرت المقاطع الكلوية **لمجموعة الجنتاميسين والميلاتونين** ضرر أقل مع نزيف أقل حول الأنابيب وداخل الكبيبات مقارنة مع مجموعة الجنتاميسين فقط. ولوحظ وجود خلية كبيرة ثنائية النواة. وكان هناك توسع كيسي في الأنابيب البعيدة وأنابيب متجددة وبعض الخلايا مع نواة منكمشة. كانت هناك أنابيب قاعدية وخلايا متعددة النوايا. ظهرت الكبيبات بشكل أفضل بالمقارنة مع مجموعة الجنتاميسين. وأظهر النخاع وجود أنابيب متوسعة مع تضخم وتجوف في الخلايا المبطنة وتسطح بطانة خلايا الجزء السفلي من النخاع. أظهر استخدام صبغة الماسون ثلاثية الألوان لهذه المجموعة انخفاض للنسيج الضام ليس له قيمة إحصائية في الخلالي الكلوي وحول الكبيبات بالمقارنة مع مجموعة الجنتاميسين فقط. أظهر استخدام تفاعل شيف الدوري الحامضي لهذه المجموعة زيادة ذات قيمة إحصائية لسماكة الصفيحة القاعدية والحدود الفرشاتية التجويفية للأنابيب الكلوية وكبيبات الكلى في القشرة والنخاع بالمقارنة مع المجموعة الضابطة. أظهر توزيع كوكس٢ لهذه المجموعة زيادة للكوكس٢ في سيتوبلازم الخلايا الأنبوبية الكلوية في بعض المناطق وانخفاض التفاعلية المناعية في مناطق أخرى في كل من القشرة والنخاع، كما وجد الكوكس٢ في بعض الكبيبات.

أظهرت **مجموعة الانتعاش** توسع في مسافة بومان وكبيبات مجزأة وتوسع كيسي في الأنابيب مع احتقان حول الأنابيب وداخل الكبيبات. وقد لوحظ أيضا وجود خلايا متساقطة. أظهرت صبغة ماسون ثلاثية الألوان زيادة توزيع النسيج الضام زيادة ملحوظة ذات قيمة إحصائية بالمقارنة مع مجموعتي الجنتاميسين

فقط والجنتاميسين و الميلاتونين. أظهر تفاعل شيف الدوري الحامضي زيادة ذات قيمة إحصائية لسماكة الصفيحة القاعدية والحدود الفرشاتية التجويفية للأنابيب الكلوية في القشرة والنخاع بالمقارنة مع المجموعة الضابطة. وقد لوحظ وجود قوالب زجاجية. وأظهر توزيع الكوكس٢ زيادة ليس لها قيمة إحصائية لظهوره في السيتوبلازم في كل من القشرة والنخاع بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، ولكن توزيع الكوكس٢ كان أقل بكثير من مجموعة الجنتاميسين فقط ومجموعة الجنتاميسين والميلاتونين. أي أن: كوكس٢ قد عاد إلى وضعه الطبيعي.

الخلاصة:

من هذه الدراسة تم التوصل إلى أن الجنتاميسين كان ساما جدا للكلى بينما الجنتاميسين مع الميلاتونين كان أقل سمية. لذا عندما يستخدم الميلاتونين مع الجنتاميسين تكون الآثار الجانبية أقل بكثير.

.