دراسات على تأثير إديفينفوس (مبيد فطرى فوسفورى عضوى) على الجرذان الحوامل (الفأر الأبيض الصغير) وأجنتها.

رسالة مقدمة إلى
كلية العلوم - فرع الفيوم
جامعة القاهرة

للحصول على درجة الدكتوراه
فى فلسفة العلوم

مقدمة من

أحمد على قنديل
مدرس مساعد
قسم علم الحيوان – كلية العلوم
فرع الفيوم
جامعة القاهرة

المشرفون

أ.د/ عبد الفتاح محمود الشرشابى
أستاذ علم الأجنة التجريبى
كلية العلوم
جامعة القاهرة

أ.د/ منير على عز الدين الجنزورى
أستاذ بيولوجيا الخلية
كلية العلوم
جامعة عين شمس

أ.د/ محمود أحمد عامر
أستاذ علم الأنسجة والخلية
كلية العلوم
جامعة القاهرة

٢٠٠٤

الملخص العربى

لوحظ فى الآونة الأخيرة زيادة واضحة فى استخدام العديد من المبيدات فى مكافحة الآفات التى تسبب أضرارا بالغة للإنسان والحيوان وللمحاصيل الزراعية ، ومن بين المبيدات تبرز مبيدات الفطريات التى تستخدم على نطاق واسع فى الطب والزراعة ، ولما كانت هذه المواد تنطوى على أخطار جسام لكل من الإنسان والكائنات الأخرى اللازمة لغذائه وتلك المختصة بالتوازن البيولوجى فى البيئة المحيطة به ، حيث أوضحت الدراسات السابقة عن وجود بقايا لهذه المواد فى المنتجات الحيوانية والنباتية اللازمة لغذاء الإنسان ، فقد استهدفت الدراسة الحالية تحديد الآثار الضارة لأحد المبيدات الفطرية من النوع الفسفورى العضوى وهو مبيد هينوران المحتوى على ٥٠ ٪ من مادة إديفنفوس Edifenphos كمادة فعالة على أمهات وأجنة الفأر الأبيض الصغير من نوع *Mus musclus* وقد تم تحديد الجرعة النصفية المميتة لهذه المادة (LD_{50}) ووجدت ٣٠٠,٢ مجم/كجم وكذلك الجرعة التى تسبب موت ١٠ ٪ (LD_{10}) وقدرت بحوالى ٢٢٠,٠٠ مجم/كجم من وزن الحيوان.

وقد قسمت الدراسة إلى جزئين رئيسيين ، الجزء الأول تم إجراؤه على الجنين المبكر فى اليوم السادس والسابع من الحمل ، والجزء الثانى تم إجراؤه على جنين اليوم الثامن عشر من الحمل لتقييم التشوهات التى قد تحدث عند تعرض الأمهات للمبيد المستخدم أثناء فترة تكوين الأعضاء.

فى الجزء الأول من الدراسة أعطى المبيد المستخدم عن طريق الفم للأمهات الحوامل بتركيزات مختلفة (جرعة منخفضة٢٧,٥ مجم/كجم ،متوسطة ٥٥,٠٠ مجم/كجم ، عالية١١٠,٠٠ مجم/كجم) من اليوم الأول للحمل وحتى اليوم الخامس وذبحت فى اليوم السادس عند الساعة العاشرة وكذلك فى اليوم الثانى من الحمل وحتى السادس وذبحت فى اليوم السابع عند الساعة الثامنة مساءا . دلت نتائج الحمل المبكر على أن المبيد المستخدم أدى إلى انخفاض معدل خصوبة الإناث كما وضح من زيادة نسبة الأمهات الحوامل التى أظهرت فقدان كلى أو جزئى للأجنة قبل عملية الزرع فى جدار الرحم ، وكذا زيادة نسبة الأمهات اللاتى أوضحن امتصاص كلى للأجنة بعد عملية الزرع كما وضح باستخدام طريقة كبريتيد الأمونيوم.

وبالفحص الهستولوجى لمواضع زرع الأجنة فى اليوم السادس من الحمل فى المجموعة الضابطة وجد أن الجنين الأسطوانى يتركب من الأكتودرم الجنينى ، الأكتودرم الجنينى الخارجى والاندودرم القريب حول الجنين الأسطوانى كما يوجد التجويف الأمينوتى البدائى فى منتصف الاكتودرم الجنينى . الاكتودرم الاعتذائى يحيط بالتجويف المحى من ناحية وبالغشاء القاعدى

لطلانية الرحم من ناحية طبقة الحشوة كما شوهدت بعض الأجسام القاعدية فى الخلايا الجنينية والتجويف الأمنيوتى البدائى وتمثل هذه الأجسام بقايا خلايا ميتة أو متحللة.

أما جنين اليوم السابع من الحمل فقد بدا أكثر نموا من جنين اليوم السادس ومحاطا إحاطة تامة بنسيج الحشوة ومتصلا بالأم عن طريق المخروط المشيمى . التجويف المحى ظهر على شكل حرف U حول الجنين الأسطوانى ويحده من الداخل الاندودرم القريب ومن الخارج الاندودرم البعيد والاكتودرم الاغتذائى.ويتكون الجنين فى هذه المرحلة من منطقتين رئيستين هما المنطقة الجنينية والمنطقة خارج الجنينية.و تتركب المنطقة الجنينية من طبقة خارجية من الاندودرم القريب وطبقة داخلية من الاكتودرم الجنينى وطبقة وسطى عبارة عن الميزودرم الجنينى. اما المنطقة خارج الجنينية فتتركب من الاكتودرم خارج الجنين إلى الداخل محاطا بطبقة من الاندودرم القريب. ويقسم غشاء الكوريون هذه المنطقة إلى تجويفين هما تجويف المخروط المشيمى والتجويف السيلومى فى منتصف الجنين أيضا يفصل الغشاء الأمنيوتى التجويف السيلومى عن التجويف الأمنيوتى وبذلك توجد ثلاثة تجاويف جنينية بالجنين الأسطوانى فى هذه المرحلة.

وبفحص أماكن زرع الأجنة فى المجموعة المعالجة بالمبيد اتضح أن نمو الجنين الأسطوانى اتخذ أشكالا مختلفة منها ما هو طبيعى مثل المجموعة الضابطة ومنها ما أظهر تأخرا فى النمو ومنها المشوه ومنها المتحلل . فى حالة الجنين الطبيعى فهو يماثل تماما أجنة المجموعة الضابطة . أما فى حالة الجنين المتاخر فى النمو فقد أظهرت بعض الأجنة تأخرا فى نمو المخروط المشيمى وفى البعض الآخر أظهرت الاجنة عدم تميز كتلة الخلايا الداخلية الى الاكتودرم الجنينى الخارجى ولاكتودرم الجنينى . أيضا لم يظهر فى هذه الحالة تجويف الرهل الأولى وحدث تفكك فى الخلايا الجنينية وانحرف بعضها فى اتجاه الاندودرم .وفى حالة الأجنة المشوهة فقد لوحظ تواجد العديد من الخلايا الالتهابية وكذلك عدم تمييز المخروط المشيمى حيث تم العثور على العديد من الخلايا ذات الأنوية الغير طبيعية وكذلك ظهرت فجوات فى سيتوبلازم خلايا الطبقات الجنينية المختلفة للجنين الأسطوانى . أما الغشاء القاعدى لخلايا طبقة الاندودرم القريب فقد بدا متقطعا فى بعض الأماكن بينما اختفى فى أماكن أخرى .وبالنسبة للأجنة المتحللة والتى تم رصدها فى اليوم السادس من الحمل أوضحت أن المخروط المشيمى قد اختفى فى بعض العينات أو بدا غير مكتمل لتكوين فى البعض الآخر كما تم رصد بقايا الخلايا المتحللة وظهرت الخلايا الالتهابية بشكل واضح حول الجنين المتحلل.

وقد اظهر الجنين الأسطوانى الناتج من الأمهات المعالجة والتى درست فى اليوم السابع من الحمل أظهر ا نفس الأشكال التى تم رصدها فى اليوم السادس إضافة إلى غياب الالنتويس

Allantois. وتتمثل هدة الأشكال فى أجنة طبيعية ، متأخرة فى النمو ، ومشوه أو متحللة . فى بعض الأجنة تم رصد خلايا نادرة السيتوبلازم ومتحللة النواه فى مختلف الطبقات الجنينية وقد اختفى الغشاء القاعدى لخلايا الاندودرم القريب كما تم رصد خلايا مفككة ومبكنزة النواة بينما بدا الميزودرم غير جيد التكوين إضافة إلى أن بعض الأجنة متأخرة النمو أظهرت تجويفين فقط بدلا من ثلاثة تجاويف جنينية حيث لم يحدث التحام لتجويفى ثنيتى الأمونيون الأمامية والخلفية وبذلك لم يتكون التجويف السيلومى الخارجى Exocoelom .كما أن المخروط المشيمى لم يكن حسن التكوين وظهرت به بقايا خلايا ميتة وخلايا التهابية . خلايا الطبقات الجينية أظهرت بعض التغيرات مقارنة بالمجموعة الضابطة حيث ظهرت الخلايا قليلة السيتوبلازم كما أظهرت بعض الخلايا ترتيب غير طبيعى للكروموسومات. وقد أظهرت خلايا الاندودرم القريب فجوات وأنوية غير منتظمة الشكل . وقد ظهرت كثير من المواد الافرازية أو بلازما الدم من الأم فى التجويف المحى . وقد أوضحت الدراسة أيضا عن تحلل تام لبعض الأجنة الأسطوانية فى هذه المرحلة حيث انهار البنيان النسيجى للجنين الأسطوانى وظهرت الطبقات الجنينية غير طبيعية ومحطمة كما ظهرت تراكيب متحللة هوجمت بالعديد من الخلايا الالتهابية.

ويهتم الجزء الثانى من الدراسة بتقييم تأثير المبيد على الأجنة المتحصل عليها فى اليوم الثامن عشر من الحمل .وفى هذه الحالة تم حقن الأمهات الحوامل بالتركيزات الثلاثة للمبيدات السابق ذكرها بدءا من اليوم الثامن من الحمل وحتى السابع عشر وتم الذبح فى اليوم الثامن عشر . فى اليوم الثامن عشر استخرجت الأجنة وتم اجراء الفحوصات الآتية لتقييم التشوهات الخارجة و الهيكلية وحيوية الجنين وايضا تم إحصاء وعد الأجسام الصفراء فى المبيض وكذلك معدل فقدان الأجنة قبل وبعد عملية الزرع فى الرحم وكذا الأجنة الميتة والحية وكذا عدد الأمهات التى أوضحت امتصاص كلى للأجنة.

أوضحت النتائج التى تم الحصول عليها من الدراسة نقصا فى أوزان الأمهات الحوامل حيث كان معتمدا على الجرعة المستخدمة . كما أوضح وزن وطول الأجنة اختزالا شديدا وكان معتمدا أيضا على الجرعة المستخدمة وقد أدت المعالجة بالمبيد أثناء فترة تكوين الأعضاء إلى زيادة واضحة فى عدد الأمهات التى أعطت امتصاص كلى أو جزئى للأجنة ؛ مما أدى إلى نقص فى عدد الأجنة الحية.

أوضح الفحص الخارجى للأجنة التى تم الحصول عليها من أمهات معالجة بالمبيد إلى زيادة واضحة فى عدد الأجنة المشوهة وكذلك عدد الأمهات التى أعطت أجنة مشوهة . وظهرت هذه التشوهات بصورة واضحة فى الجلد(أوديما ونزيف تحت الجلد)، وفى الذيل (الذيل المعقوف ، الملتف ، القصير) والأطراف كما ظهرت هذه التشوهات ممثلة بالرأس الصغيرة

Microcephally والفك الصغير Micrognathia والعين الصغيرة Microphthalmia والأذن الصغيرة Microtia . وظهر أيضا سقف الحلق المشقوق فى بعض العينات المعاملة بالمبيد المستعمل فى الدراسة.

ومن فحص هيكل الأجنة اتضح نقصا شديدا فى معدل التعظم وقد كان واضحا فى معظم أجزاء الهيكل وشوهد بوضوح فى الأطراف ، القص ، الفقرات العنقية والذيلية والتشوهات الهيكلية زادت بدرجة معنوية فى العينات المعاملة بالمبيد وبدت واضحة فى كل من القص ، الضلوع ومراكز الفقرات.

وفى مجمل القول فإن المبيد الفطرى المستخدم اظهر سمية شديدة لكل من الأجنة والأمهات على حد سواء . وينصح بتجنب التعرض لة وتقنين استخدام مثل هذه المواد السامة والملوثة للبيئة.