

# تأثير المستخلص المائي للثوم على التسمم الكلوي والكبدى للأدريمايسين فى الفئران الحاملة لورم استسقاء إيرليش

رسالة مقدمة من

هبة محمد ربيع العشى

بكالوريوس العلوم ٢٠٠٣  
قسم علم الحيوان  
كلية العلوم بالفيوم- جامعة القاهرة  
ماجستير- ٢٠١٠  
علم الحيوان  
(علم الخلية والأنسجة والوراثة)  
قسم علم الحيوان كلية العلوم - جامعة الفيوم.

لأستيفاء الدراسات المقررة للحصول على درجة الدكتوراة الفلسفة فى العلوم  
علم الحيوان  
(علم الخلية والأنسجة والوراثة)

قسم علم الحيوان  
كلية العلوم - جامعة الفيوم

٢٠١٥

## الملخص العربي

يعتبر عقار الادريمايسين (ADR) من أكثر المضادات الحيوية شيوعاً في المعالجة الكيميائية للسرطان حيث أثبتت فعاليته في علاج العديد من الحالات السرطانية إلا أنه نظراً لسميته العالية على الأنسجة فإنه يحد من استخدامه، و يعتبر الثوم من أكثر المواد الطبيعية المستخدمة في علاج الأمراض.

تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم التأثير الوقائي لمستخلص الثوم المائي ضد سمية الكبد والكلية الناتجة عن استخدام عقار الادريمايسين (ADR) المضاد للسرطان في الفئران السليمة و الحاملة لورم استسقاء إيرليش.

ولدراسة سمية العقار قسمت فئران التجربة إلى ثمانى مجموعات تتكون كلا منها من ثمانية حيوانات) على النحو التالي:-

١- المجموعة الأولى: وهى المجموعة الضابطة وفيها يعطى الحيوان الغذاء الطبيعي والماء ويتم حقن الفئران بالمحلول الملحي في التجويف البريتوني (IP) لمدة ٣٠ يوماً.

٢- المجموعة الثانية: وفيها يعطى الحيوان الغذاء الطبيعي والماء وكذلك المستخلص المائي للثوم بمقدار ٥٠ ملجم/كجم من وزن الفئران يومياً عن طريق الفم لمدة ٣٠ يوماً.

٣- المجموعة الثالثة: تم حقن حيوانات هذه المجموعة بالادريمايسين بجرعة تقدر ٣ ملجم/كجم من وزن الفئران في التجويف البريتوني في اليوم الاول بمعدل ٦ جرعات خلال اسبوعين (٨ ملجم/كجم من وزن الفئران كجرعات تراكمية).

٤- المجموعة الرابعة: وفيها تم حقن حيوانات هذه المجموعة بالادريمايسين بجرعة تقدر ٣ ملجم/كجم في التجويف البريتوني في اليوم الاول بمعدل ٦ جرعات خلال اسبوعين (٨ ملجم /كجم من وزن الفئران كجرعات تراكمية). وكذلك المستخلص المائي للثوم بمقدار ٥٠ ملجم/كجم من وزن الفئران يومياً عن طريق الفم لمدة ٣٠ يوماً خلال اليوم الاول ايضاً.

٥- المجموعة الخامسة: تم حقن حيوانات هذه المجموعة بخلايا ورم إيرليش فقط بمعدل 2.0  $\times 10^6$  تحت جلد الرجل اليمنى للفأر في اليوم الصفر وتسمى بمجموعة ورم إيرليش.

٦- المجموعة السادسة: تم حقن حيوانات هذه المجموعة بخلايا ورم إيرليش فقط بمعدل 2.0  $\times 10^6$  تحت جلد الرجل اليمنى للفأر في اليوم الصفر وكذلك المستخلص المائي للثوم بمقدار ٥٠ ملجم/كجم من وزن الفئران يومياً عن طريق الفم لمدة ٣٠ يوماً بداية من اليوم التالي (اليوم الاول).

٧- المجموعة السابعة: تم حقن حيوانات هذه المجموعة بخلايا ورم ايرليش فقط بمعدل 2.0  $\times 10^6$  تحت جلد الرجل اليمنى للفأر في اليوم الصفر وفي اليوم التالي (الاول) يتم حقن الفئران بالادريمايسين بجرعة ٣ ملجم/كجم في التجويف البريتوني بمعدل ٦ جرعات خلال اسبوعين (٨ ملجم /كجم من وزن الفئران كجرعات تراكمية).

٨- المجموعة الثامنة: تم حقن حيوانات هذه المجموعة بخلايا ورم ايرليش فقط بمعدل 2.0  $\times 10^6$  تحت جلد الرجل اليمنى للفأر في اليوم الصفر وفي اليوم التالي (الاول) يتم حقن الفئران بالادريمايسين بجرعة ٣ ملجم/كجم في التجويف البريتوني بمعدل ٦ جرعات خلال اسبوعين (٨ ملجم /كجم من وزن الفئران كجرعات تراكمية) وكذلك المستخلص المائي للثوم بمقدار ٥٠ ملجم /كجم من وزن الفئران يوميا عن طريق الفم لمدة ٣٠ يوما بداية من اليوم التالي (اليوم الاول).

لتقييم التأثير الوقائي للمستخلص المائي للثوم ضد سمية الادريمايسين تم اجراء القياسات

التالية:

التغيرات المورفولوجية، قياسات النمو، قياسات هيماثولوجية منها عدد كرات الدم الحمراء، عدد كرات الدم البيضاء و انزيمات الكبد (انزيم الألبانين ترانسفيريز والأسبارتيت ترانسفيريز) وقياسات وظائف الكلى (اليوريا والكرياتينين في الدم). بالإضافة إلى ذلك تم دراسة التغيرات الهستوباثولوجية في انسجة الكبد والكلية تحت المجهر الضوئي (LM) والمجهر الالكتروني (EM) المجاهر وتحديد محتوى الحمض النووي (DNA) عن طريق تقنية الفلوسيتومتري.

وقد لوحظ من النتائج ان عقار الأدرىمايسين قد سبب ضعفا عاما للجسم مع ظهور العديد من التغيرات الشكلية للفئران في فترة التجربة مثل فقدان الشعر وتغيرات في الأطراف وتقوس الظهر واخري مرضية مثل فقدان الشهية و اسهال و التهابات. وقد سجل ارتفاع في عدد الوفيات في مجموعات الأدرىمايسين. اما فئران المجموعات المعالجة بالمستخلص المائي للثوم أظهرت نقص معنوي في نسبة ظهور هذه التغيرات.

واظهرت نتائج الدراسة حدوث زيادة في وزن الجسم في فئران المجموعة المعالجة بالمستخلص المائي كما في المجموعة الضابطة وبالنسبة للمجموعات الاخرى التي أخذت الثوم مع الأدرىمايسين حدث انخفاض في الاوزان ولكن أقل عند مقارنتهم بمجموعة الفئران المعاملة بالأدرىمايسين فقط، كما أوضحت نتائج البحث حدوث ارتفاع معنوي في مستوى ALT و AST واليوريا والكرياتينين في مجموعة الأدرىمايسين ولوحظ أن الثوم عزز تحسن وظائف الكبد والكلية حيث سجلت انخفاض في مستوى هذه الإنزيمات في الفئران المعاملة بعقار الأدرىمايسين والثوم مقارنة بالعينات المعاملة بعقار الأدرىمايسين فقط.

وقد سجلت تغيرات هستوباثولوجية واضحة في أنسجة كبد الفئران المعاملة بالادريمايسين مقارنة بفئران المجموعة الضابطة وأن شدة هذه التغيرات تقل في المجموعات التي تم معالجتها بالثوم. وقد لوحظ ان الادريمايسين يؤدي الى ظهور درجات مختلفة من تلف الخلايا الكبدية فلو حظ فجوات عديدة بالسيتوبلازم وتلف لأنوية الخلايا وتحلل للمادة الكروماتينية مع عدم انتظام وتعرج الغلاف الخارجي لهذه الأنوية، وغالبا ما تظهر الانوية مبكزه ميتة داكنة الصباغة. كما لوحظ تضخم في خلايا كوفر مع احتقان بعض الأوعية الدموية وانتشار مكثف للخلايا الالتهابية و تحلل العديد من الخلايا وتكوين أنسجة ليفية في النسيج الكبدي للفئران.

وبالنسبة لفئران المجموعات المعالجة بالثوم لوحظ ان هناك شفاء جزئي من بعض اضرار الادريمايسين على أنسجة وخلايا الكبد فأظهرت القطاعات النسيجية انخفاض في التغيرات المرضية عن مجموعات الادريمايسين فقد لوحظ انخفاض في نسبة الخلايا الالتهابية مع ظهور عدد قليل من الخلايا المتحللة والأنوية المبكزة وانخفاض في نسبة الفجوات السيتوبلازمية مع ظهور خلايا كبدية مزدوجة الأنوية.

أوضحت الدراسة أيضا ان أنسجة الكلى المأخوذة من الفئران المعاملة بالادريمايسين تظهر علامات عديدة من مظاهر التلف في كريات مليجي والأنيببيات البولية. وقد لوحظ حدوث تضخم وازدياد في حجم الشعيرات الدموية المكونة لكريات مليجي واحتقانها بالخلايا الدموية، وفي بعض الأحيان تظهر بعض الكباب منكمشة أو متحللة مع اتساع الحيز البولي لكريات مليجي، ويمتد هذا التأثير الى الأنيببيات الملتنقة القريبة والبعيدة في منطقه قشره الكلية. وقد اوضح البحث ان الخلايا الطلائية المبطنة لهذه الأنيببيات تظهر درجات مختلفة من التحلل فلو حظ تحلل وتلف السيتوبلازم وبكثرة النواة واكتسابها اللون الداكن في خلايا الأنيببيات البولية. كما لوحظ تحلل الفرشاة الحافية المكونة لقمة الأنيببيات الملتنقة القريبة. وقد أظهر البحث أيضا وجود بقايا لخلايا متفسخة أو متحللة داخل تجاويف بعض الأنيببيات البولية في الأنابيب الملتنقة البعيدة.

أظهر البحث أيضا شفاء جزئي في أنسجة الكلية في المجموعات التي عولجت بالثوم و الادريمايسين، حيث حدث انخفاض في اعداد الخلايا المتحللة والمتفسخة مع ظهور أنيببيات بولية سليمة وخلايا طلائية سليمة.

أظهرت دراسة أنسجة الكبد والكلية بواسطة الميكروسكوب الالكتروني في مجموعات الادريمايسين تغيرات سميه واضحة على مستوي التركيب الدقيق للخلايا، حيث ظهر بها فجوات بالإضافة علي تغيرات في التركيب الدقيق للعضيات الخلوية في خلايا الكبد والخلايا الطلائية المبطنة لأنيببيات البولية. وقد وجد ان الشبكة الاندوبلازمية والاجسام السبحية هي الاكثر تأثرا.وقد ظهرت الجيوب الوريدية ممتلئة بكرات دموية حمراء وبيضاء. كما شوهد السيتوبلازم الفجوى وبه اعداد كبيرة من الليسوسومات. وقد

أظهرت الدراسة أيضا وجود أنوية داكنة ومبكنزة داخل الخلايا المنفسخة بعضها منتفخ وذات غلاف نووى غير منتظم، ويحتوى بعضها على مادة كروماتينية متحللة. هذا بجانب ظهور خلايا متحللة تحلل كامل وتطرد الى الخارج فى اتجاه تجويف الأنبيبات البولية. كما لوحظ اختفاء وتحلل الخملات الدقيقة وفقدان شكلها المميز.

وبالنسبة لكريات ملبيجى بالكلية، فقد أوضحت الدراسة احتقان شديد بالكبات المحملة بالخلايا الدموية مع ضيق واختفاء الحيز البولى فى بعض محافظ بومان. كما أظهر البحث زيادة المادة بين الخلوية الميزانجيلية (Mesangial matrix) كما ظهرت دلائل التحلل على خلايا الميزانجيم وتفتت أنويتها. كما لوحظ تشوهه وتضخم وتحلل البروزات الثانوية للخلايا القدمية (Podocytes) فى بعض الاماكن مما أدى الى انسداد فتحات الترشيح (Filtration slits).

يستخدم جهاز الانسياب الخلوى flow-cytometry لتقدير كمية ال DNA بالخلايا فى المراحل المختلفة لدورة حياة الخلية. فالنسبة لخلايا الكبد والكلى المأخوذة من حيوانات المجموعة الضابطة لم يسجل خلل فى دورتها الخلوية حيث كانت نسب القيم المقدره لمراحل نمو الخلية ( G0/G1 phase - S phase % - Apoptosis % - G2/M phase %) ( 2,89% ، 10,09% ، 9,89% و 8,08% على الترتيب. كما اظهرت مجموعة الثوم نتائج طبيعية كما يلي (3.01=G0/G1) (11.08= S phase) (9.99=G2/M) (9.91=apoptosis %)

وقد أظهرت مجموعة ADR تغيرات واضحة فى دورة حياة الخلايا وازدياد عدد الخلايا الميتة على النحو التالي (1,99% G0/G1) (0,82% S phase) (6,71% G2/M) (89.54=apoptosis %). بينما أظهرت مجموعة الثوم والادريمايسين تغيرات ولكن بدرجة اقل عن المجموعة السابقة على النحو التالي (2,99% G0/G1) (5,99% S phase) (7,08% G2/M) (20,12% apoptosis) ومجموعة الورم أظهرت نتائج على النحو التالي (3,00% G0/G1) (9,50% S phase - 10,32% G2/M) (9,98% apoptosis) ومجموعة الورم والثوم اظهرت تحسن طفيف فى دورة حياة الخلايا على النحو التالي: (70,89% G0/G1) (10,70% S phase) (8,80% G2/M) و (8,50% apoptosis)

اما المجموعة السابعة (الورم والادريمايسين) فقد اظهرت خلافا واضحا فى نتائج دورة حياة الخلايا على النحو التالي (1,09% G0/G1) (1,01% S phase) (5,89% G2/M) و (90,50% Apoptosis) مقارنة مع نتائج مجموعة الورم والثوم والادريمايسين (المجموعة الثامنة) فكانت التغيرات اقل من المجموعة السابقة والنسب المقدره على النحو التالي (3,99% G0/G1) (5,87% S phase) (7,00% G2/M) و (25,21% apoptosis). ومن النتائج السابقة يتضح الدور الهام للثوم كواقى خلوي ضد السمية المرضية التي يسببها عقار للأدريمايسين.

يتضح من النتائج السابقة مدى خطورة الاثار الناتجة للادريمايسين وقد تبين مدى فعالية الثوم في الحد من التأثيرات المرضية للأدريمايسين فقد بدت الخلايا الكبدية والكلى أقل تأثراً عن مثيلتها في مجموعة الادريمايسين. وأن فعالية الثوم في الحد من التغيرات المرضية الناتجة قد يعود لدوره المضاد للأكسدة الناتجة بفعل العقار.

وبالتالي فمن المستحسن اجراء المزيد من التجارب ما قبل السريرية والسريرية على أنواع اخري من الثدييات وباستخدام جرعات مختلفة من المستخلص المائي الثوم لتوصيف فعاليته كدواء للحد من الآثار الجانبية الادريمايسين أو الأدوية المضادة للسرطان الأخرى.