جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تقييم التغيرات النسجية و السلوكية المستحثة بالهيدروكسي كلوركوين في ذكور الارانب

أُطروحة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة

من قبل

إسراء عبدالقادر عبدالوهاب

بكلوريوس علوم حياة/ كلية التربية ابن الهيثم /جامعة بغداد/2003-2004

ماجستيرعلوم حياة/ فرع الحيوان/كلية التربية للعلوم الصرفة/جامعة ديالى2014-2015م

إشراف

أ.م.د ذكرى عطا ابراهيم

أ.د غالب أدريس عطية

1444 هـ

2022 م

1-1-المقدمة

يستخدم الإنسان العديد من الأدوية من أجل الحصول على تأثيرات علاجية مرغوب بها ،إلا إن الكثير من هذه الأدوية قد تسبب تأثيرات جانبية غير جيدة وغير مرغوبة او تكون لها تأثيرات سمية .وقد يؤدي إستخدام هذه الأدوية إلى ظهور حالات خطرة او مميتة على المدى البعيد ، إذ يمكن ان يولد تراكم هذه المواد الكيميائية تأثيراً ساماً على الجسم بعد فترة من الزمن تختلف بإختلاف نوع ، عمر ، و وزن الكائن الحي (Hameed, 2012).

يتم سحب ما يقارب من ثلث الأدوية سنويا بسبب تأثيراتها السلبية وان فشل الأدوية يؤدي إلى خسارة هائلة لفرصة علاج المريض (Shinozawa وآخرون،2020) حتى الأدوية التي تدعمها في البداية أدلة على فعاليتها قد تثبت لاحقًا أنها أكثر ضررًا من نفعها (Onakpoya وآخرون، 2016).

هيدروكسي كلوركوين Hydroxychloroquine (HCQ) عقار أُستخدم لأول مرة في عام 1946 كبديل لتجنب السمية من الكلوركوين Chloroquine(CQ) في علاج الملاريا وسرعان ما وجد مشتق 4-aminoquinoline مكانًا مناسبًا في علاج التهاب المفاصل الروماتويدي Rheumatoid arthritis وظل قيد الاستخدام السريري منذ ذلك الحين، و أظهر HCQ أيضًا تأثيرات علاجية مفيدة في اضطرابات المناعة الذاتية المزمنة الأخرى مثل الذئبة systemic lupus erythematosus ، وحمى Q Q−fever ، في الآونة الأخيرة كان هناك اهتمام متجدد بـHCQ نظرًا لتأثيره على تعطيل التكاثر الخلوي والورم الخبيث السرطاني فقد ثبت أنه يعمل على جعل الخلايا السرطانية اكثر تاثرا بالإشعاع والعلاج الكيميائي (Chhonker وآخرون،2018). اقترح HCQ ضمن الارشادات العلاجية للمرضى الذين يعانون من الألتهاب الرئوي المرتبط ب−SARS) CoV2) و (Covid-19) (Spinelli وآخرون،2020). إنَّ حالات التسمم بـHCQ نادرة و لكنها قد تكون مميتة، ويعتقد انه مرتبط بظهور بعض الاعراض عند المرضى ممن يستخدمونه

كعلاج ، منها عدم انتظام ضربات القلب البطيني ventricular arrhythmias ، أو السكتة القلبية الرئوية cardiopulmonary arrest (Argumanez وآخرون،2017).

تؤدي الرئة دورًا مهمًا في عملية تبادل الغازات ، و تعد أكبر عضو في الجهاز التنفسي (Mutlak واخرون ،2020). وهي عبارة عن كتلة ناعمة ومضغوطة إسفنجية من الأنسجة تقع في التجويف الجنبي pleural cavity داخل الصدر thorax. كل رئة مغطاة بطية من ظهارة مكونة من طبقتين ، طبقة تلامس الرئة(غشاء الجنب الحشوي visceral pleura)وطبقة ثانية تبطن جدار الصدر (غشاء الجنب الجداري parietal pleura). بين هاتين الطبقتين من غشاء الجنب يوجد فراغ جنبي وهو مساحة محتملة تحتوي على كمية صغيرة من السائل ، و كل رئة مقسمة إلى فصوص (Autifi وآخرون ،2015).

تعد الكلى عضوًا أساسيًا يحتاجه الجسم لأداء العديد من الوظائف المهمة بما في ذلك الحفاظ على التوازن ، وتنظيم البيئة خارج الخلية ، وإفراغ excretion المستقلبات والأدوية السامة toxic metabolites and drugs (Kim و Moon،2012).

يمكن أن تتأثر المكونات المورفولوجية الأساسية الأربعة للكلية: الكبيبات glomeruli ، النبيبات tubules ، النسيج الخلالي interstitium ، والأوعية الدموية blood vessels عند التعرض لعوامل سامة ومعدية تؤدي إلى اختلال وظائف الكلى(Akinlolu واخرون ،2014). إنَّ الكلى معرضة بشكل خاص للتسمم الناتج عن الأدوية بسبب الحجم الكبير لإمداد الدم ، ووجود إنزيمات استقلاب الدواء ، وناقلات الغشاء التي تسمح بالتعرض لتركيزات عالية من الأدوية و / أو مستقلباتها (Chamanza واخرون ،2019).

يعد الكبد أحد أكبر أعضاء الجسم وله خصائص الغدد الصماء والغدد ذات الافراز الخارجي(Nguyen–Lefebvre و Horuzsko ،2015) فهو عبارة عن غدة مختلطة محاطة

بمحفظة رقيقة من النسيج الضام connective tissue، او ما يعرف بكبسولة غليسون The Glisson capsule التي تقسم النسيج الحشوي على فصوص lobes وفصيصات lobules التي تمثل الوحدة النسيجية للكبد (Petcoff واخرون،2006).

يؤدي الكبد دوراً مهماً في عمليات التمثيل الغذائي الفعالة في الجسم(Colnot وPerret،2011) فهو مسؤول عن التمثيل الغذائي الوسيط للبروتينات و الكربوهيدرات و مركبات الدهون ، و له مجموعة واسعة من الوظائف في الجسم حيث يعد كعضو تخزين للفيتامينات التي تذوب في الدهون ، مثل A و D وجزيئات الجلوكوز على شكل جليكوجين . بالإضافة إلى ذلك ، يعدُّ الكبد عضوًا فعالاً للغاية في إزالة السموم وإزالة المركبات السامة والمواد الضارة الأخرى ، وإنتاج معظم بروتينات البلازما بما في ذلك الألبومين والبروتينات الدهنية وكذلك انتاج و إفراز الصفراء ، يعد تحلل كريات الدم الحمراء وإزالة البكتيريا من أشباه الجيوب الدموية من وظائف الكبد الأخرى التي تنجزها خلايا كوبفر (Al-Aamery وآخرون،2020) ، وهو يتألف من 60٪ من الخلايا المتنيّة (البرنكيمية) parenchymal cells ، أي الخلايا الكبدية Hepatocytes ، و 30٪ –35٪ من الخلايا غير المتنيّة(غير البرنكيمية) nonparenchymal cells ، وتضم خلايا كوبفر Kupffer (KCs) cells ، والخلايا النجمية الكبدية hepatic stellate cells(HSCs) وخلايا الكبد الجيبية البطانية liver sinusoidal endothelial cells (LSECs) (Tsutsui وNishiguchi، 2014 ; Nguyen–Lefebvre وHoruzsko،2015).

1–2– الهدف من الدراسة

نظراً للأهمية البالغة لهذه الاعضاء في ديمومة الحياة ونوعيتها بسبب مواقعها والوظائف المتعددة التي تقوم بها و لإفتقار معظم البحوث السابقة للتاثيرات النسجية التي تسببها الأدوية ، لذلك اهتمت

الخلاصة

هيدروكسي كلوركوين Hydroxychloroquine(HCQ) هو علاج قديم ولا يزال يستخدم لعلاج الملاريا وبعض الأمراض الروماتيزمية مثل الذئبة والتهاب المفاصل الروماتويدي. سعت الدراسة الحالية إلى تحديد التأثيرات السلوكية و العيانية لـ HCQ على انسجة الرئتين والكلى والكبد في ذكور الأرانب البيضاء البالغة (*Orectolagus cuniculus*). تم حقن هذه الحيوانات بـ HCQ بثلاث تركيزات مختلفة (25–50–100 ملغم/ كغم / يوم) لمدة ثلاثين يوما. تم استخدام ستة وثلاثين من ذكور الأرانب وقسمت عشوائيا إلى أربع مجموعات. ضمت كل مجموعة تسعة أرانب. تم حقن مجموعة السيطرة بـ 1 مل من الماء المقطر. المجموعة الثانية تم حقنها بـ HCQ بتركيز 25 ملغم / كغم / يوم. المجموعة الثالثة تم حقنها بتركيز 50 ملغم / كغم / يوم والمجموعة الرابعة بتركيز 100 ملغم / كغم / يوم. بعد فترة الحقن ، تم تخدير الحيوانات والتضحية بها لإستئصال الأعضاء المطلوبة.

تم تحضير المقاطع النسجية بطريقة التضمين في شمع البارافين ، وتم تلوين المقاطع باستخدام أربعة أنواع من الأصباغ (الهيماتوكسيلين وايوسين (H&E) ، شيف الحمض الدوري (PAS) ، وصبغة Masson،s Trichrome ، و Alcian Blue (AB)). تم فحص المقاطع باستخدام مجهر ضوئي مزود بكاميرا. ثم تم تسجيل المعلومات المطلوبة.

أدى حقن الأرانب بالعقار إلى ظهور عدد من التغيرات السلوكية تمثلت بالانطواء و قلة النشاط و فقدان الشهية ، بالإضافة إلى إصابة بعض الحالات الفردية بالإسهال. كما لوحظ ارتفاع معدل التنفس خاصة في الأسبوع الأخير من الحقن. لوحظ ايضا أن متوسط وزن الحيوانات انخفض بشكل طفيف بعد الحقن ، حيث بلغت معدلات وزنها قبل الحقن 1.220–1.487–1.383 كغم على التوالي ، بينما أصبحت 1.117–1.438–1.309 كغم على التوالي بعد الحقن.

هذه الدراسة في توضيح بعض الآثار السلبية لعقار HCQ على التركيب النسجي لهذه الأعضاء وكان الهدف من الدراسة الحالية معرفة تأثير العقار من خلال ما يلي :

1- دراسة التاثيرات السلوكية و العيانية للأرنب الأبيض البالغ بعد حقنه بعقار HCQ لمدة 30 يوماً .

2- دراسة التغيرات النسجية المرضية للرئتين، الكلى و الكبد في الأرنب الأبيض البالغ بعد حقنه بالعقار باستعمال الصبغات الروتينية (هيماتوكسيلين -ايوسين H&E).

3- دراسة التأثيرات النسجية المرضية للرئتين ، الكلى و الكبد بإستخدام الصبغات الخاصة

(Periodic Acid Schiff, Masson's TriChrome , Alcian Blue)