

## دراسة نسجية مرضية لتأثير عقار السيسبلاتين في كلية الفئران البيض

### السويسرية BALB/ c

شهلة عبدالله حسن

ولاء فاروق فتحي

قسم علوم الحياة

كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة الموصل

تاريخ القبول

تاريخ الاستلام

2018/04/03

2018/03/04

#### ABSTRACT

This study was conducted to explore the effect of cisplatin on the kidney of Swiss BALB/c mice through treatment with cisplatin at the concentrations (2mg/kg, 3mg/kg, 4mg/kg) along 30 days.

Histopathological changes of the kidney at the concentration 2mg/kg elucidated swelling of renal tubules, vacuolation of interstitial tissue, collapse of some glomeruli, Degeneration and Haemorrhage of interstitial tissue.

At the concentration 3mg/kg, thickening of blood vessels, Hypertrophy of nucleus of endothelial cells, degeneration, vacuolation and Deterioration of renal tubules and Haemorrhage of interstitial tissue.

At the concentration 4mg/kg huge collapse in some glomeruli, swelling of some epithelial cell and Deterioration of renal tubules, appearance of some phagocytic cells and pyknosis of the cytoplasm of most renal tubules, were observed.

**Keywords:** Cisplatin, Toxicity, Histopathology

#### الخلاصة

تناولت الدراسة الحالية تأثير عقار السيسبلاتين في كلية الفئران البيض السويسرية سلالة BALB/c من خلال معاملتها بهذا العقار بالتركيزات (2ملغم/كغم، 3ملغم/كغم، 4ملغم/كغم من وزن الجسم) خلال 30 يوما.

اظهرت دراسة التغيرات المرضية النسجية في كلية الفئران عند التركيز 2ملغم/كغم وجود بعض الافات في نسيج الكلية متمثلة في انتفاخ خلايا النبيبات البولية وتفجى في النسيج الخلالي، ظهور انكماش في بعض الكبيبات فضلا عن التنكس ووجود نزيف في النسيج

الخلايا. اما في التركيز 3ملغم / كغم فقد لوحظ تسمك جدران الاوعية الدموية مع تضخم انوية الخلايا البطانية وتتكس وتفجى في خلايا بعض النبيبات وتلف في محفظة الكلية ونزف واسع في النسيج الخلالي.

في التركيز 4ملغم /كغم ظهرت بعض الافات متمثلة بوجود انكماش كبير في بعض الكبيبات، انتفاخ في بعض الخلايا الظهارية للنبيبات البولية، تلف واسع في النبيبات البولية، ظهور بعض الخلايا البلعمية مع تكثف سايتوبلازم الكثير من خلايا النبيبات البولية.

#### المقدمة

كان مرض السرطان و مازال يشكل النسبة الكبيرة من الأمراض الشائعة لاسيما خلال النصف الأخير من القرن العشرين بسبب الزيادة الكبيرة في طرح الملوثات و تنوعها مما أدبالي التغير الواضح في الظروف البيئية الطبيعية وادت كثرة تعرض الناس لهذه الملوثات الى حدوث مختلف أنواع الطفرات المؤدية إلى نشوء مرض السرطان الذي يعد احد الأمراض المهلكة بسبب مسار المرض الخطير غير المسيطر عليه.[1]

يتكون جسم الإنسان من مليارات الخلايا ذات الوظائف المختلفة التي تخضع لنظام دقيق في انقسامها وإفرازها ووظائفها، اذا انقسمت خلية من هذه الخلايا انقسامات غير طبيعية وغير منتظمة فانها تكون عددا هائلا من الخلايا ومن ثم ظهور كتلة يطلق عليه ورم [2].

يعد السرطان احد الأسباب الرئيسة للوفاة في العالم، إذ يأتي في المرتبة الثانية بعد أمراض القلب والشرابين خلال العام الواحد [3].من طرق العلاج المعروفة لهذا المرض العلاج الجراحي او العلاج الإشعاعي او العلاج الكيميائي أو جميعها معا. و بشكل عام فان العلاجين الجراحي والإشعاعي يستعملان في حالات الأورام الموضعية أما العلاج الكيميائي فيستعمل عند انتشار الخلايا السرطانية في الجسم. على الرغم من فوائد هذه العلاجات إلا أن لها تأثيرات جانبية سلبية على صحة المريض لاسيما العلاجات الكيميائية التي تسبب سمية الأنسجة الطبيعية في الجسم أو إحداث الطفرات الوراثية في خلايا الجسم أو إضعاف الجهاز المناعي[4]. ومن الأدوية التي استخدمت على نطاق واسع في العلاج الكيميائي ضد السرطان

Cisplatin carboplatin ,oxaliplatin, 5-flurouracil and doxorubicin [5-6]، وقد استخدم السيسبلاتين في معالجة طيف واسع من الأورام السرطانية وخاصة سرطان البروستات والمبيض والخصى وهو من مجموعة البلاتينيوم، استخدم عقار السيسبلاتين في الدراسة الحالية لمعرفة تأثيره على كلية الفئران السويسرية البيض BALB/c. اكتشف من قبل منظمة الغذاء والدواء (FAD) Food and Drug administration في عام 1978، ويعد من انواع العلاج الكيماوي و يعطى لحوالي 50% من مرضى السرطان [7]. تؤدي الجرعة العالية

من هذا العقار إلى التسمم الكلوي، حيث يتجمع في النسيج الطلائى للنبيبات البولية القاصية، السمية الكلوية تزداد مع زيادة الجرعة و زيادة المدة الزمنية للدواء المعطى حيث تسبب الجرعة المتراكمة للسيسلاتين الى اذى النسيج الطلائى للنبيبات البولية القاصية [8].

#### المواد وطرائق العمل

استخدمت في الدراسة الحالية الفئران البيض السويسرية *Mus musculus* من سلالة BALB/c. وضعت الفئران في اقفاص بلاستيكية خاصة، اعطيت العليقة الخاصة بتغذية الفئران خضعت الفئران للعناية والمراقبة اليومية المستمرة حتى موعد تولدها والحصول على الاعداد المطلوبة لغرض اجراء التجارب المطلوبة لانجاز الدراسة [9]. قسمت حيوانات التجربة الى اربعة مجاميع حيث ضمت كل مجموعة خمسة فئران من الذكور، حقنت الفئران عن طريق التجويف البريتوني (I.P) intra peritoneal injection اسبوعيا لمدة اربعة اسابيع. اما مجموعة السيطرة فجرعت بماء مقطر. شرحت الفئران بعد 30 يوما من التجريع لغرض الحصول على الكلى التي نقلت الى اطباق بلاستيكية حاوية على محلول فسلجي ملحي Normal Saline [10] حضرت المقاطع النسجية المجهرية عن طريق تثبيت المقاطع في 10% من محلول الفورمالين المتعادل Neutral buffer formalin، اجريت عملية ازالة الماء للنماذج في الكحول بتراكيز تصاعديّة روقت النماذج في الزايلول وطمرت في شمع البارافين. قطعت النماذج بسمك 3-5 مايكروميتر وصبغت الشرائح بصبغة الهيماتوكسلين-ديلافيدوالايوسين لغرض الدراسة النسجية. حملت الشرائح بواسطة (D.P.X) Distrene-Plasticizer-Xylene [11]، فحصت المقاطع النسجية باستعمال المجهر الضوئي المركب وصورت بواسطة كاميرا رقمية Digital Camera من نوع MDCE – 5A يابانية المنشأ ذات حساسية ASH 100.

#### النتائج والمناقشة

اظهرت المقاطع النسيجية لكلىة الفئران في مجموعة السيطرة غير المعاملة بالسيسلاتين والتي تم اعطائها الماء المقطر فقط، خالية من الافات النسيجية والاضرار (الشكل 1).

اظهرت المقاطع النسجية لكلىة الفئران المعاملة بالسيسلاتين CP بالتركيز 2ملغم /كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوما وجود بعض الافات في نسيج الكلىة المتمثلة في انتفاخ Swelling خلايا النبيبات البولية مما ادى الى تضيق قطر النبيبات وتفتحي Vacuolation النسيج الخلالي (الشكل 2). كما اوضحت النتائج ظهور انكماش Collapse بعض الكيببات وزيادة فسحة بومان فضلا عن التنكس Degeneration (الشكل 3)، اضافة الى وجود نزف دموي Haemorrhage في النسيج الخلالي (الشكل 4).

تشير هذه النتيجة إلى أن السيبلاتين يعمل بثلاث آليات مختلفة إذ انه يؤثر في قواعد الحمض النووي مما يؤدي الى تفتيته عن طريق الانزيمات لتحل محل القواعد الالكيلية ومنع ترميم الحمض النووي الريبي المتضرر (RNA) ribo nucleic acid كما انه يؤثر في الروابط بين ذرات الحمض النووي الريبي المنزوع الاوكسجين (DNA) deoxyribo nucleic acid مما يمنعه من التخليق. للسيبلاتين تأثير جانبي ضار لكونه يؤثر على الخلايا الطبيعية السليمة في الجسم، اذ له تأثير سمي على الكلى حيث ان حوالي (25-35) % من المرضى يعانون هبوطا عاما في الوظائف الكلوية بعد جرعة مفردة من المعالجة، كما تظهر تغيرات مرضية حادة وتتخر وتلف في النبيبات البولية مما يؤدي الى الفشل الكلوي [12].

اما عند التركيز 3ملغم/كغم فقد ظهرت افات في نسيج الكلية متمثلة في تسمك Thickenning جدران الاوعية الدموية مع تضخم انوية الخلايا البطانية واحتقان Congestion بعض الاوعية الدموية وازدياد تنكس Degeneration النبيبات البولية (الشكل 5). كما اظهرت المقاطع ظهور تفجي Vaculation في خلايا بعض النبيبات البولية مع تلف Deterioration في بعض اجزاء محفظة الكلية (الشكل 6)، فضلا عن ظهور نزف دموي Haemorrhage في النسيج الخلالي وتلف في الخلايا الظهارية للنبيبات (الشكل 7).

يمكن ان تعزى هذه النتيجة إلى أن سمية السيبلاتين للجهد التاكسدي والذي يعد احد الاليات الاكثر اهمية حيث تستحث السمية من خلال إنتاج أنواع الأوكسجين الفعال (ROS) Reactive Oxygen Specis والمالونديهايد (MDA) malondialdehyde متمثلة بنقص مضادات الاكسدة مثل خفض الكلوتاثيون. تعد السمية الكلوية (تلف الكلية) اشهر تأثير جانبي للمعالجة بالسيبلاتين وهذا يعتمد على الجرعة والضرر الكلوي للسيبلاتين المتراكم في الكبيبات والنبيبات [13]. فكلما زادت الجرعة وعدد مرات اعطاء الدواء والجرع المتراكمة تزداد السمية الكلوية.

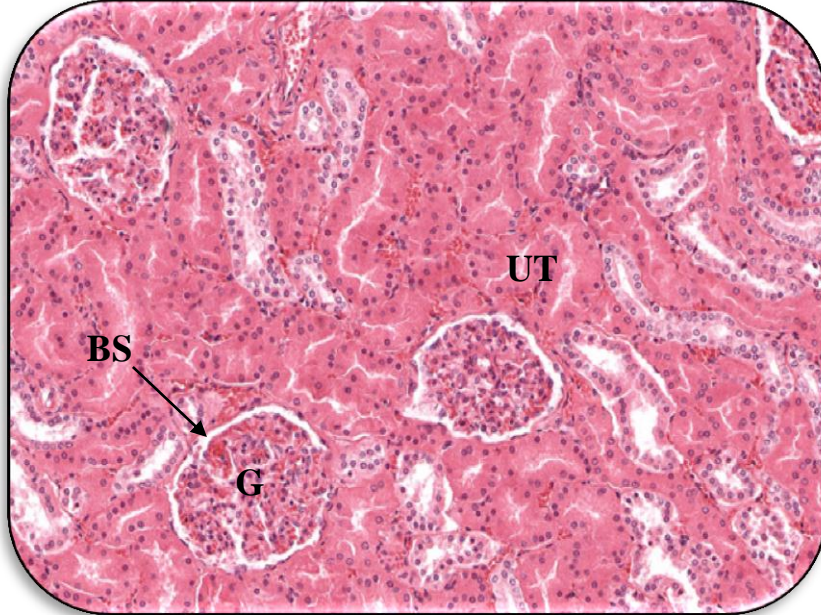
اكتشف تأثيرالسيبلاتين في حث السمية الكلوية في حيوانات التجارب لأول مرة من قبل Kociba وSleigh [14]; Yao [15] اذ اظهرت الدراسات تغيرات مرضية حادة وتتخر في النبيبات الكلوية مع نزف واحتقان الاوعية الدموية وظهور تفجي في بعض خلايا النبيبات مع تنترج الدم [16].

اوضحت نتائج الدراسة عند التركيز 4ملغم/كغم وجود بعض الافات في نسيج الكلية متمثلة في وجود انكماش Collapsing كبير في بعض الكبيبات واتساع فسحة بومان Bowman Space وتضخم Hypertrophy خلايا النسيج الحرشفي للغشاء الجداري لفسحة بومان مع انتفاخ Swelling في بعض الخلايا الظهارية للنبيبات البولية وتلف Deterioration

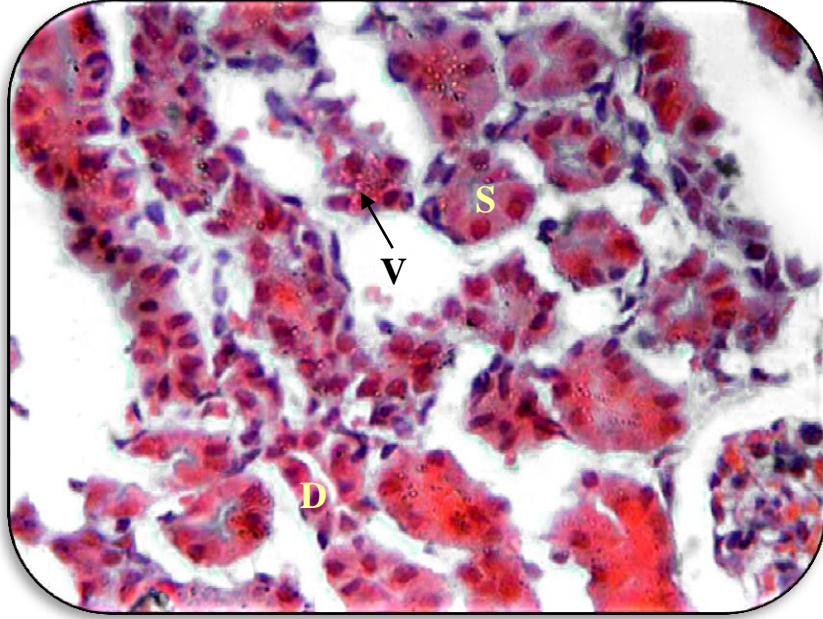
واسع في النسيج الخلالي في بعض اجزاء الكلية (الشكل 8)، كما اوضحت وجود تلف كبير في النبيبات الكلوية واختفاء اعداد منها مع تكثف Pyknosis الخلايا المتبقية في هذه النبيبات التالفة (الشكل 9)، فضلا عن ظهور ارتشاح Infiltration الخلايا الالتهابية وبعض الخلايا البلعمية Phagocyte وتلف اجزاء من الكبيبة مع تلف سايتوبلازم خلايا الكثير من النبيبات البولية وتلف النسيج الخلالي (الشكل 10).

وقد يعود ذلك إلى أن السيسبلاتين يتسبب بالتأثيرات النسيجية المرضية المذكورة بواسطة اليات متعددة تتضمن نقص الاوكسجين، الاجهاد التاكسدي، الموت المبرمج الذي ينتج عامل نخر الورم Tumor necrosis factor (TNF) بواسطة الخلايا الحشوية (البارنكيميا) الكلوية ويولد الاوكسجين الفعال [17].

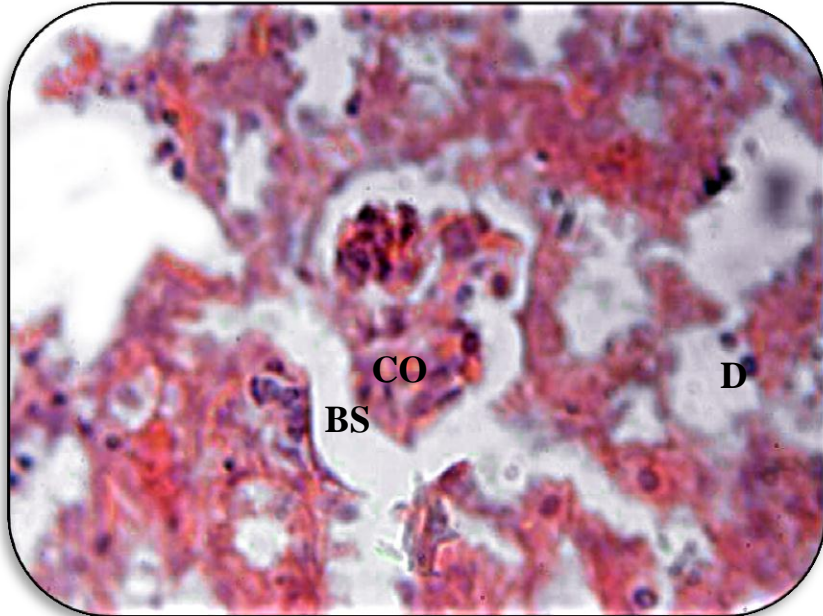
وجد Pratibha Ravindra وآخرون [18] عند حقن الجرذان بالسيسبلاتين يتسبب في حدوث تغير النسيج في النبيبات القريبة والبعيدة الملتوية مع ظهور نخر انبوبي وضمور الاوعية الدموية في الكبيبة. كما وجدو بان جرعات منخفضة تحفز موت الخلايا المبرمج، نخر وتلف في كثير من النبيبات البولية. ان اختلاف تأثير عقار السيسبلاتين يعتمد على تركيز الجرعة والفترة الزمنية اذ كلما زادت الجرعة ازدادت حالات النخر الحاد والتلف في النبيبات [19].



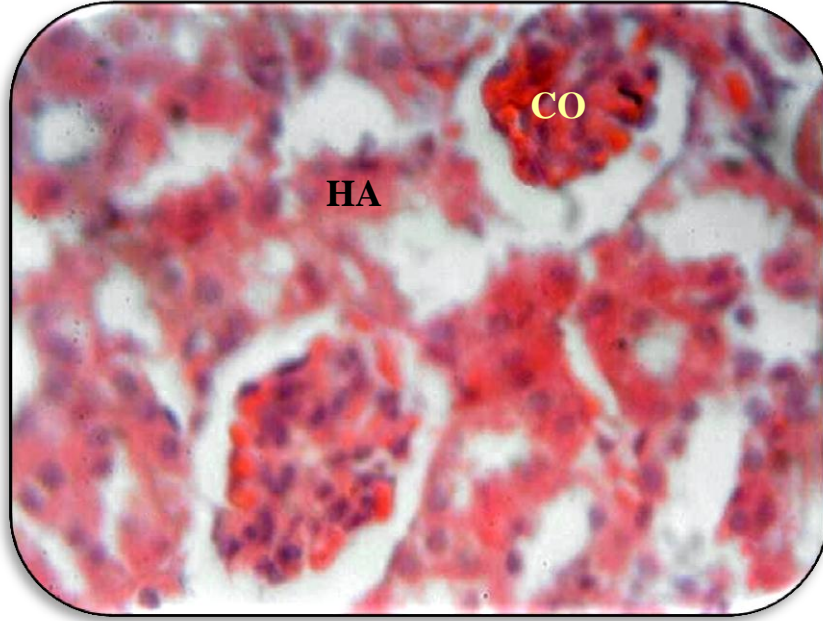
الشكل (1): يوضح نسيج طبيعي للكلية مجموعة السيطرة تظهر فيه الكبيبات (G) Glomerular وفسحة بومان (BS) والنبيبات البولية (UT) بشكل طبيعي خالي من الافات النسيجية. الصبغة H&E قوة التكبير X 400



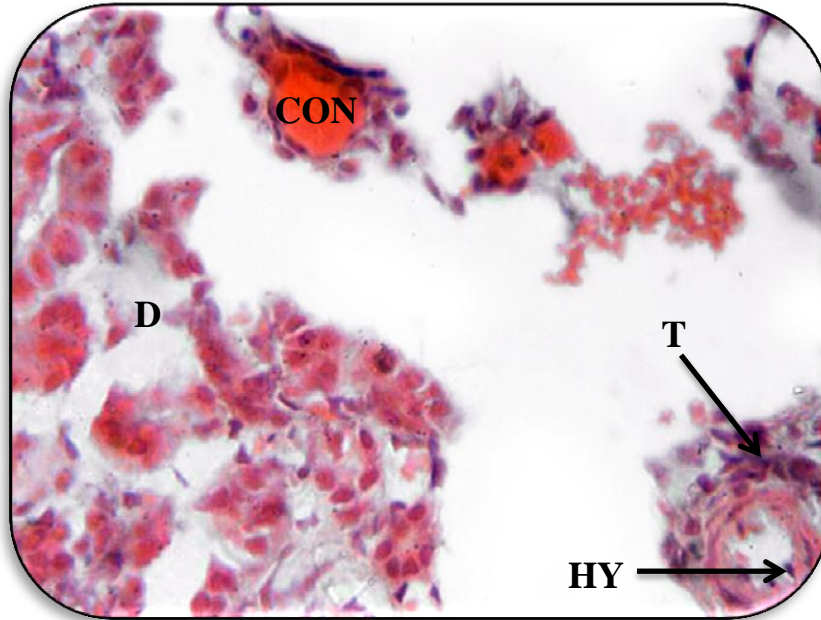
الشكل (2): وجود بعض الافات في نسيج الكلية عند التركيز 2ملغم/كغم متمثلة في انتفاخ Swelling(S) خلايا النبيبات البولية وتتكس (D) Degeneration في خلايا النبيبات وتقجي (V) Vacuolation النسيج الخلالي. الصبغة H&E، قوة التكبير X400.



الشكل (3): يوضح وجود بعض الافات في نسيج الكلية عند التركيز 2ملغم/كغم متمثلة في ظهور انكماش (CO) Collapsing في بعض الكبيبات وزيادة فسحة بومان (BS) فضلا عن التتكس (D). الصبغة H&E، قوة التكبير X400.



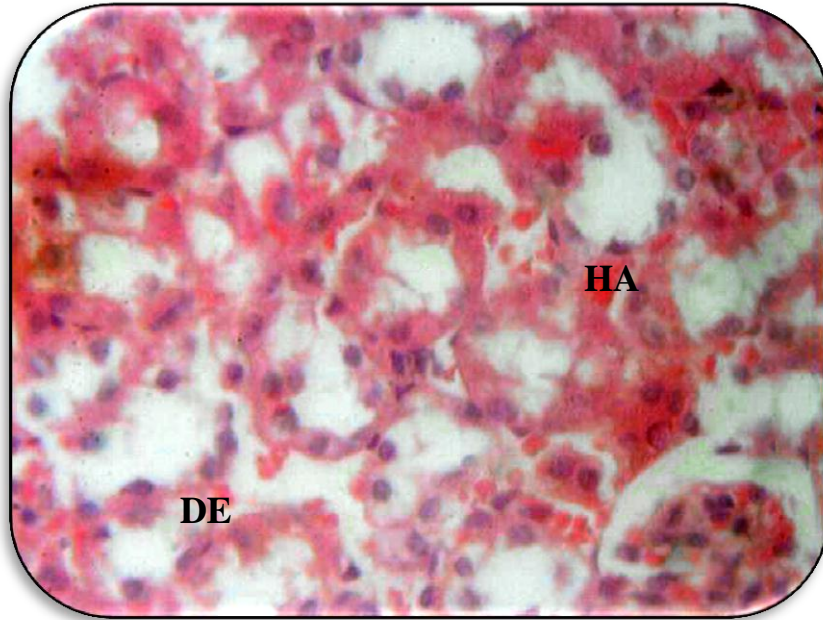
الشكل (4): يوضح وجود بعض الافات في نسيج الكلية عند التركيز 2ملغم /كغم متمثلة في وجود نزيف (Haemorrhage(HA) في النسيج الخلالي فضلا عن انكماش (CO) بعض الكبيبات. الصبغة H&E قوة التكبير X 400.



الشكل (5): يوضح وجود بعض الافات في نسيج الكلية عند التركيز 3ملغم /كغم متمثلة في تسك جدران (Thickening (T) الاوعية الدموية مع تضخم انوية الخلايا البطانية واحتقان (CON) بعض الاوعية الدموية مع ازدياد في تنكس (D) النبيبات البولية. الصبغة H&E، قوة التكبير X 400.

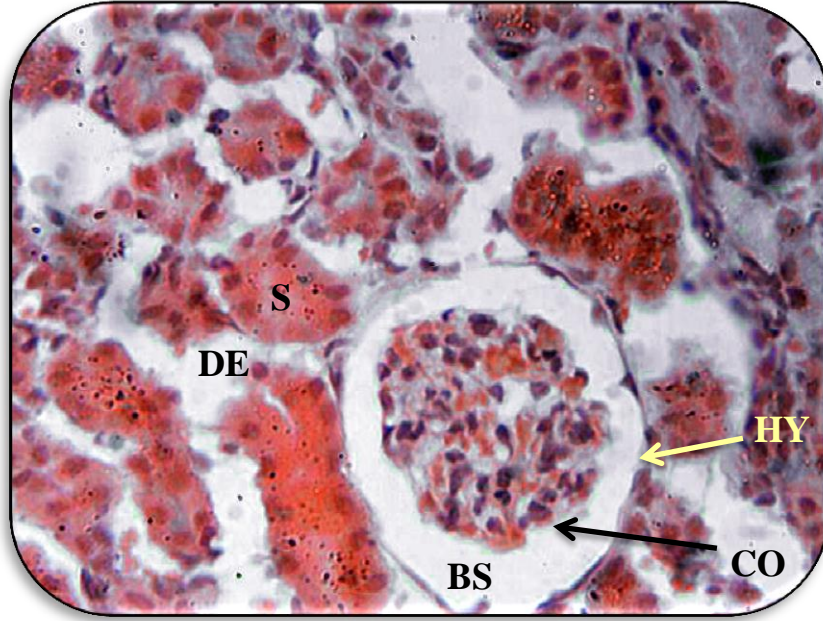


الشكل (6): يوضح وجود بعض الافات في نسيج الكلية عند التركيز 3ملغم/كغم متمثلة في ظهور تفجي (V) خلايا بعض النيببات البولية وتلف Deterioration في بعض اجزاء محفظة (CA) الكلية. الصبغة H&E، قوة التكبير 400.X

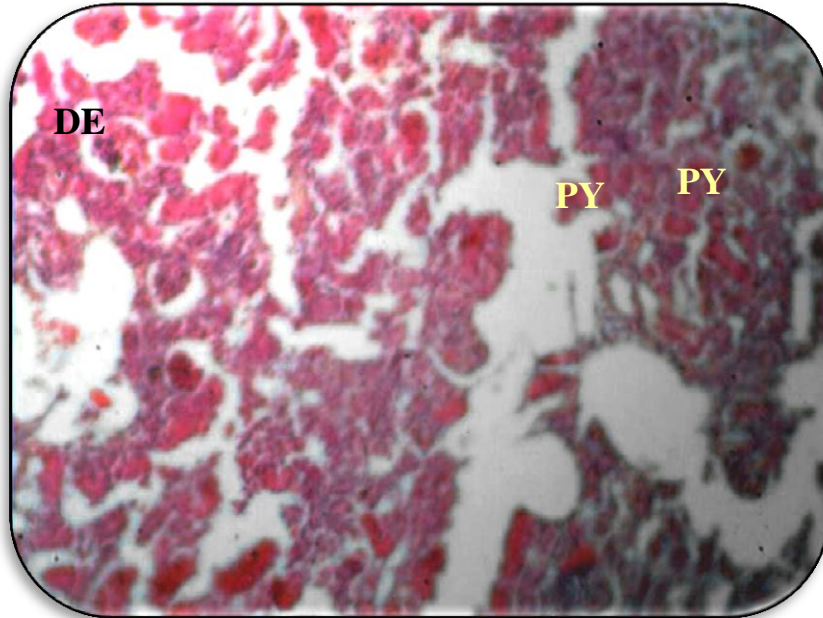


الشكل (7): يوضح وجود بعض الافات في نسيج الكلية عند التركيز 3ملغم /كغم متمثلة في ظهور نزف دموي (HA) واسع في النسيج الخلالي وتلف Deterioration(De) في النسيج الظهاري للنيببات. الصبغة H&E، قوة التكبير 400.X.

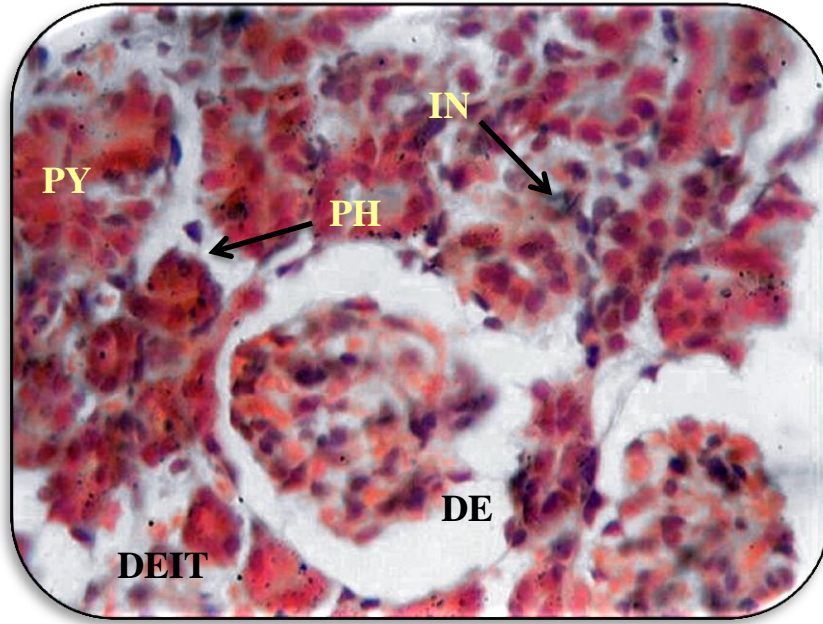




الشكل (8): يوضح وجود بعض الافات في نسيج الكلية عند التركيز 4ملغم/كغم متمثلة في وجود انكماش (CO) كبير في بعض الكبيبات واتساع فسحة بومان (BS) وتضخم (HY) خلايا النسيج الحرشفي للغشاء الجداري لفسحة بومان مع انتقاخ (S) في بعض الخلايا الظهارية للنبيبات البولية وتلف (DE) واسع في النسيج الخلالي في بعض اجزاء الكلية. الصبغة H&E، قوة التكبير X 400.



الشكل (9): يوضح وجود بعض الافات في نسيج الكلية عند التركيز 4ملغم/كغم متمثلة في وجود تلف (DE) واسع في النيبات البولية واختفاء اعداد منها مع تكثف (PY) الخلايا المتبقية من النيبات التالفة. الصبغة H&E، قوة التكبير X 400.



الشكل (10): يوضح وجود بعض الافات في نسيج الكلية عند التركيز 4 ملغم / كغم متمثلة في وجود ارتشاح (IN) الخلايا الالتهابية وظهور بعض الخلايا البلعمية (PH) وتلف (DE) اجزاء من الكبيبة مع تكثف (PY) سايتوبلازم خلايا الكثير من النبيبات البولية وتلف النسيج الخلالي (DEIT). الصبغة H&E، قوة التكبير X 400.

#### المصادر

- 1- National Cancer Institute (NCI ). (2015). Cisplatin, <http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfor/cisplatin>.
- 2- Miller R.P. Tadagavadi R.K. Ramesh G. and Reeves W.B.(2010).Toxins (Basel), 2(11); 2490-2518.
- 3- Kumar P. Lakshmaya D.R.G. and Setty R.S.(2008). I.J. Exp. Bio. 46:510-513.
- 4- Kunitomo M. (2014).Yakugaku Zasshi.127:1997-2014.
- 5- Yeo, W. Mok T.S Zee B Leung T.W Lau Tang A. and Johnson P.j. (2005). J. Natl. Cancer Inst.; 97:1532-1538.
- 6- Yuan J.N. Chao Y. Lee W.P. Li C.P. Lee R.C. Chang F.Y. Yen S.H.; Lee S.D. and Whang-Peng J. (2008). carcinoma.
- 7- Sahu B.D. Kuncha M. Sindhura G.J. and Sistla R. (2013). Phytomedicine, 20(5):453-460.
- 8- Collins A.R.(2014).Adv.F.Nut.Res.68:283-299.
- 9- المعموري، وفاء هادي لطيف رسالة ماجستير، كلية الطب، جامعة تكريت، العراق(2001).

- 10- الكناني،انتصار رحيم(2013).تقانات كيمياء النسيج.العلا للطباعة والنشر الطبعة الاولى، جامعة الموصل، العراق، ص187.
- 11-Bancroft J.Stevens D,Tumer D (1990) Theory and practice of histological technique.3 rd Ed.Edinburgh Landon Melboime and New York.
- 12-Padmanabhan R. Singn S.Speenatham R. (2003). J. Ind. Pharmacy., 14 (3) : 246-258.
- 13-Levi J.A. Aroney R.S. Dalley D.N. (1981). Br. Med. J.(Clin. Res. Ed.). 282 (6281):2003.
- 14-Kociba R.J. and Sleight S.D. (1971). Cancer Chemother. Rep.;55:1-8.
- 15-Yao X. Panichpisal K. Kurtzman N. and Nugent K. (2007). Am. J. Med. Sci.; 334 : 115-124.
- 16-Joy J. and Nair C.K. (2008). Journal of Cancer Research and Therapeutics. 4(3).PP. 238-46.
- 17-Sajjad H.(2012).Annals of Biolo.Res;(5):2297-2303.
- 18-Pratibha Ravindra, Dayanand A. Bhiwgade, Sameer Kulkarni, Padmanabh V.Rataboli and Chitra Y.Dhume, Academic Journals., Vol.4(7),pp. 108-111,Jully(2010).
- 19-Gao L.P. LiZ. Guo Z.Y. and Zhao Y.M.(2013).Toxic. Mech. Meth.23(6):383-388.