---- مجلة علوم الرافدين، المجلد 17، العدد 11، خاص بعلوم الحياة، ص108-125، 2006 ----

تقييم التأثيرات التطورية السمية في الجرذان المعرضة للاوكسفندازول خلال الحمل

محمد خالد شندالة ليجبا إيليا شميس

فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والأدوية

كلية الطب البيطري

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2006/2/28 ، تاريخ القبول 2006/5/31)

الملخص

أدى إعطاء الاوكسفندازول للاناث الجرذان الحوامل من أصل البينو بيضاء بجرعة (7 ، 5، 15، 30 و 60) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم خلال الأيام (6-15) من الحمل إلى إحداث تأثيرات سمية في الأجنة واعتمادا على الجرعة، بلغت النسبة المئوية لارتشاف الأجنة للمجاميع المعاملة بجرعة (30 و60) ملغم/كغم (83,33%، 100%) وعلى التوالي، فضلا عن إن جرعة (30) ملغم/ كغم أحدثت انخفاضا معنويا في عدد الأجنة وطولها ووزنها ووزن المشائم وقطرها، في حين إن جرعة (7,5) ملغم/كغم لم تحدث هذه التأثيرات السمية في الأجنة. لقد كان تأثير معاملة الأمهات الحوامل بالاوكسفندازول بجرعة (60) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في مراحل الحمل المختلفة (مرحلة ما قبل الغرس، مرحلة تكوين الأعضاء ومرحلة إتمام نمو الأنسجة والوظائف) معتمدة على مرحلة التطور الجنيني عند المعاملة، وقد كانت التأثيرات السمية على أشدها خلال المعاملة في مرحلة تكوين الأعضاء خلال الأيام (6-15) من الحمل حيث أحدث الاوكسفندازول ارتشافا كاملا للأجنة، في حين أدى إعطاء الاوكسفندازول في المرحلة الثالثة (الأيام 15-19 من الحمل) إلى إحداث انخفاض معنوي فقط في أوزان وأطوال الأجنة. أدت معاملة الجرذان الحوامل بالاوكسفندازول بجرعة (15 و30)ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في مرحلة تكوين الأعضاء إلى إحداث زيادة معنوية في النسبة المئوية لهلاك الصغار في اليوم الأول بعد الولادة (36%، 95%) وعلى التوالي، وقد كانت هذه التأثيرات معتمدة على الجرعة، فضلا عن ذلك أحدث الاوكسفندازول بجرعة (30) ملغم/كغم انخفاضا معنويا في عدد المواليد لكل أم مع انخفاض معنوي في أوزان هذه المواليد في اليوم الأول بعد الولادة، فضلا عن انخفاض النسبة المئوية لبقاء هذه المواليد إلى عمر الفطام والتي بلغت (صفر%) في اليوم الثاني بعد الولادة. لقد كانت جرع (15 و30)ملغم/ كغم مسخية وذلك لأحداثها عيوبا خلقية خارجية (تشوه في الذيل) إذ لوحظت على مولود واحد لكل مجموعة.

Assessment of Developmental Toxic Effects in Rats Exposed to Oxfendazole Prenatally

Mohammad K. Shindala **Ligia E. Shemiss**
Department of Physiology, Biochemistry and Pharmacology
College of Veterinary Medicine
Mosul University

ABSTRACT

Pregnant Albino rats were treated with oxfendazole at doses (7,5 , 15, 30 and 60 mg/kg, orally) during organogenesis (on days 6-15 of pregnancy) which produced dose –dependent embryotoxicity. The doses of (30 and 60mg/kg) caused a high percentage of resorption of embryos (83,33% and 100%),respectively, as well as the dose of (30) mg/kg a significant decreased in the numbers, wieghts and lengths of fetuses, and placental wieghts and daimeters.Whereas the dose of (7,5) mg/kg did'not produced embryotoxic effects. The effects of oxfendazole on pregnant rats of a dose (60)mg/kg (orally) on different stages of gestation: preimplantation, organogenesis and histogenesis and function maturation were depend on the stage of embryonic development. The effects were high on the stage of organogenesis where oxfendazole caused full resorption of embryos. While the effect of oxfendazole on 3 rd stage of gestation manifested by significant decreased in the weights and lengths of fetuses. Pregnant rats were treated with oxfendazole at doses (15 and 30) mg/kg (orally) during organogenesis significantly increased the percentage of neonatal mortality on postnatal day (PND1) (36%, 95%) respectively, these effects were dose dependent, as well as oxfendazole at dose (30) mg/kg caused significant decreas in the litter size, the body weight of the progeny (PND1), as sharply reduced the percentage of survival of the pups to weaning to (0%) on the (PND2). The doses at (15 and 30)mg/kg were teratogenic causing external anomalies (tail deformity) were found in 1 offspring of each group.

المقدمة

يعد عقار الاوكسفندازول من مشتقات البنزيميدازول الواسعة الاستخدام في مجال الطب البيطري لعلاج الديدان الداخلية في حيوانات المزرعة مثل الأبقار، الأغنام والماعز والخيول وغيرها من الحيوانات (Einstein et al., 1994; Reinemeyer and Courteny, 2001). وقد أشارت الدراسات الحديثة إلى خطورة مركبات البنزيميدازول لكونها تحدث التأثيرات السمية والمسخية Embryotoxic and Teratogenic Effcts في أجنة الحيوانات الحوامل بجرع واطئة جدا مقارنة مع الجرعة المميتة الوسطية LD_{50} لهذه المركبات والبالغة 6400 ملغم/كغم (Aiello, 2003). وقد تعود آلية حدوث التأثيرات السمية أو المسخية لهذه المركبات في الأجنة إلى عدم امتلاكها سمية انتقائية Selective Toxicity ضد الطفيليات ولاسيما عند إعطائه بالجرع العالية وهذا يعني إنه من الممكن تعرض خلايا المضيف

Host لتأثيرات ضارة من هذا الدواء (Mckellar and Scott, 1990; CVMP, 1997; Aiello ,2003) فضلا عن امتلاك الاوكسفندازول التأثيرات المضادة للانقسام الخيطي الخلوي (Sharma and Abuzar, 1983; CVMP, 1997; Reinemeyer and Courteny, 2001; Aiello, 2003) لذلك كان الهدف من الدراسة الحالية هو:

1- دراسة التأثيرات السمية والمسخية للاوكسفندازول في أجنة الجرذان الحوامل المعاملة بالدواء أثناء الحمل.

2- دراسة التأثيرات السمية والمسخية في المواليد حديثي الولادة من أمهات معاملة بالدواء أثناء الحمل.

المواد وطرائق العمل

التكاثر وتشخيص الحمل في إناث الجرذان:

استخدمت في هذه الدراسة إناثا وذكورا من جرذان مختبريه بيضاء اللون Albino Rats وجرت تربية الحيوانات في ظروف مختبريه خاصة امتازت بدورة ضوئية 10 ساعات ضوء و14 ساعة ظلام، وكانت درجة حرارة المختبر الذي تمت فيه التربية 22±2 درجة مئوية. كان يتم خلط ثلاث إناث بالغة مع ذكر واحد بالغ في قفص واحد، وفي صباح اليوم التالي كان يتم أخذ مسحات مهبلية (Hafez, 1970) للكشف عن وجود الحيمن الذكري في المسحة المهبلية إذ يعد وجوده في المسحة هو اليوم الأول من الحمل (Trekob, 1988). والأنثى التي تعطي نتيجة موجبة (وجود الحيمن الذكري في المسحة المهبلية لها) يتم تعليمها وعزلها في قفص لوحدها مزودا بالماء والعلف لغرض إجراء التجارب اللاحقة عليها. وكان يتم قياس أوزان الإناث الحوامل وبصورة دورية في الايام (1، 5، 10، 15، 20) للتأكد من استمرار الحمل.

حجم الجرعة المستخدمة:

تم تخفيف معلق الاوكسفندازول بالماء المقطر وكان يتم تحضير التركيز حسب التجربة حيث كان حجم الجرعة المعطاة 2 مل/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم.

التجارب

1- دراسة التأثيرات السمية للاوكسفندازول في أجنة إناث الجرذان الحوامل المعاملة بجرعة (صفر، 7,5، 15، 30 و60) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل (مرحلة تكوين الأعضاء).

لقد صممت هذه التجربة لدراسة التأثرات السمية للاوكسفندازول (2,5% - ميدكو- سوريا) في أجنةالإناث الحوامل المعاملة للأيام من (6-15) يوم من الحمل(مرحلة تكوين الأعضاء) وذلك لان عددا من

المصادر العلمية أكدت بأن هذه المرحلة هي الأكثر حساسية (Osweiler,1996; Hood et al., 2001; Haschek and Rousseaux, 2002; Karemfa, 2003; Rang et al., 2003).

تم في هذه التجربة استخدام خمس وعشرين من إناث الجرذان الحوامل تراوحت أوزانها ما بين (200-235) غم، قسمت عشوائيا إلى خمس مجاميع وبواقع خمسة حيوانات لكل مجموعة. عوملت الاناث الحوامل بجرع مختلفة من الاوكسفندازول وهي(صفر (السيطرة)، 7,5، 15، 30 و60)ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم وعلى التوالي للأيام من (6-15) من الحمل (مرحلة تكوين الأعضاء). وبعد معاملة الإناث الحوامل بالدواء يتم مراقبتها طيلة فترة التجربة من حيث الحالة الصحية العامة، فضلا عن تسجيل علامات سمية أو هلاكات تظهر على الحوامل بعد المعاملة بالدواء كما كان يتم قياس أوزان الإناث الحوامل وبصورة دورية في الأيام (1، 5، 10، 15، 20) للتأكد من استمرار الحمل، وقد تم في اليوم العشرين من الحمل (Shindala, 2004) قتل جميع الإناث الحوامل في المجاميع كافة وذلك بعمل شق في البطن وإخراج المبايض وقرني الرحم ويتم ملاحظة الأتي:

1- حالة الأجنة للتأكد من كونها حية من خلال ملاحظة لونها وحركتها داخل السائل الاميني مع متابعة جريان الدم في الأوعية الدموية الرحمية المغذية للأجنة (الشكل 1) .

الشكل 1 :يوضح قرني الرحم الحاوية على أجنة كاملة التكوين لإناث الجرذان الحوامل لمجموعة السيطرة، الأسهم تشير إلى قرني الرحم الحاوية على الأجنة.

2-عدد الأجسام الصفراء لكل مبيض.

3-وبعدها يتم عمل شق طولي لجدار قرني الرحم لغرض إخراج الأجنة Fetuses وفصلها من المشائم، ويتم حساب كل من: عدد الأجنة الكلي، أوزان وأطوال الأجنة وأوزان وأقطار المشائم وحساب عدد

مواقع الغرس الكلي Total Implantation Site وذلك لمعرفة عدد الأجنة التي حدث لها ارتشاف Resorption مقارنة مع عدد الأجنة الكلي، فضلا عن إجراء فحص خارجي لملاحظة الأجنة للكشف عن وجود تشوهات ظاهرية أو تأثيرات مسخية.

2- تحديد مرحلة الحمل الأكثر حساسية للتأثيرات السمية للاوكسفندازول عند إعطائه لإناث الجرذان الحوامل بجرعة (60) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في مراحل الحمل المختلف.

تقسم مراحل الحمل في الجرذان إلى : مرحلة ما قبل الغرس، مرحلة تكوين الأعضاء ومرحلة إتمام نمو الأنسجة والوظائف (Delatour, 1983; Hood et al., 2001).

تم في هذه التجربة استخدام عشرين من إناث الجرذان الحوامل تراوحت أوزانها ما بين (200-225)غم، قسمت عشوائيا إلى أربعة مجاميع وبواقع خمسة حيوانات لكل مجموعة. عوملت الاناث الحوامل في المجموعة الأولى (مجموعة السيطرة) بالماء المقطر عن طريق الفم على مدار فترة الحمل الممتدة للأيام من (1-19). في حين عوملت جميع الاناث الحوامل في المجاميع الثانية والثالثة والرابعة بالاوكسيفندازول وبجرعة (60) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم مع ملاحظة أن فترة معاملة الاناث الحوامل بالاوكسيفندازول في المجاميع الثانية والثالثة والرابعة كانت في مراحل الحمل المختلفة وكلا حسب مجموعته (مرحلة ما قبل الغرس – للأيام من (1-6) من الحمل ومرحلة تكوين الأعضاء للأيام من (6-15) من الحمل ومرحلة إتمام نمو الأنسجة والوظائف للأيام من (15-19) من فترة الحمل) وعلى التوالي وفي اليوم العشرين تم قتل الإناث وملاحظة الرحم والمبايض والأجنة كما ذكر سابقا في التجربة الأولى.

3- التأثيرات السمية للاوكسفندازول في الولادات من أمهات معاملة بجرعة(صفر، 15 و30) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل (مرحلة تكوين الأعضاء).

وقد تم اختيار هذه الجرع اعتمادا على نتائج التجربة الأولى، قسمت إناث الجرذان الحوامل إلى ثلاث مجاميع عشوائيا وبواقع خمسة حيوانات لكل مجموعة تراوحت أوزانها (210-225غم)، عوملت الاناث الحوامل بجرع مختلفة من الاوكسفندازول وهي(صفر (السيطرة)، 15، 30) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم وعلى التوالي للأيام من(6-15) من الحمل.

وقد تم عزل الإناث الحوامل قبل(3-4) أيام من الولادة لوحدها في أقفاص مجهزة بفرشة خاصة لغرض الولادة وبعد الولادة مباشرة يتم حساب ما يأتي:

1- طول فترة الحمل Gestational Period Lenghth للإناث الحوامل.

2- عدد المواليد الكلي، عدد المواليد الحية عند الولادة، عدد المواليد الميتة عند الولادة، ويتم أيضا الفحص الخارجي أو الظاهري للمواليد للكشف عن وجود أي تأثيرات سمية في الأجنة (هلاك أو

انخفاض في معدل وزن الولادات) أو وجود تشوهات جنينية مسخية. كما كان يتم وبصورة دورية قياس معدل أوزان الولادات وبصورة دورية في الأيام (1، 5، 10، 15 و20) بعد الولادة لمعرفة درجة النمو لدى الصغار فضلا عن متابعة وقت فتح الآذان والعيون، وظهور الشعر والتي تمثل علامات النضوج.

4- تحديد النسبة المئوية لبقاء صغار الجرذان إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالاوكسفندازول بجرعة (صفر، 15 و30) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل (مرحلة تكوين الأعضاء).

تم في هذه التجربة متابعة نسبة بقاء الصغار حديثي الولادة من أمهات معاملة بالاوكسفندازول بالجرع المذكور أعلاه واعتبارا من اليوم الأول من الولادة حتى عمر الفطام (21 يوما)، حيث قسمت مجاميع الصغار حديثي الولادة إلى ثلاث مجاميع بحيث ضمت المجموعةالاولى (مجموعة -السيطرة) (41) من الصغار حديثي الولادة من أمهات تم معاملتها بالماء المقطر عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل. في حين ضمت كل من المجموعة الثانية والثالثة وعلى التوالي (30 و20) من صغار حديثي الولادة من أمهات تم معاملتها بالاوكسفندازول بجرعة (15و30) ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6 -15) من الحمل. لقد تم متابعة المواليد في كل المجاميع من اليوم الأول من الولادة لغاية عمر الفطام (21 يوما) وكان يتم في هذه الفترة تسجيل أي حالة هلاك تحدث للصغار خلال هذه الفترة وذلك للوصول إلى النسبة المئوية للبقاء إلى عمر الفطام.

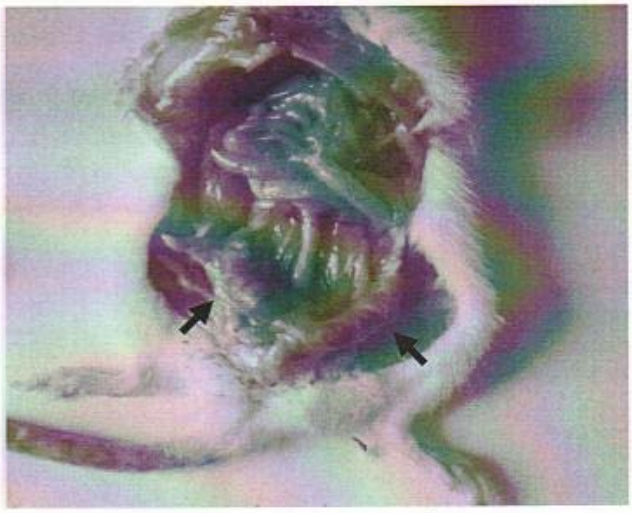
التحليل الإحصائي:

حللت البيانات المعلمية Parametric إحصائيا باستخدام اختبار تحليل One or two way analysis of variance وبعدها طبق عليها اختبار الفرق المعنوي الأدنى The Least Significant Difference L.S.D (Bruning and Kintz, 1977) ، أما البيانات غير معلمية Non-Parametric التي كانت بشكل مراتب رقمية Scores فقد تم تطبيق اختبار مان ونتني Mann- Whitney، والبيانات الواردة بشكل نسب مئوية فقد تم تحليلها باستخدام اختبار Chi-Square Test (Runyon, 1977) وكان مستوى الاختلاف المعنوي للاختبارات كافة عند مستوى احتمال (أ) أقل من 0,05 >p).

النتائج والمناقشة

1- دراسة التأثيرات السمية للاوكسفندازول في أجنة إناث الجرذان الحوامل المعاملة بجرعة (صفر، 7,5، 15، 30 و60) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من(6-15) من الحمل(مرحلة تكوين الأعضاء).

أحدث الاوكسفندازول اعتمادا على الجرعة تأثيرات سمية في أجنة الإناث الحوامل، فقد أدى إعطاؤه بجرعة (60) ملغم/ كغم من وزن الجسم للإناث الحوامل إلى حدوث تأثيرات سمية في الأجنة تمثلت بالزيادة المعنوية في النسبة المئوية لارتشاف الأجنة حيث بلغت (100%) مقارنة مع المجاميع المعاملة بجرعة(صفر، 7,5، 15 و 30) ملغم/ كغم من وزن الجسم، (الشكل 2) (الجدول 1).



الشكل 2 : يوضح الارتشاف الكامل لأجنة إناث الجرذان الحوامل المعاملة بالاوكسفندازول بجرعة (60) ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل (مرحلة تكوين الأعضاء). الأسهم تشير إلى قرني الرحم غير الحاوية على الأجنة.

الجدول 1: التأثيرات السمية للاوكسفندازول في أجنة إناث الجرذان الحوامل المعاملة بجرع مختلفة عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل.

جرعة الاوكسفندازول(ملغم/كغم)من وزن الجسم (مرحلة تكوين الأعضاء)					
القياسات	صفر(سيطرة)	7,5	15	30	60
عدد الأجسام الصفراء	1,23± 14,4	1,96±13,4	0,39± 12,8	2,04± 15,4	1,48±18
مواقع الغرس	1,01±10,2	0,57±10,6	0,81±10,4	1,14±10,8	1,61±9
أعداد الأجنة	1,59±8,8	1,97±9,4	1,33±6,4	1,34±1,8 ب أ *	صفر
أوزان الأجنة (بالغرام)	0,08±2,19	0,13±2	0,09±1,59	0,44±0,712ب أ *	•
أطوال الأجنة (سنتمتر)	0,09±3	0,08±3	0,05±2,64	0,66±1,09ب أ *	•
أوزان المشائم(بالغرام)	0,03±0,46	0,03±0,40	0,02±0,41	0,10±0,17 ب أ *	•
أقطار المشائم(سنتمتر)	0,05±1,44	0,02±1,38	0,02±1,36	0,32±0,53ب أ *	•
عدد مواقع الغرس الكلي	51	53	52	54	45
عدد الأجنة الكلي	44	47	32	9	صفر
أجنة حدث لها ارتشاف	7	6	20	45	45
أجنة مشوهة	—	—	—	—	—
%للارتشاف الأجنة Resorption	13,73	11,32	38,5 أ *	83,33 ب أ *	100 جـ ب أ *

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لـــ(لقياسات الأجسام الصفراء، الأجنة والمشائم).

- لم تظهر القياسات نتيجة الارتشاف الكامل للأجنة.

* . القيمة تختلف معنويا عن قيم مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية أقل من 0,05

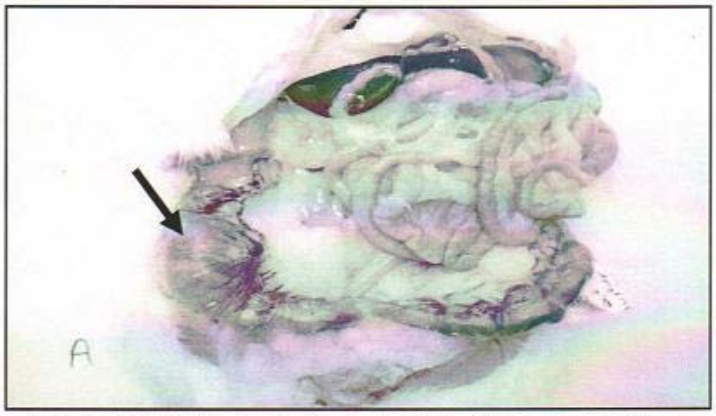
أ . القيمة تختلف معنويا عن قيم المجموعة المعاملة بجرعة 7,5 ملغم/ كغم عند مستوى معنوية أقل من 0,05.

ب . القيمة تختلف معنويا عن قيم المجموعة المعاملة بجرعة 15 ملغم/ كغم عند مستوى معنوية أقل من 0,05.

جـ . القيمة تختلف معنويا عن قيم المجموعة المعاملة بجرعة 30 ملغم/ كغم عند مستوى معنوية أقل من0,05.

وبناءا على هذه النتيجة فقد عدت جرعة(60) ملغم/ كغم هي الأعلى في إحداث التأثيرات السمية على الأجنة وقد أكدت هذه النتيجة في دراستنا الحالية خطورة مركب الاوكسفندازول لإحداثه هذه التأثيرات السمية على الأجنة بجرعة(60) ملغم/ كغم مقارنة بالجرعة المميتة الوسطية (LD_{50}) لهذا المركب والتي تبلغ (6400) ملغم/ كغم (Averkin et al., 1975; Adamas, 2001; Aiello, 2003). وبذلك أثبتت هذه النتيجة المتمثلة بحدوث (الارتشاف الكامل) امتلاك الاوكسيفندازول تأثيرات سمية على الأجنة.

في حين أحدثت جرعة(30) ملغم/ كغم من وزن الجسم تأثيرات سمية في الأجنة تمثلت بالزيادة المعنوية في النسبة المئوية لارتشاف الأجنة حيث بلغت (83,33% – ارتشاف جزئي) مقارنة مع المجاميع المعاملة بجرعة(صفر، 7,5 و 15) ملغم/ كغم من وزن الجسم (الشكل 3).



الشكل 3 :يوضح الارتشاف الجزئي لأجنة إناث الجرذان الحوامل المعاملة بالاوكسفندازول بجرعة (30) ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل (مرحلة تكوين الأعضاء). السهم يشير إلى قرن الرحم الحاوي على جنين واحد.

كما أظهرت انخفاضا معنويا في في القياسات من حيث عدد الأجنة وطولها ووزنها كذلك وزن المشائم وقطرها مقارنة مع المجاميع المعاملة بجرعة (صفر، 7,5 و15) ملغم/كغم من وزن الجسم، كما أظهرت جرعة (15) ملغم/ كغم من وزن الجسم زيادة معنوية في النسبة المئوية لارتشاف الأجنة حيث بلغت (38,5%) مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بجرعة (7,5) ملغم/ كغم من وزن الجسم، ولم تحدث انخفاضا معنويا في القيم السابقة الذكر مقارنة مع نفس المجاميع بالرغم من انخفاض هذه القيم (الجدول 1). في حين لم يؤد إعطاء الاوكسفندازول بجرعة (7,5) ملغم/ كغم من وزن الجسم

للإناث الحوامل أي تأثيرات سمية في الأجنة، وقد تمثل ذلك بعدم ملاحظة أي فرق معنوي في قيم جميع القياسات المذكورة سابقا عن مثيلاتها من قيم مجموعة السيطرة وبذلك تعد هذه الجرعة هي الأكثر أمانـــا للاجنة (الجدول 1). وجاءت هذه النتيجة مطابقة لما أشارت إليه الأبحاث العلمية السابقة حول أن تأثيرات السمية للمركبات الدوائية تكون معتمدة على الجرعة وطريقة إعطائها وتكرارها وعلى مرحلة الحمل عند المعاملة (Spyker, 1975; Delatour, 1983; Osweiler, 1996).

2- تحديد مرحلة الحمل الأكثر حساسية للتأثيرات السمية للاوكسفندازول عند إعطائه لإناث الجرذان الحوامل بجرعة (60) ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في مراحل الحمل المختلفة.

أدى إعطاء الاوكسفندازول لإناث الجرذان الحوامل إلى إحداث تأثيرات سمية في الأجنة واعتمـــادا على مرحلة الحمل (مرحلة النمو الجنيني عند المعاملة) وكالآتي:

أ- تأثير الاوكسفندازول في أجنة الجرذان الحوامل المعاملة بجرعة (60) ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (1-6) من الحمل (مرحلة ما قبل الغرس).

أدى إعطاء الاوكسفندازول بجرعة (60) ملغم/ كغم من وزن الجسم للإناث الحوامل في مرحلة مـــا قبل الغرس إلى إحداث تأثيرات سمية في الأجنة تمثلت بالزيادة المعنوية في النسبة المئويـــة لارتـــشاف الأجنة حيث بلغت (26,8 %) مقارنة مع مجموعة السيطرة، فضلا عن ذلك إنه لم يلاحظ أي فرق معنوي في القياسات من حيث عدد ووزن الأجنة وطولها وكذلك أوزان، وأقطار المشائم وعدد الأجسام الصفراء مقارنة مع قيم مثيلاتها لمجموعة السيطرة (الجدول 2).

الجدول 2 : التأثيرات السمية للاوكسفندازول في أجنة إناث الجرذان الحوامل المعاملة بجرعة 60 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في مراحل الحمل المختلفة.

القياسات	فترة المعاملة بالاوكسفندازول بجرعة 60 ملغم/كغم			
	سيطرة(ماء مقطر) طول مدة الحمل	مرحلة ما قبل الغرس (1-6) أيام من الحمل	مرحلة تكوين الأعضاء (6-15) يوم من الحمل	مرحلة إتمام نمو الأنسجة والوظائف(15-19)يوم من الحمل
عدد الأجسام الصفراء	1,22±15,5	1,30±15	1,3±16	1,59±16,2
مواقع الغرس	1,1±10,5	0,48±11,2	0,66±9,5	1,14±9
أعداد الأجنة	1,68±9	1,35±8,2	صفر	0,98±7,4
أوزن الأجنة (بالغرام)	0,05±2,10	0,07±2,15	•	0,05±1,99 أ *
أطوال الأجنة (سنتمتر)	0,09±3,1	0,01±3	•	0,05±2,86 أ *
أوزان المشائم(بالغرام)	0,02±0,42	0,01±0,43	•	0,03±0,45
أقطار المشائم(سنتمتر)	0,04±1,45	0,02±1,39	•	0,02±1,38
عدد مواقع الغرس الكلي	50	56	52	45
عدد الأجنة الكلي	46	41	صفر	37
أجنة حدث لها ارتشاف	4	15	52	8
أجنة مشوهة	—	—	—	—
%للارتشاف الأجنةResorption	8	*26,8	100 ب أ *	17,8

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لـــ(قياسات الأجسام الصفراء، الأجنة والمشائم)

● لم تظهر القياسات نتيجة الارتشاف الكامل للأجنة.

* . القيمة تختلف معنويا عن قيم مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية أقل من 0,05

أ . القيمة تختلف معنويا عن قيم المجموعة المعاملة في مرحلة ما قبل الغرس عند مستوى معنوية أقل من 0,05

ب . القيمة تختلف معنويا عن قيم المجموعة المعاملة في مرحلة إتمام نمو الأنسجة والوظائف عند مستوى معنوية أقل من 0,05

لقد كانت النسبة المئوية لارتشاف الأجنة في هذه المرحلة هي الأقل من قيم المجموعة المعاملة في مرحلة تكوين الأعضاء وقد يعزى سبب انخفاض نسبة ارتشاف الأجنة في مرحلة ما قبل الغرس مقارنة مع مرحلة تكوين الأعضاء وذلك لوجود النطاق الشفاف الذي يعمل حاجزا واقيا ضد هذه التأثيرات السمية (Davis et al., 2003).

ب- تأثير الاوكسفندازول في أجنة الجرذان الحوامل المعاملة بجرعة (60) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل (مرحلة تكوين الأعضاء).

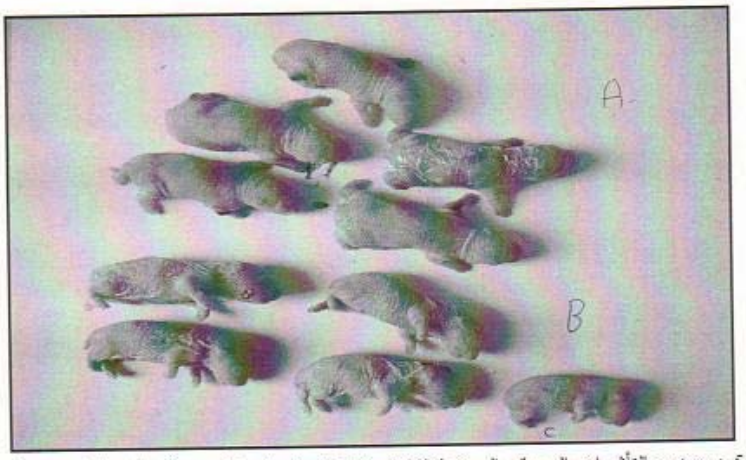
أدى إعطاء الاوكسفندازول بجرعة (60) ملغم/ كغم من وزن الجسم للإناث الحوامل في مرحلة تكوين الأعضاء إلى إحداث تأثيرات سمية في الأجنة تمثلت بالزيادة المعنوية في النسبة المئوية لارتشاف الأجنة حيث بلغت (100%) مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة في مرحلة ما قبل الغرس ومرحلة إتمام نمو الأنسجة والوظائف (الشكل 2) (الجدول2). وبناء على هذه النتيجة فقد عدت مرحلة تكوين الأعضاء هي المرحلة الأكثر حساسية لتأثيرات السمية للاوكسفندازول لحدوث ارتشاف كامل للأجنة مقارنة بالمراحل الأخرى، وتتفق هذه النتائج مع عدد من الدراسات حول إن مرحلة تكوين الأعضاء تعتبر من أكثر مراحل النمو الجنينية حساسية لتأثيرات السمية للمركبات الدوائية (Spyker, 1975; Osweiler, 1996; Hood et al., 2001; Haschek and Rousseaux, 2002; Range et al., 2003; Karemfa, 2003)، وذلك لأنه في مرحلة تكوين الاعضاء يحدث التمايز وبناء معالم الشكل فضلا عن إنشطار الخلايا بشكل تلقائي، وأن أي تعرض لمركبات دوائية سوف يؤدي إلى الانحراف في النمو الطبيعي لأعضاء الجنين النامي محدثا بذلك تأثيرا ساما وماسخا (Hood et al., 2001).

ج- تأثير الاوكسفندازول في أجنة الجرذان الحوامل المعاملة بجرعة (60) ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (15-19) من الحمل (مرحلة إتمام نمو الأنسجة والوظائف).

أدى إعطاء الاوكسفندازول بجرعة (60) ملغم/ كغم من وزن الجسم للإناث الحوامل في مرحلة إتمام نمو الأنسجة والوظائف إلى إحداث تأثيرات سمية في الأجنة تمثلت بوصول النسبة المئوية لارتشاف الأجنة إلى (17,8%) وهي تمثل الأقل مقارنة مع قيم النسبة المئوية لارتشاف الأجنة للمجاميع المعاملة في مرحلة ما قبل الغرس ومرحلة تكوين الأعضاء، فضلا عن وجود انخفاض معنوي فقط في أوزان وأطوال الأجنة مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة مرحلة ما قبل الغرس، (الجدول 2) وهذه النتيجة متوقعة وذلك لأن الجنين في هذه المرحلة قد تكون بشكل كامل ويحتاج إلى زيادة في الحجم والنمو (Spyker, 1975) ولذلك كانت النسبة المئوية لارتشاف الأجنة (17,8 %) وهي الأوطأ مقارنة بقيم المجاميع المعاملة في مرحلة ما قبل الغرس ومرحلة تكوين الأعضاء.

3- التأثيرات السمية للاوكسفندازول في الولادات من أمهات معاملة بجرعة(صفر، 15 و30) ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل (مرحلة تكوين الأعضاء).

أدى إعطاء الاوكسفندازول لإناث الجرذان الحوامل بجرعة (15 و30) ملغم/ كغم من وزن الجسم إلى إحداث تأثيرات سمية ومسخية في الولادات اعتمادا على الجرعة والتي تمثلت في الزيادة المعنوية في النسبة المئوية لهلاك المواليد عند الولادة حيث بلغت (36% و95%)وعلى التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة (الشكل 5) (الجدول 3).



الشكل 5 : يوضح التأثيرات السمية والمسخية للاوكسفندازول في الصغار حديثي الولادة من أمهات معاملة بجرعة (30) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل (مرحلة تكوين الأعضاء).

A- مواليد حية عند الولادة من أمهات معاملة بالاوكسفندازول أثناء مرحلة تكوين الأعضاء.

B- مواليد هلكت بعد ساعات من الولادة من أمهات معاملة بالاوكسفندازول أثناء مرحلة تكوين الأعضاء

C- مولود مشوه الذيل هلك بعد الولادة من أمهات معاملة بالاوكسفندازول أثناء مرحلة تكوين الأعضاء .

الجدول 3 :التأثيرات السمية والمسخية للاوكسفندازول في المواليد من أمهات معاملة بجرعة صفر،15و30 ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل.

N.	المعاملة	سيطرة الماء المقطر	15 ملغم/كغم اوكسفندازول	30 ملغم/كغم اوكسفندازول
1	طول فترة الحمل (بالأيام)	0,25 ± 22,5	22 ± صفر	0,25 ± 21,75
2	العدد الكلي للمواليد	1,89 ± 10,25 (41)	2,06 ± 7,5 (30)	* 1,91 ± 5 (20)
3	المواليد الحية عند الولادة	1,89 ± 15,25 (41)	* 0,86 ± 4,5 (19)	أ * 0,25 ± 0,25 (1)
4	% لهلاك المواليد عند الولادة	صفر %	* %36	أ * % 95
5	وزن جسم المواليد(بالغرام) في اليوم الأول من الولادة	0,37 ± 5,76	0,38 ± 5,75	أ * 0,17 ± 4,10
6	وزن جسم المواليد (بالغرام) في اليوم 21 من الولادة	0,39 ± 22,81	* 1,11 ± 39	—
7	العدد الكلي لمواليد المشوهة	صفر	(1)	(1)
8	عدد المواليد الكلي يوم 21	41	16	صفر
9	التأثيرات السمية الجنينية	———	(موت الأجنة)	(موت الأجنة وانخفاض وزنها)
10	التأثيرات المسخية	———	تشوه الذيل	تشوه الذيل

* . القيمة تختلف معنويا مقارنة مع قيم مجموعة السيطرة لنفس القياس عند مستوى معنوية أقل من 0,05

أ . القيمة تختلف معنويا مقارنة مع قيمة المجموعة المعاملة بجرعة 15 ملغم/ كغم من وزن الجسم لنفس القياس عند مستوى معنوية أقل من 0,05 .

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لـ (طول فترة الحمل، وأعداد وأوزان المواليد)

فضلا عن إن إعطاء الاوكسفندازول بجرعة (30) ملغم/ كغم من وزن الجسم قد أدى إلى إحداث انخفاض معنوي في عدد المواليد الكلي عند الولادة مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما أحدثت هذه الجرعة انخفاضا معنويا في وزن جسم المواليد في اليوم الأول من الولادة مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بجرعة (15) ملغم/ كغم من وزن الجسم (الجدول3).

لم يلاحظ أي تأثيرات على ظهور علامات النضوج ونموها مثل فتح الأذان والعيون والشعر في هذه الصغار. كما لم يلاحظ وجود اي فرق معنوي في طول فترة الحمل لإناث الجرذان الحوامل المعاملة بجرعة(15 و30) ملغم/ كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة (الجدول 3).

4- تحديد النسبة المئوية لبقاء صغار الجرذان إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالاوكسفندازول بجرعة (صفر، 15 و30) ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل(مرحلة تكوين الأعضاء).

لقد أظهرت الأمهات المعاملة بجرعة (30) ملغم/ كغم انخفاضا معنويا في عدد المواليد الكلي عند الولادة مقارنة مع أمهات مجموعة السيطرة (الجدول 3)، فقد بلغ عدد المواليد الكلي (20) مولودا وبلغ عدد المواليد الميتة في اليوم الأول من الولادة (19) مولودا من مجموع (20) وبذلك ارتفعت معنويا النسبة المئوية لهلاك المواليد عند الولادة إلى (95 %) مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بجرعة (15) ملغم/ كغم، وفي اليوم الثاني بلغت النسبة المئوية لهلاك المواليد هذه المجموعة (100%) نتيجة لهلاك جميع المواليد، وهذه النتيجة تعكس التأثيرات السمية للاوكسفندازول في الولادات وبشكل يعتمد على الجرعة (الجدول 3).

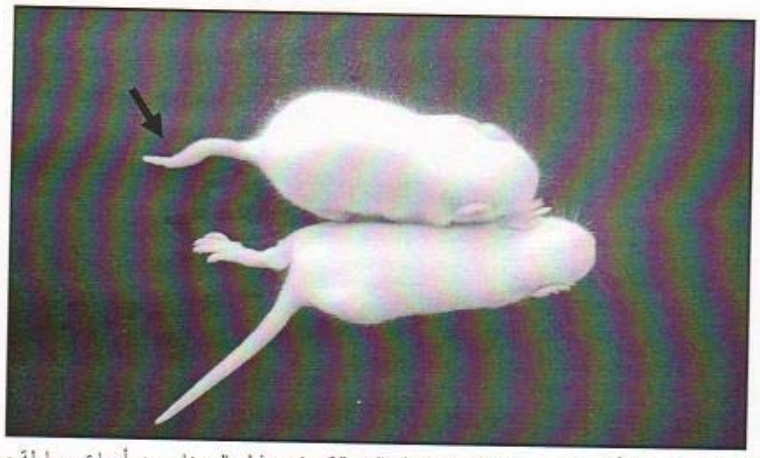
في حين بلغ العدد الكلي لمواليد من أمهات معاملة بجرعة (15) ملغم/ كغم (30) مولودا وقد بلغ عدد المواليد الميتة في اليوم الأول من الولادة (11) مولودا وبذلك ارتفعت معنويا النسبة المئوية لهلاك المواليد عند الولادة إلى (36%) مقارنة مع مجموعة السيطرة في نفس اليوم، وفي اليوم الخامس هلكت ثلاث من صغار الجرذان وبذلك ارتفعت النسبة المئوية لهلاك المواليد إلى (53%) مقارنة مع مجموعة السيطرة في نفس اليوم، واستمرت هذه النسبة ثابتة في هذه المجموعة إلى نهاية التجربة البالغة 21 يوما.

أما بالنسبة إلى مجموعة السيطرة فلم يلاحظ هلاك أي مولود طيلة فترة التجربة البالغة 21 يوما وبذلك بلغت النسبة المئوية لهلاك المواليد لهذه المجموعة (صفر%) طيلة فترة التجربة (الجدول 3).

وقد تعزى نتائج التجربة الثالثة والرابعة المتمثلة في الانخفاض في عدد المواليد الكلي وارتفاع في النسبة المئوية لهلاك المواليد في اليوم الأول بعد الولادة وانخفاض في معدل وزن جسم هذه المواليد فضلا عن انخفاض النسبة المئوية لبقاء المواليد إلى عمر الفطام الى عدة اسباب: أولها احتمال حدوث التشوهات الجنينية ولاسيما في الأعضاء الداخلية للأجنة خاصة الجهاز العصبي، القلب، الكبد والكلية نتيجة لتعرض الأمهات الحوامل لهذه المركبات الدوائية أثناء فترة الحمل مما يؤدي إلى ارتفاع النسبة المئوية لهلاك المواليد بعد الولادة (Haschek and Rousseaux, 2002)، وقد يكون الاحتمال الثاني كما هو معروف أن جميع الأعضاء الداخلية يكتمل نموها أثناء الحمل في ماعدا الجهاز العصبي، والجهاز المناعي والجهاز التناسلي حيث لا يكتمل نموها وتطويرها خلال فترة الحمل بل تستمر هذه الأجهزة بالنمو إلى ما بعد الولادة، لذلك فان تعرض الأمهات الحوامل للمركبات الدوائية خلال هذه المرحلة سوف يؤثر على عمليات

النمو والتطور لهذه الأجهزة ففي حالة تأثير هذه المواد على الجهاز العصبي سوف يؤدي إلى عدم اكتمال وظائف الدماغ أما في حالة تأثيره على الجهاز المناعي فسوف يؤثر على تكوين الأجسام المناعية وتميز المواد الغريبة وبناء على ما سبق فان تعرض الأمهات الحوامل خلال هذه المرحلة لمركبات دوائية سوف يؤدي إلى زيادة نسبة الوفيات في المواليد بعد الولادة وذلك نتيجة لحدوث اختلال في نمو الجهاز العصبي أو المناعي وتطورهما (Hood et al., 2001).

كما لوحظ أيضا في التجربة الثالثة وجود تشوهات مسخية في الذيل في المجموعة المعاملة بجرعة (15 و 30) ملغم/ كغم من وزن الجسم بمعدل حيوان واحد لكل مجموعة (الشكل 4).



الشكل4 : يوضح التأثير المسخي للاوكسفندازول المتمثلة بتشوه ذيل الصغار من أمهات معاملة بجرعة (15) ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للأيام من (6-15) من الحمل (مرحلة تكوين الأعضاء). السهم يشير إلى الذيل المشوه.

ان التفسير المتوقع لهذه التغيرات المسخية في ذيل صغار الجرذان قد يعود لعدة احتمالات :

أولا: عدم امتلاك مركبات البنزيميدازول سمية انتقائية ضد الطفيليات بل يتعده إلى خلايا المضيف مما يؤدي إلى حدوث التأثيرات السمية والمسخية على الأجنة (Mckellar and Scott, 1990; CVMP, 1997; Aiello, 2003).

ثانيا: قد يكون بسبب امتلاك هذه المركبات تأثيرات مضادة للانقسام الخيطي الخلوي وهذه التأثيرات يرتبط حدوثها بآلية عمل الدواء حيث تتطلب هذه الآلية ارتباط مركبات البنزيميدازول مع بيتا تيوبيولين (عبارة بروتين تركيبي في الخلية) حيث يمنع هذا الارتباط تحول هذا البروتين إلى

النبيبات الدقيقة ولأن هذه النبيبات تدخل في عدد من الفعاليات الحيوية ومن أهمها الانقسامات الخلوية وبذلك سوف تؤثر على تركيب المغزل الخيطي للخلايا والذي يعد ضروريا في مراحل الانقسام الخلوي وتضاعف الكروموسومات مؤديا إلى حدوث تشوهات خلقية في الأجنة (Seller, 1978; Sharma and Abuzar, 1983; CVMP, 1997; Aiello, 2003).

المصادر الاجنبية

Adams, R.H., 2001. Veterinary Pharmacology and Therapeutic. 8th ed. Iowa State Press: Blackwell Publishing Co., pp.649-654.

Aiello, S.E., 2003. The Merk Veterinary Manual.8th ed., Merk and Co., Inc. Whitehouse Station, N.J. USA.

Averkin, E.A., Beard, C.C., Dvorak, C.A., Edward, J.A., Fried, J.H., Killian, J. and Schiltz, R.A., 1975. Methyl 5(6)-phenyl sulfinyl-2-benzimidazole carbamate, anew potent anthelmintics, J.Med. Chem., 18, 1164 p.

Brander, G.C. and Pugh, D.M., 1977. Veterinary Applied and Therapeutic. 3rd ed., Lea and Firiger, Philadelphia, USA. pp.424-428.

Bruning, J.L. and Kintz, B.L., 1977. Computation Handbook of Statics. Scott, Foresman and Glenview, Illinois.45 p.

C.V.M.P., 1997. The Commetti for Veterinary Medicinal Products. Oxfendazole., EMEA, CanaryWharf, London, UK. www. emea. eu. Int

Davis, E.N., Timothy, J.P., Gary, C.W. and Arthur, G.H., 2003. Arthur's Veterinary Reproduction and Obestric., 8th ed., Hartcourt Publisher, China. pp.119-120.

Delatour, P., 1983. Chemical induce teratogensis. In: Ruckbush, Y., Koritz, G.D. and Toutain, P-L.(eds). Veterinary Pharmacology and Toxicology., 2nd ed., MTP Press, UK. 93 p.

Einstein, R., Jones, R.S., Aknifton and Starmer, G.A., 1994. Principles of Veterinar Therapeutics.1st ed.,Longman Singapore Publisher(pte) Ltd, Singapore. pp.497-500.

Hafez, E.S., 1970. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory animals., 1st ed, Lea and Febiger. Philadelphia. USA. pp.299-304.

Haschek, W.M. and Rousseaux, C.G., 2002. Fundamental of Toxicological Pathology., 6th ed. Academic Press, California, USA. pp.515-54.

Hood, R.D., Rousseaux, C.G. and Blakley, P.M., 2001. Embryo and fetus, In: Haschek, W.M., Rousseaux, C.G. and Wallig, A.(eds).Hand Book Toxicologic Pathology., 2nd ed .A Harrcourt Science and Technology Company, Academic Press. pp.895-932.

Karemfa, R.K., 2003. Pharmacological and Toxicological effects of furozan. Ph.D..thesis Academy of Veterinary Medicine – Kazan- Russia- (In Russion).

Mckellar, Q.A. and Scott, E.W., 1990. The benzimidazole anthelmintic agent a review. J. Vet. Pharmacol.Therap., Vol. 13, pp.233-247.

Osweiler, G.D., 1996. Toxicology, Williams and Wilkins, Awaverly company, Ames Iowa., pp.134-137.

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M. and Moore, P.K., 2003. Pharmacology., 5th ed., Bath Press,UK. pp.731-734.

Reinemeyer, G.R. and Courteny, C.H., 2001. Antinematodal drug. In: Richard, H.A (ed).Veterinary Pharmacology Therapeutics 8th ed, Blak Well Publishing Company. Iowa State Press. pp.948-953.

Runyon, R.P., 1977. Non paramatric statistic: Acontempoary Approach. Addison-Wesley Publishing Co., Reading, Masschussetts, pp.42-44., pp.83-87.

Seller, J.P., 1978. The mutagenic mode of action of benzimidazole. Experietia, Vol. 34, pp.851-853.

Sharma, S. and Abuzar, S., 1983. The benzimidazole anthelmintic chemistry and biological activity.Prog. Drug. Res., Vol. 27: pp.85-161.

Shindala, M.K., 2004. Pharmacological and Toxicological effects of furoxan. Ph. D Thesis.Academy of Veterinary Medicine-Kazan-Russia (In Russion).

Spyker, J.M., 1975. Behavioral teratology and toxicology In: Weiss, B. And Laties, V.G. (eds). Behavioral Toxicology.5th ed, Plenum Press, London. pp.315-320.

Trekob, A.D., 1988. Veterinary Pharmacology. AkropoMe 3dat. Ba. MockBa, pp.248-252. (In Russion).