

دراسة تأثير عقار Adriamycin على البنية النسيجية للجريبات

الناضجة في مبايض الهامستر السوري

أنس طويلة، محمود قاسم، علي بصل *

قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة حلب

الملخص

تُعدّ المواد المستخدمة في العلاج الكيميائي للأورام السرطانية من السموم الخلوية Cytotoxic الموجه للخلايا سريعة الانقسام ، ومن هذه المواد عقار Adriamycin فهو من أكثرها استخداما في علاج الأورام السرطانية وبالأخص سرطان الثدي والذي يزداد انتشاره في محافظة حلب حسب إحصائية 2010. وبالرغم من قلة السمية الخلوية لهذا العقار مقارنة بغيره من العقاقير الكيميائية المضادة للسرطان، إلا أن تحديد تلك السمية والتأثيرات الجانبية النسيجية لهذا العقار ما تزال تحتاج إلى العديد من الأبحاث والدراسات، ومن هنا أتت هذه الدراسة لتبين التأثير السلبي الذي يحدثه العقار على البنية النسيجية للمبايض وبالأخص الجريبات الناضجة الأكثر تأثراً والتي تلعب الدور الأكبر في نشاط وحيوية المبيض، بالإضافة إلى الدور التي تمارسه في تنظيم الهرمونات الجنسية؛ لقد أظهرت هذه الدراسة تأثير البنية الخلوية والنسيجية والقدرة الانقسامية للخلايا الجريبية في المبيض، وتفتت أنويتها وانكماش هيكلها وسيتوبلازماها وانخفاض قدرتها الانقسامية، وفقد الارتباط فيما بينها، كما لوحظ ظهور تبدلات في بنية الغلاف الجريبي؛ وطالت تلك التأثيرات الخلايا البيضية في الجريبات الناضجة، فقد اختفت أنويتها وانكمش غشائها الخلوي مع انكماش هيولى البويضة.

ورد البحث للمجلة بتاريخ ٢٠١٣/١٠/٨١

قبل للنشر بتاريخ ٢٠١٣/١١/١١

أولاً: المقدمة:

أجريت دراسات عديدة على مجموعة من المركبات الكيميائية للمضادة للأورام السرطانية بهدف الحصول على تأثير موجه ضد العامل المرض Pathogen أو مكان المرض [1]، إلا أن معظم العقاقير التي تستخدم في المعالجة الكيميائية للسرطان ذات تأثير سمي على كل من الأنسجة الطبيعية والورمية على حد سواء وحتى في أثناء تطبيق الجرعات المثلى، ومن أكثر المناطق عرضة للتأثر السمي بهذه العقاقير تلك التي تشهد انقسامات سريعة كالخلايا التكاثرية في المبايض والخصى [2]، إذ أن التأثيرات الجانبية للعقاقير الكيميائية على الأعضاء التناسلية قد تؤدي إلى تدمير هذه الأنسجة وإلى تبدل في شكل وتركيب الخلايا الجنسية أو تثبيط وظائفها [3]، وخاصة الهرمونية، مما ينعكس على الدورة الطمثية عند الأنثى، وعلى عدد الحيوانات المنوية عند الذكر [4].

لقد ازداد في السنوات الأخيرة استخدام العقاقير المضادة للسرطان نظراً لازدياد انتشار الأورام السرطانية، إذ يُعتبر السرطان أحد الأسباب الرئيسية المسببة للوفاة في المجتمعات المتقدمة، حيث أن شخصاً من كل خمسة أشخاص في أوروبا وأمريكا الشمالية يتوقع له الوفاة بسبب السرطان [5]، كما أن سرطان الثدي أكثرها انتشاراً و يحتل المرتبة الأولى من بين الأورام السرطانية عند النساء في محافظة حلب، حيث يزداد بشكل مطرد في كل عام وذلك حسب إحصائية 2010 [6]. من أهم العقاقير المضادة للسرطان وأكثرها استخداماً في العلاج الكيميائي للأورام السرطانية المختلفة عقار Adriamycin [7,8]، إذ يُعتبر هذا العقار من العقاقير الرئيسية ومن أنجحها في معالجة سرطان الثدي، حيث يتجاوز نسبة المعالجين المصابين بسرطان الثدي بهذا العقار في محافظة حلب أكثر من 60.7%، يليه سرطان هوجكين، واللمفوما، وسرطان الابيضاض النقوي الحاد [6].

ينتمي هذا العقار إلى مركبات الأنتراسكلينات Anthracyclines التي تتبع مجموعة المضادات الحيوية المضادة للأورام Antitumer antibiotics ، وبصورة إجمالية يصنف عقار أدرياميسين مع المجموعة الثالثة من العقاقير ذات السمية

الخلوية cytotoxic التي تعمل على قتل الخلايا التي تقوم بالتكاثر، مفضلة إياها على الخلايا المتواجدة في طور الراحة [9].

أما آلية التأثير السمي لهذا العقار على الخلايا فلم تحدد بشكل دقيق، رغم أن أغلب الدراسات [10-12] قد أشارت إلى ارتباطه مع الحمض النووي DNA وبشكل غير متخصص مع الأزواج والأسس الأزوتية المتلاصقة لشريطي DNA من خلال تشكيل روابط تساهمية وغير تساهمية بين القواعد النيتروجينية مما يسبب تدمير جزيئات DNA والـ RNA، وحذف عدد كبير من الجينات. وقد أشارت دراسات أخرى إلى إمكانية تثبيط هذا العقار لعمل أنزيم Topoisomerasa II، حيث يتحد العقار مع سلسلتي DNA بالروابط التساهمية واللاتساهمية بعد أن قام الإنزيم بفك الارتباط بين سلسلتي DNA، وبالتالي فهو يمنع إعادة ارتباطهما بعد التضاعف من قبل نفس الأنزيم، و عدم اكتمال الانقسام الخلوي، الأمر الذي يتسبب في حدوث الموت المبرمج [13-15]؛ ومن الجدير بالذكر أن بعض الدراسات [16] قد أشارت إلى التأثير السمي لهذا العقار من خلال تكوين الجذور الأوكسجينية الأساسية عن طريق فوق أكسدة الدهون في الأغشية الخلوية، وتغيراً في تركيبها من خلال إرباك بنية الأغشية الدهنية المفسفرة، وبالتالي عدم ثبات الغشاء البلازمي؛ أو عن طريق تفاعل العقار مع (Fe^{3+}) الذي يدخل في سلسلة تفاعلات الأكسدة والاختزال، مما ينتج عنها مركبات فوق أكسيد الهيدروجين، وهي مركبات تتسبب بقطع الرابطة للـ DNA (Di- ester Phospho فوسفواستر الثنائية) [17].

ثانياً . هدف البحث :

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد التأثير الجانبي السمي لعقار Adriamycin على أنسجة المبايض من خلال دراسة تبدلاتها الشكلية والنسجية و الخلوية، ودراسة التغيرات الكيميائية النسجية المناعية؛ كما تهدف إلى دراسة مدى تأثير هذا العقار على القدرة الانقسامية في الجريبات الناضجة في مبايض الهامستر السوري المحقونة بالعقار؛ إضافة إلى تحديد الزمن اللازم لأحداث أقصى درجة من التغيير في المبايض وزمن التعافي بعد حقن العقار.

ثالثاً . مواد وطرائق البحث:

- تمت هذه الدراسة باستخدام عقار Adriamycin، والمعروف باسمه التجاري Doxorubicin من شركة Ebewe Pharma استرالية المنشأ. والذي تم الحصول عليه من صيدليات مستشفى الكندي .

- درس تأثير هذا العقار على إناث الهامستر السوري خلال فصل التكاثر (فصلي الربيع والصيف) في مختبرات حيوانات التجربة والبحث العلمي في كلية العلوم بجامعة حلب، حيث تم انتخاب 30 أنثى ناضجة في أوج بلوغها (بعمر ثلاثة إلى أربعة أشهر)، تراوحت أوزانها ما بين 85 إلى 100 gm، وأطوالها ما بين 12 إلى 12.75 Cm، أخضعت هذه الإناث جميعها لظروف بيئة متماثلة من حيث درجة الحرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ، والفترة الضوئية المتماثلة، و تناولها للغذاء والماء بشكل حر، كما تم وضعها بجوار قفص يحتوي على عدد من الذكور ليتسنى لها اشتمام رائحة الفورمونات الذكرية، ومن ثم وضع الذكور داخل قفص الإناث قبل تشريحها بيومين كي تلعب دوراً تحريضياً على الإباضة والنشاط الجنسي، وتجنب أي مؤثر خارجي يؤثر على المبيض.

- قسمتُ الإناث المدروسة إلى مجموعتين رئيسيتين:

المجموعة الشاهدة: تتألف من عشرة إناث، تم حقنها بمحلول فيزيولوجي (RingerLactate) داخل التجويف البريتواني، خمسة منها تم أخذها بشكل عشوائي لتزاوجها والتأكد من بلوغها، وخمسة سُرحت كشاهد طبيعي على وضع المبيض .
مجموعات التجربة: قُسمت إلى أربع مجموعات تُمثل كل مجموعة زمناً معيناً. تتألف كل مجموعة من خمسة إناث بالغة، حُقِنَتْ جميعها في نفس الزمن بجرعة مفردة من عقار Adriamycin داخل التجويف البريتواني.

وقد تم تحديد كمية الجرعة اللازم إعطائها لكل أنثى، بدلالة الجرعة التي تُعطى للشخص البالغ الطبيعي $60-75\text{mg}/\text{m}^2$ كجرعة مفردة، حيث تُقدر كمية الجرعة اعتماداً على الوزن أو على مساحة سطح الجسم [18,19].

- تم تشريح الحيوانات المحقونة خلال فترات زمنية مختلفة من بعد بدء الحقن على

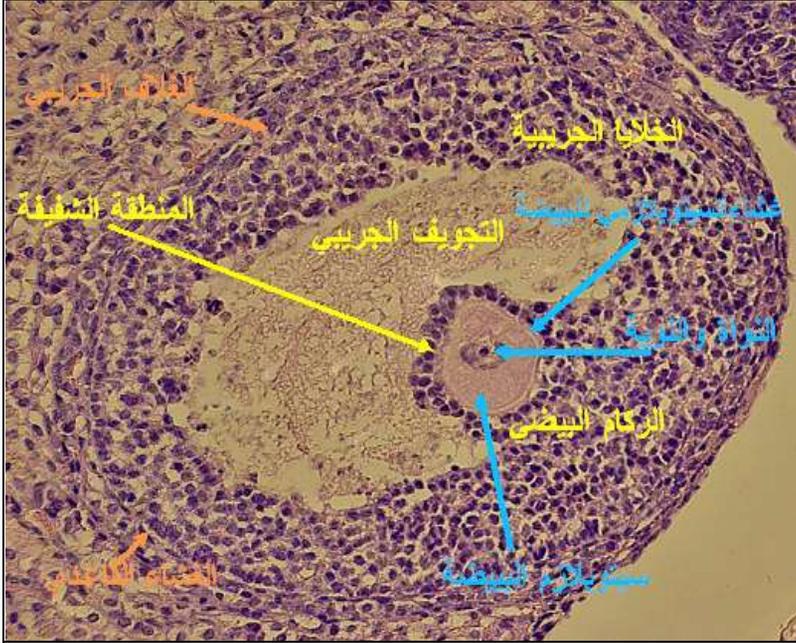
النحو التالي:

- الزمن الأول (A-I) بعد مرور ثلاثة أيام على الحقن.
 - الزمن الثاني (A-II) بعد مرور خمسة أيام على الحقن.
 - الزمن الثالث (A-III) بعد مرور عشرة أيام على الحقن.
 - الزمن الرابع (A-IV) بعد مرور خمسة عشر يوماً على الحقن.
- تمت الدراسة النسيجية، بتقطيع عينات المبيض بسماكة ٥ ميكرون و تلوينها باستخدام صبغة هيماتوكسلين - ايوزين (H & E).
- طبقت الدراسة الكيمائية النسيجية المناعية من خلال مقاطع نسيجية مصبوغة بالصبغة المناعية (Ki67) الخاصة بالكشف عن الانقسامات الخلوية، حيث تتحد أضداد Ki67 (MIB) مع البروتين النووي الذي يظهر في جميع مراحل الانقسام الخلوي (G1, S, G2, M) ما عدا مرحلة (G0) وهي مرحلة الراحة، بغية تحديد فعالية النمو الخلوية ضمن الخلايا الورمية أو الخلايا التكاثرية (وتظهر بشكل نقاط بنية اللون داخل الخلية المنقسمة)

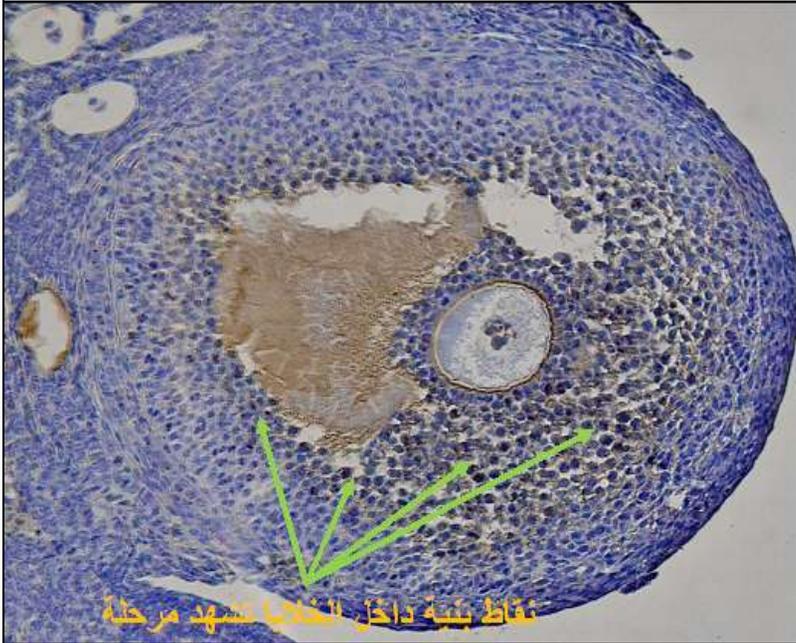
رابعاً: النتائج:

دراسة التغيرات النسيجية والخلوية في الجريبات الناضجة عند إناث الهامستر السوري المحقونة بعقار Adriamycin:

عند دراسة التغيرات النسيجية التي يحدثها العقار في بنية المبيض عند الهامستر السوري نجد أن أكثر الأجزاء التي تشهد تحلاً وتموت خلوي هي الجريبات الناضجة (Graafian follicles)، علماً أن هذه الجريبات هي أكثر الجريبات تأثيراً على نشاط المبيض، وعلى النشاط الجنسي وعلى الهرمونات الجنسية، مقارنة بالجريبات الابتدائية التي كانت أقل الجريبات تأثراً بالعقار، فكلما تقدم الجريب في النضج ازداد عدد الخلايا الجريبية المنقسمة وبالتالي زاد التأثير السمي للعقار على الخلايا وازداد في تحللها، ويُعيق تطورها خاصةً أن مبدأ عمل العقار يتوقف على توجهه إلى الخلايا سريعة الانقسام أكثر من غيرها من الخلايا؛ لذلك تم اختصار حالات التحلل على الجريبات الناضجة في هذه المقالة.



شكل رقم (1) مقطع في جريب ناضج في مبيض لأنثى هامستر عند الشاهد الطبيعي مصبوغة
بصبغة (H&I) بتكبير (40X10)



شكل رقم (2) مقطع في جريب ناضج في مبيض لأنثى هامستر عند الشاهد الطبيعي مصبوغة
بصبغة مناعية (Ki67) بتكبير (40X10)

كما أوضحت نتائج الدراسة وجود عدة تبدلات نسيجية مرضية في معظم تراكيب الجريب الناضج، ويمكن تقسيم هذه التبدلات إلى ثلاثة أقسام رئيسية:

- قسم أول: يتضمن مظاهر التحلل والتموت الخلوي على مستوى الخلايا الجريبية.

- قسم ثاني: يتضمن مظاهر التحلل على مستوى الأغلفة المحيطة بالجربيات.

- قسم ثالث: يتضمن مظاهر التحلل على مستوى البويضات.

ويختلف مدى تحلل كل قسم حسب الزمن.

(I-A) الزمن الأول (بعد مرور ثلاثة أيام من زمن حقن العقار):

يظهر في الزمن الأول أن جميع الجربيات الناضجة متحللة، ولم يُلاحظ وجود جربيات ناضجة طبيعية أو شبه طبيعية.

أ- مظاهر التحلل والتموت الخلوي وتخر Necrosis على مستوى الخلايا الجريبية:

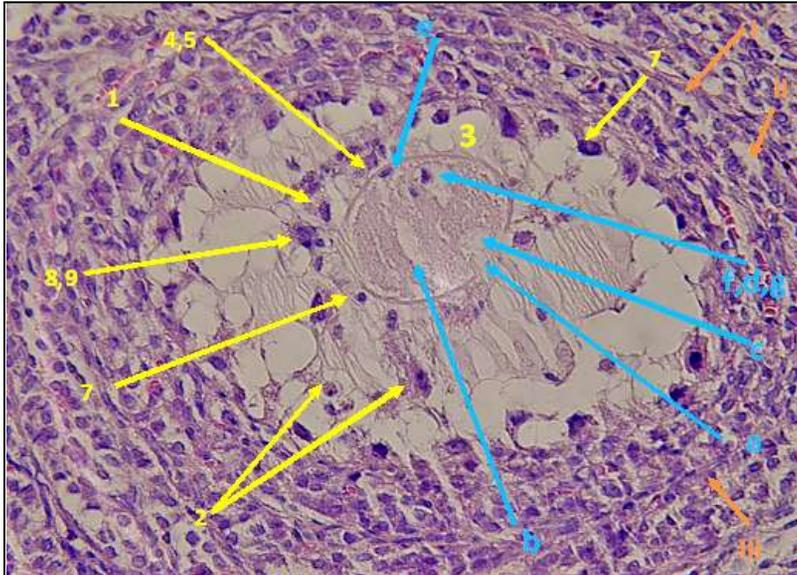
- (١) فقد الاتصال بين الخلايا الجريبية (بشكل ملحوظ)، نتيجة ضعف، واختفاء جسور الوصل التي تصل الخلايا الجريبية مع بعضها البعض.
- (٢) انتشار الخلايا الجريبية داخل التجويف الجريبي (عند بعض الجربيات).
- (٣) تحلل (شبه كامل) لخلايا الركام البيضي Cumulus oophorus في جربيات الناضجة.
- (٤) بدء اختفاء الخملات -جسيمات الوصل- التي تربط الخلايا الجريبية والبويضة.
- (٥) بدء اتساع المنطقة الشفافة Zona pellucida .
- (٦) انكماش الخلايا الجريبية (بشكل ملحوظ) هيكلياً وسيتوبلازمياً.
- (٧) تحلل أغشية بعض الخلايا الجريبية (بشكل جزئي عند بعض الجربيات) واندفاع أنويتها إلى المنطقة الشفافة.
- (٨) تفتت karyorrhexis النويات Pyknosis والنواة (بشكل ملحوظ) .
- (٩) تكاثف الكروماتين النووي Condensation of chromatin (بشكل ملحوظ) بجوار غشاء الخلية.
- (١٠) أما من ناحية شدة انقسام الخلايا الجريبية فهي ضعيفة (وفق ما تُظهره بروتينات الانقسام).

ب- مظاهر التحلل على مستوى الأغلفة المحيطة بالجريات:

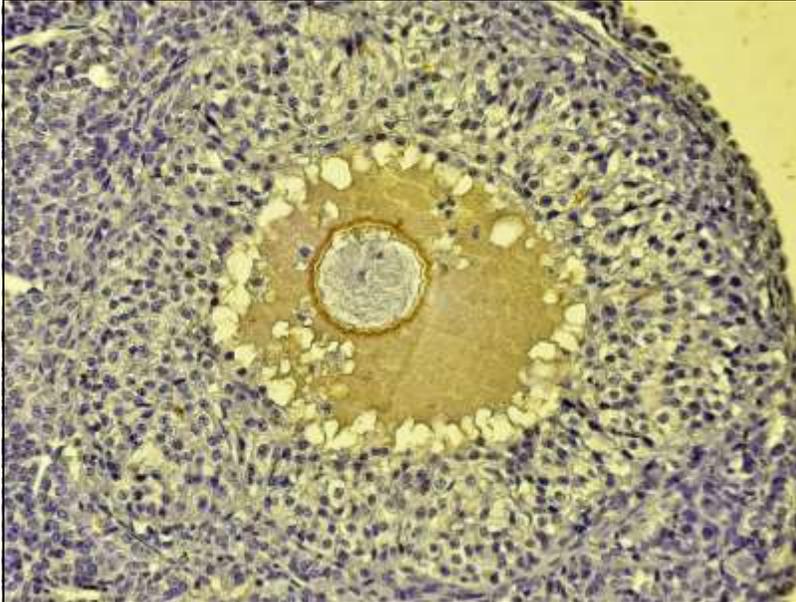
- I. تشكل فراغ يفصل بين الغشاء القاعدي Basement membrane والأنسجة المحيطة بالجريب، وابتعاد الخلايا الجريبية عن الغشاء القاعدي (بشكل جزئي عند بعض الجريات)، نتيجة انثناء الغشاء القاعدي.
- II. تشكل فراغات في الغلاف الجريبي (بشكل ملحوظ).
- III. تحلل وترقق الغلاف الجريبي (بشكل جزئي وعند بعض الجريات).

ت- مظاهر التحلل على مستوى البويضات:

- a) تحلل الغشاء الخلوي للبويضة وانكماشه (بشكل جزئي).
- b) انكماش سيتوبلازما البويضة (بشكل ملحوظ).
- c) بدء ظهور الفجوات الدهنية في السيتوبلازما البويضة.
- d) تحلل الغشاء النووي لنواة البويضة (بشكل ملحوظ).
- e) انتشار محتويات النواة في سيتوبلازما البويضة (عند بعض الجريات).
- f) تحلل الكروماتين النووي للبويضات (عند بعض الجريات).
- g) انزياح النواة (بشكل ملحوظ) عن تموضعها المركزي نحو الطرف.



شكل رقم (3) مقطع في جريب ناضج في مبيض أنثى هامستر محقون بعقار Adriamycin في الزمن الأول (A-I) مصبوغة بصبغة (H&I) بتكبير (40X10)



شكل رقم (4) مقطع في جريب ناضج في مبيض لأنثى هامستر محقون بعقار Adriamycin في الزمن الأول (A-I) مصبوغة بصبغة مناعية (Ki67) بتكبير (40X10) (10) شدة انقسام الخلايا الجريبية فهي ضعيفة

(II-A) الزمن الثاني (بعد مرور خمسة أيام من زمن حقن العقار):

نلاحظ في هذا الزمن تحلل واضح وكامل في كافة الجريبات الناضجة

أ- مظاهر التحلل والتموت الخلوي وتخر على مستوى الخلايا الجريبية:

- ١) زيادة (بشكل شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة فقد الاتصال بين الخلايا الجريبية.
- ٢) زيادة كبيرة (وعند أغلب الجريبات) لظاهرة انتشار الخلايا الجريبية داخل التجويف الجريبي.
- ٣) بقاء ظاهرة (تحلل شبه كامل) لخلايا الركام البيضي في الجريبات الناضجة.
- ٤) زيادة (بشكل جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة اختفاء الخملات -جسيمات الوصل- التي تربط الخلايا الجريبية والبويضة
- ٥) زيادة كبيرة و (بشكل ملحوظ) لظاهرة اتساع المنطقة الشفافة Zona pellucid
- ٦) زيادة (عند أغلب الجريبات) لظاهرة انكماش خلايا الجريبية هيكلياً وسيتوبلازمياً.

- ٧) زيادة كبيرة (بشكل شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تحلل أغشية بعض الخلايا الجريبية واندفاع أنويتها إلى المنطقة الشفيفة.
- ٨) زيادة (عند أغلب الجريبات) لظاهرة تفتت النوّيات والنواة.
- ٩) زيادة (عند أغلب الجريبات) لظاهرة تكاثف الكروماتين النووي بجوار غشاء الخلية
- ١٠) أما من ناحية شدة انقسام الخلايا الجريبية فهي (معدومة إلى حد ما) (وذلك حسب ما تُظهره بروتينات الانقسام).

ب- مظاهر التحلل على مستوى الأغلفة المحيطة بالجريبات:

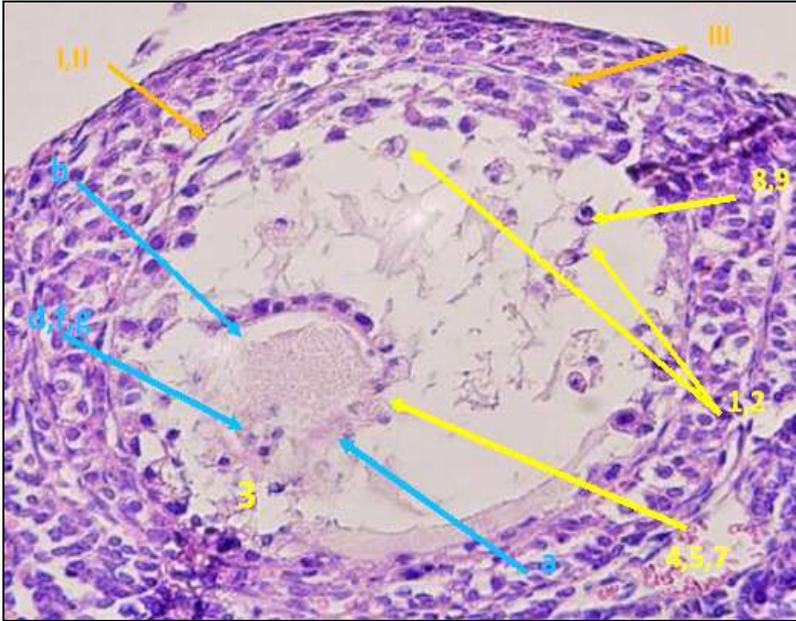
I. زيادة كبيرة (وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تكوّن فراغ يفصل بين الغشاء القاعدي والأنسجة المحيطة بالجريب، وابتعاد الخلايا الجريبية عن الغشاء القاعدي، نتيجة انثناء الغشاء القاعدي.

II. زيادة (شبه كاملة وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تشكل فراغات في الغلاف الجريبي

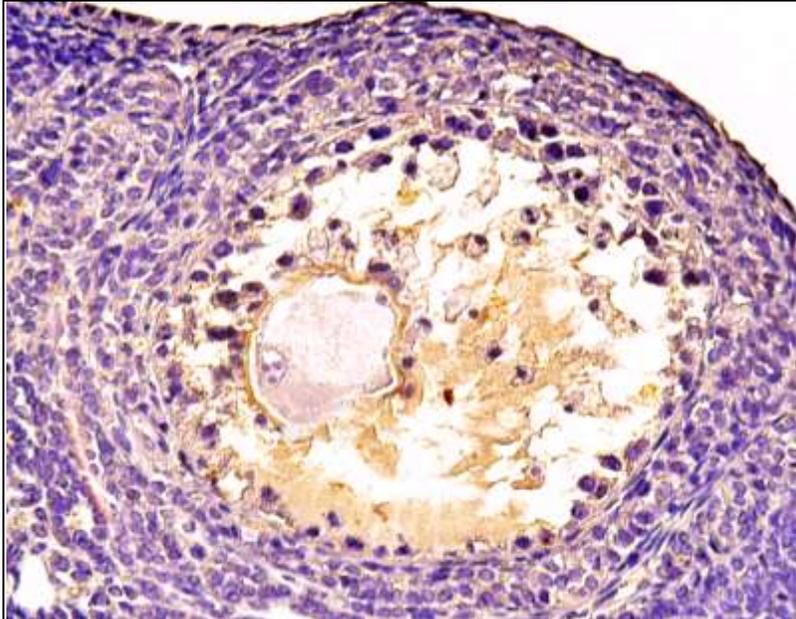
III. زيادة (شبه كاملة وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تحلل وترقق الغلاف الجريبي.

ت- مظاهر التحلل على مستوى البويضات:

- a) زيادة (بشكل ملحوظ) لظاهرة تحلل الغشاء الخلوي للبويضة وانكماشه.
- b) زيادة (بشكل شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة انكماش سيتوبلازما البويضة
- c) زيادة (بشكل جزئي وعند بعض) لظاهرة تواجد الفجوات الدهنية في السيتوبلازما البويضة.
- d) زيادة (بشكل شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تحلل الغشاء النووي لنواة البويضة.
- e) زيادة (بشكل ملحوظ) لظاهرة انتشار محتويات النواة في سيتوبلازما البويضة.
- f) زيادة (بشكل ملحوظ) لظاهرة تحلل الكروماتين النووي في نواة البويضات.
- g) زيادة (بشكل ملحوظ) لظاهرة فقد تموضع النواة المركزي وانزياحها نحو الطرف.



شكل رقم (5) مقطع في جريب ناضج في مبيض لأنثى هامستر محقون بعقار Adriamycin في الزمن الثاني (A-II) مصبوغة بصبغة (H&I) بتكبير (40X10)



شكل رقم (6) مقطع في جريب ناضج في مبيض لأنثى هامستر محقون بعقار Adriamycin في الزمن الثاني (A-II) مصبوغة بصبغة مناعية (Ki67) بتكبير (40X10)

(10) شدة انقسام الخلايا الجريبية فهي معدومة إلى حد ما

(III-A) الزمن الثالث (بعد مرور عشرة أيام من زمن حقن العقار):

نلاحظ انعدام وجود الجريبات الناضجة الكاملة، مع ظهور جريبات ناضجة في مراحلها المبكرة بأعداد قليلة، وذات تحلل أقل من الزمن الثاني (A-II).

أ- مظاهر التحلل والتموت الخلوي وتخر على مستوى الخلايا الجريبية:

(1) **تراجع** (بشكل جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة فقد الاتصال بين الخلايا الجريبية.

(2) **بدء تراجع** ظاهرة انتشار الخلايا الجريبية داخل التجويف الجريبي.

(3) **بدء تراجع** ظاهرة تحلل لخلايا الركام البيضي في جريبات الناضجة.

(4) **تراجع** (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة اختفاء الخملات -جسيمات الوصل- التي تربط الخلايا الجريبية والبويضة.

(5) **تراجع** (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة اتساع المنطقة الشفافة.

(6) **تراجع** (بشكل جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة انكماش خلايا الجريبية هيكلياً وسيتوبلازمياً .

(7) **تراجع** (بشكل جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة تحلل أغشية بعض الخلايا الجريبية واندفاع أونيتها إلى المنطقة الشفافة.

(8) **بدء تراجع** ظاهرة تفتت النويات والنواة.

(9) **بدء تراجع** ظاهرة تكاثف الكروماتين النووي بجوار غشاء الخلية.

(10) أما من ناحية شدة انقسام الخلايا الجريبية فهي (**ضعيفة**).

ب- مظاهر التحلل على مستوى الأغلفة المحيطة بالجريبات:

I. تراجع (بشكل جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة تكوّن فراغ يفصل بين

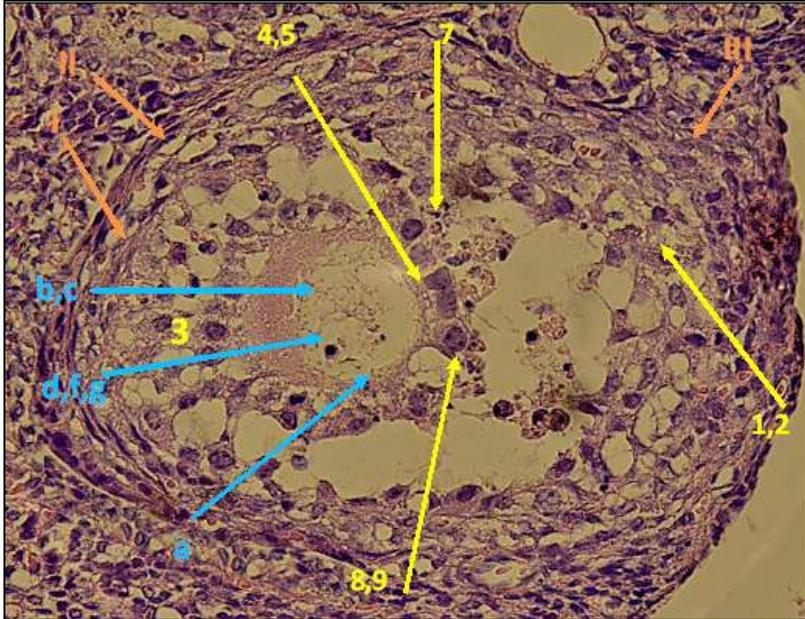
الغشاء القاعدي والأنسجة المحيطة بالجريب، وابتعاد الخلايا الجريبية عن الغشاء القاعدي، نتيجة انثناء الغشاء القاعدي.

II. بدء تراجع ظاهرة تشكل فراغات في الغلاف الجريبي .

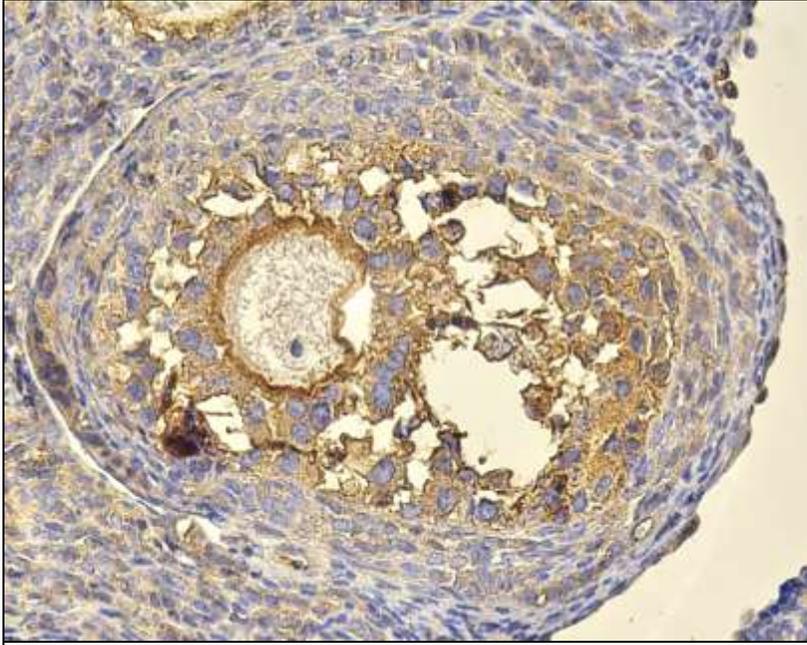
III. بقاء ظاهرة تحلل وترقق الغلاف الجريبي (بشكل شبه كامل وعند أغلب الجريبات)

ت- مظاهر التحلل على مستوى البويضات:

- (a) تراجع (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تحلل الغشاء الخلوي للبويضة وانكماشه.
- (b) تراجع (بشكل جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة انكماش سيتوبلازما البويضة
- (c) زيادة (بشكل ملحوظ) لظاهرة تواجد الفجوات الدهنية في السيتوبلازم البويضة
- (d) تراجع (بشكل جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة تحلل الغشاء النووي لنواة البويضة.
- (e) تراجع (بشكل جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة انتشار محتويات النواة في سيتوبلازما البويضة.
- (f) بقاء ظاهرة تحلل (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) الكروماتين النووي في نواة البويضات.
- (g) تراجع (بشكل جزئي، وعند بعض الجريبات) لظاهرة عدم تموضع النواة المركزي وانزياحها نحو الطرف.



شكل رقم (7) مقطع في جريب ناضج في مبيض لأنثى هامستر محقون بعقار Adriamycin في الزمن الثالث (A-III) مصبوغة بصبغة (H&I) بتكبير (40X10) في الزمن الثالث (A-III) مصبوغة بصبغة (H&I) بتكبير (40X10)



شكل رقم (8) مقطع في جريب ناضج في مبيض لأنثى هامستر محقون بعقار Adriamycin دون جرعة وقائية في الزمن الثالث (A-III) مصبوغة بصبغة مناعية (Ki67) بتكبير (40X10) (10) شدة انقسام الخلايا الجريبية فهي **ضعيفة**

(IV-A) الزمن الرابع (بعد مرور خمسة عشر يوماً من زمن حقن العقار):

يُلاحظ تواجد الجريبات الناضجة وهي **شبه طبيعية في مراحلها المبكرة ولكن بأعداد قليلة**

أ- مظاهر التحلل والتَمَوّت الخلوي وتخر على مستوى الخلايا الجريبية:

(1) **تراجع (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة فقد الاتصال بين الخلايا الجريبية.**

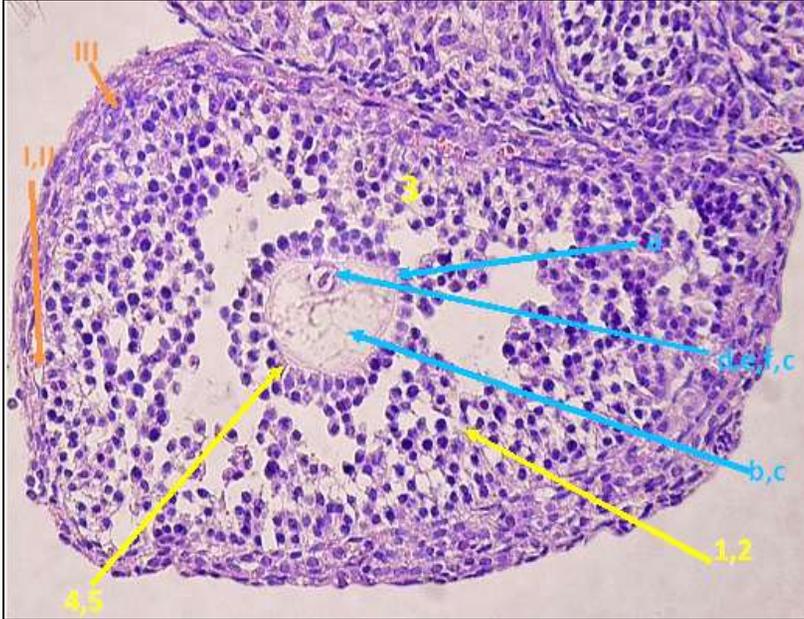
(2) **تراجع (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة انتشار الخلايا الجريبية داخل التجويف الجريبي.**

(3) **تراجع (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تحلل لخلايا الركاب البيضي Cumulus oophorus في جريبات الناضجة في المراحل المبكرة.**

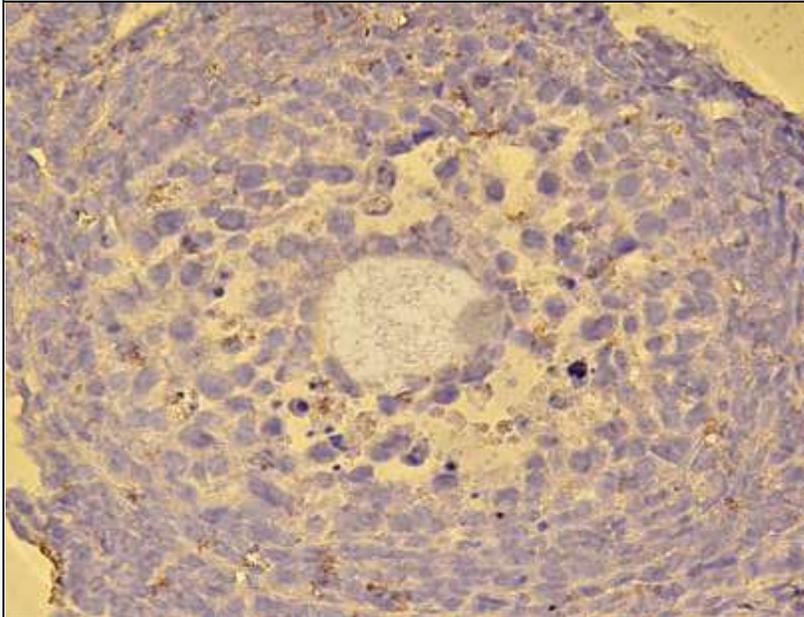
(4) **استمرار تراجع (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة اختفاء الخملات - جسيمات الوصل - التي تربط الخلايا الجريبية والبويضة.**

(5) **استمرار تراجع (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة اتساع المنطقة الشفافة.**

- ٦) تراجع (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة انكماش الخلايا هيكلياً وسيتوبلازمياً
- ٧) تراجع (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تحلل أغشية بعض الخلايا الجريبية واندفاع أنويتها إلى المنطقة الشفيفة .
- ٨) تراجع (بشكل جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة تفتت النويات والنواة
- ٩) تراجع (بشكل جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة تكاثف الكروماتين النووي بجوار غشاء الخلية .
- ١٠) أما من ناحية شدة انقسام الخلايا الجريبية فهي (ضعيفة) .
- ب- مظاهر التحلل على مستوى أغلفة المحيطة بالجريبات:**
- I. تراجع (بشكل شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تكوّن فراغ يفصل بين الغشاء القاعدي والأنسجة المحيطة بالجريب، وابتعاد الخلايا الجريبية عن الغشاء القاعدي، نتيجة انثناء الغشاء القاعدي.
- II. تراجع (بشكل جزئي، وعند بعض الجريبات) لظاهرة تشكل فراغات في الغلاف.
- III. بدء تراجع ظاهرة تحلل وترقق الغلاف الجربي .
- ت- مظاهر التي تدل على تأثر البويضات وتحللها:**
- a) استمرار تراجع (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة التحلل في الغشاء الخلوي للبويضة وانكماشه.
- b) استمرار التراجع (بشكل جزئي، وعند بعض الجريبات) لظاهرة انكماش سيتوبلازما البويضة.
- c) استمرار ظاهرة تواجد الفجوات الدهنية في سيتوبلازما (عند بعض الجريبات).
- d) تراجع (بشكل كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تحلل الغشاء النووي .
- e) تراجع (شبه كامل وعند الأغلبية) لظاهرة انتشار محتويات النواة في سيتوبلازما البويضة.
- f) تراجع (شبه كامل وعند أغلب الجريبات) لظاهرة تحلل الكروماتين النووي.
- g) تراجع (بشكل شبه جزئي وعند بعض الجريبات) لظاهرة فقد تموضع النواة المركزي وانزياحها نحو الطرف.



شكل رقم () مقطع في جريب ناضج فتى في مبيض لأنثى هامستر محقون بعقار Adriamycin دون جرعة وقائية في الزمن الرابع (A-IV) مصبوغة بصبغة (H&I) بتكبير (40X10)



شكل رقم () مقطع في جريب ناضج فتى في مبيض لأنثى هامستر محقون بعقار Adriamycin دون جرعة وقائية في الزمن الرابع (A-IV) مصبوغة بصبغة مناعية (Ki67) بتكبير (40X10) (10) شدة انقسام الخلايا الجريبية فهي متوسطة

ويمكن تلخيص معظم التغيرات والتبدلات النسيجية التي حصلت بفعل سُمية العقار في مختلف الأزمنة على المبيض على النحو التالي:

جدول رقم (1) يُقارن مستوى التبدلات والتغيرات في جميع الأزمنة

مقارنة ظواهر التحلل في مستوى الجريبات بصورة عامة				
A-IV	A-III	A-II	A-I	الظواهر
-2	-3	-4	-2	مدى تحول الطبقة المولدة من مكعبة إلى منبسطة الشكل
-2	-2	-3	-2	شدة تحلل الخلايا وتشكل فجوات وفصوصات في السداة
-1	-2	-4	-3	درجة تحلل الجريبات الابتدائية
-1	-2	-3	-3	درجة تحلل الجريبات الأولية
-2	-3	-4	-3	درجة تحلل الجريبات الثانوية
-2	-3	-4	-4	درجة تحلل الجريبات الناضجة
-3	-4	-3	-2	درجة تحلل الأجسام الصفراء
-2	-3	-3	-3	كثافة الجريبات المتحللة
مقارنة ظواهر التحلل على مستوى الخلايا الجريبية				
A-IV	A-III	A-II	A-I	الظواهر
-1	-2	-4	-3	فقد الاتصال بين الخلايا الجريبية
-1	-3	-4	-2	انتشار الخلايا الجريبية داخل التجويف الجريبي
-1	-3	-4	-4	تخرب الركام البيضي
-1	-1	-2	-1	اختفاء جسيمات الوصل بين الخلايا الجريبية البويضة
-1	-1	-3	-1	اتساع المنطقة الشفيفة
-1	-2	-4	-3	انكماش الخلايا الجريبية هيكلياً وسيتوبلازمياً
-1	-2	-4	-2	تحلل الأغشية واندفاع أنويتها في المنطقة الشفيفة
-2	-3	-4	-3	حالة تفتت الأنوية والنواة
-2	-3	-4	-3	تكاثر الكروماتين النووي بجوار غشاء الخلية
+2	+1	0	+1	تغلظ الأنوية والقدرة الانقسامية
مقارنة ظواهر التحلل على مستوى الأغلفة المحيطة بالجريبات				
A-IV	A-III	A-II	A-I	الظواهر
-1	-2	-4	-2	درجة ابتعاد الخلايا الجريبية عن الغشاء القاعدي
-2	-3	-4	-3	درجة تشكل الفراغات في الغلاف الجريبي
-3	-4	-4	-2	درجة ترقق الغلاف الجريبي وتحلله

مقارنة ظواهر التحلل على مستوى البويضة				
A-IV	A-III	A-II	A-I	الظواهر
-1	-2	-4	-3	مدى تحلل البويضة
-1	-1	-3	-2	تحلل الغشاء الخلوي للبويضة
-2	-2	-4	-3	انكماش سيتوبلازما البويضة
-2	-3	-2	-1	درجة تواجد الفجوات الدهنية في السيتوبلازما
-1	-2	-4	-3	مدى تحلل الغشاء النووي
-1	-2	-3	-2	مدى تحلل النواة وانتشار محتوياتها في السيتوبلازما
-1	-3	-3	-2	مدى تحلل الكروماتين النووي (النوية)
-2	-2	-4	-3	درجة انزياح النواة نحو الطرف

[(1-): بدء في التحلل؛ (2-): تحلل عند بعض الجريبات؛ (3-): تحلل بشكل ملحوظ؛ (4-): تحلل شبه كامل أو عند الأغلبية؛ (0): قدرة انقسامية منعدمة؛ (1+): قدرة انقسامية ضعيفة؛ (2+): قدرة انقسامية متوسطة]



مخطط رقم (1) يوضح مدى تحلل الجريبات الناضجة في مختلف الأزمنة

خامساً: المناقشة:

نلاحظ أن أوج التغيرات المرضية والتبدلات النسيجية المبيضية وانخفاض القدرة الانقسامية ظهرت اعتباراً من بداية عملية الحقن وحتى بداية الزمن الثالث، حيث كانت الزمن الثاني (اليوم الخامس من زمن الحقن) أكثر المجموعات تأثراً بالنسبة إلى التغيرات النسيجية في مستوى كافة الجريبات المبيضية، ثم بدأت بعدها بالتعافي التدريجي، ومن الملاحظ أيضاً أن تعافي الجريبات قد بدأ في الزمن الثالث

وما بعده، ويمكن تفسير ذلك بحدوث هجمة تسممية قوية في بداية حقن عقار Adriamycin على الأنسجة ذات النشاط الانقسامي مثل الخلايا الجريبية والخلايا البيضية، سيما أن الحقن داخل التجويف البريتواني the peritoneal cavity مما سمح بوصول العقار إلى محيط المبيض بسوية واحدة، ولذلك ظهر في بداية الأمر انخفاض واضح في المقدرة الانقسامية كما دلت عليه المقاطع النسيجية المصبوغة بالصبغة المناعية (Ki67) إذ نلاحظ انخفاض الانقسام الخلوي إلى مستوى شبه العدم (في الزمن الثاني)، إضافةً إلى التبدلات الخلوية والتمؤتات الخلوية على المستوى النسيجي للمبيض وبشكل خاص في الجريبات الناضجة والتي تمثل خلاياها أوج النشاط الانقسامي مقارنةً ببقية الجريبات غير المكتملة كونها في حالة شبه توقف عن التطور والانقسام الخلوي نظراً لما تمتلكه الجريبات الناضجة من سيطرة هرمونية غير مباشرة تفرض وجودها على بقية الجريبات؛ فهي تكبح تطور الجريبات الأخرى بآلية تُسمى التغذية الراجعة السلبية [20] لذلك كان التحلل في الجريبات الناضجة أكثر من غيرها وخاصةً أن العقار موجه للخلايا سريعة الانقسام، وخاصة بعد وضع إناث الهامستر المحقونة مع ذكور الهامستر مما حفز عملية الإباضة (تطور الجريبات الناضجة) عن طريق التجاذب الجنسي ورائحة الفورمونات [21]؛ ثم بدأ الجسم مقاومته ضد التسمم من العقار والتخلص من الآثار السمية عن طريق طرح العقار ونواتجه الاستقلابية خارج الجسم (طريق البول والبراز والعصارة الصفراوية) وبشكل تدريجي [18]، بالتالي عاد الجسم إلى التعافي التدريجي والتجدد النسيجي وإلى نشاطه الانقسامي التكاثري على المستوى النسيجي، ومن المعلوم أن الأنسجة سريعة التكاثر تتخلص من السمية بشكل أكبر من الأنسجة ذات النشاط الانقسامي المعتدل [2] وهذا يفسر ارتفاع عدد الجريبات الناضجة الفتية في كل من الزمن الثالث وبالأخص الزمن الرابع نتيجة تحلل كامل للجريبات الناضجة المصابة بالتمؤت الخلوي، وكل ذلك بعد زوال التأثير المثبط لتطور الجريبات الأخرى كما ذكرنا سابقاً، وعادت الجريبات غير المكتملة إلى النمو والتطور أي إلى وضعها الطبيعي لتشكل جريبات ناضجة فتية ناتجة عن تطور جريبات غير ناضجة، ومع ذلك يبقى عددها دون السوية الطبيعية

مقارنة مع الشاهد نظراً لوجود بقايا من التأثير السمي للعقار.
ومن خلال مقارنة هذه النتائج مع نتائج الدراسات الأخرى [22,23] نلاحظ توافقاً بين تلك النتائج التي تؤكد على أن التأثير السلبي للعقار على الخلايا الداعمة للبيضة كالخلايا الجريبية أو خلايا الغلاف الجريبي تتسبب في إحداث تغيرات في نمو ونضج الجريبات المبيضية مما يؤدي في النهاية إلى تحلل الجريبات المبيضية.
كما تتفق هذه الدراسة مع دراسات الباحث Andreeva وزملائه [24] حول تأثير عقار أدرياميسين على الجهاز التناسلي الأنثوي حيث لاحظ وبعد مرور شهر من تعاطي الجرعة المفردة انخفاضاً في عدد البويضات الناضجة Mature Oocytes في مبايض الجرذان وازدياد معدل موت البويضات المخصبة.
وتتفق كذلك مع دراسة Shima [25] على إناث الفئران المحقونة بعقار أدرياميسين وجرعات مختلفة وذلك لمعرفة قدرة العقار على تدمير الجريبات المبيضية ومدى تأثير العقار على خصوبة الفئران المحقونة، فقد بين أن هنالك ازدياد في انخفاض عدد الجريبات الناضجة، وتراجع معدل الخصوبة مقارنة بالمعدل الطبيعي وذلك بما يتناسب طردياً مع كمية الجرعة.

كما تتفق هذه الدراسة مع دراسة لباحث Borovskaya [26] التي أشار فيها إلى تأثير عقاري الأنتراسيكلينات (أدرياميسين والفارمورويسين) في منع حدوث أية حالة حمل بالنسبة للإناث اللاتي تزوجن بعد يوم واحد من تعاطي العقار، وأن ذلك يعود إلى التأثير السمي لهذه المركبات التي واجهته الجريبات المبيضية الناضجة والتي تمتاز بنشاط انقسامي عالٍ، كما أن الطفرات المميتة قد ارتفعت في الخلايا الجنسية الأنثوية.

سادساً: الاستنتاجات:

- على الرغم من التأثير الإيجابي لعقار Adriamycin على الخلايا السرطانية، إلا أن تأثيراته الجانبية على الخلايا السليمة وخاصة التكاثرية كالخلايا البيضية والجريبية ذات أهمية كبيرة، ويجب أخذها بعين الاعتبار قبل البدء بالتداوي.
- من أهم التأثيرات النسيجية على المبايض تأثر الجريبات الناضجة مما يؤثر سلباً

على القدرة التناسلية والنشاط الجنسي لدى الأنثى.

- يكون تأثير العقار على المبيض أعظمياً خلال الأيام العشرة الأولى من بدء الحقن، ثم يبدأ بالتراجع تدريجياً، وذلك بفضل استقلابه والتخلص من نواتجه إلى خارج الجسم دون وصول المبيض إلى الوضع الطبيعي نتيجة وجود بقايا آثار سمية من العقار.

سابعاً: التوصيات:

- يجب تجنب حدوث حالات حمل عند النساء أثناء تعاطي العقار نظراً لتأثيره المضر على الجريبات الناضجة.
- يمكن الحصول على جريبات ناضجة سليمة بعد فترة نقاهة كافية لا تقل عن 15 يوماً من بعد حقن العقار، وبالتالي يمكن حدوث الحمل بصورة طبيعية.

References-

- 1-GOTH A., 1981- **Medical pharmacology principles & concepts.** The C.V. Mosby company, 10th Ed ,Saint Louis, Ch 60, 701-712.
- 2-ROSE D.; DAVIS T., 1980- **Effects of adjuvant chemohormonal therapy on the ovarian and adrenal function of breast cancer patients.** *Cancer-Res.*, **40(Nov)**, 4043-4047.
- 3-AHMED N.; GUPTA P.; CICOGRGE K., 1989- **Sub acute toxicity or cypermethrin in rats.** *J. Environ Biol*, **10(3)**. 309-317.
- 4-LOWRY W., 1970- **Unwanted effects of cytotoxic drugs** **Bibliographic citation.** *prescriber's Journal*, **10(Des)**, 132-134.
- 5-RANG, H. P; DALE, M. M. AND RITTER, J. M. 2001- **Pharmacology.** Edinburgh: Churchill Livingstone. 4th ed.
- 6-TAWHEELH, A.; KASSEM, M.; KHANJI, Y ., 2010- **Study of the effect of Adriamycin on the Graffian follicles & Oocytes in Albino Mice and Compare it with Sexual activity in Women taking this Drug.** *J. King Abdul Aziz Bulletin "Science"*, **23(2)**
- 7-ROMANINI A.; FEBI G.; DANESI R.; DEL-TACCA M., 1985- **Recenti acquisizioni farmacotossicologiche e cliniche sulla adriamicina (Recent pharmacotoxicologic and clinical findings on adriamycin).** *Minerva. Med*, **76(40)**, 1863-1876.
- 8-VILLANI P.; ORSIERE T.; DUFFAUD F.; DIGUE L.; BOUVENOT G.; BOTTA A., 1998- **Genotoxic and clastogenic effects of doxorubicin.** *Therapie*, **53(4)**, 391-395

- 9-YOUNG R.; OZOLS R.; MYERS C., 1981- **The anthracycline antineoplastic drugs.** *N. Engl. J. Med.*, **305(3)**, 139-159.
- 10-BRENNER, G. M., 2000- **Pharmacology.** Philadelphia. W.B. Saunders Company,U.S.A.
- 11-MYCEK, M. J.; HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C.; FISHER, B. D., 2000- **Lippincott's illustrated reviews: pharmacology.** Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins,U.S.A.
- 12-STEVEN, M.; ZEMAN,; DON, R.; PHILLIPS.; DONALD, M., 1998- **CROTHERS Characterization of covalent Adriamycin-DNA adducts.** *Biochemistry by The National Academy of Sciences from USA* ,(95) 11561–11565.
- 13-CURRECULUM, C., TRANSLATED BY MENDO, W,KH.; JONEE M., 2006- **Internal Medicine.** sciences kuds; English book (11ed) , Arabic book (1st ed) ,Syria.
- 14-BINASCHI, M.; CAPRANICO, G.; DAL BO, L.; ZUNINO, F., 1997- **Relationship between lethal effects and topoisomerase II-mediated double-stranded DNA breaks produced by anthracyclines with different sequence specificity.** *Molecular Pharmacol.* (51):1053-1059.
- 15-RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M., 2001- **Pharmacology.** (4thed).Edinburgh: Churchill Livingstone.
- 16-SUWALSKY, M; HEMANDEZ, P; VILLENA, F; AGUILAR, F. AND SOTOMAYOR, C., 1999- **The anticancer drug Adriamycin interacts with the human erythrocyte membrane.** *Z. Natuforsch. C. Mar* **54(3-4)**:Pp. 271-7
- 17-RESZKA, K.J; MCCORMICK, M.L. AND BRITIGAN, B.E., 2003- **Oxidation of Anthracycline Anticancer Agents by the Peroxidase Mimic Microperoxidase 11 and Hydrogen Peroxide,** *Free Radical Biology & Medicine*, **35(1)**:Pp. 78–93.
- 18-**PRODUCT INFORMATION ADRIAMYCIN.** 2007- *Pfizer Australia Pty Ltd Version: pfpadrii10107*, Australia. 160.
- 19-BAQUIRAN D.; GALLAGHER J., 1998- **Lippincott's cancer chemotherapy.** Handbook, Lippincott Philadelphia, Ch 1, 3-5, 191-192
- 20-PICAZO, R.A; COCERO, M .J; BARRAGAN, M.L. AND SEBASTIAN, A.L., 1996- **Effects of LH administration at the rate of an FSH superovulatory regimen on ovulation rate and embryo Production in their breeds of sheep.** *Theriogenology*, **45(5)**: Pp. 1065 - 1073

- 21-BRONSON, F.H. AND MACMILLAN, B., 1984- **Hormonal responses to primer pheromones In pheromones and reproduction in mammals vandenbergh, J.G., ed New York, Academic Pp.175-197**
- 22-WALLACE H.; JOHN A.; THOMAS., DONALD E.; GARDNER., 2004- **Target Organ Toxicology Series. CRC Press,1ST Ed, London, 250**
- 23-JONES R.E.; 1978- **The vertebrate ovary: comparative biology and evolution. Plenum Press, New York.249.**
- 24-ANDREEVA E.; BOROVSKAIA T.; FOMMINA T.; FILIPPOVA M., 1992- **Late effects of damaging action of doxorubicin on reproductive system and progeny of rats. Antibiotiki I Khimioterapiia, 37(5), 32-34.**
- 25-SHIMA Y., 1994- **Quantitative study on the effect of oncostatic toxicity on murine fertility. Nippon. Sanka. Fujinka. Gakkai. Zasshi, 46(7), 589-596.**
- 26-BOROVSKAYA, T., GOIDBERG, E. 2000- **Effects of anthracyclines on reproductive function in rats. Bulletin of Experim. Biol. and Med. 130(11):Pp 572-530.**