



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة القادسية / كلية التربية  
قسم علوم الحياة

## تأثير عقار بنتوستام ( Pentostam ) على بعض أنزيمات وظائف الكبد في الفئران البيض

بحث مقدم الى رئاسة قسم علوم الحياة كلية التربية كجزء من متطلبات نيل شهادة  
البكالوريوس في علوم الحياة

أحمداد الطالبج

سامر عبد العباس كاظم

بإشراف الأستاذ

م.د جميل كريم والي العمري

2019م

1440 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

.: وَيَسْأَلُونَكَ عَنِ الرُّوحِ قُلِ الرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّي وَمَا

أُوتِيتُمْ مِنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا ۝

صدق الله العلي العظيم

سورة الإسراء (الآية ٨٥)

# الإهداء

إلى وجه العلي الأعلى الذي خلق فسوى والذي قدر فهدى..

إلى الحبيب المصطفى (صلى الله عليه واله وسلم)

إلى الخمسة أصحاب الكساء... أهل البيت (ع)

إلى مصدر فخري وقوتي... (والدي)

إلى من أوقدت سنين عمرها لنكون... (والدتي)

إلى من شاركوني الأمانى ، إلى أحب الناس سندي في الحياة... (أخوتي

وأخواتي)

أهدي جهدي المتواضع هذا

## الشكر والتقدير

اللهم لك الحمد على ما أهديت وأنعمت وأعطيت حمداً كما تستحقه وأنت  
أهله اللهم وصلِ وبارك على خيرتك من خلقك الأمين المصطفى وآله  
الطيبين الطاهرين.

يسرني وقد أنهيت بحثي هذا أن أتقدم بوافر الشكر والتقدير إلى أستاذي  
الفاضل الدكتور جميل كريم العمري الذي تفضل بقبول الإشراف والتوجيه  
على هذا البحث فجزاه الله عني خير الجزاء.

وأتقدم بخالص الشكر والتقدير إلى رئاسة قسم علوم الحياة ورئيس القسم  
الفاضل الدكتور احمد جاسم للتسهيلات التي وفروها لإنجاز البحث.  
اعتزائي وامتناني إلى أساتذة قسم علوم الحياة في كلية التربية الذين قدموا  
لي المساعدة في جميع مراحل الدراسة وصولاً إلى هذا البحث , ومن الله  
التوفيق.

## Abstract الخلاصة

هدفت فكرة البحث الحالي الى التعرف على التأثيرات السلبية المحتملة لعقار البنتوستام المستخدم لعلاج مرض اللشمانيا على انزيمات وظائف الكبد والنسيج الكبدي، شملت عينة الدراسة 8 فئران سوية (Healthy) من الفئران البيض وبأعمار تراوحت من سبعة إلى ثمانية أسابيع وكانت أوزانهم تتراوح ما بين (26-23) غرام وزعت عشوائيا إلى مجموعتين متساويتين مثلت المجموعة الاولى مجموعة السيطرة التي حقنت بالماء المقطر تحت البريتون لمدة عشرة ايام متتالية في حين مثلت المجموعة الثانية مجموعة المعاملة التي تم حقن الحيوانات فيها بعقار البنتوستام بتركيز 10mg/k تحت البريتون.

اظهرت النتائج ارتفاع معنوي في انزيمات وظائف الكبد GPT, GOT, ALP وكذلك وجود تضرر نسيجي واضح في الخلايا الكبدية في المقاطع النسجية المأخوذة من حيوانات مجموعة المعاملة وذلك اذ ما قارنا نتائج هذه المجموعة مع مجموعة السيطرة التي شهدت مستويا طبيعية لهذه الانزيمات مصحوبا بشكل وتنظيم طبيعي للنسيج الكبدي، نستنتج مما تقدم ان العلاج بعقار البنتوستام يكون مصحوب بتأثيرات سلبية على الكبد.

## المقدمة Introduction

تعتبر الامراض من اهم المشاكل التي كانت منذ القدم ولا زالت الشغل الشاغل للبشرية ودوما ما كان الانسان يحاول اكتشاف وتصنيع العلاجات التي قد تساعده للتخلص من خطر هذه الامراض فقام بتصنيع العديد من العقارات الكيميائية التي قضت على معظم الامراض المعروفة ولكن رغم هذه الفائدة العظيمة فان لهذه العلاجات لها مثل ما عليها لكونها غالبا ما تكون مصحوبة باثار جانبية ضارة للجسم بقدر فائدتها والتي قد تظهر خلال تعاطي العقار او بعد فترة من انتهاء التداوي بالعقار.

عقار بنتوستام Pentostam هو احد هذه العقارات والذي استخدم لعلاج مرض اللشمانيا او ما يسمى بحبة بغداد ويعتبر هذا العقار اقل سمية من عقارات اخرى استخدمت لعلاج المرض نفسه (Berman, 1988)، ولكن رغم قلة سميته فانه كثيرا ما كان مصحوب ببعض الاثار الجانبية على الجسم مثل التغيرات في مخطط النبض القلبي، الم في المفاصل، طفح جلدي، ورم في منطقة الحقن (Thakur & Kumar, 1990)، فضلا عن التهاب بنكرياسي وتضخم الطحال كذلك حدوث تضرر في خلايا الكبد وغيرها من الاعراض الجانبية (Hepburn, 2003).

الهدف من الدراسة

وفي محاولة للتعرف عن كثر على اثار عقار بنتوستام في واحد من اهم اعضاء الجسم وهو الكبد وذلك من خلال التجربة العملية تم اختيار موضوع هذا البحث لتقييم هذا التأثير بالاعتماد المقاطع النسجية للكبد وعلى قياس مدى فعالية انزيمات وظائف الكبد:

إنزيم (GOT) Glutamic Oxaloacetic Transaminase.

إنزيم (GPT) Glutamic Pyruvic Transaminase.



إنزيم الفوسفات القاعدي (ALP) Alkaline Phosphatase.

## استعراض المراجع Literatures of review

### عقار بنتوستام (Sodium Stibogluconate) Pentostam

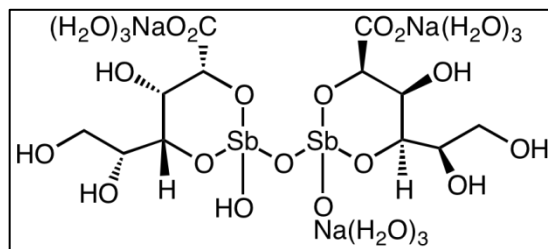


صورة (1): عقار البنتوستام

### التركيب الكيميائي Chemical structure

التركيب الكيميائي للبنتوستام الشكل (1) غامض إلى حد ما ادناه قد تحتوي محاليلها على العديد من مركبات الأنتيمون والذي هو عنصر كيميائي في الجدول الدوري يرمز له بالرمز Sb مزه الكيميائي العربي (ث) وعدده 51 وهو من أشباه المعادن وله أربعة متآصلات قديماً كانت تستعمل أملاحه في الكحل تسمى هذه الأملاح حجر الكحل أو حجر الإثمد وعلى الرغم من أن هذا التغير قد يكون غير مهم. لقد تم التكهن بأن الأنواع النشطة تحتوي على مركز واحد من الأنتيمون الوزن الجزيئي 908.883 / مول، الصيغة

الجزيئية  $C_{12}H_{36}Na_3O_{26}Sb_2$  . (Frezard *et al.*, 2009)



شكل ( 1 ): التركيب الكيميائي لعقار بنتوستام

## الآثار الجانبية Side effects

الآثار الجانبية شائعة وتشمل فقدان الشهية والغثيان وآلام في العضلات والصداع والشعور بالتعب ستييوغلوكونات الصوديوم أقل أماناً من بعض الخيارات الأخرى أثناء الحمل . ستييوغلوكونات الصوديوم في فئة الأنثيمونيال الخماسي التكافؤ من الأدوية ، البينتوستام سام للغاية للأوردة واحدة من المشاكل العملية هي أنه بعد بضع جرعات يمكن أن يصبح من الصعب للغاية العثور على الوريد الذي يحقن فيه الدواء. (Oryan *et al.*, 2016).

يمكن إعطاء الدواء عن طريق الحقن العضلي ولكنه مؤلم للغاية عند إعطائه بواسطة هذا الطريق. يمكن إعطائه أيضاً عند تناول داء الليشمانيات الجلدي (أي حقنه مباشرة في منطقة الجلد المصاب) ومرة أخرى ، وهذا مؤلم للغاية ولا يعطي نتائج تفوق الاعطاء الوريدي وله اثار سلبية مثل آلام في موقع الحقن وتصلب المفاصل ومشاكل في الجهاز الهضمي والكبد والفشل الكلوي التي تحد من استخدامة على نطاق واسع . (Croft *et al.*, 2006).

## طريقة الاستخدام والمراقبة Method of use and control

داء الليشمانيات يكون الاستخدام الكبار 20 ملغ / كغ / يوم لمدة 20 يوماً لداء الليشمانيات الجلدي و 28 يوماً لداء الليشمانيات المخاطي والحشوي بشكل حقن وريدي أو حقن عضلي حيث يتم الحقن بشكل بطيء مدة تتراوح بين 5 - 10 دقائق ويعطى هذا الدواء بالحقن العضلي بالجرعة 20 ملغم /كغم لمد 20 - 30 يوم على التوالي وليس له فعالية عن طريق الفم، كما تطور نظام الجرعة لعلاج داء الليشمانيات ، وزادت تدريجياً جرعة يومية من الأنثيمون ومدة العلاج لمكافحة عدم الاستجابة للعلاج. في الثمانينات من القرن العشرين أوصي



باستخدام 20 مجم / كجم / يوم (بدلاً من 10 ملغ / كغ / يوم) من الأنتيمون ، ولكن فقط إلى جرعة يومية قصوى تبلغ 850 مجم (Donald *et al.*, 2003).

## الامتصاص والإخراج Absorption and Excretion

يؤخذ العقار عن طريق الحقن في العضلة (Intramuscular; i.m.) أو عن طريق الحقن في الوريد (Intravenous; i.v.). ينتشر العقار بسرعة في الجسم عن طريق جهاز الدوران وعند وصوله إلى الكلية يتم طرح معظم الجرعة الواحدة من العقار مع الإدرار خلال 24 ساعة (Rees *et al.*, 1980).

إن السلوك الحركي لعقار بنتوستام مشابه لمعظم العقاقير التي يتم حقنها في العضلة أو في الوريد حيث يتم توزيعه بسرعة في الجسم ويصل تركيزه إلى مستويات عالية في البلازما خلال ثمان ساعات بعد الحقن، وان 80-90% من الجرعة تظهر بالإدرار بعد ستة ساعات من اخذ العقار.

ويظهر العقار في الجسم بصورتين الأولى لها معدل نصف العمر Half-life قصير وهو حوالي ساعتين، أما الصورة الثانية فلها معدل نصف عمر أعلى من الصورة الأولى ويبلغ حوالي 33- 76 ساعة وتعكس المدة النهائية لطرح مركبات الإثمود مدة التحول للمركب من الشكل خماسي التكافؤ إلى

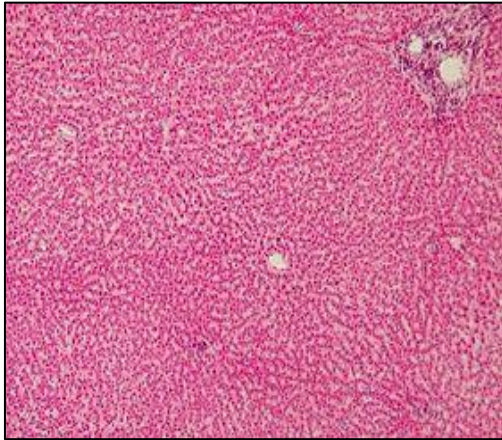
الشكل ثلاثي التكافؤ (Chulay *et al.*, 1988)

تظهر كميات قليلة من مركبات الإثمود في الخروج Faces بعد ارتباطه بمركب كلوتاثيون (Glutathione) وتطرح كميات ملحوظة من الإثمود المفرزة مع الصفراء في الدورة الكبدية

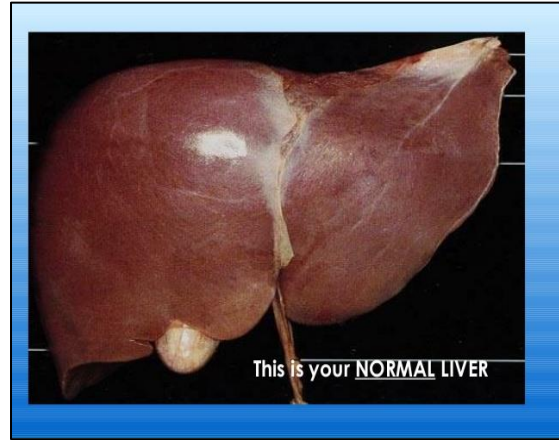
(Bailly *et al.*, 1991).

## الكبد Liver

أكبر عضوٍ داخليّ في جسم الإنسان ، صوره (2) ويزن حوالي 1500 غرام، ويقع تحت القفص الصدريّ في الجزء الأيمن من التجويف البطنيّ، ويميل لونه إلى الأحمر البنيّ، ويتكوّن بشكل رئيسيّ من جزأين؛ الجزء الأيمن والجزء الأيسر وتكون الخلايا الكبدية مرتبة ترتيب هندسي بشكل خطوط منتظمة شكل (2) وتقع المرارة تحت الكبد، مع أجزاء من البنكرياس والأمعاء، أمّا وظيفة الكبد فتتكامل مع هذه الأعضاء في عملية الهضم وامتصاص المواد الغذائية، كذلك يقوم الكبد بتصفية الدم الذي يرد إليه من القناة الهضمية، ويقوم الكبد بتصنيع عوامل التخثر التي يحتاجها الجسم لوقف النزيف، كما ويقوم بتنقية الدم من الكيماويات ومخلفات الأدوية التي يتناولها الإنسان. (Rachel nall, 2018)



شكل (2): النسيج الطبيعي للكبد



صورة (2): كبد الانسان

## إنزيمات الكبد Liver enzymes

- الإنزيم الناقل لمجموعة الأمين (GPT) Glutamate Pyruvate Transaminase

- الإنزيم الناقل لمجموعة الأمين (GOT) Glutamate Oxaloacetate Transferase

يعرف الإنزيم GOT بأسم آخر هو Aspartate Transaminase (AST) والاسم العلمي له هو L-

Aspartate a-ketoglutarate Amino Transferase ويقع الإنزيم تحت التصنيف

{EC2.6.1.1} ويعمل على تحفيز التفاعل الموضح في المعادلة أدناه :

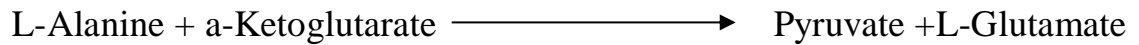


ويعرف الإنزيم GPT أيضا Serum Glutamate Pyruvate Transaminase (SGPT)

Alanine Transaminase (ALT) و Alanine Aminotransferase (ALAT) ويقع تحت

التصنيف { EC 2.6.1.2 } ويعمل على تحفيز التفاعل العكسي بين L- Alanine و a-

ketoglutarate إلى L-Glutamate و Pyruvate وحسب المعادلة التالية :



يصنع إنزيم GPT بشكل أساسي في الكبد ويفرز إلى الدم بواسطة خلايا الكبد الميتة في الحالة الطبيعية في

حين يوجد إنزيم GOT في القلب فضلا عن الكبد وإن الموقع الأساس لإنزيم GPT هو سايتوبلازم

Cytoplasm الخلايا البرنكيميية للكبد بالمقارنة مع إنزيم GOT الذي يوجد بكميات متساوية ما بين

السايتوبلازم والمائتوكوندريا. إن وجود إنزيم GPT و GOT في هذه المواقع بالذات يساعد في تشخيص بعض أمراض الكبد، فارتفاع المستوى المصلي للإنزيم GPT يؤثر إلى حصول ضرر في خلايا الكبد البرنكيمية. (Pocker, 2011)

يرتفع المستوى المصلي للإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين GOT و GPT في حالة الإصابة بالتهاب الكبد الفيروسي Viral Hepatitis والتهاب الكبد المزمن Chronic Hepatitis وتليف الكبد Cirrhosis ويكون مستواه المصلي مختلف باختلاف الحالة المرضية ففي حالة الإصابة بالتهاب الكبد الفيروسي يكون المستوى المصلي لإنزيم GPT و GOT أعلى من مستواه في حالة الإصابة بالتهاب الكبد المزمن وتليف الكبد ويكون المستوى المصلي للإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين في حالة الإصابة بتليف الكبد اقل من مستواه في حالة الإصابة بالتهاب الكبد المزمن. على اختلاف أشكال السموم المضرة بالكبد يمكن أن تؤدي إلى تغيير الحالة النموذجية التي يجب أن يكون عليها الإنزيم وتعطي صورة سريرية مشابهة لالتهاب الكبد وتجمع الكولسترول Cholestasis. ولقد بينت نتائج الأبحاث على أن تعرض الكائنات الحية على اختلاف أنواعها وأجناسها للمواد الكيميائية والعقاقير يؤدي إلى رفع أو خفض المستوى المصلي لكلا الإنزيمين، فمعاملة الفئران بمادة كلوريد الزئبق مثلا يؤدي إلى زيادة نشاط إنزيم GPT و GOT في مصل الدم (Sharma et al., 2002).

فضلا عن تأثير كل من عامل العمر والجنس في اختلاف المستوى المصلي بالحالات الطبيعية، تؤثر درجة الحرارة التي يتم فيها إجراء فحص GPT مثلا على النتيجة النهائية حيث ينخفض المستوى المصلي للإنزيم بانخفاض درجة الحرارة ولكلا الجنسين إن تحديد المستوى المصلي لاكثر من إنزيم من إنزيمات وظائف الكبد الأنفة الذكر ولنفس العينة المصلية يساعد على تشخيص موقع الإصابة بشكل اكثر دقة من تحديد المستوى المصلي لإنزيم معين فمثلا ارتفاع المستوى المصلي لإنزيم GPT مع بقاء المستوى المصلي لإنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP طبيعيا يساعد على تشخيص إصابة الكبد نتيجة لتضرر خلاياه بسبب وجود مشاكل

في قناة المرارة من هنا جاءت أهمية دراسة إنزيمات وظائف الكبد للدور المهم الذي يقوم به الكبد في أيض السموم عموماً والمبيدات على وجه الخصوص ومنها مبيد الدراسة الحالية داي كلورفوس فأخيراً سرعان ما يتأبيض ليصبح غير فعال ويمكن للشخص السليم والذي يمتلك كبد خالي من الأمراض أن يتحمل الأضرار الناجمة عن التسمم بالمبيد أكثر من الشخص الذي يعاني من بعض أمراض الكبد ( Jenna fletcher, 2018 )

## تحليل GPT

أشار Neha وجماعته (2017) إلى الحالات التي تستدعي إجراء تحليل GPT أنه يُستخدم إلى جانب العديد من الاختبارات الأخرى للكشف عن الإصابة بأحد مشاكل أو أمراض الكبد، خاصة في حال ظهور بعض الأعراض مثل ألم البطن أو انتفاخه، والغثيان، والتقيؤ، واليرقان والتعب الشديد أو الضعف العام، وغمق لون البول، وتحوّل لون البراز إلى لون فاتح، وحكة الجلد. ومن الأمثلة على الحالات التي تستدعي إجراء فحص GPT مايلي :

الإصابة بالتهاب الكبد الوبائي، شرب الكحول، وجود تاريخ عائلي للإصابة بأمراض الكبد، استخدام الأدوية التي تزيد خطورة تضرر وتلف الكبد، المرضى المصابون بالسكري أو الذين يعانون من زيادة الوزن.

## الحالات التي تؤدي إلى ارتفاع GPT

أوضح Darla وجماعته (2018) أن القيمة الطبيعية لإنزيم GPT تتراوح بين 7-55 وحدة/لتر، وغالباً ما تكون قيمته أعلى قليلاً عند الذكور مقارنة بالإناث ويمكن تقسيم الحالات التي يرتفع فيها إنزيم GPT اعتماداً على مقدار الارتفاع إلى ارتفاع بسيط في مستوى GPT كما في حالات الإدمان على الكحول وتشمع الكبد كثرة وحيدات النواة في الدم ، وهي أحد أنواع خلايا الدم البيضاء، بعض الأدوية مثل الستاتين والأسبرين وبعض الأدوية المنومة ارتفاع متوسط في مستوى GPT كما في حالات الإصابة بأحد أمراض الكبد المزمنة انسداد القناة الصفراوية النوبة القلبية أو فشل القلب، الفشل الكلوي، إصابات



العضلات، تلف خلايا الدم الحمراء، ضربات الشمس، تناول كميات كبيرة من فيتامين أ.

## إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) Alkaline Phosphatase

الاسم العلمي له هو Orto-phosphoric Monester phosphor وينتمي إلى مجموعة الإنزيمات المحللة Hydrolyase Enzyme المسؤولة عن إزالة مجموعة الفوسفات Phosphate Groups من الموقع رقم 3 و5 لأنواع عديدة من الجزيئات مثل النكليوتيدات Nucleotides والبروتينات وتسمى العملية بإزالة الفسفرة Dephosphorylation ويوجد إنزيم ALP في كل أنسجة الجسم ولكنه يوجد بشكل أساسي ومركز في أنسجة الكبد والعظام Bone والمرارة Bile وقناة المرارة Bile Ducts والمشيمة Placenta وان أي ضرر أو مرض يصيب هذه الأنسجة يظهر بشكل تغيير في المستوى المصلي للإنزيم في الدم كالإصابة بأمراض العظام والكبد .

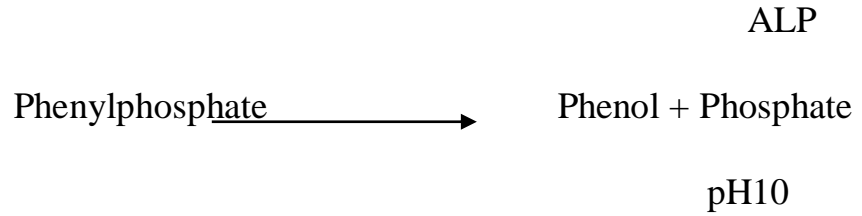
يختلف المستوى المصلي لإنزيم ALP في الحالات الطبيعية باختلاف العمر Age والجنس Gender حيث يرتفع مستوى الإنزيم في الأطفال وكذلك للنساء الحوامل أو استجابة لتناول بعض العقاقير كارتفاع مستوى الإنزيم للجرذ المعامل بعقار البنيتوستام أما ارتفاع مستوى إنزيم ALP الغير طبيعي قد يحصل نتيجة للتعرض لبعض أنواع المبيدات مثل المبيد العشبي Florasulam .

هنالك أشكال متنوعة للإنزيم ALP في أنسجة الجسم وتدعى بالإنزيمات المناظرة لإنزيم ALP ALP- Isoenzyme ولقد وجدت تراكيب مختلفة لهذه الإنزيمات المناظرة في الأنسجة المختلفة أي أن تركيب ونسبة الإنزيم المناظر الموجود في العظام يختلف عن تركيب ونسبة الإنزيم المناظر الموجود في الكبد لذلك يجب إجراء فحص ALP-Isoenzyme لتمييز النسيج المتضرر.

يؤشر ارتفاع المستوى المصلي لإنزيم ALP في الدم عن الحد الطبيعي إلى حالات مرضية مثل الأنيميا والتهاب الكبد Hepatitis و أمراض الكبد والعظام وتحطم المرارة Biliary Obstruction وتسمى حالة



انخفاض المستوى المصلي لإنزيم ALP عن الحد الطبيعي هيوفوسفاتازيميا Hypophosphatasemia وتؤشر لحصول حالات مرضية مختلفة مثل نقص البروتين (Protein Deficiency) وفضلا عن الوظيفة الأساسية لإنزيم ALP بنقل الفسفور اللاعضوي يساعد الإنزيم في تميؤ استرات الفوسفات ومساعدة خلايا الأمعاء على الامتصاص والمعادلة أدناه توضح التفاعل الحاصل بفعل الإنزيم (Guytan & Hall; 2006)



بعيدا عن أهمية تحديد المستوى المصلي لإنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP واشكاله المتناظرة في تشخيص بعض الأمراض وكما تم توضيحه، يشفر لإنزيم ALP أربع جينات مختلفة ويعد الإنزيم وسيلة مهمة من وسائل علم الحياة الجزيئي Molecular Biology حيث يساعد الإنزيم في إزالة مجموعة الفوسفات من النهاية رقم 5 في جزيئه DNA وهذه الخطوة تمنع من ارتباط جزيئه DNA بالنهاية رقم 3 وبذلك يعد إنزيم ALP وسيلة لحفظ خصائص جزيئه DNA . (Dufour et al., 2000)

### طرائق العمل

أجريت هذه الدراسة في البيت الحيواني التابع لقسم علوم الحياة كلية التربية /جامعة القادسية واستخدمت الفرن البيض التي تم شرائها من البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري /جامعة القادسية، شملت عينة الدراسة 8 فئران سوية (Healthy) من الفئران البيض وبأعمار تراوحت من ستة إلى ثمانية أسابيع وكانت أوزانهم تتراوح ما بين (23-26) غرام وزعت عشوائيا إلى مجموعتين وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية أبعادها 15 X 35 X 15 سم، عرضت الحيوانات جميعها لنفس الظروف من درجة الحرارة والإضاءة وأعطيت الحيوانات

الخبز الجاف والماء بصورة حرة وتركت لمدة أسبوعين للتأقلم وبعدها وزنت الحيوانات لتحديد الجرعة الملائمة.

## عقار البنتوستام

استخدم العقار المنتج من شركة ePret International Pvt. Ltd.

حيث حسبت الجرعة للحيوان المختبرية (الجرذ) وفق الجرعة الدوائية المعتمدة للإنسان (20 ملغم/ كغم). حيث حقن كل حيوان 0.1 مل (5 ملغم/ جرذ) يومياً في غشاء الخلب.

## تصميم التجربة Design Experience

قسمت حيوانات التجربة عشوائياً إلى مجموعتين (مجموعة السيطرة ومجموعة المعاملة) تم التعامل معها ضمن هذه الدراسة على النحو الآتي:

مجموعة السيطرة Control حقنت بالماء المقطر في منطقة تحت البريتون (IP) لمدة عشرة أيام متتالية.

مجموعة المعاملة Treatment (T) حقنت بكمية 0.1 مل من عقار البنتوستام يومياً لمدة عشرة أيام متتالية. في اليوم الحادي عشر تمت عملية التضحية بكل الحيوانات بواسطة تخديرها جزئياً بمادة الكلوروفورم وتم سحب الدم منها بواسطة طعنة القلب Heart puncture، وضعت كمية 3 مل من الدم في أنابيب اختبار حاوية على مادة الجلوتين Gel tubes وترك الدم ليتخثر لمدة 20 دقيقة ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي Centrifug لمدة 15 دقيقة بسرعة 300 دورة بالدقيقة من أجل الحصول على المصل الذي حفظ في الثلاجة لحين إجراء الفحوصات الكيموحيوية للمعايير التي تضمنتها الدراسة الحالية إنزيم Glutamic Oxaloacetic.

Transaminase (GOT)

وإنزيم (GPT) Glutamic Pyruvic Transaminase و إنزيم الفوسفات القاعدي Alkaline Phosphatase (ALP)..ثم تم اخذ قطعة من الكبد من كل حيوان وحفظت في فورمالين 10% لغرض اجراء الفحص النسيجي.

## الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

تم إجراء فحوصات كل من إنزيم (GOT) Glutamic Oxaloacetic Transaminase و إنزيم Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT) و إنزيم الفوسفات القاعدي (ALP) باستخدام جهاز Mindray BS-120 صورة (2) ومبدأ عمل هذا الجهاز مماثل تماما لعمل جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer ولكن بطريقة آلية بحتة، أن المكونات الرئيسة للجهاز هي قرص دوار خاص يحتوي على أماكن لوضع العديد من الكواشف ولفحوصات مختلفة في أن واحد كما يحتوي على ثمانية أماكن خاصة بالعينات المكون الثاني هو إبرة السحب Probe المتحركة فضلا عن وجود الخلاط Mixer المسؤول عن عمليات خلط المواد بعد كل عملية سحب وإضافة.

الخطوة الأولى قبل إجراء الفحوصات هي معايرة الجهاز بمادة Quality control الخاصة التي يتم التعامل معها بنفس طريقة معاملة عينة المصل العادي ويشترط أن تكون النتائج ضمن مدى معين محدد وفق المعايير المحددة من قبل شركة Biomedical المُصنِّعة للجهاز ولعدة الفحص، بعد ذلك يوضع واحد مل من عينة المصل في أحد الأماكن المخصصة للعينات والمرقمة حسب التسلسل وبالنسبة للكواشف يتم تحديد مكان وجود كل كاشف عند إدخال البيانات إلى برنامج تشغيل الجهاز على الحاسوب المرفق وفقا لتعليمات عدة الفح الخاصة بكل تحليل وبنفس الطريقة يتم تحديد رقم المكان الذي وضعت فيه العينة، ومن خلال البرنامج يتم اختيار نوع وعدد الفحوصات المطلوبة للعينة الواحدة ولحد ثمانية فحوصات لان الجهاز يحتوي على ثمانية حاويات شفافة Cuvetts.

عندها يبدأ الجهاز بالعمل في البداية تتم عملية غسل ذاتي لكل من Probe و Mixer وكما يغسل Probe نفسه بعد كل عملية سحب أثناء الفحص سواء من العينات أو من الكاشف لضمان الدقة وعدم تداخل المواد الكيميائية، يقوم Probe بسحب كميات محددة من العينة حسب كل فحص توضع كل كمية في Cuvet خاصة وتضاف إليها الكواشف الخاصة بالفحص المطلوب وذلك حسب إعدادات البرنامج وبعد انتهاء مدة الحضان لكل فحص تحت درجة حرارة  $37^{\circ}\text{C}$  واكتمال عمليات التفاعل يظهر معقد لوني تعتمد شدته اللونية على تركيز المادة المراد معرفة مستواها في عينة الفحص وتقاس الشدة اللونية لكل مادة حسب الطول الموجي الخاص بها.



صورة (2): جهاز Mindray BS-120 من شركة Bio- medical Electronics، والقرص الدوار.

## الفحص النسيجي Histological examination

تحضير المقاطع النسيجية المحفوظة في الفورمالين 10% لكل مجاميع الحيوانات لغرض دراستها على وفق

طريقة (1968) Luna في تحضير المقاطع النسيجية

## التحليل الإحصائي Statistical analysis

أخضعت النتائج للتحليل الإحصائي لمعرفة الفروق المعنوية بين معدلات المعايير المدروسة في المجاميع المختلفة وقد حددت الفروق المعنوية على مستوى احتمال ( $P < 0.05$ ) باستخدام تحليل التباين الأحادي One Way Analysis of Variance (ANOVA) كما تم اختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار اقل فرق معنوي (Least Significant Difference (LSD), كما شمل التحليل الإحصائي استخراج المعدل Mean والخطأ القياسي (Standard Error (SE) (الراوي وخلف الله, 2000).

## النتائج والمناقشة Results and discussion

جدول(1): تأثير حقن الحيوانات بعقار بنتوستام بتركيز 20 ملغم/كغم على انزيمات وظائف الكبد (GOT, GPT, ALP).

المعايير المجاميع	GOT U/L	GPT IU/L	ALP U/L
السيطرة	1.47 ±21.01 b	1.66 ±28.26 b	3.36±23.19 B
المعاملة	4.32 ±55.00 a	1.54±42.19 a	1.56±52.91 A



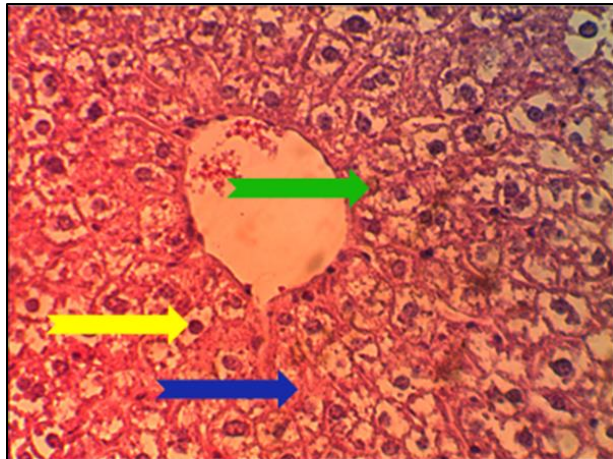
--	--	--	--

المعدلات  $\pm$  الخطأ القياسي

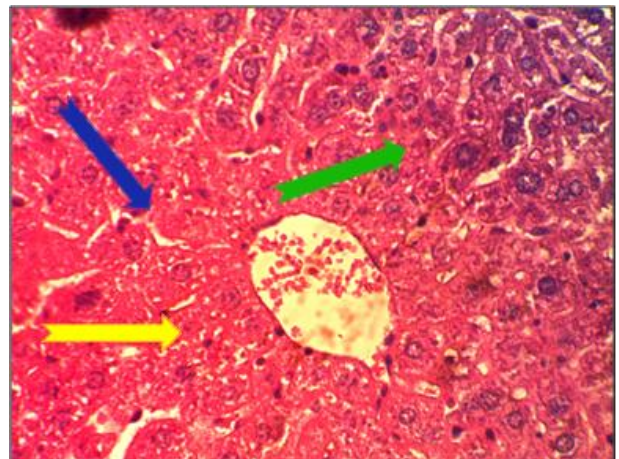
الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية بين المجاميع عند مستوى احتمالية 0.05

بعد انتهاء مدة التجربة واجراء الفحوصات الكيموحيوية اظهرت النتائج جدول(1) وجود ارتفاعات معنوية ( $P<0.05$ ) في مستوى كل من انزيمات وظائف الكبد المعتمدة في هذه الدراسة والتي شملت (GOT, GPT, ALP). في مجموعة الحيوانات التي تم معاملتها بالعقار بنتوستام بالمقارنة مع بين مجموعة السيطرة.

كما اظهر الفحص النسيجي مدى الضرر الي طراً على انسجة الكبد المأخوذة من الحيوانات المعاملة بالعقار الشكل(1) حيث تم ملاحظة وجود تهتك في الانسجة وموت للخلايا الكبدية وتحلل للانوية في معظم النسيج مع عدم انتظام في الشكل الهندسي للخلايا الكبدية اذ فقدت انتظامها بشكل حبال او خطوط متتابعة منتظمة، بالمقابل اظهرت الفحوصات النسجية للكبد السليم في حيوانات مجموعة السيطرة الشكل(2) الشكل النظامي لخلايا الكبد وعدم وجود تضرر او تهتك مع ملاحظة الانوية الطبيعية للخلايا.



شكل(2): نسيج لكبد في مجموعة لسيطرة، الاتوية لطبيعية(لسهم الاصفر)، نسيج سليم(لسهم الازرق)، فنظام لترتيب لخلوى(لسهم الاحضر).



شكل(1): نسيج لكبد في مجموعة لمعاملة بعقار بنتوستام 10mg/k، تحلل الانوية(لسهم الاصفر)، تهتك خلوى(لسهم الازرق)، عدم انتظام لترتيب لخلوى(لسهم الاحضر).



هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم مستوى إنزيمات وظائف الكبد (ALT , GPT , GOT)، في مصل دم حيوانات السيطرة والحيوانات التجريبية المحقونة بعقار بنتوستام، وفي فترات مختلفة (أسبوع وأربعين وثلاثة وأربعة أسابيع على التوالي)، لغرض معرفة مدى تأثير عقار بنتوستام على مستويات هذه الإنزيمات التي تعكس مدى التأثير الحاصل لخلايا الكبد من جراء المعالجة بالعقار.

بينت نتائج الدراسة الحالية الموضحة في الجدول (1) أن مستويات جميع الإنزيمات زادت زيادة معنوية مقارنة بمجموعة السيطرة، ويمكن تفسير ذلك في ضوء كون عقار بنتوستام يؤثر وبدرجة كبيرة على خلايا الكبد وهذا يأتي متفقاً مع ما وجد في هذه الدراسة حول تأثير خلايا الكبد من خلال الدراسة النسجية الموضحة في الأشكال ( 1 ، 2 ) والتي بينت من خلال المقاطع النسجية التلف الحاصل في خلايا الكبد ، وتفسير ذلك يعود إلى التأثير السمي للعقار والذي أكدته دراسة (Chulay et al., 1985)، وللدور الكبير الذي يقوم به الكبد في تأييض المركبات السمية التي تدخل الجسم، وان النقص الحاصل في مستوى هذه الإنزيمات ربما يعود إلى زيادة الموت الخلوي لخلايا الكبد المنتجة لهذا الإنزيم وهذا ما لوحظ في الدراسة النسجية للكبد، وهناك العديد من الدراسات التي توافقت مع هذه الدراسة حول تلف خلايا الكبد دراسة ( Hepburn, 2003) كما وجد (Herwaldt et al ., 1992) في دراسته على مرضى اللشمانيا الجلدية والذين عولجوا بعقار بنتوستام حيث لوحظ بعد حقن العقار زيادة فعالية الإنزيم GPT بمقدار 2.4 مرة أكثر من الحالة الطبيعية كما لاحظ أن زيادة الفترة الزمنية في حقن العقار تؤدي إلى حالة التسمم الكبدية.

كما أن هذه الدراسة تتفق مع ما وجدته Alkhawajah *et al.*, (1992) من ارتفاع فعالية إنزيم GOT عند مستوى احتمالية (0.05)، وعند مستوى (0.01) لكل من إنزيم GPT, ALP وقد عزي سبب الارتفاع الحاصل في مستويات هذه الإنزيمات إلى حصول تلف في خلايا كبد الجرذ. وهذا ما اكده Nieto وجماعته (2003) في دراسته التي أجراها على الكلاب وقد فسر ذلك بتقلص عملية التلف الحاصلة في خلايا الكبد

## References

الراوي، خاشع محمود و خلف الله, عبد العزيز. (2000). مدخل إلى الإحصاء. الطبعة الثانية. كلية الزراعة والغابات. جامعة الموصل.

**Bailly, R.; Lauwerys, R.; Buchet, J. P.; Mahieu, P.; Konings, J. (1991).** Experimental and human studies on antimony metabolism: their relevance for the biological monitoring of workers exposed to inorganic antimony. *Br. J. Ind. Med.*, 48: 93-97.

**Berman, J. D. (1988).** Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy, and future strategies. *Rev. Infect. Dis.*, 10: 560-586.

**Chulay, J. D.; Fleckenstein, L. and Smith, D. H. (1988)** Pharmacokinetics of antimony during treatment of visceral leishmaniasis with sodium stibogluconate or meglumine antimoniate. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 82: 69-72.

Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis (PDF). World Health Organization. March 2010. p. 55,186. ISBN 9789241209496. Archived (PDF) from the original on 2016-06-08.

**Croft, S.L., Sundar, S. & Fairlamb, A.H. (2006).** Drug Resistance in Leishmaniasis. *Clinical microbiology reviews*, 19(1):111–126

**Darla Burke and Brian Wu. (2018).** "Aspartate Aminotransferase (AST) Test" , [www.healthline.com](http://www.healthline.com), Retrieved 30-7-2018.

**Donald, J.A. (2003).** Burger medicinal chemistry and drug discovery. John Wiley and Sons, Inc., Virginia, 5(6th ed):1347 – 52 .

**Dufour, D. R.; Lott, J. A.; Nolte, F. S.; Gretch, D. R.; Koff, R. S. and Seeff, L. B. (2000).** Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. performance characteristics of laboratory tests., *Clin. Chem.*, 46: 2027-2049.

Forces Institute of pathology . 3rd ed. McGraw. Hill book. Co . London

**Fr ézard F, Demicheli C, Ribeiro PR (2009).** "Pentavalent Antimonials: New Perspectives for Old Drugs" (pdf). *Molecules*. 14 (7): 2317–2336. doi:10.3390/molecules14072317. PMC 6254722. PMID 19633606. Archive d from the original on 2016-03-03.

**Guyton, A.C. and Hall, J.E. (2006)** .Text book of Medical physiology. 11<sup>th</sup> ed.-Elsevier Saunders.PP.847-848, 909, 999, 1003-1008.

**Hepburn, N. C. (2003)** Cutaneous leishmaniasis: an overview. *J. Postgrad. Med.*, 49: 50-54.

**Herwaldt, B. L. and Berman, J. D. (1992).** Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostam) and review of pertinent clinical studies., *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 46: 296-306.

**Jenna Fletcher (2018),** "What does the SGOT blood test mean" [www.medicalnewstoday.com](http://www.medicalnewstoday.com) Retrieved 30-7-2018.

**Jump up to:**<sup>a b c d</sup> **Oryan, A; Akbari, M. (2016).** "Worldwide risk factors in leishmaniasis". Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 9 (10): 925–932. [doi:10.1016/j.apjtm.2016.06.021](https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.06.021). PMID 27794384.

**Luna, L. G. (1968).** Manual of Histological Staining Methods of the Armed  
**Neha Pathak. (2017).** "What Is an Aspartate Aminotransferase (AST) Test?"  
[www.webmd.com](http://www.webmd.com), Retrieved 30-7-2018.

**Nieto, J.; Alvar, J.; Mullen, A. B.; Carter, K. C.;** Rodriguez, C.; San Andres, M. I.; San Andres, M. D.; Baillie, A. J. and Gonzalez, F. (2003). Pharmacokinetics toxicities and efficacies of sodium stibogluconate formulations after intravenous administration in animals. *Antimicrob Agents Chemother.* 47: 2781-7.

**Pocker, Y.(2011).** Bioinorganic and bioorganic studies of liver alcohol dehydrogenase. *Chem. Biol. Interact.* 130: 383\_393

**Rachel Nall (2018)** "Liver" [www.healthline.com](http://www.healthline.com), Retrieved 3-11-2018. Edited

**Rees, P. H.; Keating, M. I.; Kager, P. A. and Hockmeyer, W.T. (1980).** Renal clearance of pentavalent antimony (sodium stibogluconate). *Lancet.* 2: 226-229.

**Sharma, M. K.; Kumar, M. and Kumar, A. (2002).** Ocimum sanctum aqueous leaf extract provides protection against mercury induced toxicity in Swiss albino mice. *Indian J. Exp. Biol.,* 40: 1079-1082.

**Thakur, C. P. and Kumar, K. (1990)** Efficacy of prolonged therapy with stibogluconate in post kala-azar dermal leishmaniasis. *Indian J. Med Res.*, 91: 144-8.