

دراسة التغيرات النموجية لعقار السيسبلاتين على خصى الفئران ودور عمل النحل الوقائي له

د.سلوى محمد قوطه

كلية التربية للأقسام العلمية بجدة

doctorsalwa@gmail.com

تاريخ القبول: ٢٠٠٨/٧/١٥

تاريخ التسليم: ٢٠٠٨/٣/٩

الملخص باللغة العربية

يعتبر عقار السيسبلاتين من العقاقير الواسعة الانتشار والتي تمتاز بأهمية كبيرة من الناحية الطبية لتدرته على علاج العديد من الأورام السرطانية إلا أن الدراسات السابقة أشارت إلى تأثيراته الجانبية العديدة على نسيج الخصية، لذا هدفت الدراسة إلى رصد للتغيرات النموجية التي يحدثها عقار السيسبلاتين ومن ثم هل بالأمكن الحد من هذه التغيرات عن طريق المعاملة مسبقا بمركب طبيعي، وقد وجد أن عمل النحل يعتبر من نسب الأغذية الطبيعية في هذا المجال، ولتحقيق هذا الهدف أجريت التجربة على ذكور الفئران التي قسمت إلى ثلاث مجموعات هي: المجموعة الأولى I: غير المعاملة (C) وتشمل: الذكور المعاملة بالماء المقطر. المجموعة الثانية II: للمعاملة (T₁) وتشمل الذكور التي عولمت بعقار السيسبلاتين بجرعات (٢٠٠ و١٠٠ و٥٠ مجم /متر مربع يوميا) عن طريق الحقن في التجويف البريتوني ولمدة خمسة أيام متتالية. المجموعة الثالثة III: ذات المعاملة المزدوجة (T₂+H) وتشمل الذكور المعاملة مسبقا بالعسل بجرعة (٥مل/كجم يوميا) عن طريق اللقم ثم المقار بنفس الجرعات والطريقة السابقة.

أظهرت الدراسة أن المعاملة بعقار السيسبلاتين قد نتج عنها تفكك وتباعد للأنيبيبات المنوية عن بعضها البعض، انسلاخ في طلائية الخلايا الجرثومية تنقص في محتويات الخصية سواءاً من الخلايا المنوية، تهتك لروابط للتلاصق بين خلايا سرتولى والخلايا المنوية المجاورة لها وانخفاض في عدد خلايا ليدج وظهورها بأشكال غير طبيعية.

لما المعاملة المزدوجة بالعسل وعقار السيسبلاتين قد أبنت تحسنا ملحوظا حيث استعملت الأنبيبيبات المنوية لتربطها مع بعضها البعض داخل قطاع الخصية، ظهور طلائية الخلايا الجرثومية طبيعية؛ زيادة محتوى الخصية من الحيوانات المنوية والخلايا المنوية، استعادته خلايا سرتولى لتربطها للتلاصق مع كل من الخلايا الجرثومية والخلايا المنوية وزيادة عدد خلايا ليدج واستعملتها لوضعها الطبيعي.

المقدمة Introduction

يعتبر عقار السيسبلاتين من أكثر عقاقير المعالجة الكيميائية نجاحا في علاج أورام الخلايا الجرثومية للخصية (Pont and Albrecht,1997) لذلك فهو يعتبر حجر الأساس لمعظم أنواع بروتوكولات العلاج الكيميائي الخاصة بسرطانات الخصية وبغض النظر عن قدرته الفعالة في تثبيط الخلايا السرطانية إلا أن له آثار جانبية خطيرة على الخلايا للتلاصق كخلايا منبثة وخاصة الخصية من أهمها قدرته على تثبيط عملية تخليق الحيوانات المنوية (Zhang et al., 2001; Seamani et al., spermatogenesis 2003; Sawhney et al., 2005) وظهور حالة ما يعرف بفقد الحيوانات المنوية azoospermia في المسائل المنوية للمرضى الذين تم معالجتهم بهذا العقار (Drasaga et al.,1983; Seamani et al., 2003) وكذلك نقص في حركتها حيوية الحيوانات المنوية مع انخفاض ملحوظ في أعداد الخلايا المنوية الأولية (Vawda and Davies,1986; Seethalakshmi et al.,1992) وانخفاض في أعداد هذه الحيوانات (Kinkead et al.,1992; Cherry et al., 2004) مع فقد كثير من الخلايا الجرثومية الطلائية المبطنة للأنيبيبات المنوية وظهور تلف وانسلاخ لهذه الطلائية

(Seethalakshmi et al.,1992; Aydiner et al.,1997) وتلف واضح في خلايا لمهات المنى والخلايا المنوية (Nambu and Kumamoto,1995) وظهور حالات موت موضعي في النسيج الحي necrosis ثم حالات موت مبرمج apoptosis للخلايا المنوية الجرثومية والخلايا المنوية والطلائع المنوية (Kopf,1992; Zhang et al., 2001; Seamani et al., 2003; Cherry et al., 2004; Sawhney et al., 2005) تغيرات تركيبية واضحة في خلايا سرتولى (S.C) Sertoli cells وانتساع في الفراغات الخلوية المحيطة بها مع انحلال سيتوبلازمي وانكماش لأنوية تلك الخلايا وظهور تهتك لروابط للتلاصق ما بين هذه الخلايا والخلايا الجرثومية والمنوية المجاورة لها (Kopf,1992; Aydiner et al.,1997) وخلاص واضح في وظائف خلايا سرتولى (Nambu and Kumamoto,1990; Sawhney et al., 2005) وظهور تغيرات تركيبية أيضا في خلايا ليدج (L.C) Leydig cells (Nambu and Kumamoto;1995) مما أدى إلى نقص واضح في محتوى الخصية من هرمون التستوسترون testosterone

في محتوى الخصية من هرمون التستوسترون testosterone

النحل (عسل السندر Sider المعروف علميا -ziziphus spina christi) تم الحصول عليه من مزارع استرا. وأعطيت الجرعة المحددة منه بعد تخفيفه بالماء المقطر بتركيز (٥٠% عسل) ليسهل امتصاصه (Kandil and Monir, 1986).

الحيوانات المستخدمة Animals.

تمت لتجارب على ذكور الفئران البيضاء Albino mice (*Mus Musculus*, 2n=40) من سلالة MF1 البالغة من العمر ٨ أسابيع، يتراوح وزنها بين (٢٥جم-٣٠جم) تم الحصول عليها من بيت الحيوانات التابع لمركز الملك فهد الطبي بجامعة الملك عبد العزيز بجدة وتم وضعها في بيئة مناسبة.

الطرق Methods

استخدم في هذا البحث ٤٥ فأرا قسمت إلى ثلاثة مجاميع: المجموعة الأولى I: غير المعاملة (C) تشمل ٩ فئران عوملت بالماء المقطر عن طريق الأنبوبة المعوية. المجموعة الثانية II: المعاملة (T₁) بعقار السيسبلاتين فقط وتشمل ١٨ فأرا عوملت بالجرعات العلاجية للإسمان (٢٠، ٤٠، ١٠٠، ٢٠٠مجم/متر مربع) من الدواء تبعا (Chabner et al., 2006) والمضلة للفئران طبقا لجدول (١) (Paget and Barnes, 1964) عن طريق الحقن في التجويف البريتوني ولمدة خمسة أيام متتالية. المجموعة الثالثة III: ذات المعاملة المزوجة (T₁+H) وتشمل ١٨ فأرا عوملت بعسل النحل بجرعة (٥مل/كجم يوميا) تبعا (Kandil and Monir, 1986) وذلك عن طريق الفم بواسطة الأنبوبة المعوية وتم إعطاء السيسبلاتين بعده بنفس الجرعات والطريقة السابقة. تم تشريح الفئران لكل من المجموعة غير المعاملة والمعاملة بعد ٢٤ ساعة من آخر جرعة، وتم أخذ الخصية Testis وحفظت في محلول التثبيت (فورمالين ١٠%) لإعداد القطاعات النسيجية منها تبعا لطريقة العلم (Mallory, 1900) وصبغت بصبغة الهيماتوكسيلين - أيوسين haematoxylin-eosin (H&E) لدراسة التركيب الطبيعي للمجموعة غير المعاملة وكذلك التغيرات النسيجية للمجموعات المعاملة.

وهرمون Follicle stimulating hormone (FSH) وهرمون (Kinkead et Luteinzing hormone (LH) (al., 1992) وانخفاض ملحوظ في معدل ونشاط تخليق الحمض النووي (DNA) في خلايا الخصية أثناء عملية تكوين الحيوانات المنوية (Vawda and Davies, 1989; Nambu and Kumamoto, 1995) ونظرا لما يقوم به عقار السيسبلاتين من تأثير خطير على عملية تخليق الحيوانات المنوية في الخصية، اقترح العديد من الباحثين أنه من المستحسن استخدام مواد طبيعية أثناء المعالجة الكيميائية لها القدرة على تقديم الحماية للأشعة ضد الآثار الجانبية للعقار (Atessahin et al., 2006a&b) وخاصة في الخلايا الجرثومية المنتجة.

وبما أن العسل مادة طبيعية فيها غذاء وشفاء مصداقا لقوله تعالى ((ثم كلي من كل الثمرات فاسلكي سبل ربك يخرج من بطونها شراب مختلف ألوانه فيه شفاء للناس إن في ذلك لآية لقوم يتفكرون)) سورة النحل (آية ٦٩) يحتوي على الحديد من المواد المضادة للأكسدة كالأنثربينات والفيتامينات والأملاح المعدنية المختلفة (حسان باشا، ١٩٩٢) والتي تقدم جميعها الدعم الكافي لحماية الخلايا. كما يعتبر العسل من الناحية الحيوية مضادا للبكتيريا Antibacterial (Wahdan, 1998) ومادة مطهرة Antiseptic (Cooper and Molan, 1999) ومضادة للفيروسات Antivira (Zeina et al., 1996). لذا تم استخدامه على نطاق في علاج الجروح Wounds والقرح Ulcers والحروق Burns وكذلك التهابات (Vardi et al., 2001; Dunford et al., 2001; Kingslry, 1998) لذا تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة التغيرات النسيجية التي تحدثها المعاملة بعقار السيسبلاتين ومدى فعالية عسل النحل في الحد من هذه التغيرات.

المواد والطرق Materials and Methods

المواد Materials

استخدم السيسبلاتين Cisplatin كعقار كيميائي يصرف تجاريا بالسيسبلاتينوم Cisplatinum، تم الحصول عليه من مستشفى الملك عبد العزيز بجدة، كمطول سائل جاهز للتضير (EBWE PHARMA, AUSTRIAL) كما استخدم عسل

المجموعة الأولى I		المجموعة الثانية II		المجموعة الثالثة III	
الجرعة (c)	عدد الفئران	الجرعة (T ₁)	عدد الفئران	الجرعة (T ₂ +H)	عدد الفئران
ماء مقطر	3	T ₁ A-0.5 mg /kg	6	T ₂ A-0.5+H5ml/kg	6
	3	T ₁ B-1.0 mg /kg	6	T ₂ B-1.0+H5ml/kg	6
	3	T ₁ C-2.5 mg /kg	6	T ₂ C-2.5+H5ml/kg	6

جدول (١) : يوضح عدد الفئران ومقدار الجرعات المختلفة لمجموعات التجربة

المجموعة غير المعاملة : C
المجموعة المعاملة بالمقار فقط : T₁
المجموعة المعاملة بالمسل و المقار : T₂+ H

تأثير المعاملة بالمسيلاتين على نسيج الخصية :

بفحص القطاعات المرضية لنسيج الخصية لذكور الفئران المعاملة بجرعة ٠,٥ مجم / كجم من وزن الجسم (T₁A) شكل (٧) ظهرت الأنبيبات المنوية متباعدة صورة (١٧) بها نقص في كثافة الخلايا الجرثومية التي بدت متبعثرة وظهر اضطراب في ترتيبها مع اتساع التجويف الموجود في وسط الأنبيبة وقلة في عدد الحيوانات المنوية الناضجة ، وزيادة واضحة في عدد الخلايا غير الناضجة ، مع ظهور فجوات كبيرة ما بين الخلايا المنوية ، كما تأثرت خلايا سرتولى جدا مما أدى الى عدم وضوحها وقلة اصطبغها صورة (٢١،٢٢ج).

بفحص القطاعات المعاملة بجرعة ١,٠ مجم / كجم من وزن الجسم (T₁B) شكل (٣) وجد للتأثير الشديد الوضوح حيث ازدادت كمية الفراغات بين الأنبيبات مع زيادة وجود التورم والتبخر لخلايا ليدج صورة (١٣) ، أما بفحص الأنبيبات نفسها فقد وجد فكماش في جدار الأنبيبات للقاعدي basement membrane وتفكك في جدر الخلايا للرافدة عليه وتحلل تام لخلايا سرتولى وتفكك واضح لجميع الخلايا الجرثومية وقلة شديدة في كثافتها صورة (٣١) . أما عند فحص الخلايا نفسها وجد هناك خلايا إما متحللة أو بها موت موضعي necrosis مع قلة شديدة في ظهور الحيوانات المنوية الناضجة صورة (٣ج).

وبفحص القطاعات المعاملة بجرعة ٢,٥ مجم / كجم من وزن الجسم (T₁C) شكل (٤) كان تأثير المقار أشد، مما أدى الى تغير ملحوظ في شكل الأنبيبات المنوية ووجود تورم بيني interstitial oedema وقلة شديدة في خلايا ليدج صورة (١٤)، أما الأنبيبات المنوية نفسها فقد انسلخ الغشاء القاعدي عن الخلايا للطلائعية للرافدة عليه. كما وجد قلة في كثافة الخلايا المنوية واتساع في التجويف وسط الأنبيبية وندرة لوجود الحيوانات المنوية للتامة النضج، أما خلايا سرتولى فقد صعب للتعرف عليها لتحللها وموتها الموضعي صورة (٤١،٤٢ج).

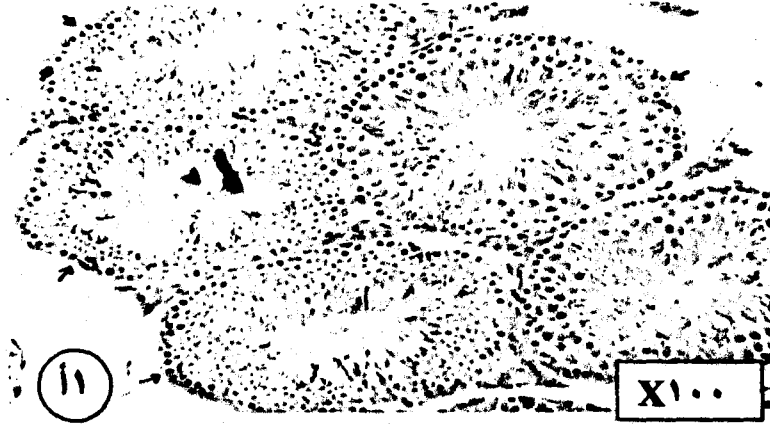
الشكل الطبيعي لنسيج الخصية في الفئران :

بفحص القطاعات العرضية لخصية الفئران للمجموعة غير المعاملة (C) شكل (١) صورة (١١) وجد أن الخلية التشريحية للخصية تتخذ شكلاً بيضولياً ومحاطة من الخارج بحافظة قوية مكونة من طبقتين tunica albuginea وهي مكونة من نسيج ضام كثيف به كثير من الألياف والخلايا ، كذلك يوجد تحتها مباشرة نسيج ضام رفیق tunica vesceraleis تحتوي على عدد من الأوعية الدموية . وتحتوي الخصية على عدد هائل من الأنبيبات المنوية seminiferous tubules تتراوح أشكالها ما بين الدائري والبيضولي، وبفحص الأنبيبات المنوية صورة (١١ب) وجد أن الأنبيبية مظفة بغطاء قاعدي رفیق basement memberane يحتوي جدار كل منها على عدة طبقات من الخلايا تمثل من الخارج الى الداخل :

- ١- الخلايا المنوية الجرثومية spermatogonia التي ترقد عمودية على الغشاء القاعدي حول محيط الأنبيبية من الداخل وهي خلايا صغيرة مزجعة.
- ٢- للخلايا المنوية الأولية primary spermatocytes وهي أكبر الخلايا ذات نوية كبيرة.
- ٣- للخلايا المنوية للثانوية secondary spermatocytes وهي أصغر من السابقة نحو نصفها في الحجم وأنويتها مصبوغة بلون داكن.
- ٤- للطلائع المنوية spermatids وهي أصغر من السابقة وأنويتها أكثر تركيزاً وتتجمع الطلائع المنوية في مجموعات.
- ٥- الحيوانات المنوية الناضجة spermatozoa والتي تقع في تجويف الأنبيبية وهي دائمة متجمعة وتتصل بخلايا خاصة كبيرة تصل الى محيط الأنبيبية تسمى خلايا سرتولى Sertoli cells كما يوجد نسيج ضام بين أنبيبيي intertubuler connective tissue توجد به خلايا بينية interstitial cells ذات افراز داخلي تعرف بخلايا ليدج leydig cells والتي تفرز الهرمونات المسؤولة عن ظهور الصفات الجنسية للثانوية صورة (١ج).

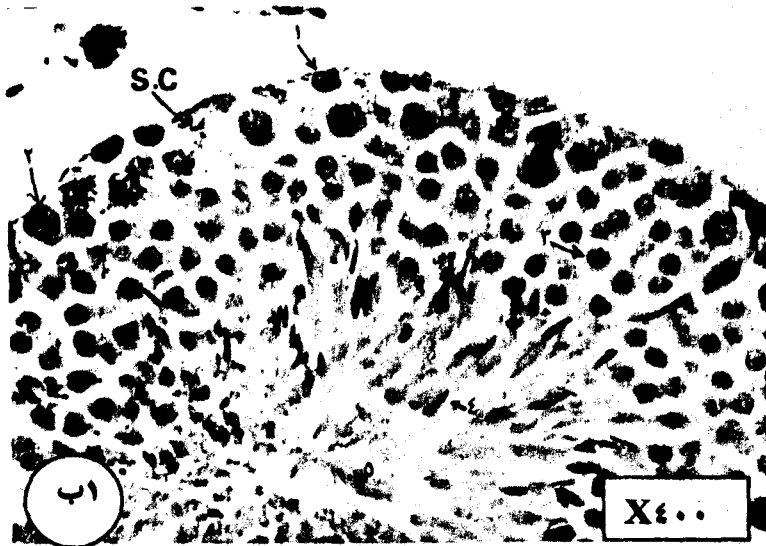
تأثير الصل والسيسبلاتين :
 لفحص القطاعات المرضية لخصى الذكور ذات المعاملة المزبوجة الصل كغذاء وافي بجرعة ٥ مل / كجم من وزن الجسم ثم عقار المسبباتين بجرعة ٢,٥ مجم / كجم من وزن الجسم شكل (٥) تظهر مدى استجابة نسيج الخصية لهذه المعالجة حيث استماتت الخلايا الكثير من حيويتها وأخذت الأنبيبات المنوية

لكثير من شكلها الطبيعي حتى أنها قد زادت عن الشكل الطبيعي في عدد الطبقات الخلوية لكي تستعيد الخلايا حيويتها وشكلها الطبيعي، أما خلايا ليدج فقد ظهرت بصورة مقاربة للطبيعة وملأت الفراغات بين الأنبيبات حيث أخفى للتورم صورة (٥أ،٥ب)، أما خلايا سرتولى فقد بدت واضحة وظهرت الحديد من الحيوانات المنوية الناضجة المرتبطة بها صورة (٥ج).



شكل (١):

(١١) قطاع عرضي لخصية فئر من المجموعة غير المعاملة (C) يوضح الحديد من الأنبيبات المنوية ذات لتجاويف الواضحة والمظلمة بضياء قاعدي واضح ، فيها مجموعات من خلايا ليدج (H&E) .



(١ ب) جزء مكبر من الصورة السابقة لتوضح خلايا سرتولى الكبيرة (S.C) وتواجد الخلايا المنوية مرتبة على الغشاء

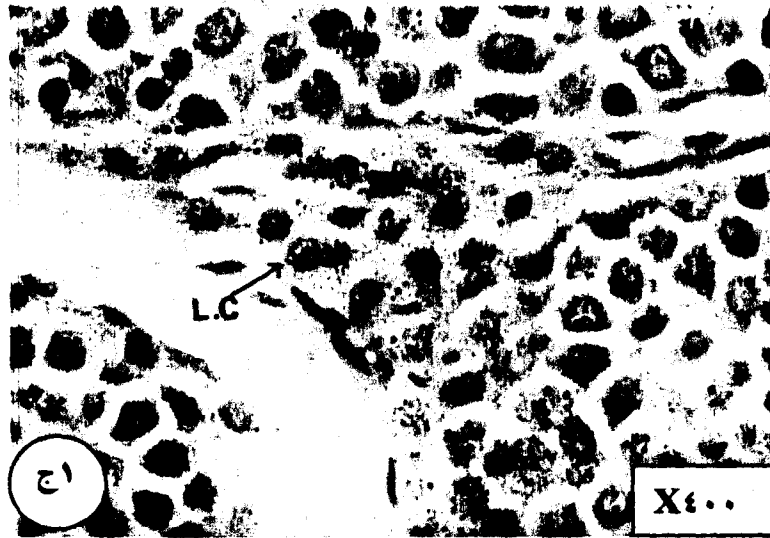
القاعدي للدخل كما يلي :١- الخلايا المنوية الجرثومية رائدة على الغشاء القاعدي وهي صغيرة الحجم.

٢- خلايا منوية أولية وهي خلايا كبيرة الحجم ذات نواة كبيرة.

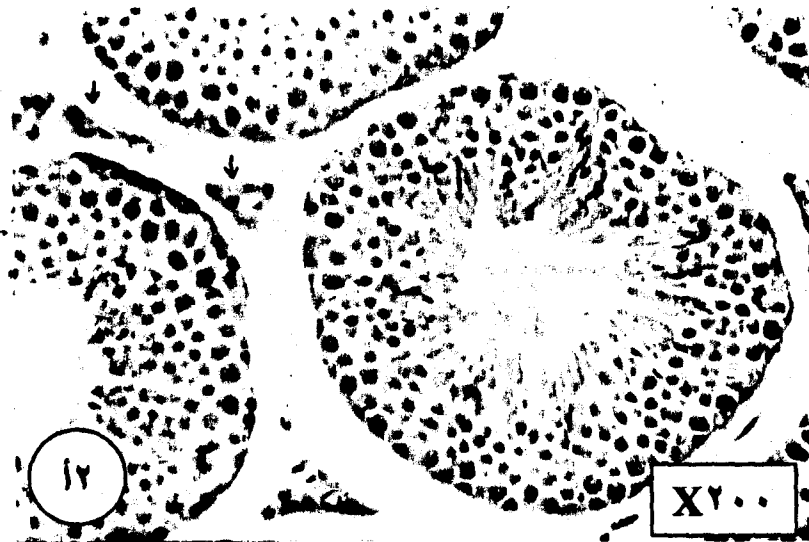
٣- خلايا منوية ثنوية صغيرة الحجم.

٤- خلايا الطلائع المنوية صغيرة الحجم .

٥- الحيوانات المنوية.

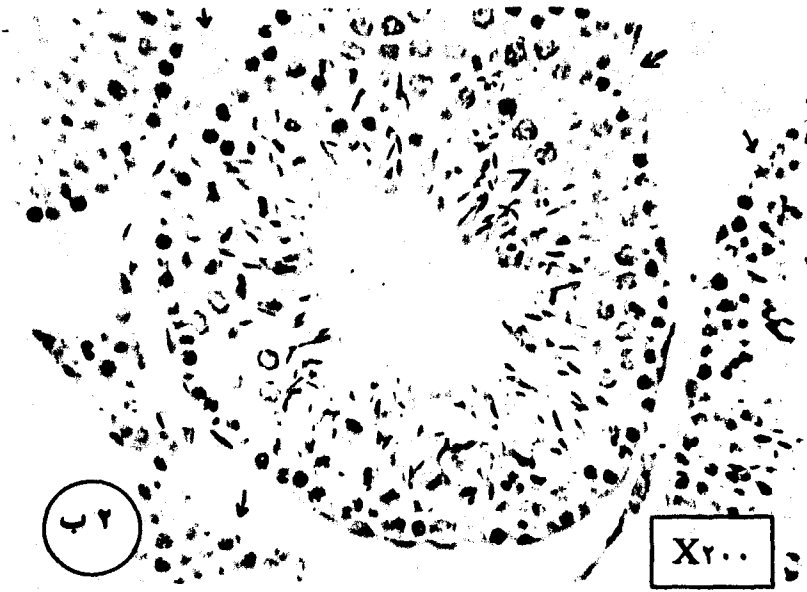


(١) جزء مكبر من الصورة (١١) توضح مجموعة من خلايا ليدج (L.C) المثلثة الشكل المحتوية على خلايا بيضوية الى دائرية ذات نواة بيضوية وسيتوبلازم محبب.

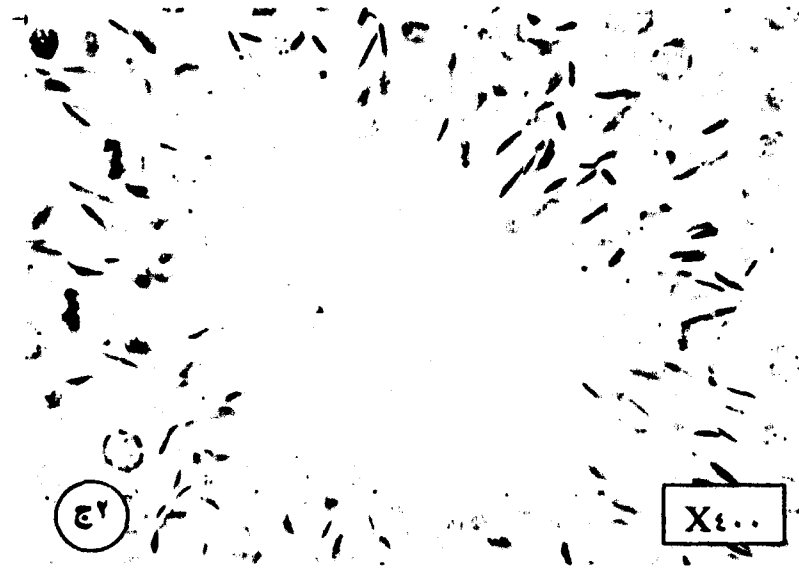


شكل (٢):

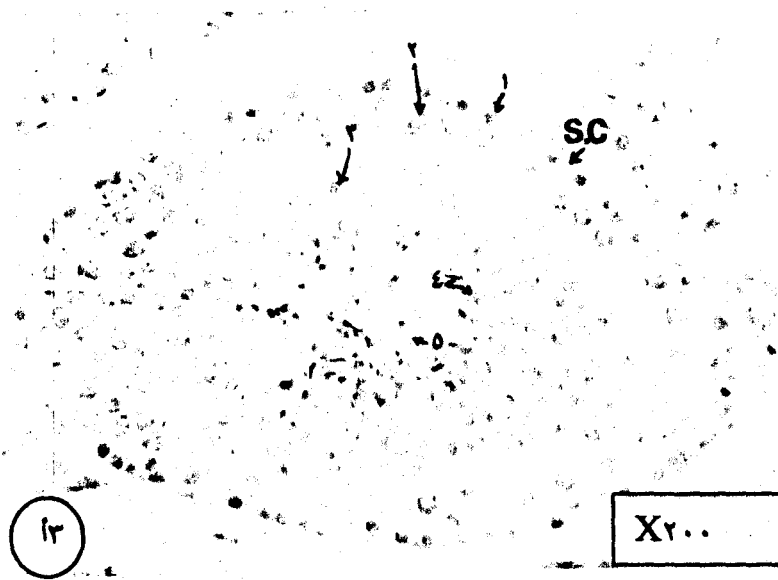
(١٢) قطاع عرضي لخصية فلر معاملة بجرعة ٠.٥ مجم / كجم من وزن الجسم (T₁A) من عقار السيسبلاتين ، لاحظ التباين بين الأنابيب المنوية وكثافة الغشاء المحيط بها ، تورم وتمدد بين أنبوبي ، تباين مجموعات خلايا ليدج وكثافة هذه الخلايا. مع ملاحظة اتساع التجويف بين الأنابيب المنوية وكثافة الحيوانات المنوية (H&E).



(٢ ب) أنيبيبة منوية من الصورة السابقة توضح نحافة الغشاء القاعدي وتسلخه في بعض الأماكن ، قلة كثافة الخلايا المنوية داخل الأنبيبيبة مع زيادة الخلايا المنوية الجرثومية وقلة كثافة الخلايا المنوية اللثوية ، أما طلائع العنق والحيوانات المنوية فقد قلت كثافتها بشدة مع صعوبة رؤية الحيوانات المنوية المتميزة الكاملة.

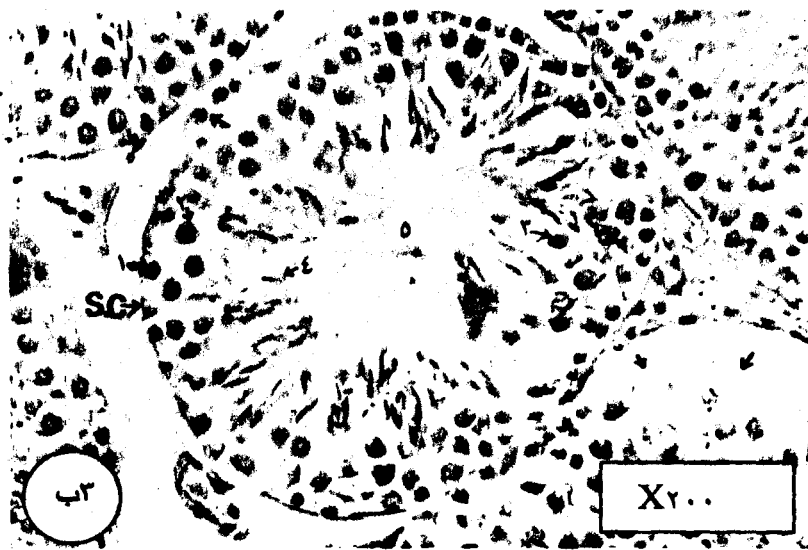


(٢ ج) جزء مكبر لتجويف إحدى الأنبيبيبات من الصورة (٢ أ) يوضح ندرة الحيوانات المنوية داخل الأنبيبيبة مع تدهور شديد للطلائع المنوية واضطراب تركيبها.

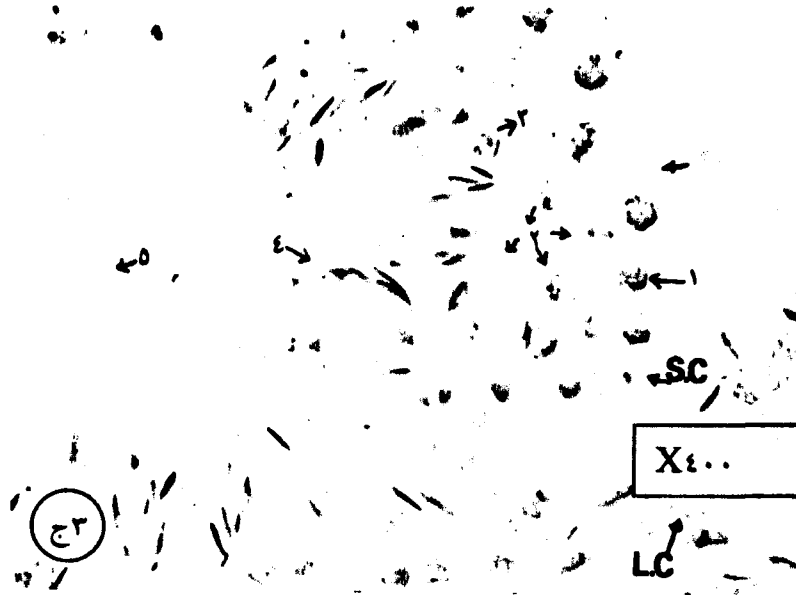


شكل (٣):

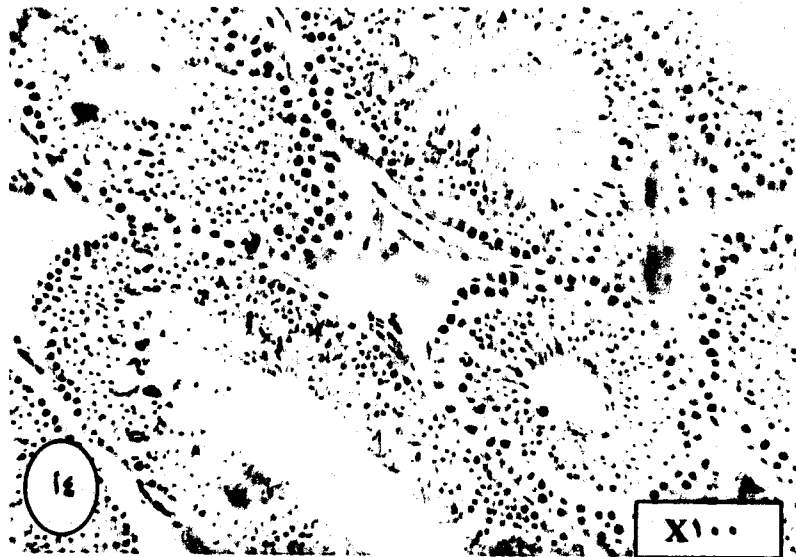
(١٣) قطاع عرضي لخصية فـر معـامل بـجرعة ١٠٠ مـجم / كـجم مـن وـزن الجـسم (T₁B) مـن عـطـار المـسـيـلاتـين ، لـاحـظ الـاـخـتـلال فـي تـرتـيب الخـلايا مـع بـعضـها البـعض بـالأضـافة إـلى تـهـتك الرـوابط إـيـمـا بـيـنـها وبيـن خـلايا سـرتـولى (H&E) .



(٢٣) قطاع عرضي لخصية فـر معـامل بـنفس الجرعة ، لـاحـظ الأرتـك الواضـح فـي التـرتـيب الطـبـقي للخـلايا مـع تـخـفـاض عـام فـي عـد الخـلايا المـنوبـة وخصـة الخـلايا المـنوبـة الأوبـة.

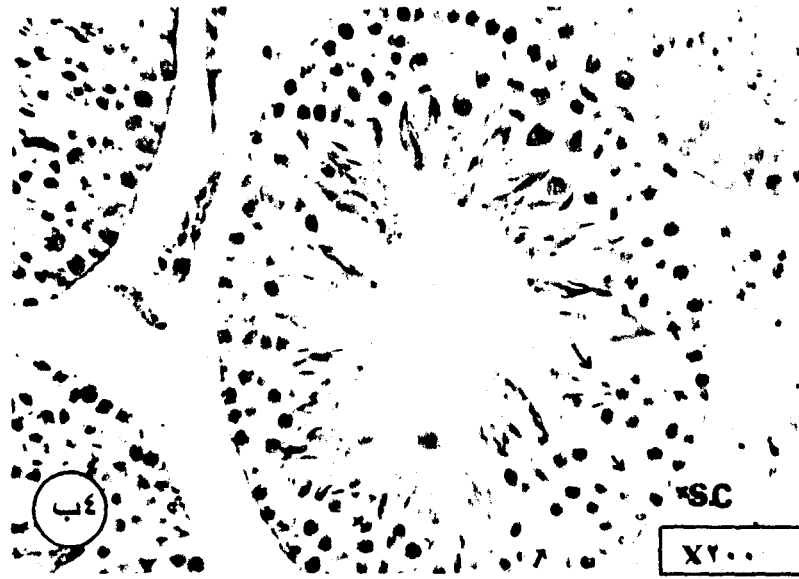


(ج ٣) جزء مكبر من الصورة السابقة لاحظ التالف الواضح في الخلايا الطلائية الجرثومية وتحلل الخلايا المنوية الأولية، وكلة عدد الخلايا المنوية الثانوية، ونادرة الحيوانات المنوية، مع نقص ملحوظ في عدد خلايا أيدج وتغير واضح في شكل أويتهما.

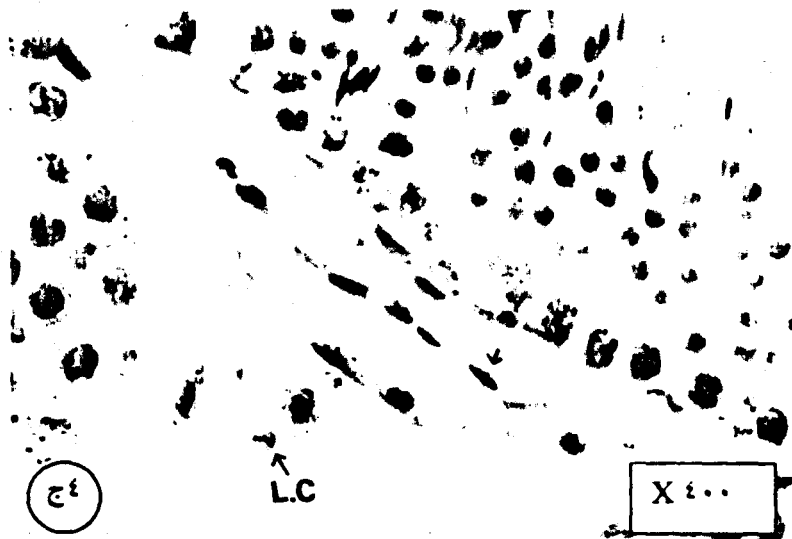


شكل (٤)

(١٤) قطاع عرضي لخصية فأر معاملة بجرعة ٢٠٥ مجم / كجم من وزن الجسم (T₁C) من عقار الميسبلاتين، توضح مجموعة من الأنبيبات المنوية غير الطبيعية، لاحظ الاضطراب في تكوين الأنبيبات المنوية، وكلة مجموعات خلايا أيدج (H&E).



(٤ ب) جزء مكبر من الصورة السابقة يوضح أنبوية غير طبيعية ، لاحظ تسلاخ الخلايا الطلائية الجرثومية ، وتهتك روابط التلامس ما بين خلايا مرتكزى والخلايا المنوية المجاورة لها، وكذلك الإنخفاض الحد فى كثافة الخلايا المنوية واتساع تجويف الأنبوية المنوية وخلوه تقريبا من الحيوانات المنوية ، مع ظهور ارتباك فى ترتيب الخلايا المنوية ، وظهور موت موضعي فى كثير من المناطق المشتر إليها بالسهم ، وأيضا قلة كثافة الخلايا داخل مجموعة خلايا ليدج.

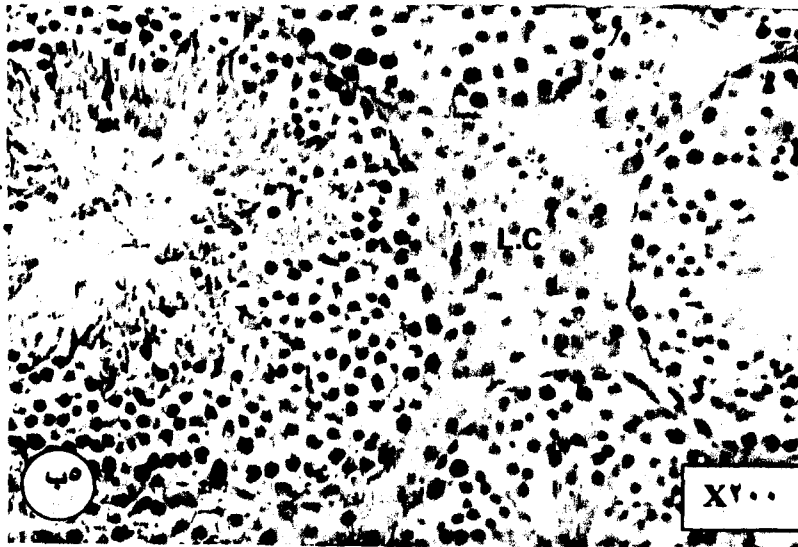


(٤ ج) صورة مكبرة من (٤ب) توضح للتغيرات الشكلية التى طرأت على خلايا ليدج وأنويتها التى اتخذت موقعا طرفيا من الخلية (المشار إليها بالرسم) كذلك لاحظ تحلل جدر الخلايا المنوية الجرثومية وشدة اصباغ الأنوية أو تظلمها .

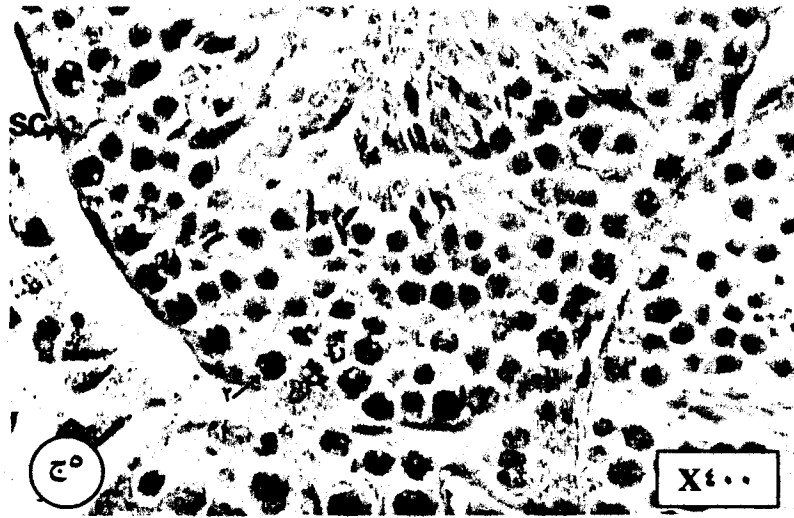


شكل (٥):

(١٥) قطاع عرضي لخصية فأر معاملة بالصل بجرعة ٥ مل / كجم من وزن الجسم و عقار السيسبلاتين بجرعة ٢٠٥ مجم / كجم من وزن الجسم (T₂C+H)، لاحظ أن الأبيبيات المنوية استعدت لتربطها مع بعضها البعض ، وتظهر ثلاثية الخلايا الجرثومية طبيعية لحد كبير (H&E).



(ب). استعدت الأبيبيات المنوية لشكلها الطبيعي وترتيبها الطبيعي وأزداد محتوى الخصية من الحيوانات المنوية والخلايا المنوية وكذلك استعدت خلايا أيدج شكلها الطبيعي وأزداد عددها.



(ج) جزء مكبر

من الصورة السابقة لاحظ أن خلايا سرتولى إستعملت لربطها مع الخلايا المجاورة مع ازدياد عدد الخلايا المنوية واستعملتها لشكلها الطبيعي وخاصة الخلايا المنوية الأولية .

المناقشة Discussion

تركيز الحيوانات المنوية داخل تجويف الأنبيبات المنوية نتيجة المعاملة بعقار السيسبلاتين. ولقد فسر (Scott *et al.*, 1996) سبب هذا الانخفاض في أعداد الخلايا والطلائع والحيوانات المنوية في نسيج خصية الجرذان إلى أن المعاملة بعقار السيسبلاتين أحدثت تثبيطاً ووقفاً سريعاً لدورة الخلية للخلايا المنوية الجرثومية وحفزت إلى حدوث تغيرات في عملية للنضوج مما ترتب عليه انخفاضاً واضحاً في أعداد الخلايا ومن ثم انخفاضاً عاماً في جميع أنواع الخلايا في الخصية. وعليه فإن الطلائع المنوية والحيوانات المنوية التي يتم ملاحظتها تكون فقط في الأنبيبات المنوية القليلة التآثر والتي مازالت فيها خلايا أمهات المنى والحيوانات المنوية طبيعية إلى حد ما ومازالت تمتلك القدرة للعودة للإقسام والتميز (El-sayyad and El-shaby, 1995). كما لوحظ في هذه الدراسة أيضاً ظهور فجوات كبيرة ما بين الخلايا المنوية وهذه النتيجة تتفق مع ملاحظته (Saleh, 1996) من تكون فجوات كبيرة في مواقع بين خلايا أمهات المنى والخلايا المنوية الأولية أعزى ذلك إلى عمليات التحلل والانفصال degeneration and detachment التي تحدث في الخلايا المنوية نتيجة المعاملة بالعقاقير.

كما تم في هذه الدراسة ملاحظة تغيرات شكلية غير طبيعية للخلايا المنوية الأولية والثانوية وكذلك لويتهها ومادتها الكروماتينية. ولقد أوضح (Chanem *et al.*, 1995) أن ظهور التغيرات المختلفة في الخلايا المنوية الأولية والثانوية يمكن أن يعزى إلى حقيقة أن هذه الخلايا قد نشأت وأشتقت أساساً من خلايا أمهات

لوحظ من هذه الدراسة أن المعاملة بعقار السيسبلاتين قد أحدثت تغيرات نسيجية بالغة الضرر في خصى ذكور الفئران وكانت شدتها تزداد بزيادة الجرعة المعمل بها وهذا يتفق مع ما أفردته (Kinkead *et al.*, 1992 ; Zhang *et al.*, 2001) حيث ظهر تنكك وتباعد للأنبيبات المنوية عن بعضها البعض وبدت بصورة غير طبيعية كما حدث فقد وانسلاخ وتلف للخلايا الطلائعية الجرثومية لهذه الأنبيبات وتتفق هذه النتائج مع ما تحصل عليه باحثين آخرين في دراسات سابقة حيث لاحظوا أن المعاملة بعقار السيسبلاتين قد أحدثت إما قحاً (Huang *et al.*, 1990) أو قحاً وإنسلاخاً (Seethalakshmi *et al.*, 1992) أو تلفاً للخلايا الطلائعية الجرثومية للأنبيبات المنوية (Aydiner *et al.*, 1997). كما لوحظ في هذه الدراسة انخفاضاً واضحاً في محتوى للخصية لكل من الخلايا المنوية عموماً والخلايا المنوية الأولية خصوصاً وهذه النتيجة تتفق مع أشارات إليه دراسات أخرى من أن المعاملة بعقار السيسبلاتين أحدثت انخفاضاً في أعداد الخلايا المنوية الابتدائية في الفئران (1986) (Vawda and Davies, 1992) وكذلك في الجرذان (Seethalakshmi *et al.*, 1992; Kinkead *et al.*, 1992). كما لوحظ في هذه الدراسة نقص في أعداد الطلائع المنوية والحيوانات المنوية وغياب علامات تكوين الحيوانات المنوية داخل تجويف الأنبيبات المنوية وهذه النتائج قد دعمت بواسطة (Seethalakshmi *et al.*, 1992; Kinkead *et al.*, 1992; Scott *et al.*, 1996 ; Seaman *et al.*, 2003 ; Cherry *et al.*, 2004) الذين رصدوا نقصاً معنوياً في الطلائع المنوية وتثبيطاً ملحوظاً لعملية تخليق الحيوانات المنوية نتج عنه قلة

الأنزيمات والمواد المضادة للأكسدة (حسان باشا، 1992) التي تستطيع تثبيط التأثير السمي الخلوي الذي يحدثه العقار على الخلايا . يضاف الى ذلك أن العسل لربما له تأثير بطريقة ما على الهرمونات الجنسية سواء من حيث تأثيره على خلايا ليدج أو سرتولى فيحسن من وظائفها المتأثرة نتيجة المعاملة بالعقار، أو قد يؤثر على إفرازات الغدة النخامية المتضمنة عملية تكوين هرموني (LH),(FSH) بتثبيط عملية تكوين الحيوانات المنوية عن طريق عمله على حث خلايا سرتولى لإفراز هرمون الأستروجين الأساسى لتحويل الطلائع المنوية الى حيوانات منوية ، بينما يعمل (LH) على خلايا ليدج ليتحكم في تكوين الهرمونات الأسترويدية (منها إنتاج هرمون التستوسترون) الذي له دور هام في اتمام عملية تخليق الحيوانات المنوية (Guyton,1986) .

المراجع:

- ١- القرآن الكريم ، سورة النحل (آية ٦٩) .
- ٢- حسان شمسى باشا (١٩٩٢) : الإستشفاء بالعسل والغذاء الملكى حقائق وبراهين .
- موسوعة الطب النبوى بين الأعجاز والعلم الحديث - الطبعة الثالثة مكتبة البوادي للتوزيع - جدة .

REFERENCES

- Ali,A., Al-swayeh,O., Al-humayyd,M., Mustafa, A.,Al-roshed,R. and Al-tuwaijiri,A. (1997) : Natural honey prevent ischemia-reperfusion-induced gastric mucosal lesions and increased vascular permeability in rats. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*,9(11): 1101-1107.
- Atessahin, A. Karahan, I., Tuurk, G., Gur, S., Yilmaz, S. and Ceribasi,A. (2006a): Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Repord. Toxicol.*, 21(1): 42-47.
- Atessahin, A., Sahin, E., Turk, G., Ceribasi, A., O., Yilmaz, S., Yuce, A. and Bulmus, O. (2006b): Chemoprotective effect of melatonin cisplatin-induced testicular toxicity in rats. *Pineal Res.*, 41(1): 21-27.
- Aydiner,A.,Aytakin,Y. and Topuz,E.(1997): Effect of cisplatin on testicular tissue and the leydig cell pituitary axis. *Oncology.*, 54(1): 74-87.
- Chabner, B. A., Amrein, P.C., Druker, B.J. et al (2006): In: Chemotherapy of neoplastic diseases. (Brunton, L. L., Lazo,J.S. and Parker,K.L.(Eds.)eleventh edition) *McGraw Hill.PP.1315-1402.*

المنى المتضرره أصلاً . لما (Saker and Saleh , 1993) فقد فسروا سبب تلف وتحطم تركيب الخلايا المنوية على أنه ناجم من للتفاعلات الكيميائية ما بين المجموعة الفعالة في العقار وبين الأحماض النووية كحامض DNA داخل للكروموسوم ، أو نتيجة التأثير الخلوي الوراثى للعقار ونواتجه الأيضية على DNA أو البروتينات الأساسية لعملية نضوج هذه الخلايا (Zamble et al., 2005; Pietro et al., 2002). وحيث أن الدراسات السابقة قد أثبتت أن لعقار السيسبلاتين القدرة الفعالة على اتلان النشاط التخليقى للحمض النووى DNA أثناء عملية تكوين الحيوانات المنوية (Vawda and Davies, 1986; Nambu and Kumamoto,1995) لذا يمكن أن يكون هذا التأثير السمي الخلوى للعقار أحد الأسباب المباشرة لظهور هذه التغيرات فى نسيج الخصية لهذه الدراسة. كما أظهرت هذه للدراسة تأثر خلايا سرتولى وتهتك روابط للتلامس فيما بينها وبين الخلايا المنوية المجاورة لها، كذلك انخفضت أعداد خلايا ليدج وظهرت بأشكال غير منظمة . وتتفق هذه للنتائج مع دراسات

(Kopf, 1992; Nambu and Kumamoto,1995; Aydiner et al.,1997; Sawhney et al., 2005).

وحيث أن للعديد من الدراسات السابقة أوضحت أن للمعاملة بعقار السيسبلاتين تحدث انخفاضاً معنوياً فى محتوى الخصية والمصل من هرمون للتستوسترون وهرموني (FSH) (LH) وكذلك تأثر وظائف خلايا ليدج وسرتولى (Huang et al.,1990; Kinkead et al.,1992; Seethalakshmi et al.,1997; Kopf,1992; Aydiner et al.,1997) ، لذلك يمكن أن يكون تأثير السيسبلاتين على معدلات الهرمونات الجنسية المسؤولة عن الحفاظ ولكمال عملية تخليق الحيوانات المنوية هي احدى الأسباب الهامة غير المباشرة التي أدت الى ظهور خلايا ليدج وسرتولى بصورة غير طبيعية مما ترتب عليه قلة الحيوانات المنوية فى تجويف الأنبيبات المنوية فى نسيج الخصية لهذه الدراسة .

أما للمعالجة المزوجة بالعسل والعقار فقد أظهر الفحص النسيجى لخصى تلك الفئران مدى التحسن حيث استعادت الأنبيبات المنوية ترابطها مع بعضها البعض وظهرت طلائية للخلايا الجرثومية لكل منها طبيعية الى حد كبير ، كما ازداد محتوى الخصية من الخلايا المنوية والحيوانات المنوية .أما خلايا سرتولى فقد استعادت ترابطها مع الخلايا الجرثومية والخلايا المنوية الأخرى ، وكذلك ازدادت أعداد خلايا ليدج مع استعادتها لشكلها الطبيعى .

ويمكن تفسير الدور الذى يؤديه العسل فى الحد من التغيرات النسيجية الناجمة عن المعاملة بعقار السيسبلاتين على نسيج الخصية الى الامكانيات التي يمتلكها للعسل من حيث كونه عاملاً مضاداً للأكسدة (Ali et al.,1997) نظراً لإحتوائه على العديد من

- Mallory, F. B. (1900): A contribution to staining methods. *J. Experiment. Medicine*, (5): 5-15
- Nambu, A. and Kumamoto, Y. (1995): Studies of spermatogenetic damages induced by anti-cancer agent and anti-androgenic agents in rat testes. *Nippon. Hinyokika. Gakkai. Zasshi*, 86(7): 1221-1230.
- Paget, G.E. and Barnes, J.M. (1962): Evaluation of drug activities and pharmacokinetics. *Academic press*, (1): 135-136.
- Pietro, A., Vries, E.G., Gietema, J.A., Spierings, D.C. and Jong, S. (2005): Testicular germ cell tumours: the paradigm of chemo-sensitive solid tumours. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 37 (12): 2437-56.
- Pont, J. and Albrecht, W. (1997): Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancer. *Fertil. Steril.*, 68(1): 1-5.
- Saker, S. and Saleh, A. (1993): Histochemical changes induced by cyclophosphamide in the testicular tissues of mice. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.*, 12(4): 71-86.
- Saleh, A.T. (1996): Effect of carbamate insecticide, lannate, on the spermatogenesis in mice. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.*, 20(2): 27-40.
- Sawhney, P., Giammona, C.J., Meistrich, M.L. and Richburg, J.H. (2005): Cisplatin-induced long-term failure of spermatogenesis in adult C57/Bl/6J mice. *J. Androl.*, 26(1): 136-45.
- Scott, C. A., Desinan, L., Maffezzini, M., Simonato, A., Avellini, C., Destefani, S., Rizzi, V., Carmignani, G. and Beltrami, C.A. (1996): Effects of cis-platinum and luteinizing hormone releasing hormone analogues on rat spermatogenesis. *Analytical and Quantitative, Cytology and Histology*, 1: 361-373.
- Seaman, F., Sawhney, P., Giammona, C.J. and Richburg, J.H. (2003): Cisplatin-induced pulse of germ cell apoptosis precedes long-term elevated apoptotic rates in C57/Bl/6 mouse testis. *Apoptosis*, 8(1): 101-8.
- Seethalakshmi, L., Flores, C., Kinkead, T., Carboni, A., Mohotra, R. and Menon, M. (1992): Effects of subchronic treatment with cis-platinum on testicular function, fertility pregnancy outcome and progeny. *J. Androl.*, 123(1): 65-74.
- Vardi, A., Brazilay, Z., Linder, N., Cohen, H.A., Paret, G. and Barzilai, A. (1998): Local application of honey for treatment of neonatal postoperative wound infection. *Acta paediatr.*, 87(4): 429-432.
- Vawda, A.I. and Davies, A.G. (1986): Effects of cisplatin on the mouse testis. *Acta. Endocrin. Copenh.*, 112(3): 436-441.
- Wahdan, H. A. (1998): Causes of the antimicrobial activity of honey. *INFECTION*, 26(1): 26-31.
- Chanem, N.F., Attia, S.I., Rish, A.M. and Shwaireb, M.H. (1995): Effects of antithyroid drug carbimazole on the fertility and testicular structure of balbc mice. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.*, 18(2): 1-12.
- Pont, J. and Albrecht, W. (1997): Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancer. *Fertil. Steril.*, 68(1): 1-5.
- Cherry, S.M., Hunt, P.A. and Hassold, T.J. (2004): Cisplatin disrupts mammalian spermatogenesis, but dose not affect recombination or chromosome segregation. *Mutat. Res.*, 564 (2): 115-28.
- Cooper, R. and Molan, P. (1999): The use of honey as an antiseptic in managing pseudomonas infection. *J. Wound Care*, 8(4): 161-164.
- Drasaga, R.E., Einhorn, L.H., Williams, S.D., Patel, D.N. and Stevens, E.E. (1983): Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancer. *J. Clin. Oncol.*, 1: 179-183.
- Dunford, C., Cooper, R., Mlan, P. and White, R. (2001): The use of honey in wound management, nursing standard. *Royal College of Nursing Great Britain England*, 15(11): 63-68.
- El-sayyad, H.L. and El-shershaby, E.M. (1995): Histological and histochemical studies on the effects of profenofos, cobalt and lead on testis of albino mice. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.*, 17(2): 43-64.
- Guyton, A.C. (1986): Test book of medical physiology. 17th ed., Chap, P.W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Huang, H.F., Pagach, L.M., Nathan, E. and Giglio, W. (1990): Acute and chronic effects of cisplatin upon testicular function in the rat. *J. Androl.*, 11(15): 436-445.
- Kandil, A. and Monir, A. (1986): The effect of honey on pathologic liver. 4th International conference on Islamic medicine, Kuwait.
- Kingslry, A. (2001): The use of honey in the treatment of infected wounds. Case studies, *British J. of nursing (England)*, 10(22): 13-16.
- Vawda, A.I. and Davies, A.G. (1986): Effects of cisplatin on the mouse testis. *Acta. Endocrin. Copenh.*, 112(3): 436-441.
- Kinkead, T., Flores, C., Carboni, A.A., Menon, M. and Seethalakshmi, L. (1992): Short term effects of cis-platinum on male reproduction fertility and pregnancy outcome. *J. Urol.*, 147(1): 201-206.
- Seethalakshmi, L., Flores, C., Kinkead, T., Carboni, A., Mohotra, R. and Menon, M. (1992): Effects of subchronic treatment with cis-platinum on testicular function, fertility pregnancy outcome, and progeny. *J. Androl.*, 132(1): 65-74.
- Kopf, M.P. (1992): Effects of carboplatin on the testis a histological study cancer. *Chemother. Pharmacol.*, 29(3): 227-235.

- survival *in vitro*. *J. Alternative and Complementary Medicine*, 2(3): 345-348.
- Zhang, X., Yamamoto, N., Soramoto, S. and Takenaka, I. (2001): Cisplatin-induced germ cell apoptosis in mouse testes. *Arch. Androl.*, 46(1):43-9.
- Zamble, D.B., Mikata, Y., Eng, C.H. Sandman, K.E. and Lippard, S.J. (2002): Testis-specific HMG-domain protein alters the responses of cells to cisplatin. *J. Inorg. Biochem.*, 91(3):451-62.
- Zeina, B., Othman, O. and Al-assad, S. (1996): Effect of honey versus thyme on *Rubella Virus*

STUDY THE HISTOLOGICAL CHANGES OF CISPLATIN ON THE MICE TESTIS AND THE PROTECTION ROLE OF HONEY BEE

doctorsalwa@gmail.com

Department of Zoology. Girls College of Education . P.O. Box. 136523 Jeddah 21313

ABSTRACT

The objective of this research is to define the histological side effects of cisplatin, which is used extensively as an anticancer drug, and the use of honey as a natural substance in limiting such effects.

The study was conducted on male mice. The test animals include male mice treated with distilled water, and considered as the control group, male mice treated with cisplatin (0.5, 1.0 and 2.5 mg/kg/day intraperitoneally for 5 successive days) and male mice dually treated with honey (5 ml/kg/day orally) and cisplatin (0.5, 1.0 and 2.5 mg/kg/day intraperitoneally) for 5 successive days.

The current study proved that treatment with cisplatin resulted in disintegration and separation of seminiferous tubules thus appearing abnormal within the testicular tissues, sloughing of endothelium germ cells, reduction in the testicle spermatocytes and spermatozoa content deterioration of the links between Sertoli cells and neighboring spermatocytes and reduction in the number of Leydig cells which appear irregular in shape.

On the other hand dual treatment with honey and cisplatin showed clear positive response, where seminiferous tubules restored their regular interrelationship endothelium of germ cells appeared normal, the testicle spermatocytes and spermatozoa content increased, the links between Sertoli cells, spermatocytes and germ cells have been restored and the number of Leydig cells have increased and restored their regular shapes.