

تأثير استخدام جرعات عالية من الإيفرمكتين على نسيج الكبد وبعض أنزيماته عند الأرانب

عمر حسن احمد* موفق جنيد** وديع شديد***

(الإيداع: 4 تموز 2023 ، القبول: 7 آب 2023)

الملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة التغيرات العيانية والنسجية الناتجة عن إعطاء جرعات عالية من الإيفرمكتين في كبد الأرانب المحلية. أجريت الدراسة على (32) أرنباً بالغاً، قسمت الأرانب إلى أربع مجموعات حقنت تحت الجلد مادة الإيفرمكتين أما مجموعات الشاهد حقنت ماء مقطر، وتم اعطاء المجموعات كل أسبوع جرعة حتى أربع أسابيع وأخذت عينات الدم للدراسة البيوكيميائية ثم تم الذبح الرحيم وإجراء التشريح ومعاينة التغيرات الظاهرة على الكبد ثم أخذت عينات منها وثبتت في الفور مالين المتعادل 10% ، ثم الإدماج بالبارافين، وقطعت وصبغت بصبغة الهيماتوكسلين والأيوزين، بعد ذلك أجريت الدراسة المجهرية وتسجيل النتائج، أظهرت نتائج الدراسة البيوكيميائية ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى (ALT-AST) في بلازما الدم عند حقنها بمستحضر الإيفرمكتين بجرعة عالية مقارنة بمجموعة الشاهد ، وتبين انه كلما زاد حجم الجرعة و عددها زاد مستوى الانزيمات في بلازما الدم

وأظهرت نتائج الدراسة وجود تغيرات واضحة في نسيج الكبد تمثلت بانصبغ النوى باللون الأزرق القاتم مما يشير إلى تكثف الكروماتين في الخلايا الكبدية، كما لوحظ وجود تنكس بروتيني وفجوي ونخر في الخلايا الكبدية، ولوحظ وجود رشح التهابي وتوسع بعض الأوعية الدموية

الكلمات المفتاحية: الإيفرمكتين، جرعات مختلفة، نسيج الكبد

*طالب الماجستير - قسم التشريح - كلية الطب البيطري - جامعة حماه.

** أستاذ - قسم التشريح - كلية الطب البيطري - جامعة حماه

*** أستاذ - قسم التشريح المرضي - كلية الطب البيطري - جامعة حماه

The effect of the use of high doses of ivermectin on liver and Some of its enzymes tissue in rabbits

Omar Hassan Ahmed * Muwaffaq Junaid * * Very meek***

(Received: 4 July 2023, Accepted: 7 August 2023)

Abstract:

This study aims to find out the macroscopic and histological changes resulting from the administration of high doses of ivermectin in the liver of domestic rabbits, the study was conducted on (32) adult rabbits, the rabbits were divided into four groups and injected under the skin ivermectin and the witness groups injected distilled water, and the groups were given a dose every week for up to four weeks and blood samples were taken for biochemical the results of the biochemical study showed a significant increase ($p < 0.05$ in the level of (ALT–AST) in the blood plasma when injected with ivermectin preparation at a high dose compared to the witness Group, and it turns out that the larger the dose size and number, the higher the level of enzymes in the blood plasma .The results of the study showed the presence of obvious changes in the liver tissue represented by the pigmentation of the nuclei in dark blue, which indicates the condensation of chromatin in the hepatic cells, the presence of protein and vacuolar degeneration in the hepatic cells and necrosis, the presence of inflammatory infiltration and expansion of some blood vessels was observed,.

Keywords: ivermectin, various dosages, liver tissue

*Master's student–Department of anatomy–Faculty of Veterinary Medicine–Hama University.

**Professor–Department of natomy–Faculty of Veterinary Medicine–Hama University

*** Professor – Pathology Specialty –Faculty of Veterinary Medicine Hama

1-المقدمة Introduction:

يعد الإيفرمكتين من مضادات الطفيليات الداخلية والخارجية، وهو مستخدم بشكل واسع جداً في الطب البيطري، وتم استخدامه في الآونة الأخيرة في الطب البشري (Merck and Dohme, 2018)، واستخدم بشكل كبير وعشوائي مما أدى لظهور آثار جانبية وردود فعل سلبية، ومن هنا جاءت هذه الدراسة لتسليط الضوء على تأثير الإيفرمكتين على العضوية الحية ومعرفة التغيرات النسيجية المرافقة لاستخدامه بجرعات زائدة على نسيج الكبد والكلية عند الأرانب نظراً للاستخدام الواسع في الحقل من قبل العاملين في مهنة الطب البيطري (الطبيب والمراقب البيطري والمساعد والمربي) ويعد الإيفرمكتين مستحضراً فعالاً ضد معظم الطفيليات الداخلية كالديدان الخيطية والديدان الشعرية أو الديدان الدبوسية *Enterobius vermicularis* وداء الفيلاريا *Filarioides* والديدان الحلزونية والطفيليات الخارجية كالقمل والقراد والبراغيث والذباب عند جميع أنواع الثدييات والدواجن. حيث أثبتت فاعلية كبيرة عند الأرانب والدجاج والإوز والقطط والثعالب والحيوانات البرية الأخرى التي تملك حساسية لمعظم أدوية الطفيليات الأخرى المستخدمة في العلاج، (Button et al., 1988) وتعتبر الجرعة العلاجية الموصى بها من الإيفرمكتين هي 200 ميكروغرام لكل كيلوغرام بشكل عام دون إي آثار سمية على الجهاز العصبي المركزي (Laing et al., 2017)، ويرجع تأثير الإيفرمكتين كمضاد للطفيليات إلى ارتباطه مع قنوات الكلوريد الممبوبة بالغلوتامات وحمض جاما أمينوبوتيريك (GABA) فيزيد نفوذية الأغشية الخلوية الخاصة بالطفيلي لشوارد الكلوريد مما يؤدي إلى فرط استقطاب خلاياه العصبية والعضلية مما يؤدي إلى الشلل والموت (Qureshi S. 2013)

2.هدف البحث Research Aim Purpose:

يهدف هذا البحث إلى دراسة التغيرات البيوكيميائية والنسيجية في كبد الأرانب بعد إعطاء جرعات مختلفة من الإيفرمكتين.

3.الدراسة المرجعية Literature Review:

يتم توزيع الأدوية الكارهة للماء في جميع أنحاء الجسم وترتبط بالبروتينات الدهنية في الدم، لأن لديها جاذبية قوية للارتباط بالأنسجة الدهنية التي تعتبر الموقع الرئيسي للتخزين (Lespine et al., 2005). إن المبيدات الحشرية اللاكتونية الحلقة مثل الإيفرمكتين هي مركبات محبة للدهون، لذلك تتواجد بتركيز عالية في الأنسجة التي تحوي على نسبة عالية من الدهون (Baynes et al., 2000)

4.الإيفرمكتين Ivermectin:

يعد الإيفرمكتين مستحضر واسع الطيف مضاد للطفيليات الداخلية والخارجية، استخدم أول مرة منذ أكثر من 40 عام، وقد أشار (Omar. 2008) إلى أن الإيفرمكتين يعمل أيضاً كمضاد للفيروسات. يتكون الإيفرمكتين من خليط من B1a و dihydro-ivermectin (80%) ومن dihydro-ivermectin B1b (20%) وهو عبارة عن مادة حلقة من اللاكتونات اكتشفت في عام 1975. وقد تطور استخدام الإيفرمكتين في أوائل الثمانينات لعلاج الأمراض الطفيلية نظراً لفاعليته المختلفة (Campbell. 2020)

5-الاستخدامات العلاجية Therapeutic uses

لقد استخدم الإيفرمكتين لأكثر من 40 عاماً لعلاج الإصابات الطفيلية المختلفة عند الحيوانات والبشر (Dohme, 2018) ولالإيفرمكتين فعالية استثنائية ضد الطفيليات الداخلية والخارجية بجرعات منخفضة للغاية، ويتمتع بهامش أمان كبير جداً لذلك فإن التسمم بالإيفرمكتين نادراً جداً، ومن أهم أعراض التسمم توسع حدقة العين والاكنتاب والترنح

والاستلقاء ثم الموت دون أية أعراض جانبية. إن جرعة الإيفرمكتين الموصي بها من قبل الشركات المصنعة هي 200 ميكروغرام / كغ عند المجترات، و500 ميكرو غرام / كغ عند الخيول، و300ميكروغرام/كغ عند الخنزير، و 6 ميكروغرام / كغ عند الكلاب، لقد أحدث استخدام الإيفرمكتين نقلة نوعية في علاج الطفيليات الداخلية والخارجية والديدان الخيطية ومفصليات الأرجل والسيطرة على داء الفيالريا عند البشر (Aranzazu et al., 2009).

6. آلية عمل الإيفرمكتين كعامل طارد للديدان:

يعمل الإيفرمكتين على الارتباط بقنوات كلوريد الجلوتامات في الخلايا العصبية والعضلية للطفيلي، ونتيجة ارتباطه مع هذه القنوات يسبب زيادة نفاذية أغشية الخلايا لأيونات الكلوريد مما يؤدي إلى فرط استقطاب الأغشية الخلوية وانقطاع الحركة والتغذية، وبالتالي يحدث شلل وموت الطفيلي (Gonzalez et al., 2012).

7. استقلاب الإيفرمكتين Metabolism of Ivermacten:

ترتبط الحركة الدوائية لمبيدات الطفيليات الداخلية والخارجية ارتباطاً وثيقاً بفعاليتها تبعاً لمسار الجرعة الدوائية، ويزداد تركيز الإيفرمكتين ونشاطه في مخاطية المعدة والأمعاء والرتتين والكبد والجلد، ويصل الى هذه الأماكن عن طريق بلازما الدم ثم إلى بقية أنسجة الجسم (Lifschitz et al., 1999).

وأشار الباحث (Zhang and Tan, 2018) إلى أن استقلاب الإيفرمكتين يتم في الكبد الذي يعتبر العضو الأكثر أهمية في عملية التمثيل الغذائي، حيث تتلقى خلايا الكبد تراكيز عالية من الدواء أو من منتجات استقلاب الدواء، التي تتم بواسطة أنزيم السيتوكروم P450.

8. تأثير الإيفرمكتين على المعايير البيوكيميائية :

أثبتت الدراسات أن إعطاء الفئران 5ملغ/كغ من الإيفرمكتين قد تسبب في زيادة مستوى أنزيمات (ALT-AST)، وتعني هذه الزيادة إصابة الخلايا الكبدية بأذى، وهناك تغيرات نوعية وكمية بتخليق البروتين (إعادة تركيب الأحماض الأمينية البسيطة)، وتدل هذه الزيادة على خلل في وظائف الكبد وانخفاض الألبومين بالدم نتيجة اضطراب عمل الكبد. (Ogueji et al., 2020). أشار (Arise and Malomo., 2009) وجود ارتفاع معنوي في تركيز أنزيم ALT في مصل دم الحيوانات التي تم علاجها بمستحضر الإيفرمكتين وانخفاض نشاط كل من أنزيم AST و ALT في الكبد، وارتفاع ملحوظ في تركيز ونشاط أنزيم ALT في مصل الدم تلك الحيوانات.

9-الدراسات السابقة عن تأثير الإيفرمكتين في أنسجة ووظائف الكبد:

لقد أثبتت دراسة أجريت لمعرفة التغيرات النسيجية في الكبد والرئة بعد استخدام الإيفرمكتين بجرعة 2ملغ/ كغ ثلاث مرات كل أسبوع، فقدان البنية الطبيعية لخلايا الكبد مع توسع في الوريد المركزي واحتقان الوريد البابي، بينما ظهرت الرئة ببنية غير طبيعية مع توسع في القصيبات والأسناخ (الحويصلات) الرئوية واحتقان الشرايين الرئوية (Chahrazed et al., 2020). وأكدت دراسة أجريت على الأرانب البيضاء والتي حقنت 2 ملغ /كغ من الإيفرمكتين ولمدة ثمانية أسابيع ظهور تغيرات عيانية على الكبد والكلى، وكان الكبد محمراً ويميل إلى البني الداكن مع احتقان قليل ونزف نمري، ولوحظ تنكس حاد في الخلايا الكبدية مع نخر في بعض الخلايا وتضخم في ظهارة الخلايا المبطننة للقنوات الصفراوية واحتقان الأوعية الدموية في الكبد، بينما ظهر في الكلى ضمور الكبيبات الكلوية ونخر الخلايا الظهارية المبطننة للبيبات الكلوية وارتشاح الخلايا الانتهاجية (Mohammed and Suhaib,2021).

وذكرت إحدى الدراسات أن تكرار الجرعات (0.4 - 0.8) ملغ لمدة أسبوع وأربع أسابيع من الإيفرمكتين أدى إلى تغيرات نسيجية في الكبد وظهور فجوات في خلايا الكبد ثم تليف وذلك بحسب كمية الجرعة المعطاة وقد لوحظ انخفاض تدفق الدم الكلوي مع ارتفاع تركيز اليوريا في الدم عند الحيوانات المعالجة بالإيفرمكتين وهذا قد يضعف الوظيفة الإفرازية للكلى مما

يؤدي إلى ضعف الترشيح الكبيبي الكلوية وتراكم اليوريا وحمض البولة والكرياتين وارتفاع نسبتهما في الدم Selvakumar (et al., 2013).

10 المواد وطرائق العمل **Materials and Methods**:

حيوانات التجربة Experimental Animals

استخدم في هذه البحث (32) أرنب، تتراوح أعمارها بين (4-6) أشهر، ويتراوح وزنها وسطياً ما بين (800-1200) غ من السلالات المحلية، تم الحصول عليها من مزارع تجارية لتربية الأرانب.

المواد المستخدمة في الدراسة:

مادة الإيفرمكتين: تم الحصول على مستحضر الإيفرمكتين بشكل زجاجات (100ml) بتركيز (1%) معدة للحقن تحت الجلد صناعة محلية.

تصميم التجربة: بعد مرور (7) أيام وتأقلمها مع الوسط المحيط، قسمت الأرانب إلى أربع مجموعات، حيث ضمت كل مجموعة (8 أرانب) قدم لها خلطة علفية متوازن وكانت كالتالي:

1- المجموعة A تم حقنها 1 مل /كغ من الإيفرمكتين 1% جرعة واحدة كل أسبوع لمدة أربع أسابيع.

2- مجموعة B تم حقنها 0,5 مل /كغ من الإيفرمكتين 1% جرعة واحدة كل أسبوع لمدة أربع أسابيع.

3- مجموعة الشاهد C تم حقنها 1 مل /كغ ماء مقطر الذي يستخدم لحل أمبولات الأدوية.

4- مجموعة الشاهد D تم حقنها 0,5 مل /كغ ماء مقطر الذي يستخدم لحل أمبولات الأدوية.

وتم استخدام مجموعتين C و D لكي تكون ظروف التجربة والشاهد واحدة من حيث الجرعات التي أعطيت أو الإجهاد التي تعرضت له المجموعات، بعد مرور فترة التأقلم تم إعطاء الجرعة الأولى، وبعد سبعة أيام تم إعطاء الجرعة الثانية، وفي اليوم 14 أعطيت الجرعة الثالثة، وفي اليوم 21 من بدء التجربة أعطيت الجرعة الرابعة، تم سحب الدم من حيوانات التجربة في اليوم (28) من التجربة، وتم تم القتل الرحيم ودراسة الصفة التشريحية وأخذ العينات من الكبد للدراسة النسيجية.

جمع عينات الدم:

جُمعت عينات الدم من حيوانات التجربة في اليوم (28)، وتم أخذ عينات الدم من القلب مباشرة بواسطة محاقن سعة (3) وذلك بعد إجراء التعقيم المناسب لمكان سحب الدم، ووضعت العينات في أنابيب اختبار حاوية على الهبارين (Lithium Heparin)، ثم تم تنقيت العينات لمدة (15) دقيقة وبسرعة (3500) دورة / دقيقة، ووضع البلازما في أنابيب إبندروف محكمة الإغلاق سعة (1.5) مل، وتم تسجيل البيانات المطلوبة وإجراء الاختبارات لتحديد مستوى (أنزيم ناقله أمين الألانين – أنزيم ناقله أمين الأسبارتات).

دراسة التغيرات النسيجية:

بعد جمع العينات ووضعها بالفورمالين مباشرة، حضرت العينات للفحص النسيجي من خلال الغسل والإدماج بالبارافين، ثم تم عمل شرائح نسيجية بسماكة (4-6) ميكرون بالطريقة التقليدية باستخدام جهاز Mikrotom، وتلوينها بصبغة الهيماتوكسلين والأيوزين للفحص النسيجي العام، درست التغيرات باستخدام مجهر ضوئي وكاميرا.

النتائج: Results

11- نتائج دراسة مستوى ALT و AST بعد إعطاء (4) جرعات من الإيفرمكتين بفواصل زمني بين كل جرعة وأخرى 7 أيام وأخذ عينات الدم في اليوم 28 من بدء التجربة

الجدول رقم (1): يبين تأثير الإيفرمكتين على مستوى ناقله أمين الألانين ALT وناقله أمين الأسبارتات AST والكرياتينين لدى أرناب مجموعات التجربة في اليوم 28 من بدء التجربة

| المتغيرات المدروسة | ناقله أمين الألانين | ناقله أمين الأسبارتات |
|--------------------|--|--|
| المجموعات المدروسة | المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري | المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري |
| مل إيفرمكتين A 1 | 243.25 ^a ±4.19 | 225.00 ^a ±2.94 |
| مل إيفرمكتين B 0.5 | 175.00 ^b ±11.40 | 155.50 ^b ±2.08 |
| مل ماء مقطر C 1 | 75.50 ^c ±2.08 | 60.75 ^c ±0.96 |
| مل ماء مقطر D 0.5 | 76.25 ^c ±2.22 | 60.50 ^c ±1.29 |

تدل الرموز a,b,c على وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، عند المقارنة بين مجموعات التجربة الأربعة فيما بينها، باستخدام اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)، في البرنامج الإحصائي SPSS 24 حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) (P<0.05)، أما الرمز * فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين المجموعات الأربعة المدروسة في اليوم (28) من بدء التجربة باستخدام اختبار T ستودنت للعينات المستقلة Independent Samples T test في حال اختلافها ضمن نفس العمود وفي نفس المتغير.

تأثير مستحضر الإيفرمكتين على مستوى ناقله أمين الألانين ALT وناقله أمين الأسبارتات AST لدى أرناب مجموعات التجربة في اليوم 28 للتجربة

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول رقم (1) أن حقن أربع جرعات من الإيفرمكتين تحت الجلد بمعدل 1مل/كغ كل أسبوع أدى إلى حصول فروق معنوية (P<0.05) في مستوى أنزيم ناقله أمين الألانين لدى أرناب المجموعة A حيث بلغ متوسط مستواه في بلازما الدم (243.25±4.19) IU/l، وذلك بالمقارنة مع مستواه في بلازما الدم لدى أرناب المجموعة C (الشاهد)، حيث بلغ متوسط مستواه في بلازما الدم (72.09±2.08) IU/l.

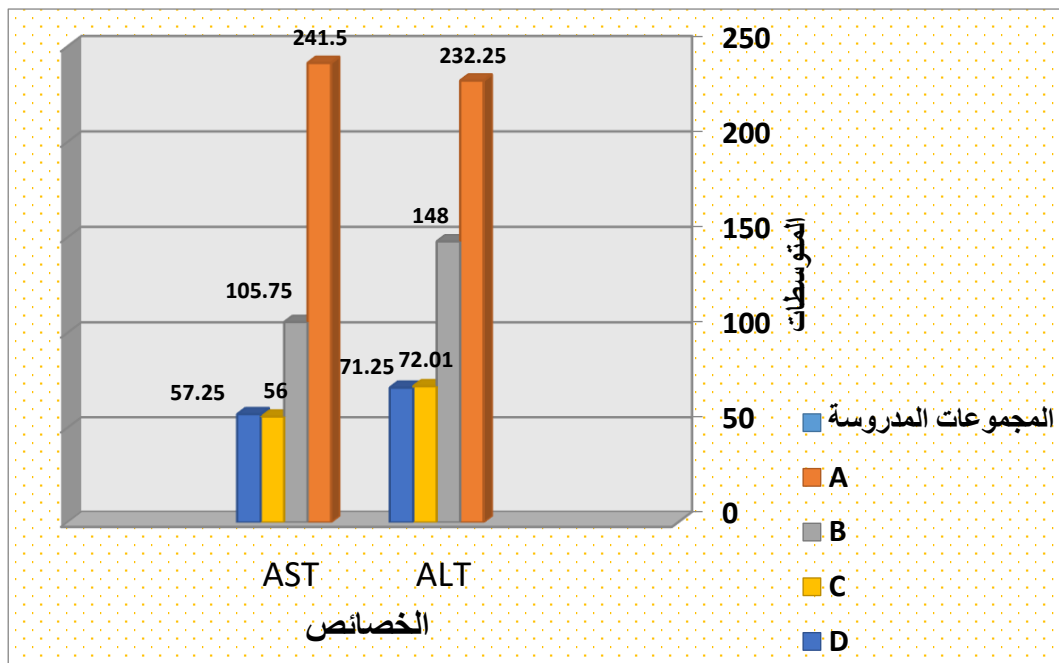
وإن حقن 4 جرعات من الإيفرمكتين تحت الجلد بمعدل 0.5مل/كغ كل أسبوع أدى إلى ظهور فرق معنوي (P<0.05) في مستوى أنزيم ناقله أمين الألانين لدى أرناب المجموعة B، حيث بلغ متوسط مستواه في بلازما الدم (175.00±11.40) IU/l، وذلك بالمقارنة مع مستواه في بلازما الدم لدى أرناب المجموعة D (الشاهد)، حيث بلغ متوسط مستواه في بلازما الدم (70.25±2.22) IU/l.

تبين من القيم التي حصلنا عليها من تحليل الدم لدى مجموعات التجربة ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) لمستوى أنزيم ناقلة أمين الألانين في بلازما الدم لدى أرناب المجموعة A و B عند حقن 4 جرعات من الإيفرمكتين بجرعة 1 ملغ /كغ أو 4 جرعات بجرعة 0.5 مل/كغ بالمقارنة مع مجموعتي الشاهد C و D.

وفي الجدول رقم (1) يوضح أن حقن 4 جرعات من الإيفرمكتين تحت الجلد بمعدل 1مل/كغ أدى إلى ظهور فروق معنوية ($P < 0.05$) في مستوى أنزيم ناقلة أمين الأسبارتات لدي أرناب المجموعة A، حيث بلغ مستواه في بلازما الدم (225.00 ± 2.94) IU/ l، وذلك بالمقارنة مع مستواه في بلازما الدم لدى أرناب المجموعة C (الشاهد)، حيث بلغ مستواه في بلازما الدم (60.75 ± 0.96) IU/ l.

كما لوحظ أن حقن الإيفرمكتين تحت الجلد بجرعة 0.5 مل/كغ كل أسبوع أدى إلى ظهور فروق معنوية ($P < 0.05$) في مستوى أنزيم ناقلة أمين الأسبارتات لدي أرناب المجموعة B، حيث بلغ متوسط مستواه في بلازما الدم (155.50 ± 2.08) IU/ l، وذلك بالمقارنة مع مستواه في بلازما الدم لدى أرناب المجموعة D (الشاهد)، حيث بلغ مستواه في بلازما الدم (60.50 ± 1.29) IU/ l.

نلاحظ من نتائج التحاليل المخبرية ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) لمستوى أنزيم ناقلة أمين الأسبارتات في بلازما الدم لدى أرناب المجموعة A و B عند حقن الإيفرمكتين بجرعة 1 مل /كغ وجرعة 0.5 مل/كغ فكان مستواه في بلازما الدم في المجموعة A بعد (28) يوم من بدء التجربة هو (225.00 ± 2.94) IU/ l، وذلك بالمقارنة مع مستواها في نفس اليوم لدى أرناب المجموعة B حيث بلغ متوسط مستواها في بلازما الدم (155.50 ± 2.08) IU/ l. كما تؤكد التحاليل ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) لمستوى أنزيم ناقلة أمين الأسبارتات في بلازما الدم لدى أرناب المجموعة A و B عند حقن الإيفرمكتين بجرعة 1 ملغ /كغ وجرعة 0.5 مل/كغ بالمقارنة مع مجموعتي الشاهد C و D.

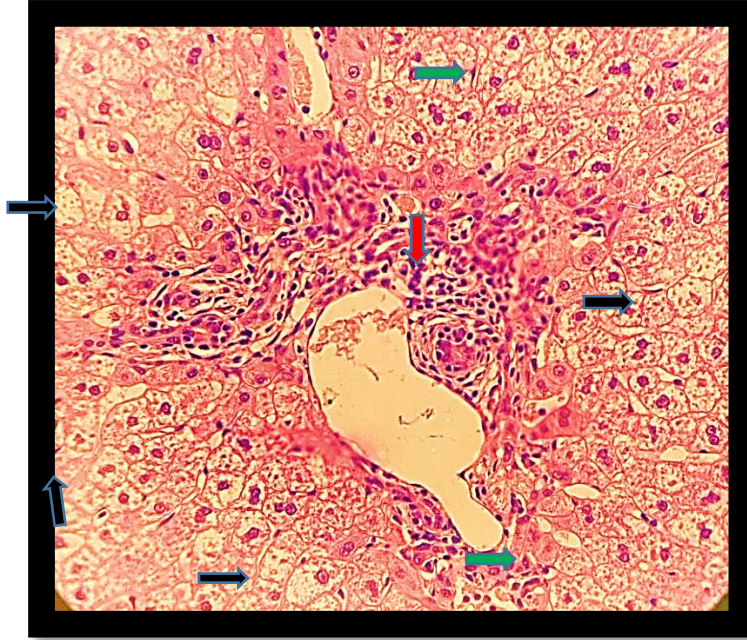


المخطط رقم (1) يبين تأثير حقن الإيفرمكتين على مستوى AST و ALT بعد (28) يوم من بدء التجربة:

12. نتائج الدراسة النسيجية :

المجموعة A التي حقنت (1مل /كغ إيفرمكتين)

عند فحص نسيج الكبد المأخوذ من الأرانب التي حقنت بمستحضر الإيفرمكتين، لوحظ في المقاطع النسيجية تفجّي في الخلايا الكبدية ونخر بؤري مع وجود رشاحة التهابية. (الصورة رقم 1)

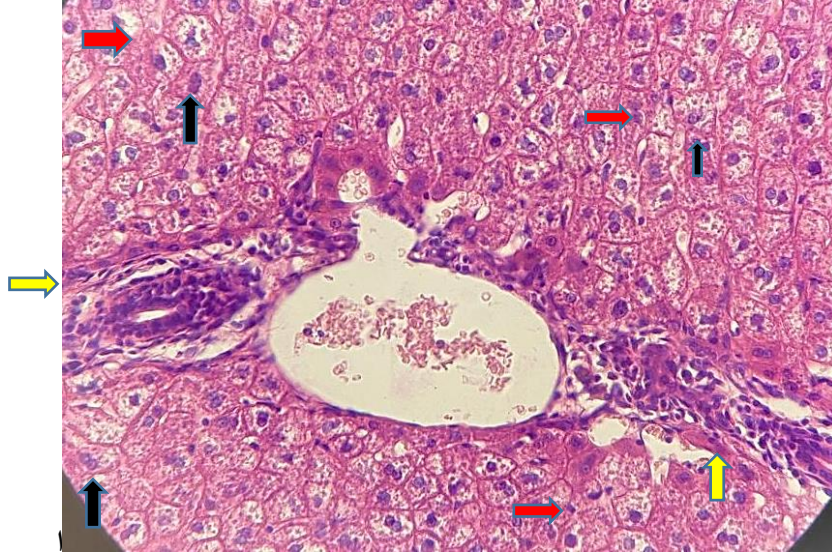


الصورة رقم (1) مقطع في كبد

تشير الأسهم باللون الأسود إلى التتسكس المائي، بينما تشير الأسهم باللون الأحمر إلى الرشح التهابي، والأسهم الخضراء إلى أماكن النخر الخلوي (H&E– 400).

المجموعة B التي حقنت (0.5 مل /كغ إيفرمكتين)

عند فحص نسيج الكبد المأخوذ من الأرانب التي حقنت بمستحضر الإيفرمكتين، لوحظ انصبغ النوى باللون الأزرق القاتم مما يشير إلى تكثف الكروماتين في نوى الخلايا الكبدية مع وجود تتسكس بروتيني وفجوي في الخلايا الكبدية، وتبين في بعض المقاطع النسيجية تليف يمتد بشكل جسور بين المسافات البابية (الصورة رقم 2)

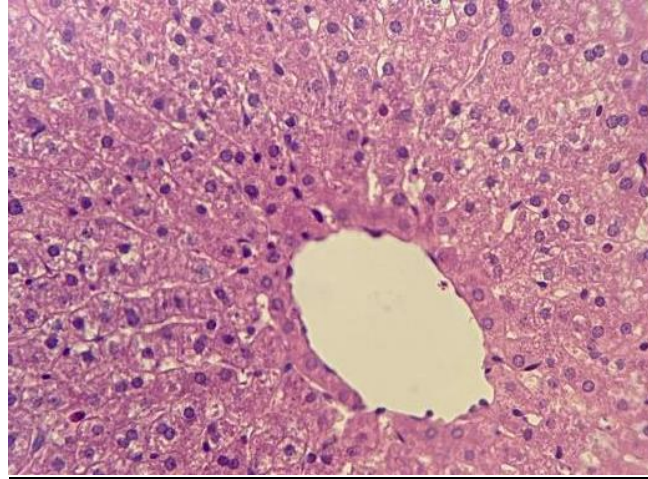


الصورة رقم (2) مقطع نسيجي في كبد أرنب

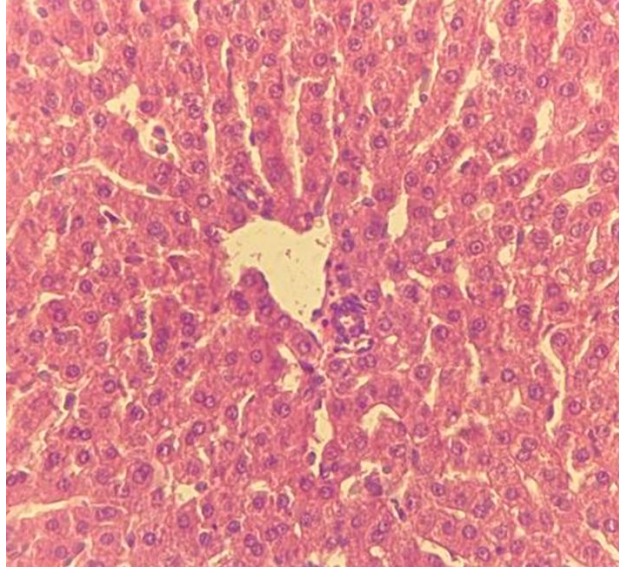
تشير الأسهم باللون الأحمر إلى التنكس المائي والبروتيني و الأسهم باللون الأصفر تشير إلى زيادة النسيج الضام والأسهم باللون الأسود إلى بداية النخر في الخلايا الكبدية (H&E-400).

المجموعة C و D التي حقنت (1مل/كغ و 0,5مل/كغ إيفرمكتين)

عند فحص نسيج الكبد المأخوذ من أرانب المجموعة C و D التي حقنت ماء مقطر، لم يلاحظ تغيرات نسيجية لديها (الصورة رقم 3 و 4).



الصورة رقم (3) مقطع نسيجي في كبد أرنب



الصورة رقم (4)

المناقشة Discussion:

يؤدي الكبد دور مهم في استقلاب الأدوية (Poppers. 1980)، وتحويل المركبات الدوائية إلى مستقلبات تطرح بسهولة كبيرة من أماكن تخزينها أو أماكن تواجدتها (Matthiessen et al., 1998). تعد الأنزيمات الكبدية ناقلة أمين الألانين ALT وناقلة أمين الأسبارتات AST من الأنزيمات التي تتواجد في الخلايا الكبدية، ويعد أنزيم ناقلة أمين الألانين أكثر نوعية من أنزيم ناقلة أمين الأسبارتات في تشخيص وتقييم الأذيات الكبدية، حيث يرتفع مستواه في بلازما الدم عند حدوث تأذي أو نخر في الخلايا الكبدية (Meredith and Rayment, 2000).

كما أشارت نتائج دراستنا إلى ارتفاع مستوى نشاط الأنزيمات الكبدية (AST-ALT) في المجموعة التي حقنت مستحضر الإيفرمكتين بجرعة 1مل/كغ تحت الجلد بعد 28 يوم من اعطاء الجرعة الأولى (بعد حقن 4 جرعات)، كان مستوى أنزيم ناقلة أمين الألانين في بلازما الدم (243.25±4.19) IU / l ، أما أنزيم ناقلة أمين الأسبارتات فكان (225.00±2.94) IU/ .

وفي المجموعة A لوحظ ارتفاع هذه النسب بشكل معنوي ($P<0.05$) بالمقارنة مع الشاهد C، أما بالنسبة لمجموعة C التي حقنت (4) جرعات ماء مقطر بمعدل 1مل/كغ، فإن مستوى نشاط أنزيم ناقلة أمين الألانين بلغ (72.09 ± 2.08) IU / l وأنزيم ناقلة أمين الأسبارتات (60.75 ± 0.96) IU / l وهي ضمن الحدود الطبيعية بالمقارنة مع المراجع العلمية لأنزيم ناقلة أمين الألانين (72.2–27.4) IU/l وأنزيم ناقلة أمين أسبارتات (10–78) IU/l حسب (Petra. 2016).

كما أثبتت نتائج هذه الدراسة أن المجموعة التي حقنت 0.5 مل/كغ بالإيفرمكتين تحت الجلد أظهرت زيادة في مستويات الأنزيمات الكبدية (AST-ALT)، وكانت هذه القيم مرتفعة بشكل معنوي في المجموعة B ($P<0.05$) في مستوى أنزيم ناقلة أمين الألانين وناقلة أمين الأسبارتات في بلازما الدم بعد (28) يوم من بدء التجربة. واتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج الباحث (Chahrazed. 2020) الذي أشار إلى أن إعطاء الإيفرمكتين للأرانب بجرعات عالية قد أدى إلى زيادة معنوية في مستوى أنزيمات الكبد (ALT, AST) وأنزيم ناقلة البيبتيد غاما غلوتاميل (GGT) بعد 14 و 21 يوم من بدء التجربة. أما بالنسبة لتفسير الزيادة في مستوى أنزيمات الكبد في المجموعة A و B قد يكون ناجم عن نقص الأوكسجين في نسيج الكبد مما يسبب أذية كبدية تؤدي إلى ارتفاع مستوى نشاط هذه الأنزيمات في مصل الدم (Center.1993) كما يمكن تفسير

ارتفاع مستوى أنزيمات (ALT-AST) هو نتيجة تأذي الخلايا الكبدية و حدوث تغيرات نوعية وكمية بتخليق البروتين (إعادة تركيب الأحماض الأمينية البسيطة)، وتدل هذه الزيادة على خلل في وظائف الكبد وانخفاض الألبومين بالدم نتيجة اضطراب عمل الكبد (Ogueji et al., 2020)

التغيرات النسيجية المجهرية:

بينت نتائج هذه الدراسة أن حقن أربع جرعات من الإيفرمكتين لأرناب المجموعة A بمعدل 1مل/كغ كل سبعة أيام، وعند إجراء الفحص المجهرى وجدنا تغيرات نسيجية واضحة تمثلت برشاحة التهابية وكذلك نمو نسيج ضام ضمن بعض المسافات البابية، ولوحظ تغلظ في أنوية الخلايا الكبدية وتغيرات على شكل تنكس بروتيني ومائي وصل إلى مرحلة النخر. من خلال الدراسة المرجعية ومقارنتها مع نتائج الدراسة وجدنا تطابقاً مع الدراسات السابقة التي أشارت إلى التغيرات في بنية الهيولى والنوى واحتقان الأوردة البابية والتتكسات والتعجي في بعض الخلايا الكبدية إضافة إلى تضخم النوى وتلونها باللون الداكن واحتقان الوريد المركزي، وانسلال الخلايا وحيدات النواة (Yara M et al., 2021). أما بالنسبة لأرناب المجموعة B التي حقنت أربع جرعات من الإيفرمكتين بمعدل 0.5مل/كغ فقد لوحظ احتقان الأوردة المركزية وتليف امتد بشكل جسر ضمن المسافات البابية بين الفصوص الكبدية، ولوحظ أيضاً انصبغ النوى باللون الأزرق القاتم مما يشير إلى تكثف الكروماتين في خلايا الكبدية وهذه يدل على بداية نخر في هذه الخلايا، كما لوحظ وجود تنكس بروتيني وفجوي في الخلايا الكبدية واتفتت نتائج دراستنا مع نتائج الباحث وزملائه (Makhlouf et al., 2021) اللذين اثبتوا أن حقن الإيفرمكتين بجرعات مختلفة أدى إلى تغيرات نسيجية تمثلت بتلف شديد في الكبد كفقان بنية الخلايا الكبدية وتنكس بروتيني ومائي وتوسع الجيبانات وتمدد الوريد المركزي واحتقان الوريد البابي.

الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations

من نتائج هذا البحث نستنتج ما يلي:

- 1: الإيفرمكتين يملك هامش أمان واسع بدليل اعطاء 5 اضعاف الجرعة المحددة من شركات التصنيع،
- 2: يجب أن يكون بين الجرعة والأخرى مدة زمنية طويلة
- 3: ينصح بعدم إعطاء جرعات عالية من الإيفرمكتين لأنه يسبب خلل في وظائف الكبد

المراجع References:

- 1-Aranzazu, G.C., Ana, M.S.P., Jose, D.L.B., Nelida F.M., Matilde S.V., Vieitez, J. G.(2009). The pharmacokinetics and metabolism of Ivermectin in domestic animal species. The Veterinary Journal. 179: 25–37
- 2-Arise, R.O. and Malomo S.O,(2009). Effects of ivermectin and albendazole on some liver and kidney function indices in rats. Afr. J. Biochem. Res., 3: 190–19
- 3-. Baggot, J.D. (1988). Veterinary pharmacology and therapeutics. Ed. 6th. Boothe, N.H. and Mc. Donald, L.E., The Iowa State Univ. Press, pp. 36–39.
- 4- Burkhart CN. (2000). Ivermectin: an assessment of its pharmacology, microbiology and safety. Vet. Hum.Toxicol N;42: P;30–35

- 5–Campbell WC. (2020) Ivermectin and malaria–putting an elderly drug to a new test. Am J Trop Med Hyg
- 6–Chahrazed, M., Hassina, K., Soumya, B., Dalila, T., Asma, B., Meriem, B, and Nacira, D. Z. (2020). Beneficial effects of ascorbic acid on ivermectin repeated high–dose therapy in rabbits: biochemical and histopathological investigations. European Journal of Biological Research, 11(1), 1–13. Retrieved from
- 7–Doherty, J., Baehrecke, E.H., (2018). Life, death and autophagy, Nat Cell Biol 20:1110 – 1117.
- 8– González, P.; González, F.A.; Ueno, K (2012). Ivermectin in human medicine, an overview of the current status of its clinical applications. Curr. Pharm. Biotechnol., 13, 1103–1109
- 9– Lifschitz A, Virkel G, Imperiale F, (1999). Moxidectin in cattle: correlation between plasma and target tissues disposition. J Vet Pharmacol Ther; 22: 266–73
- 10–Laing R. Gillan V. Devaney E. (2017). Ivermectin–old drug, new tricks? Trends Parasitol.; 33(6): 463
- 11– Lespine A., et al. (2005). Influence of the route of administration on efficacy and tissue distribution of ivermectin in goat”. Veterinary Parasitology 128.3–4 251–260
- 12– Mohammed. T. and Suhaib Ismail. (2021). Effect of CO–enzyme Q10 in Recovery of Histological Changes of Livers Rabbits Treated With Ivermectin University of Mosul College of Medicine
- 13– Meredith, A., Rayment, L., (2000). Liver disease in rabbits. Seminars Avian and Exotic Pet Medicine., 9: 146–152.
- 14– Matthiessen, T., Wöhrmann, T., Coogan, T.P., Uragg, H., (1998). The experimental toxicology of tramadol: an overview Toxicol. Lett., 95 (1), 63–71.
- 15–Merck Sharp, and Dohme BV, (2018). Stromectol (Ivermectin): Product Information. Merck Sharp and Dohme Corp., Netherlands
- 16–Ogueji, E., Nwani, C., Mbah, C., Iheanacho, S., Nweke, F. (2020). Oxidative stress, biochemical, lipid peroxidation, and antioxidant responses in *Clarias gariepinus* exposed to acute concentrations of ivermectin. Environmental Science and Pollution Research, 27(14), 16806–1681

- 17–Omura, S., (2008). Ivermectin: 25 years and still going strong. *Int. J. Antimicrob Agents* 31 (2), 91–98.
- 18– Petra, W., (2016). Clinical pathology. *BSAVA Manual of Rabbit Medicine* :PP. 124–137
- 19– Poppers, P.J., (1980). Hepatic drug metabolism and anesthesia, *Anaesthesist*, 29(2), 55–58
- 20– Qureshi. S. (2013). Biochemical toxicity of ivermectin in Wistar albino rats. *Am–Euras J Toxicol Sci.*; 5(1):
- 21–Selvakumar, K., S. Bavithra, S. Suganya, F.A. Bhat and G. Krishnamoorthy et al., (2013). Effect of quercetin on haematobiochemical and histological changes in the liver of polychlorinated biphenyls–induced adult male wistar rats. *J. Biomarkers*
- 22–Zhang, Z.,and Tang, W. (2018). Drug metabolism in drug discovery and development. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8(5), 721–732
- 23–Yara M. Elfakharany¹, Nanies Sameeh Mohammad¹, Manal Mohammad Morsy², Samah A . El–Nagdy. (2021). Possible Hepatotoxic Effects in Adult Male Albino Rats on Combination of ivermectin and Paracetamol **Drugs Used in COVID–19 infection Management Protocol, Department of human anatomy and embryology Faculty of Medicine, Zagazig University, Zagazig,t**