وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تأثير عقار الفلاجيل FLAGYL® ® (الميترونيدازول (METRONIDAZOLE على غرس الأجنة في رحم الجرذ النرويجي *Rattus norvegicus*

رسالة تقدم بها الباحث

كاظم مجَيد هَدّو

الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة كربلاء كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة -علم الحيوان

(بكالوريوس في الطب والجراحة البيطرية- جامعة بغداد ١٩٧٨)

باشراف

الاستاذ المساعد	الاستاذ المساعد الدكتور
حسين علي عبد اللطيف	أكرم يوسف ياسر

١٤٣٣هـ - ٢٠١٢ م

(بسمِ الله الرَّحمن الرَّحِيم)

يَا أَيُّهَا النَّاسُ إِن كُنتُمْ فِي رَيْبٍ مِّنَ الْبَعْثِ فَإِنَّا خَلَقْنَاكُم مِّن تُرَابٍ ثُمَّ مِن نُّطْفَةٍ ثُمَّ مِنْ عَلَقَةٍ ثُمَّ مِن مُّضْغَةٍ مُّخَلَّقَةٍ وَغَيْرِ مُخَلَّقَةٍ لِّنُبَيِّنَ لَكُمْ وَنُقِرُّ فِي الْأَرْحَامِ مَا نَشَاء إِلَى أَجَلٍ مُّسَمًّى ثُمَّ نُخْرِجُكُمْ طِفْلًا ثُمَّ لِتَبْلُغُوا أَشُدَّكُمْ.

{ صدق الله العلي العظيم }

الحج الآية { ٥ }

إقـرار لجنـة المناقشـة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة أدناه بإطلاعنا على الرسالة الموسومة بـ { تأثير عقار الفلاجيل(Flagyl®) METRONIDAZOLE على غرس الأجنة في رحم الجرذ النرويجي *Rattus norvegicus* } وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وكل ما يتعلق بها ووجدنا إنها جديرة بالقبول بتقدير ( ) لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

رئـيس اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. نعمان سلمان مهدي / أنسجة

العنوان : كلية الطب البيطري / جامعة بغداد

التاريخ : ١٠ تموز ٢٠١٢ مـ

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم :أ.م. د. عدنان وحيد البديري/ انسجة واجنة حيوان

العنوان : كلية الطب / جامعة القادسية كربلاء

التاريخ : ١٠ تموز ٢٠١٢ مـ

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم :أ.م. د. وفاق جبوري محمد/ فسلجة

العنوان :كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة

التاريخ : ١٠ تموز ٢٠١٢ مـ

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :

الاسم :أ.م. حسين علي عبد اللطيف/ فسلجة تناسل وأجنة

العنوان :كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ : ١٠ تموز ٢٠١٢ مـ

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :

الاسم :أ.م. د. أكرم يوسف ياسر/ أنسجة

العنوان : كلية طب الأسنان / جامعة كربلاء

التاريخ : ١٠ تموز ٢٠١٢ مـ

مصـادقة عمـادة كليـة التربيـة للعلوم الصرفة -: أُصادق على مـا جـاء في قـرار اللجنـة أعـلاه .

التوقيع :

الاسم : م. د. قيس حسين السماك – العميد

التاريخ : ١٠ تموز ٢٠١٢ مـ

الإهداء

إلى روح من كان ضوء عينيها أول مصباح في حياتي

والدتي

إلى روح مَن غَرس الفضيلةَ في قَلّبي

والدي

إلى زَوجتي وأولادي .. وفاءً وحبا

كاظم

٢٠١٢ مـ

شكر وتقدير

الحمد لله الواحد الأحد وصلى الله على عبده المجتبى ونبيه المصطفى خير الأنبياء والمرسلين وأفضل الأولين والآخرين وعلى أوصيائه وأصفيائه الأئمة المهديين المرضيين المنتجبين والحمد لله رب العالمين الذي أنعم عليّ بهذه النعمة فله الحمد أولاً وآخراً.

أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ المساعد **حسين علي عبد اللطيف** المشرف على الرسالة لتعاونه في انجازها وتوفير مستلزمات البحث إذ كان لي الصدر الرحب ألبسه الله لباس العافية، ويطيب لي إن أشكر شقيق نفسي وتوأم روحي الأخ **الدكتور أكرم يوسف ياسر** لمشاركته الإشراف على الرسالة ومتابعته التفصيلية الدقيقة بكل مفرداتها العلمية والتنظيمية ولما لمستُ فيه من سعة صدر ونبل خلق فلله دره وعليه أجره سائلاً المولى الكريم أن يمد في عمره ويحفظه من كل سوء، والشكر الجم إلى السيد عميد كلية التربية للعلوم الصرفة رئيس قسم علوم الحياة الفاضل الكريم الدكتور **قيس حسين السماك** لرعايته المباشرة والمستمرة ودعمه اللامحدود للبحث العلمي فرعاه الله وحفظه وألبسه ثوب العافية وجلببه بجلباب الصحة إنه لطيف مجيب، كما أشكر الأستاذ الدكتور حيدر زيدان السعدي – جامعة بابل - لمساعدته في قراءة بعض فصول الرسالة وإبداء الملاحظات العلمية فيها، ، وشكري وامتناني إلى الدكتور علي الكبيسي - جامعة كربلاء والى أخي العزيز نصير مرزة الزبيدي والى الدكتور رياض حنيوة - دائرة صحة كربلاء- والى م.م. سيد محمد وسام المحنّا لمساعدتهم إياي في انجاز البحث، ويحثني قلمي على شكر كل من تفضل عليّ أو قدم أحسان إليّ، وأشكر كذلك أهل بيتي جميعهم واخص منهم ولدي **احمد** لتشجيعهم إياي لما تحملوه من كدر طيلة إعداد الرسالة، فلله الحمد أولاً وآخراً على نعمته في تحقيق أمنيتي العلمية ولو بعد حين وهو الرحمن الرحيم .

الباحث

كاظم مجيد هدّو

الخلاصة

SUMMARY

تهدف هذه الدراسة إلى تبيان اثر عقار الميترونيدازول (الفلاجيل®) Metronidazole (Flagyl®) التجاري على غرس الأجنة في رحم الجرذ النرويجي *Rattus norvegicus* في اليومين السابع والتاسع من الحمل. تم استخدام ٦٤ جرذاً أنثى جرعت فمويا ٩ ملغم من العقار / ٢٠٠ غم من وزن الحيوان و ١٨ ملغم و ٢٧ ملغم يوميا ولمدة سبعة أيام وتسعة أيام ومن اليوم الأول من تأكيد الحمل. تأكد من نتائج الدراسة أن الحمل تميز بابتدائه في المنطقة المضادة للمساريق من بطانة الرحم والتي تحولت في معظمها باليوم السابع إلى النسيج الساقطي الذي يميز كل أنواع السخد. تم تمييز أربع مناطق في النسيج الساقطي في جزئه البعيد عن المساريق الرحمية : منطقة النسيج الساقطي الابتدائي والثانوي ومنطقة الغرس ومنطقة النسيج الساقطي غير المتمايزة. لوحظ أيضا زيادة في حجم الغدد الرحمية مع كثرة الالتواءات فيها. اعطى توزيع الألياف الغراوية في المنطقة الساقطية إشارة واضحة إلى نجاح الحمل وكانت منطقة النسيج الساقطي الابتدائي خالية من الألياف الغراوية على العكس من ذلك لوحظ وجودها في طبقة النسيج الساقطي الثانوي. أما في اليوم التاسع من الحمل فقد ظهرت مواقع الغرس بشكل ايجابي والنسيج الساقطي على درجة كبيرة من النمو وبدت الألياف الغراوية أكثر وجودا في المنطقة التي تحول لها الجنين وهى المنطقة المساريقية من بطانة الرحم خاصة في المنطقة الساقطية. ما اتصف به اليوم التاسع من الحمل هو بروز الخلايا الغاذية كخلايا مهاجرة من الجنين باتجاه الأم.

كما أظهرت النتائج أن تجريع عقار الفلاجيل –الميترونيدازول- بجرعة علاجية وضعفها أدى إلى انخفاض في مستوى هرمون الاستراديول في مصل الدم الا انه لم يصل إلى مستوى المعنوية $p>0.05$ في حين أن التجريع بثلاثة أضعاف الجرعة قد أدى إلى انخفاض معنوي $p<0.05$ في مستوى الهرمون . وعلاقة الارتباط r غير معنوية $p>0.05$ عكسية لفترة ٧ أيام ومعنوية $p<0.05$ عكسية لفترة ٩ أيام. كما لم يكن هناك تأثير معنوي $p>0.05$ لمدة الحمل في متوسط مستوى الهرمون خلال مدتي الحمل. وان تجريع العقار قد أدى إلى انخفاض معنوي $p<0.05$ في مستوى هرمون البروجيستيرون وعلاقة الارتباط معنوية $p<0.05$ عكسية. ان تجريع الإناث بالعقار لم يكن له تاثير معنوي $p> 0.05$ في حجم الرحم. بينما كان هناك تأثير معنوي $p< 0.05$ لمدة الحمل في متوسط حجم الرحم . أما علاقة الارتباط r

فكانت طردية لمدة الحمل ٧ أيام فيما كانت العلاقة عكسية وغير معنوية $p>0.05$ لمدة الحمل ٩ أيام . أما نتائج تأثير العقار في قطر الرحم في مدتي الحمل فقد لوحظ وجود انخفاض في قطر الرحم بالجرع الثلاث إلا انه لم يكن معنويا $P > 0.05$ وان هناك فروقاً غير معنوية $P>0.05$ بين متوسطات المعاملات. كما لوحظ بأن هناك انخفاضاً في عدد الأجنة بالجرع الثلاث إلا انه لم يكن معنويا $P > 0.05$ وعلاقة الارتباط r عكسية وهناك فروق غير معنوية $P > 0.05$ بين متوسطات المعاملات . وأظهرت النتائج وجود علاقة ارتباط r طردية بين هرمون البروجيستيرون وبين حجم ووزن وقطر الرحم وعدد الأجنة فيه.

تبين من كل هذه المتغيرات النسجية ونتائج التحليل الاحصائي في اليومين المذكورين من الحمل إلى عدم وجود تأثير ضار لعقار الفلاجيل المستخدم يعيق عملية الغرس.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
	الخلاصة	I
	قائمة المحتويات	III
	قائمة الجداول	VI
	قائمة الصور والأشكال	VII
	قائمة المختصرات	X
	الفصل الأول - المقدمة	١-٤
	الفصل الثاني - استعراض المراجع	٥-٣٢
٢-١	تمهيد *Overview*	٥
٢-٢	الخلايا الغاذية *Trophoblasts*	٥
٢-٣- ١	عملية الغرس *Implantation*	٧
٢ – ٣ - ٢	مراحل الغرس *Stages of implantation*	٨
٢- ٣ -٣	أنواع الغرس *Types of implantation*	١١
٢- ٣ – ٤	الغرس في اليوم السابع *Implantation on 7 dpc*	١٣
2 – ٣ - ٥	الغرس في اليوم التاسع *Implantation on 9 dpc*	١٤
٢ - ٤	وظيفة النسيج الساقطي الابتدائي *Function of primary decidual tissue*	١٥
٢– ٥ - ١	السيطرة الهرمونية لعملية الغرس *Hormonal control of implantation*	١٨
٢- ٥ - ٢	دور الهرمونات *Role of hormones*	١٩
٢ - ٦	تعرف الأم على الحمل *Maternal recognition of pregnancy (MRP)*	٢٢
٢ - ٧	التفاعلات النسجية المصاحبة لعملية الغرس *Histological reactions of implantation*	٢٤
٢ -٧- ١	الغراوي *Collagen*	٢٤

التسلسل	الموضوع	الصفحة
٢ - ٨	الميترونيدازول – الفلاجيل®® *Metronidazole- Flagyl*	٢٥
٢ – ٨ – ١	الوصف *Description*	٢٥
٢-٨-2	المعلومات الصيدلانية *Pharmacological informations*	٢٦
٢-٨-٣	الجرعة *Dosage*	٢٦
٢–٨– ٤	استعمالات MTZ في علم الأحياء الدقيق *Uses of MTZ in Microbiology*	٢٧
٢–٨ - ٥	تشوه الجنين *Teratogenic effects on pregnancy*	٢٨
٢ – ٨ - ٦	الأعراض الجانبية عند استعمال الفلاجيل *Side effects of Flagyl*	٢٩
٢-٨-٧	التداخل مع الفحوصات المختبرية *Interference with laboratory tests*	٢٩
٢-٨-٨	التداخل مع الأدوية *Interference with drugs*	٣٠
٢-٨-٩	الدراسات الماسخة *Teratogenic studies*	٣١
٢-٨-١٠	طريقة عمل الفلاجيل MTZ *Mode of action*	٣٢
الفصل الثالث المواد وطرائق العمل *Materials and Methods*		٣٣- ٤٧
٣ – ١	العقار المستخدم	٣٣
٣ – ٢	حيوانات التجربة *Animals of the experiment*	٣٤
٣ - ٣	تصميم التجربة *Experiment design*	٣٤
٣-٤-١	المواد الكيمياوية المستخدمة	٣٥
٣ –٤- ٢	الادوات المستخدمة	٣٦
٣ – ٤ - ٣	الاجهزة المستخدمة	٣٦
٣-٥	توزيع حيوانات التجربة	٣٧
٣-٦	الفحوصات المختبرية	٣٨
٣ - ٧	التقطيع النسيجي	٣٨
٣-٨	تلوين الشرائح النسيجية	٤٠

التسلسل	الموضوع	الصفحة
٣-٨-١	ملوّن هيماتوكسيلين هارس Harris' Hematoxylin	٤٠
٣-٨-٢	ملوّن الايوسين Eosin	٤١
٣-٨-٣	ملوّن Periodic Acid Schiff's stain (PAS)	٤١
٣-٨-٤	ملوّن Periodic Acid Schiff's stain (PAS) المعاملة مع انزيم Diastase	٤٣
٣-٨-٥	ملوّن الالسين الازرق Alcian Blue 8GX	٤٣
٣-٨-٦	ملوّن Gomori's One-Step Trichrome Stain	٤٤
٣-٩	تقييم مستوى الهرمون *Hormonal assay*	٤٦
٣-١٠	حجم الرحم *Uterine size*	٤٧
٣-١١	وزن الرحم *Uterine weight*	٤٧
٣-١٢	قطر الرحم *Uterine diameter*	٤٧
٣-١٣	عدد الأجنة بالرحم *Number of faetuses in the uterus*	٤٧
٣-١٤	التحليل الإحصائي	٤٧
	الفصل الرابع النتائج *The Results*	٤٨-٧٨
٤-١	اليوم السابع من الحمل 7dpc	٤٩
٤-٢	اليوم التاسع من الحمل 9 dpc	٥٦
٤-٣	التغيرات الهرمونية *Hormonal changes*	٦٣
٤-٣-١	تأثير تجريع عقار الفلاجيل في مستوى هرمون الاسترادايول	٦٣
٤-٣-٢	تأثير تجريع الفلاجيل في مستوى هرمون البروجيستيرون	٦٥
٤-٣-٣	تأثير تجريع الفلاجيل في حجم الرحم	٦٧
٤-٣-٤	تأثير تجريع الفلاجيل في وزن الرحم	٧٠
٤-٣-٥	تأثير تجريع الفلاجيل في قطر الرحم	٧٣
٤-٣-٦	تأثير تجريع الفلاجيل في عدد الأجنة	٧٦

التسلسل	الموضوع	الصفحة
الفصل الخامس المناقشة	***Discussion***	٧٩-٨٧
الاستنتاجات والتوصيات	***Conclusions and Recommendations***	٨٨
الملاحق	***Appendexes***	٨٩-٩٣
الفصل السادس المصادر	***The References***	٩٤ -١١٨

قائمة الجداول

التسلسل	الموضوع	الصفحة
٣-١	تصميم التجربة	٣٤
٣-٢	المواد الكيماوية المستخدمة بحسب اسم الشركة والمنشأ.	٣٥
٣-٣	الأدوات المستخدمة بحسب اسم الشركة والمنشأ.	٣٦
٣-٤	الأجهزة المستخدمة بحسب اسم الشركة والمنشأ.	٣٦
٤-١	تأثير تجريع الفلاجيل – الميترونيدازول - في مستوى هرمون Estradiol في مصل دم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل .	٦٣
٤-٢	تأثير تجريع الفلاجيل – الميترونيدازول - في مستوى هرمون البروجيستيرون Progesterone في مصل دم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل .	٦٥
٤-٣	تأثير تجريع الفلاجيل في حجم رحم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل .	67
٤-٤	تأثير تجريع الفلاجيل– الميترونيدازول - في وزن رحم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل .	٧٠
٤-٥	تأثير تجريع الفلاجيل– الميترونيدازول - في قطر رحم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل .	٧٣
٤-٦	تأثير التجريع بالفلاجيل- الميترونيدازول- في عدد الأجنة في أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.	٧٦

قائمة الصور والاشكال

التسلسل	الموضوع	الصفحة
٤-١	صورة تمثل مناطق بدايات الحمل .	٥١
٤ -٢	صورة مقطع مستعرض لرحم انثى جرذ حامل من مجموعة السيطرة في اليوم السابع.	٥١
٤-٣	صورة مقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم السابع من الحمل مجرعة جرعة علاجية واحدة من الفلاجيل يبين توزيع خلايا النسيج الساقطي.	٥٢
٤-٤	صورة مقطع نسيجي مستعرض للرحم في اليوم السابع من الحمل لأنثى جرذ معالج بضعف الجرعة العلاجية من الفلاجيل ؛ يلاحظ وجود التفاعل الساقطي وتوزيع النسيج الساقطي في بطانة الرحم.	٥٢
٤ - ٥	رسم تخطيطي لصورة مقطع عرضي نسجي في اليوم السابع مرسومة باستعمال الكاميرا ليوسيدا Camera Lucida.	٥٣
٤-١١	صورة تمثل مناطق الحمل (الغرس Implantation) عند اليوم التاسع من الحمل.	٥٨
٤ - ١٢(A)	صورة مقطع عرضي في رحم الجرذ مأخوذ من منطقة الجنين 9 (dpc) يبيّن توزيع مناطق بطانة الرحم.	٥٨
٤-١٢(B)	صورة مقطع عرضي لرحم أنثى جرذ مجرع بضعف الجرعة العلاجية من الفلاجيل (9 dpc) يبين ظهور الفسح الدموية الواسعة والملتوية في منطقة النسيج الساقطي المساريقي الرحمي.	٥٨
٤- ١٢(C)	رسم تخطيطي للشكل ٤-١٣ لصورة بالمجهر الضوئي مرسومة باستعمال الكاميرا ليوسيدا Camera Lucida.	٥٩
٤ -١٣	صورة مكبرة للمقطع المستعرض الذي ظهر فى صورة ٤-١٣- B لتبيان الصورة الواضحة للنسيج الساقطي والفسح الدموية وكذلك توزيع الألياف الغراوية للنسيج الساقطي في المنطقة المساريقية من بطانة الرحم.	٦١

التسلسل	الموضوع	الصفحة
١٤-٤	صورة مقطع نسجي لرحم انثى (9 dpc) مجرعة بثلاثة أضعاف الجرعة العلاجية من الفلاجيل يوضح كيف ان الخلايا الغاذية (Tr) قد اندفعت من الجنين باتجاه النسيج الساقطي في المنطقة المساريقية الرحمية من بطانة الرحم	٦١
١٥-٤	صورة مجهرية لمقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم التاسع من الحمل يظهر الخلايا الغاذية Trophoblast.	٦١
١٦-٤	صورة تبين تحول الجنين (E) الى الجانب المساريقي من بطانة الرحم (9 dpc). يلاحظ في هذا الشكل اندفاع الخلايا الغاذية (Tr) نحو النسيج الساقطي في منطقة النسيج الساقطي المساريقي الرحمي.	٦٢
١٧-٤	صورة مجهرية لمقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم التاسع من الحمل (9 dpc) لأنثى مجرعة بثلاثة أضعاف الجرعة العلاجية من الفلاجيل توضح التصاق الخلايا الغاذية (TZ) بالنسيج الساقطي.	٦٢
١-٤	شكل يوضح العلاقة الاسية بين جرعة عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ أيام ومستوى هرمون الاستراديول	٦٤
٢-٤	شكل يوضح العلاقة الاسية بين جرعة عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام ومستوى هرمون الاستراديول.	٦٤
٣-٤	شكل يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ أيام ومستوى هرمون البروجيستيرون.	٦٦
٤-٤	شكل يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام ومستوى هرمون البروجيستيرون.	٦٦
٥-٤	شكل يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ أيام وحجم أرحام إناث الجرذ.	٦٨
٦-٤	شكل يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام وحجم أرحام إناث الجرذ	٦٨
٧-٤	شكل يوضح العلاقة الأسيّة بين مستوى هرمون البروجيستيرون وحجم الرحم - بعمر حمل ٧ ايام .	٦٩
٨-٤	شكل يوضح العلاقة الاسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون وحجم الرحم - بعمر حمل ٩ أيام .	٦٩

التسلسل	الموضوع	الصفحة
٤-٩	شكل يوضح العلاقة الاسية بين جرعة عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ أيام ووزن أرحام إناث الجرذ.	٧١
٤-١٠	شكل يوضح العلاقة الاسية بين جرعة عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام ووزن أرحام إناث الجرذ	٧١
٤-١١	شكل يوضح العلاقة الأسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون ووزن الرحم - بعمر حمل ٧ أيام .	٧٢
٤-١٢	شكل يوضح العلاقة الأسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون ووزن الرحم - بعمر حمل ٩ أيام.	٧٢
٤-١٣	شكل يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ ايام وقطر أرحام إناث الجرذ.	٧٤
٤-١٤	شكل يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام وقطر أرحام إناث الجرذ.	٧٤
٤-١٥	شكل يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام وقطر أرحام إناث الجرذ.	٧٥
٤-١٦	شكل يوضح العلاقة الاسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون وقطر الرحم - بعمر حمل ٩ أيام لإناث الجرذ.	٧٥
	شكل يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ ايام وعدد الأجنة في أرحام إناث الجرذ	٧٧
٤-١٨	شكل يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ ايام وعدد الاجنة في أرحام إناث الجرذ.	٧٧
٤-١٩	شكل يوضح العلاقة الاسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون وعدد الاجنة في الرحم - بعمر حمل ٧ أيام.	٧٨
٤-٢٠	شكل يوضح العلاقة الاسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون وعدد الأجنة في الرحم - بعمر حمل ٩ أيام.	٧٨

قائمة المختصرات

Alcian blue 8GX	A B
Antimesometrial Decidual Zone	ADZ
Days post coitum	dpc
Gomori's one step Trichrome Stain	GTS
Hematoxylin & Eosin	H & E
Implantation Zone	IZ
Maternal Recognition of Pregnancy	MRP
Mesometrial Decidual Zone	MDZ
Metronidazole	MTZ
Periodic Acid Schiff's stain	PAS
Primary Decidual Zone	PDZ
Secondary Decidual Zone	SDZ
Undifferentiated Decidual Zone	UDZ
Uterine Glands	UG

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

إن عملية غرس الكيسة الأريمية Implantation of Blastocyst التي تحدث في المراحل الأولى من الحمل واتصالها واسجائها Embedding في بطانة الرحم تعد عملية تفاعل نسجي فسيولوجي له أهمية كبرى في إنجاح الحمل وان فشل الغرس يمثل بحدود ٢٠ % من حالات فشله (Lee and Demayo, 2004؛ Dey *et al*., 2004 ؛Afshor *et al*., 2012).

إن من الأمور التي تحدث في أثناء الغرس هو التناغم ما بين الكيسة الاريمية وبطانة الرحم ويمثل فشل هذا التناغم بين هذين التركيبين فشلا للغرس وبالتالي الحمل (Sharkey and Smith, 2003). تبدأ عملية الغرس في معظم القوارض في نهاية اليوم الخامس وتكتمل عند اليوم التاسع (Whitley and Cartwright, 2010) إذ يبدأ أولا بالتصاق الكيسة الاريمية إلى الطبقة الظهارية لبطانة الرحم في منطقته المضادة للمساريق Antimesometrial site يتبعها تحول معظم النسيج ألحشوي لبطانة الرحم في تلك المنطقة إلى نسيج ساقطي Decidual tissue (Abrahamsohn *et al*., ؛Lee and Demayo, 2004 ؛ Herington and Bany, 2007؛ 2002 Abrahamsohn and Zorn, 1993) . يستمر تكون النسيج الساقطي باتجاه العضلة الرحمية Myometrium في المنطقة المضادة للمساريق الرحمي وعند منتصف اليوم السابع من الحمل يحاط الجنين Conceptus بخلايا النسيج الساقطي (Wang *et al*., 2004). بعد إتمام عملية الغرس في المنطقة المضادة للمساريق الرحمي يبدأ الجنين بتحويل اتجاه وجوده الى البطانة الرحمية المقابلة للمساريق الرحمي Mesometrial site ويصاحب هذا الانتقال تغير في السدى الرحمي Uterine stroma لتلك المنطقة كرد فعل لوجود الجنين فيها (Bany and Cross, 2006؛ Parast *et al*., 2001؛Lim *et al*.,2002) . خلال هذه الفترة تنطمر الكيسة الاريمية عميقا في بطانة الرحم ويبدأ تدفق الدم كثيرا إلى منطقة الجنين مؤسسا الدورة الرحمية السخدية The uteroplacental circulation (Koh *et al*., 2003 ؛ Bany and Cross, 2006) .

إن استعمال العقاقير الطبية لمعالجة بعض الأمراض خاصة بالفترة المبكرة من الحمل كالعقاقير المستخدمة لمعالجة أمراض المشعرات Trichomoniasis والبكتريا اللاهوائية

تتسبب في إفشال عملية الغرس وبالتالي الحمل. ان تحديد المحفز الرئيسي للرحم لبدء عملية تكون النسيج ألساقطي Decidual cell reaction كان موضوع دراسة عدد من الباحثين (Osol and Mandala, 2009 ؛ Furukawa *et al*., 2011a) . ان عملية الغرس في الجرذان تحتاج الى الاستروجين والبروستاكلاندينات نوع اف٢الفا Prostaglandins $F_2\alpha$ بمشاركة الهستامين ليسببا زيادة ورود الدم (Eveline *et al*., 2002).

نظرا لكون فترة الغرس فترة مبكرة معقدة وحرجة بالنسبة إلى نجاح الحمل فلهذا السبب أصبح من الضروري الاهتمام بإعادة دراسة وفحص الغرس باستعمال التقنيات الحديثة كالمجهر الالكتروني والنظائر المشعة Isotope والتقنية النسجية المناعية Immunohistochemistry (Whitley and Cartwright, 2010). ان دراسات اقتفاء اثر النسيج الساقط الابتدائي Tracer studies بالمجهر الالكتروني تشير إلى ان هذا النسيج يكون نفاذاً اختيارياً للجزيئات الكبيرة (Makrigiannakis and Minas, 2007) على الرغم من وجود الارتباطات الخلوية فيما بين خلاياه وان وظيفته غير مفهومة جيداً بعد (Bazer *et al*., 2009؛ Koh *et al*., 2003؛ Spencer and Bazer, 2002).

تحدث معظم المتغيرات الفسيولوجية المظهرية لتطور الجنين في منطقة الغرس (Slayden and Keater, 2007 ؛ Fazleabas *et al*., 2004؛ Koh *et al*., 2003) ويكون نمط إفراز هرمونات البروجستيرون والاسترادايول (الاستروجين) بكمية ووقت يسيطر فيها على حدوث تحسس في الرحم وتهيئته لعملية الغرس (Kelly *et al*., 2001) وتتحدد فترة التحسس للرحم في اليوم الثالث بفعل البروجيستيرون (Mojdeh *et al*., 2006؛ Spencer *et al*., 1999) فلهذا السبب أصبح من الضروري الاهتمام بالسيطرة الهرمونية للغرس وإعادة دراسته وفحصه في أجنة الجرذان باستعمال التقنيات الحديثة (Bany and Cross, 2006؛ Spencer *et al*., 2007؛ Bazer *et al*., 2008 , 2009).

ان الـ FLAGYL® (MTZ) Metronidazole هو مضاد صناعي للابتدائيات وعامل مضاد للبكتريا وله تأثير قاتل Bactericidal ضد معظم عتر البكتريا اللاهوائية (Jorgensen *et al*., 2011) وكذلك تأثيره على المشعرات Trichomonocidal activity والمتحولات Amoebiosi (الاميبا المتنسجة) *Entamoeba histolytica* (Ralph and Kirby, 2011).

وهو عقار مسرطن Carcinogenic ومطفر Mutagenic في الجرذان والفئرانChacko (Tocher and Edwards, 1994؛ and Bhide, 1996) لذلك يُنصح بعدم استعمال عقار

الفلاجيل للحوامل خاصة بالثلث الأول من الحمل 1st trimester إذ انه يعبر الحاجز المشيمي Placental barrier ويدخل الدورة الجنينية بسرعة ويؤثر على تكوّن أعضاء الجنين Organogenesis (Fuller *et al*., 2011) . كما أشارت الدراسات إلى ان MTZ قد يتداخل مع نتائج بعض فحوصات الكيمياء السريرية المختبرية لمصل الدم بسبب التشابه بالامتصاصية. لوحظت أعراض جانبية عدّة غير مرغوب فيها للعقار كتأثيره على تكوين الدم Hematopoiesis مؤدياً الى قلة كريات الدم البيض Leukopenia ونادرا قلة الصفيحات الدموية Thrombocytopenia، ويؤثر على الجهاز القلبي الوعائي Cardio vascular. وللفلاجيل تأثير على الجهاز العصبي المركزي وعلى الجهاز البولي (Jorgensen *et al*., 2011).

ان تمييز الأم لإشارات الحمل من الجنين اليها يكون اما بوساطة الجسم الأصفر أو بفعل مضاد للجسم الأصفر كما في قيام الهرمونات بمنع إفراز الرحم للمواد المحللة للبروستاكلاندين $F_2\alpha$، للحفاظ على نشاط الجسم الأصفر في إفراز البروجيستيرون وعوامل النمو والسايتوكينات المسؤولة لتقبل الرحم لغرس الجنين في معظم اللبائن (Fazleabas, 2007؛ Soares, 2004؛ Kumer *et al*., 2001؛ Fazleabas *et al*., 2004) . ان إفراز هرمون البروجيستيرون له تأثير مثبط مناعي Immunosuppressive يكبح جماح الخلايا اللمفاوية من نوعي BوT فضلاً عن المساعدة في نمو الخلايا الغاذية Trophoblast (Hess *et al*., 2007).

اهداف الدراسة

نظرا لكون فترة الغرس من المراحل المهمة والحساسة في عملية الحمل لذا فان هذه الدراسة تهدف إلى إيجاد وصف لبعض التغيرات النسجية والوظيفية التي تحدث في منطقة الغرس في أرحام الجرذان التي قد تعطينا أسس مظهرية ومجهرية للأداء الوظيفي والهرموني، وكذلك لتوضيح المتغيرات النسجية والكيمونسجية والفسيولوجية التي تحدث في النسيج الساقطي المصاحبة لعملية الغرس في الجرذان المعاملة بعقار الفلاجيل Metronidazole لكون هذه الفترة من الغرس (٦ - ١٠ أيام من الحمل) مبكرة ومعقدة، وان معظم هذه المتغيرات المهمة لنمو وتطور الجنين لاحقا تحدث في هذه المنطقة. لذا فقد تضمنت الدراسة الحالية :

١ – فحص نسجي لطبقات الرحم باستخدام صبغات نسجية مختلفة.

٢ – تقدير مستويات هرموني الاستراديول والبروجيستيرون.

٣ – معرفة التغيرات الحاصلة في حجم ووزن وقطر الرحم وعدد الأجنة فيه.

٤ - إيجاد العلاقة بين هرمون البروجيستيرون وحجم ووزن وقطر الرحم وعدد الأجنة فيه .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

REVIEW OF LITERATURE

٢-١ تمهيد *OVERVIEW*

يتبع تلقيح البويضة Ovum في أُنبورة الانبوب الرحمي Ampullary region of uterine tube (سالم وجماعته ، ٢٠٠٧ ؛ Enders, 2005) تكوين الزيجة Zygote (Koh *et al.*, 2003) يعقب ذلك تنشيطا للمكونات الخلوية والتي هي ضرورية للنمو الجنيني في مراحل تكوينه المبكرة (Anthony and Enders, 2010) ويتبع ذلك تكوين خليتين كبيرتين ثم زيادة بعدد الخلايا مكونا خذمة اريمية Blastomere (Enders, 2005) وبعد ثلاثة أيام من التلقيح تتحول الى تويثة Morulaعندها تتكون الكيسة الاريمية Blastocyst (Enders, 2002) والتي ستسعى الى دخول الرحم لابتداء عملية الغرس (Afshor *et al.*, 2012؛ Meyers *et al.*, 2009؛ Enders *et al.*, 2005).

٢-٢ الخلايا الغاذية *Trophoblasts*

يبدأ ظهور الخلايا الغاذية في الفترة التي تسبق عملية غرس الكيسة الاريمية Blastocyst في بطانة الرحم إذ أن هذه الكيسة تتكون من صف واحد من الخلايا لتكون طبقة الخلايا الغاذية التي تتجمع في الخلايا الجنينية عند احد أقطاب الكيسة الاريمية على شكل قرص جنيني Embryonic disc والذي ينشأ منه الجنين (Singh and Aplin, 2009).

إن أول وظيفة ظاهرة لطبقة الخلايا الغاذية هي المساعدة في عملية غرس الجنين وذلك من خلال اتصالها بالطبقة الظهارية لبطانة الرحم (Carter *et al.*, 2007؛ Jansson and Powell, 2006). ان هذا التواصل مابين الطبقة الظهارية والخلايا الغاذية يختلف من حيوان لآخر على حسب نوع الغرس (Carter and Martin, 2010؛ Carter and Enders, 2004). فبعد إتمام عملية الغرس تبدأ المرحلة التالية المعبرة عن أهمية هذه الخلايا في نجاح الحمل إذ تشق الخلايا الغاذية طريقها وبعملية غزو منظم باتجاه بطانة

الرحم على شكل موجتان من الخلايا المهاجرة الأولى والمعروفة بالخلايا الغاذية البينية Interstitial trophoblasts والتي تصل إلى داخل الطبقة العضلية لجدار الرحم (Atkinson and Senior, 2003) . أما الموجة الأخرى وتسمى الخلايا الغاذية الدموية الداخلية Endovascular trophoblasts فتتجه نحو احد فروع الشرايين الرحمية المغذية للسخد والتي تحمل اسم الشرايين اللولبية Spiral arteries والتي يتراوح عددها في الإنسان مابين ٨٠- ١٠٠ شريان وبمجموعها ستكون المصدر الرئيس الذي سيزود السخد (المشيمة) بالدم المحمل بالمواد الغذائية الضرورية لنمو الجنين (Cross and ؛ Jones *et al*., 2006 Mickelson, 2006) من اجل إنجاح وإتمام الحمل بصورة طبيعية (and Whitley Blankenship and Enders, 1997 ؛ Cartwright, 2010) . لقد بينت الدراسات أن السبب المؤثر الرئيس لاتجاه الخلايا الغاذية نحو الشرايين اللولبية يرجع إلى :

أولا: وفرة الأوكسجين في الدم الشرياني وهذا يفسر قلة أو عدم وجود هذه الخلايا في الأوردة الدموية المصاحبة لهذه الشرايين (Huppertz *et al*., 2009).

ثانيا: قيام الصفائح الدموية Blood platelets بإفراز إشارات تجذب الخلايا الغاذية إلى داخل الشريان اللولبي (Ashton *et al*., 2005)، كما توجد جزيئات تسمى Platelets Endothelial Cell Adhesion Molecules-1 (PECAM) على السطح الخارجي للغشاء الخلوي للخلايا الغاذية ؛ ولهذه الأنواع من الجزيئات مستقبلات جزيئية أخرى على السطح الخارجي للغشاء الخلوي للخلايا البطانية المكونة للطبقة الداخلية من الشرايين اللولبية (Hemberger *et al*., 2003).

إن أول ماتقوم به الخلايا الغاذية عندما تستقر وهي ملاصقة للطبقة البطانية هو إفراز مكونات أخرى تساعد في عملية الموت المبرمج Apoptosis لطبقة الخلايا البطانية (Waddell *et al*., 2000 ; Burton *et al*., 2007) لتكون بمواجهة مباشرة مع الصفيحة المرنة الداخلية للشريان Internal elastic lamina (Singh and Aplin, 2009 ؛ Abrahamsohn *et al*., 1983) وتقوم الخلايا الغاذية بتدمير تلك الصفيحة وذلك بإفراز إنزيمات هاضمة للألياف Matrix metalloproteinase (Osol and Mandala, 2009) . إن عمل الخلايا الغاذية لايقتصر على الطبقتين المذكورتين أعلاه من جدران الشرايين اللولبية بل يمتد إلى الطبقة العضلية للشريان وهي صفوف عدّة من العضلات الملساء والتي تجتمع لتكون الطبقة الوسطى من جدار الشرايين (Handschuh *et al*.,

(2007 . وتقوم الخلايا الغاذية أيضا بإفراز مواد تساعد في حدوث عملية الموت المبرمج في العضلات الملساء (Whitley and Cartwright, 2009 ؛ Katayama *et al.*, 2002 ؛ Erel *et al.*, 2001 ؛ Ejima *et al.*, 2000). والنتيجة النهائية هي تكوين شريان لولبي بمواصفات تختلف تماما عن مواصفاته التي كان عليها قبل الحمل مما يعطي للشريان القابلية على زيادة الدفق الدموي خلاله ولكن من دون زيادة في ضغط الدم (Harris2010,) ؛ ومن المعروف ان احد مسببات فشل الحمل في هذه الفترة هي الزيادة في ضغط الدم لدى الإناث الحوامل (Fas, 2002; Whitley and Cartwright, 2009).

٢-٣ ـ١ عملية الغرس *Implantation*

يبدأ الغرس أولا بالتصاق الكيسة الاريمية إلى جدار الرحم ويصاحب هذه العملية مرحلة من المتغيرات الهرمونية الضرورية ليصبح الرحم متقبلا للجنين (Enders, 2002) وعند منتصف اليوم السابع من الحمل تبدأ خلايا النسيج الساقطي Decidual tissue المتكون حديثا بالإحاطة بالجنين Conceptus (Carter *et al.*, 2008؛ Wang *et al.*, 2004؛ Murphy, 2000) فالغرس إذن هو عملية تفاعل فسيولوجي بين الكيسة الاريمية Blastocyst وبطانة الرحم Endometrium وهى تختلف من حيوان لآخر حسب نوع التسخيد Placentation (Carter *et al.*, 2006 ؛ Furukawa *et al.*, 2011b؛ Guillomot *et al.*, 1995؛ Murphy, 2000؛ Abrahamsohn *et al.*, 2002).

تكون أولى المتغيرات المصاحبة لعملية الغرس متمثلة بزيادة نفاذية الأوعية الدموية للرحم في منطقة الغرس (Adamson *et al.*, 2002؛ Harris, 2009) إذ ان فشل هذا التناغم بين هذين التركيبين ، الكيسة الاريمية وبطانة الرحم ، ينتج عنه فشل الغرس وبالتالي الحمل (Sharkey and Smith, 2003). وواحد من مسببات هذا الفشل هو استعمال العقاقير الطبية لمعالجة بعض الأمراض خاصة بالفترة المبكرة من الحمل مثال ذلك العقاقير المستخدمة لمعالجة أمراض المشعرات والبكتريا اللاهوائية كمجموعة الـ Clostridiums (Ornelas-Aguirre *et al.*, 2006 ؛ Jorgensen *et al.*, 2011) ولكون فترة الغرس فترة مهمة (Karmakar and Das, 2002) فلهذا يجب الاهتمام بإعادة دراستة بالطرق الكيمونسجية والهرمونية (Kelly *et al.*, 2001؛ Herington and Bany, 2007؛ Sun *et al.*, 2010).

يصاحب ابتداء الغرس في الجرذان ظهور تفاعل النسيج الساقطي في المنطقة المضادة للمساريق الرحمي لبطانة الرحم وهذا التفاعل بالأساس هو تمايز خلايا بطانة الرحم إذ تزداد المنطقة المتفاعلة في الحجم وتنتشر بعدها في اليومين التاليين نحو بطانة الرحم المقابلة للمساريق الرحمي (Harvey, 1964). فعند منتصف اليوم الخامس من الحمل يتصل الجنين بظهارة بطانة الرحم في الجهة المضادة للمساريق الرحمي لينتظم بعدها الجنين في داخل بطانة الرحم (Enders and Carter, 2006؛ Enders, 2000). تكون بطانة الرحم في أثناء الغرس في حالة إفراز نتيجة لتأثرها بهرمون البروجيستيرون Progesterone (Kelly *et al*., 2001 ؛Wang *et al*., 2004 ؛Mojdeh *et al*., 2006) إذ أن أول بوادر تأثير هذا الهرمون ممكن تمييزها بعد يوم أو يومين من عملية التبويض عند ذلك الوقت تكون الغدد الرحمية Uterine glands والشرايين ملتفة الشكل والنسيج غض عُصاري (Anin *et al*., 2004).

٢ – ٣ ـ ٢ مراحل الغرس *Stages of implantation*

قسمت المرحلة الابتدائية لعملية الغرس في الجرذان و الفئران على طورين :-

الأول: طور ماقبل الاتصال Preattachment phase والثاني طور الاتصال Attachment phase بين الكيسة الاريمية وظهارة الرحم. ففي الطور الأول أي في مرحلة ما قبل الاتصال تكون الكيسة الاريمية سابحة بحرية في تجويف الرحم ويصبح سطح الظهارة متموجا عند اقتراب وقت عملية الغرس (Murphy, 2000) ويضيق تجويف الرحم قبل عملية الغرس بقليل إذ تحاط الكيسة الاريمية في الجهة المضادة للمسراق الرحمي بتجويف يفصلها عن التجويف الرئيسي للرحم وتصبح الطبقة الغاذية في داخل ممر ضيق من البطانة الرحمية (First stage of closure) (Enders and Schlafke,1972). ان هذا التضييق لتجويف الرحم هو جزء من عملية التحضير لعملية الغرس (Finn and Porter, 1975). في هذه المرحلة تتداخل الزغابات الدقيقة لبطانة الرحم مع تلك الموجودة في الطبقة الغادية المقابلة لها ولهذا السبب فأنها تدعى بمرحلة الضم Apposition stage (Lee and Demayo, 2004).

يحدث في المرحلة الثانية من الغرس (طور الاتصال) في الجرذان تسطح الوجوه المتقابلة في أثناء عملية الغرس تحت التأثير الهرموني الذي يتعرض له الرحم بالنسبة إلى الطبقة الغاذية وخلايا ظهارة سطح الرحم (Wooding and Burton, 2008

(Vercruysse *et al.*, 2006 ;) ويحدث اتصال مباشر فيما بينها إذ تختفي الزغابات الدقيقة ويظهر بدلها بروزات لها شكل الهراوة من سطح الرحم تدخل في انخفاضات في الطبقة الغاذية (Ender and Liu, 2000 ; Jones *et al.*, 2001). وتشمل هذه المرحلة أيضا على زيادة فعالية الارتشاف Resorptive activity لظهارة الرحم (Hay, 2006 ؛ Carson *et al.*, 2002). يمكن الاستدلال على مكان الغرس بحقن الحيوان وريديا بصبغة البونتامين الزرقاء Pontamine sky blue والتي تعطي مؤشرا إلى مناطق الغرس (Hedlund *et al.*, 1972) إذ تنتشر هذه الصبغة في منطقة الغرس التي يصاحبها زيادة في نفاذية الأوعية الدموية (Herington and Bany, 2007 ؛ Carter *et al.*, 2007).

لقد أشار الباحث Nilsson (1972) إلى وجود علاقة ايجابية بين حدوث التفاعل الاتصالي وقابلية الطبقة الغاذية على الاجتياح Invation . ففي بعض أنواع الحيوانات يكون الاتصال بين نسيجي الظهارة والطبقة الغاذية على شكل معقد اتصالي Junctional complex مثل ابن مقرض وخنزير غينا والأرنب (Enders and schalfke, 1969). فضلا عن التغيرات في سطح الظهارة هناك أيضا تغيرات في الغشاء الخلوي الخارجي للطبقة الغاذية تدل على حصول رد فعل في المنطقة (Waddell *et al.*, 2000). أما التغيرات التي تحدث في السدى الرحمي Uterine stroma عند حدوث التفاعل الساقطي فتمثل تحول خلايا السدى إلى خلايا ساقطة يسبقها زيادة في نفاذية الأوعية الدموية الموجودة في السدى وتخزيب السدى Odematous (Wooding and Burton, 2008).

يتصف نسيج السدى الرحمي بوجود خلايا تشبه الاورمات الليفية المغزلية ويوجد بينها فسح بينية Interstitial spaces وحزم من الألياف تشبه الألياف الغراوية Collagen fibers لاسيما تحت الظهارة التجويفية Luminal epithelium (Lopata *et al.*, 2002) وتكون خلايا السدى نوعاً ما اكبر ومتراصة إلى بعضها وهي في مرحلة انقسام استعدادا للتمايز وتحولها إلى خلايا النسيج الساقطي. يحتوي السدى على قليل من الخلايا البلعمية الكبيرة Macrophages وخلايا الدم البيض وتظهر الغدد عادة في الجزء المضاد للمساريق الرحمي من السدى في منتصف المسافة بين الظهارة التجويفية والطبقة العضلية للرحم (Jones *et al.*, 2007).

تحدث عملية التحول الساقطي Decidual transformation في معظم أنواع الثدييات مثل القوارض Rodentia والقرود العليا وآكلات الحشرات Anthropodia

Insectivora وأنه لا توجد خلايا ساقطة حقيقية في آكلات اللحوم Carnivora ومزدوجات الأصابع Artiodactyls (Mossman,١٩٨٧) ولكن البحوث أشارت الى وجود خلايا ساقطة في بعض أنواع آكلات اللحوم وهذا يعتمد على إشارات من الكيسة الاريمية لإطلاق التفاعل الخلوي للنسيج الساقطي (Pijnenborg and Vercruysse, 2010؛ Anderson, 1969).

ذكر الباحث Kennedy (1983) من خلال استعراضه لعدد من الدراسات ان طبيعة الزيادة الموضعية لنفاذية الأوعية الدموية لبطانة الرحم عند الغرس هي نتيجة الاستجابة إلى إشارات من الكيسة الاريمية وطبيعة هذه الإشارات ربما تكون فيزيائية أو بفعل الهستامين أو بفعل الاستروجين من الأم أو البروستاكلانديات المنتجة من الكيسة الاريمية وبطانة الرحم بحيث لايمكن إهمال أي من هذه الإشارات ، ولكون سلسلة الأحداث المتعاقبة التي تحدث في عملية الغرس بين الكيسة الاريمية وبطانة الرحم لتكوين النسيج الساقطي هي نفسها التي تحدث عند عمل هذا النسيج اصطناعياً بالطرق المختلفة كاستعمال الثقوب أو الخيوط أو تقنيات تحفيز النمو الساقطي بالحوافز الكهربائية Electrical stimuli أو السحجات Scratches أو القَرص الميكانيكي Mechanical clamping أو تقطير بعض المحفزات الكيميائية داخل الرحم مثل الهستامين وزيت الفستق Arachic oil أو حقن الهواء، فقد استعملت هذه الطرق في الأبحاث والدراسات لتحفيز نمو النسيج الساقطي (Carson *et al*., 2002).

ان ظاهرة تكون الخلايا الساقطة تحتاج إلى شيئين ضروريين في الأقل لنجاح تحفيز هذه العملية واستمرارها وهي : أولا استجابة بطانة الرحم التي يمكن الحصول عليها من خلال فعل الهرمونات المبيضية (الاستروجين والبروجيستيرون) بتعاقب مناسب (Spencer *et al*., 2004؛ Spencer and Bazer, 2002) ، وثانياً المحفز للعملية والذي يستحصل عليه بوساطة الهستامين مباشرة أو بوساطة مواد محررة للهستامين أو مؤثرات مثل الكلم Trauma (Knofler, 2010).

ان من الملاحظات المبكرة لبدء الغرس هي :

أولا: ابتداء الغرس بالتصاق الجنين (الحمل Conceptus) الى جدار الرحم ويصل أعلى درجة له بتكوين السخد Placenta (Harvey, 1964؛ Koh *et al*., 2003).

ثانيا: لكي يبدأ الغرس يجب أن يتطور الجنين ويصل الى مرحلة معينة ليدخل بعدها الرحم في مرحلة التغييرات الهرمونية الخاصة ليصبح مستعدا لتقبل للجنين (Krehbiel, 1987).

ثالثا: مرحلة الكيسة الاريمية Blastocyst في جنين الجرذ والفأر تهيئ لبدء عملية الغرس في طور غامض بين اليومين ٥ و ٦ من بدء الحمل (ان ظهور سدادة المهبل في صباح اليوم التالي للتزاوج يُعد اليوم الأول للحمل (Bany and Cross, 2006).

رابعا: الملاحظة المبكرة الأخرى المرافقة لبدء الغرس هي زيادة نفاذية أوعية بطانة الرحم في أوعية غرس الجنين (Demir *et al.*, 2010) ؛ يتبعها تحول نسيج بطانة الرحم الى نسيج ساقطي Decidual tissue في قطعة الغرس لبطانة الرحم، والعملية يُشار إليها بتكون النسيج الساقطي Decidualization (Lokugamage *et al.*, 2010).

تحتوي منطقة النسيج الساقطي DZ درجة عالية من الارتباطات مابين الخلايا وهي على عدّة أنواع : ارتباط مصمت Tight junction وارتباط فسحوي Gap junction وارتباط التحامي Junctional junction (Tung *et al.*, 1986 ؛ Paria *et al.*, 1999) وتكون غير وعائية ومتطورة جدا عند منتصف اليوم الخامس من الحمل في الفأر (Herington and Bany, 2007 ؛ Abrahamsohn *et al.*, 2002 ؛Abrahamsohn, 1983) لذلك فهي تزود الجزيئات الكبيرة خارج الخلوية بحاجز نفاذي ويعتقد انها تساعد بوقاية الجنين الفتي (Tung *et al.*, 1986) ويستمر تكون النسيج الساقطي باتجاه العضلة الرحمية Myometrium في المنطقة المضادة للمساريق الرحمي Antimesometrial region مكونة نطاقاً نسجياً ساقطياً يشمل معظم بطانة الرحم (Johnson *et al.*, 2003 ؛ Parr and Parr, 1986) .

٢- ٣ -٣ أنواع الغرس *Types of implantation*

من أنواع الغرس هو الغرس غير الاجتياجي Non invasive والآخر هو ألاجتياحي Invasive (خلالي). يحدث النوع الأول من الغرس في الحيوانات الحقلية مثل الخيول والأغنام والأبقار إذ تكون الخلايا الغاذية للاريمة الكيسية ممتلئة وسطحية في اتصالها مع الطبقة الظهارية لبطانة الرحم (Hayes *et.al.*, 2008 ؛ Enders and Carter, 2006 ؛ Lee and Demayo, 2004 ؛ Lim *et al.*, 2002) ويحدث النوع الثاني في الإنسان

والقوارض إذ تخترق الخلايا الغاذية للكيسة الاريمية ظهارة بطانة الرحم متجهة الى سدى بطانة الرحم (Bany and Cross, 2006 ؛ Hayes *et.al.*, 2008).

هناك تباين بين الحيوانات المختلفة بالنسبة الى العلاقة بين الكيسة الاريمية وبين الرحم (Yoshinaga and Adams, 1966) . ففي بعض الحيوانات تمتد هذه الكيسة ويزداد حجمها بشكل ملحوظ قبل الغرس ثم تتصل بمساحة كبيرة على سطح تجويف الرحم وهذا يدعى بالغرس المركزي Central implantation ويحصل هذا في الأرانب والكلاب (Holst and Phemister, 1971) وابن مقرض Ferret (Enders and Schlafke,1972) وفي أنواع أخرى تبقى الكيسة الاريمية صغيرة وتتجه إلى الجهة المضادة للمساريق الرحمي من تجويف الرحم إذ تحفز بطانة الرحم يتبعها تكوين النسيج الساقطي ويسمى هذا النوع من الغرس بالغرس اللامركزي Eccentric implantation ويحصل في الفأر والجرذ والهامستر (Carter *et al*., 2006).

يتموضع القرص الجنيني Embryonic disc في الفئران والجرذان بعيدا عن ظهارة الرحم (Anderson, 1969) بينما يتموضع في الإنسان باتجاه ظهارة الرحم (Harris *et al*., 2009). إن الآلية المسؤولة عن اتجاه الكيسة الاريمية لأماكن معينة في الرحم غير معروفة لحد الآن فاما أن يكون السطح ألتجويفي في هذه المناطق له خاصية جذب الكيسة الاريمية أو أن هناك قوة من الكيسة الاريمية تدفعها بهذا الاتجاه (Makrigiannakis and Minas, 2007). بشكل عام لا يوجد اختلاف واضح بين مختلف أجزاء الرحم ماعدا السدى Stroma في الجهة المضادة لمساريق الرحم فإنها ذات أوعية دموية أكثر مما هو عليه في جهة المساريق الرحمي فعند وضع قطع من عضلات أو خرز بلاستيكية Plastic beads في تجويف الرحم فإنها تتصل في الجهة المضادة لمساريق الرحم ، إن سبب اتجاه القرص الجنيني دائما باتجاه مساريق الرحم في الفئران غير معروف غير أن هناك اعتقادا بأن الغرس يحدث في موقع القرص الجنيني عشوائيا ولكن بعد الاتصال تتحرك الخلايا الجنينية حول السطح الداخلي للطبقة الغاذية حتى تصحح موقعها (Harris, 2009 ؛ Wooding and Burton, 2008).

إنّ العلامة المتطورة المبكرة لغرس الكيسة الاريمية Blastocyst هي الزيادة في نفاذية أوعية بطانة الرحم الواقعة بالمنطقة المجاورة للكيسة الاريمية (Dey, 2004). إن هذه الزيادة بالنفاذية في مراحل الغرس الاولى تبدو ضرورية كمطلب أولي للغرس خاصة في

أنواع الحيوانات التي تتمايز فيها خلايا السدى Stroma الى خلايا نسيج ساقطي Decidual cells (Decidualization) وإن هذه الزيادة بنفاذية أوعية بطانة الرحم تسرّع من عملية تمايز الخلايا الساقطة (Cross, 2005).

٢- ٣ – ٤ الغرس في اليوم السابع من الحمل *Implantation on 7 dpc*

عند منتصف اليوم السابع من الحمل يحاط الجنين Conceptus بخلايا النسيج الساقطي فى المنطقة المضادة للمساريق الرحمي من بطانة الرحم إذ تكون بعض خلايا النسيج الساقطي متراصة مع بعضها مكونة ما يسمى منطقة النسيج الساقطي الابتدائي Primary Decidual Zone (PDZ) (Paria *et al.*, 1999) ويحيط هذه المنطقة منطقة اخرى من النسيج الساقطى تتصف فيها الاوعية الدموية في هذا اليوم بكونها عالية النفاذية للجزيئات الكبيرة والتي من الممكن أن تصبح لصيقة مع خلايا الجنين، لذلك فان تكوّن الـ PDZ يزودنا بحاجز نفاذية مؤقت بين الام والجنين لحماية الجنين المغرس حديثا (Cross, 2005).

في اليوم الثامن من التطور والنمو تنغمس الأرومة الكيسية جزئيا في سدى بطانة الرحم Endometrial stroma وتتمايز في هذا اليوم الخلايا الغاذية الى طبقتين : أولا:- طبقة داخلية من خلايا غاذية مدمجة النوى Cytotrophoblast وثانياً:- طبقة خارجية مدمجة النوى (مخلاوية) Syncytiotrophoblast وهذه الطبقة لايوجد فيها انقسام خيطي Mitotic division لذلك يزداد سمكها باضطراد (Karmakar and Das, 2002) وهذا يعطي إشارة بان الخلايا الغاذية تنقسم في Cytotrophoblast ومن ثم تهاجر لداخل الطبقة المخلاوية حيث تتحد وتفقد الغشاء الخاص بها (Cornelis *et al*., 2012).

أما كتلة الطبقة الداخلية أو الأرومة الجنينية فتتمايز كذلك الى طبقتين: الأولى طبقة من خلايا صغيرة، مكعبة تعرف كطبقة أديم باطن جرثومي Endodermal germ layer وثانياً طبقة خلايا عمودية عالية وهي طبقة أديم خارجي جرثومي Ectodermal germ layer، وخلايا كل من الطبقتين الجرثوميتين تكوّن قرصاً مسطحاً وكلتاهما تعرفان بالقرص الجرثومي ثنائي الصفيحة Bilaminar germ disc (Carter and Enders, 2004) وفي الوقت نفسه يظهر جوف صغير خلال الأديم الظاهر Ectoderm هذا التجويف يتوسع ليصبح الجوف السَّلي Amniotic cavity (Carter and Martin, 2010). وخلايا الأديم

الظاهري المجانبة للـ Cytotrophoblast تدعى Amnioblast وكلاهما مع بقية الأديم الظاهر يبطنون الجوف السّلي (Carter *et al*., 2004 ؛ Sharkey and Smith, 2003). تكون سدى بطانة الرحم Endometrial stroma في موقع الغرس خزبية Edematous ووعائية Vascular بدرجة عالية والغدد الملتوية الكبيرة تفرز الغراوين Glycogen ، ومخاط Mucine بكمية وفيرة (Wang *et al*., 2004).

2 – ٣ - ٥ الغرس في اليوم التاسع من الحمل *Implantation on 9 dpc*

بعد إتمام عملية الغرس في المنطقة المضادة للمساريق الرحمي من بطانة الرحم يبدأ الجنين بتحويل اتجاه وجوده الى البطانة الرحمية المقابلة للمساريق الرحمي Mesometrial site يصاحب هذا الانتقال تغيير في السدى الرحمي لتلك المنطقة كرد فعل لوجود الجنين فيها (Parast, 2001 ; Lim *et al*., 2002) وخلال هذه الفترة تنطمر الكيسة الأريمية عميقا في بطانة الرحم (Bany and Cross, 2006) وخلالها أيضا يبدأ تدفق الدم كثيرا الى منطقة الجنين مؤسسا الدورة الرحمية السخدية The uteroplacental circulation (Koh *et al*., 2003;Whitley and Cartwright, 2010;Cornelis *et al*., 2012) ، ثم تخترق الكيسة الاريمية الأديم الباطن والاختراق يكون ناقصاً بالسطح الظهاري وينغلق بليفين متجلط Fibrin coagulum (Bany and Cross, 2006)، وتظهر تقدم بالتطور خاصة عند القطب الجنيني، إذ تظهر الفجوات بالنسيج المخلاوي وعند التحام هذه الفجوات تكون فجوة كبيرة وتعرف هذه المرحلة من تطور الكيسة الاريمية بالمرحلة الفجوية Lacunar stage (Mojdeh *et al*., 2006).

عند القطب البعيد عن الجنين وفي أثناء تأصل الخلايا المسطحة من الأديم الباطن تكوّن غشاءاً رقيقاً يعرف بـ Exocoelomic (Heuser's) Membrane والذي يبطن السطح الداخلي للارومة الغاذية الخلوية Cytotrophoblast، هذا الغشاء مع الأديم الباطن يكونان بطانة التجويف الخارجي Exocoelomic cavity (كيس المح الابتدائي) Primitive yolk sac. ان خلايا الأديم الظاهر الغاذي Trophectoderm في المنطقة المتسعة تكون عمودية مقارنة مع المناطق المحاذية للمنطقة المتسعة التي تكون مكعبة وهذا التحوير مرتبط بالتغيرات بطول واتجاه الخيوط الدقيقة Microfilaments على طول الحواف الخارجية للخلايا وإعادة توزيع الهيولي Cytoplasm الى السطح ألقمي لخلايا الأديم الظاهر الغاذي (Lopata *et al*., 2002 ؛ Goodwin and Yap, 2004).

يحتاج الاتصال الأولي للجنين الى ظهارة تجويف الرحم الى فقد المكونات المانعة للالتصاق وبصورة رئيسية المخاطين من الكيس السكري Glycocalyx الذي يغطى بطانة تجويف الرحم التي تكبح الاتصال (Burgharde *et al.*, 2009) والمخاطين هي مادة داخلية تعبر الغشاء الخلوي للسطح ألقمي لظهارة تجويف الرحم والتي تعتبر كحاجز للغرس، ويقل المخاطين حوالي منطقة الغرس Per implantation أو في مواقع اتصال الكيسة الاريمية كما في الإنسان والأرنب بسبب نشاط سطح خلايا الغاذية الفارزة للانزيمات الحالة Lytic proteases وفقدان تعبير مستلمات هرمون البروجيستيرون في ظهارة تجويف الرحم (Burgharde *et al.*, 2009 ؛ Hess *et al.*, 2007 ؛ Carson *et al*,. 2002 ؛ Johnson *et al.*, 2003). فعلى الرغم من وجود الاختلافات في استمرار فترة ما قبل الغرس ونوع الغرس (فيما إذا كان غير اجتياحي كما في حيوانات المزرعة ,Anderson) (1969 أو اجتياحي كما في القوارض وآكلة اللحوم واللبائن العليا Primates فان المراحل الابتدائية لنشوء التراكم (المصاقبة Apposition) أو الاتصال Junction هي مشتركة فيما بين الأنواع (Spencer *et al.*, 2007; Bazere *et al.*, 2008 ; Bazere *et al.*, 2009).

٢ـ ٤ وظيفة النسيج الساقط الابتدائي

Function of Primary Decidual Tissue

يعد النسيج الساقطي الابتدائي احد أجزاء النسيج الساقطي والذي يتكون في الفئران والجرذان في المنطقة المباشرة لانغراس الكيسة الاريمية (Wooding and Burton, 2008 ؛ Guillomot, 1995). إن وظيفة النسيج الساقط الابتدائي غير مفهومة جيداً بعد فالدراسات الحديثة اشارت بان هذه المنطقة :

أولاً: ممكن ان تعمل كحاجز مؤقت للنفاذية يحيط الارومة الكيسية Blastocyst خلال الغرس (Parr and Parr, 1986 ; Koh *et al.*, 2003).

ثانيا: عزل الكيسة الاريمية المغروسة Implanting Blastocyst عن باقي أجزاء بطانة الرحم بسبب تأثير الارتباط المصمت Tight junction ما بين الخلايا الساقطية (Dimitriadis *et al.*, 2010).

ثالثا: إن منطقة حزام النسيج الساقط الابتدائي نفاذة اختيارية للمواد المضافة للدم المستعملة كـ Tracers مثل Fluorescent iso الواصل للمنطقة عند اليوم السادس والسابع من الحمل حيث ان النسيج الساقط الأولي يعمل كواقي Protective للجنين غير القادر على حماية نفسه من النسيج الظهاري لبطانة الرحم. ان منطقة النسيج ألساقطي الابتدائي في الجرذان تكون انتقالية Transitional وغير وعائية Avascular ومتكونة من أرومات ليفية متحولة Transformed fibroblasts تحيط الجنين المغرس (Mojdeh *et al*., 2006).

رابعا: التغذية بسبب تراكم خزين الكلايكوجين Glycogen stores (Jones *et al*., 2007؛ Cross and Mickelson, 2006؛ Clark *et al*., 1993).

خامسا: انتاج الهرمونات إذ وجد تفاعل لهرمون البرولاكتين السخدي Placental Prolactin في خلايا النسيج الساقطي (Knofler, 2010).

سادسا: يعمل كحاجز مناعي Immunological barrier ضد ما يتعلق بتضرر الجنين (Scott ٨٩ 2000).

أشارت دراسات اقتفاء اثر النسيج الساقطي الابتدائي Tracer studies بالمجهر الالكتروني الى أن هذا النسيج يكون نفاذاً اختيارياً للجزيئات الكبيرة Macromolecules، ونفاذيته تقل بزيادة الوزن الجزيئي للمادة المستعملة في تتبع الأثر . تتكون فسح بينية بشكل جيوب متوسعة بين الخلايا الساقطة ولييفات غراوية Collagen fibrils ومادة كثيفة غير متبلورة الشكل. هذه المكونات ما بين الخلايا منفصلة بوساطة الخلايا الساقطة. وقد أشارت الدراسات إلى أن الخلايا الساقطة مرتبطة بإحكام وان الجزيئات الكبيرة فوق 40 kda تعبر الغشاء الساقط الابتدائي بسهولة (Parr *et al*., 1986).

إن شكل منطقة النسيج الساقط الابتدائي برحم الجرذان هو شكل كأسي يتكون من خلايا اريمية ليفية متحولة Transitional Fibroblast ومن خلايا جوفية ظهارية Luminal epithelial cells عند الجهة المضادة للمساريق الرحمي وتكون منطقة انتقالية Transitional zone تظهر أولا باليوم السادس وتتقهقر عند اليوم التاسع من الحمل (Carter *et al*., 2004).

لقد سجل الباحثون Enders and Schlafke, (1967) و Krehbiel, (1987) عدم وجود الشعيرات الدموية في منطقة حزام النسيج الساقط الابتدائي بينما وصفت هذه التراكيب

بوضوح بالمجهر الالكتروني الماسح (Rogers *et al*., 1983 ; Harris *et al*., 2009) إذ أوضحت الدراسات التركيبية الدقيقة لهذه المنطقة انه خلال تكوّن النسيج الساقطى Decidualization فان طبقة خلايا الاريمة الليفية Fibroblast المحيطة للتو بالطبقة الظاهرية الجوفية تتحول الى طبقة ظهارانية Epitheloid (Adamson *et al*., 2002) وان الاريمات الليفية تكبر مكونة اتصال مباشر بين الخلايا والمواد الليفية المتجمعة (Lim *et al*., 2002 ؛ Sharkey and Smith, 2003 ؛ Spencer *et al*., 2007 ؛ Parr *et al*., 1986 ؛ Parast *et al*., 2001). كما أوضح الباحثان Makrigiannakis and Minas (2007) بان الخيوط الدقيقة والانيبيبات الدقيقة Microtubules للخلايا الساقطة الاولية والليفات الغراوية خارج الخلايا تنتظم موازية لخط جهة المساريق – ومضاد المسراق الرحمي Mesometrial – anti mesometrial plane لبطانة الرحم. اشار الباحثون Hess *et al*., (2007) و Gumbiner, (1993) الى وجودعدة انواع من المعقدات بين الخلايا الساقطة Intercellular junctions منها معقدات ترابطية Junctional complexes وقد لوحظت بالنسيج الساقطي الأولي بالجرذان خلال الحمل الاعتيادي وترابطات فسحوية Gap junctions بالجرذان (Herington and Bany, 2007) وبالفئران (Abrahamsohu, 1983; Sharkey and Smith, 2003 ; Finn and porter, 1975) ؛ صور المجهر الالكتروني Ultra structures لبطانة الرحم على الجهة المضادة للمساريق الرحمية إذ يقع الغرس اولا بالجرذ أوضحت انه خلال تكون الورم الساقطي Deciduama فانه يحتوي ، مثلما في الارحام المتساقطة خلاياها طبيعيا ، يحتوي على خلايا متعددة النوى Polyploid مرصوصة بقوة كبيرة والحاوية على تصبيغ Interdigitation غزير بين الخلايا ومعطيا دليلا ظاهريا لتخليق البروتين (O'Sher *et al*., 1983 ; Hayes *et al*., 2008) فضلا عن ان لهذه الخلايا سطح متخصص يميل الى الالتصاق Adhesion وارتباطات التصاقية متماسكة Adherence junctions محتفظة بمنطقة نتوءات صفائحية ممتدة Lamellar processes (Enders and Carter, 2004).

إن الترابطات المصمتة Tight junctions هي أحدى سمات الخلايا الظهارية (Gumbiner, 1987) إذ تعمل كحاجز إحاطة (Tsukita and Faruse, ٢٠٠٠ ; Tsukita *et al.*, 1999) وتتكون الارتباطات المصمتة حين يتجمع الـ Transmembrane protein عند منطقة اتصال خلية الى خلية بتكوين شبكة معقدة بالارتباط مع البروتين الخلوي الهيكلي Cytoskeletal والخلوي البلازمي Cytoplasmic (Irwin *et al.*, 1994) ونشوء هذا المعقد ضروري للحفاظ على الطراز المظهري للظهارة وتقوية التصاق خلية – خلية وانتقال الاشارات بين الخلايا المتجاورة ويعمل كحاجز فيزياوي ينظم نفاذية الخلايا المجاورة (Murphy, 2000؛ Gumbiner, 1993؛ Gumbiner, 1987) والـ Occludin هو أول بروتين يظهر (Saitou *et al.*, 1998؛ Furuse *et al*.,1993).

إن اتصال الكيسة الاريمية وغرسها في بطانة الرحم يؤسس لعملية تكون الخلايا الساقطة التي تنشأ من تضاعف وتمايز خلايا سدى الرحم الى حاجز خلوي يحيط تماما بالكيسة الاريمية المغروسة (Kennedy, 1997 ؛ Katayama *et al*., 2002) ونتيجة لعملية تكون النسيج الساقطي من خلايا السدى عند موقع الغرس فان كتلة خلايا النسيج الساقطي حول كل جنين مغروس تزداد في الحجم (Lee and Demayo, 2004) ؛ إذ يتبع هذا عملية ولوج الخلايا الغاذية للسدى الساقطي مع فقدان ظهارة التجويف الرحمي (Enders *et al.*, 2006). فضلا عن ذلك أشار الباحثون Enders and Schlafke (1967) و Rogers *et al*. (1983) الى أن النسيج الساقطي يحيط الجنين لينظم محيط الرحم الدقيق للنمو الجنيني ويعمل كحاجز جزئي لحماية الجنين من رفض الأم لوجود الجنين (Pandian *et al.*, 1988).

٢ــ ٥ ـ ١ السيطرة الهرمونية لعملية الغرس

Hormonal control of implantation

تؤثر الهرمونات المبيضية في خلايا بطانة الرحم وتجعلها حساسة للكيسة الاريمية وتحفزها للاستمرار في نموها (Parr and Parr, 1986; Bazer *et al*., 2008) ولكن خلال فترة الشبق تتغير تراكيز الهرمونات إذ لاتتحسس بطانة الرحم للكيسة الاريمية وبذلك لاتستطيع الأخيرة الاتصال ببطانة الرحم وذلك ما يعيق نموها (Soares, 2004).

إن معظم المتغيرات الفسيولوجية المظهرية لتطور الجنين تحدث في منطقة الغرس (Spencer and Bazer, 2002 ؛ Koh *et al*., 2003 ؛ Spencer *et al*., 2004) لهذا السبب أصبح من الضروري الاهتمام بالسيطرة الهرمونية للغرس وإعادة دراسة وفحص الغرس في أجنة الجرذان بالطرق الكيمونسجية (Bany and Cross, 2006) ، يكون نمط افراز هرمونات البروجستيرون والاستروجين بكمية ووقت يسيطر بها على حدوث تحسس في الرحم وتهيئة الرحم لعملية الغرس (Kelly *et al*., 2001 ؛ Finn and Martin, 1972 ؛ De Feo, 1967) وتتحدد فترة التحسس هذه للرحم في اليوم الثالث بفعل البروجيستيرون (Mojdeh *et al*., 2006).

يتضمن التنظيم الهرموني للغرس سلسلة متبادلة ومتقدمة من التناغمات فيما بين خلايا الاديم الغاذي الظاهري Trophectoderm للجنين وبطانة الرحم خلال نافذة التقبل للغرس Window of receptivity (Bazer *et al*., 2008, 2009 ؛ Slayden and Keater, 2007 ؛ Spencer *et al*., 2007 ؛ Fazleabas *et al*., 2004).

٢ـ ٥ ـ ٢ دور الهرمونات *Role of hormones*

يعتمد تسطح خلايا ظهارة الرحم على الهرمونات ويحدث في المرحلة الثانية من التضيق التي يمكن أن تحدث في الفئران المعالجة بالبروجيستيرون بعد تحضير الرحم بوساطة الاستروجين (Estrogen priming uterus) . ان حدوث التفاعل الاتصالي بين الكيسة الاريمية والرحم الذي يسبق المرحلة الثانية من التضيق في الأجزاء الاخرى من الرحم يشير الى أن الكيسة الاريمية تسرع من التغيرات في السطح التجويفي للرحم (Soares, 2004) وتحدث التغيرات في ذات الوقت الذي تستطيع فيه صبغة البونتامين الزرقاء Pontamine Sky Blue (PSP) إعطاء مؤشر الى مناطق الغرس، وقد لوحظ التفاعل الاتصالي في خنزير غينيا والهامستر ولكن ليس في الارنب والقرد (Hedlund *et al*., 1972) . أشار الباحث Nilsson, (1972) الى ان هناك علاقة سلبية بين حدوث التفاعل الاتصالي وقابلية الطبقة الغاذية على الاجتياح ، ففي بعض أنواع الحيوانات يكون الاتصال بين نسيجي الظهارة والطبقة الغاذية على شكل معقد اتصالي (Junctional complex) مثل ابن مقرض وخنزير غينا والارنب (Spencer *et al*., 2004). فضلا عن التغيرات في سطح الظهارة هناك أيضا تغيرات في الغشاء الخلوي الخارجي للطبقة الغاذية تدل على حصول رد فعل في المنطقة (Murphy *et al*., 1981) أما التغيرات التي تحدث في السدى عند حدوث

التفاعل الساقطي فتمثل تحول خلايا السدى الى خلايا ساقطة يسبقها زيادة في نفاذية الاوعية الدموية الموجودة في السدى وتخزّب السدى Odema (Fazleabas, 2007).

تتحدد استجابة بطانة الرحم بمدة تحددها السيطرة الهرمونية للرحم تتحسس خلالها بطانة الرحم للكيسة الاريمية تحدث في معظم الانواع خلال الطور اللوتيني من الدورة الجنسية ، وفي الوقت الذي توجد فيه الكيسة الاريمية داخل الرحم وتبقى لفترة قصيرة جدا وعندما لا يحدث الغرس فان الرحم سوف يتراجع عن حالته المتحسسة الى طور آخر من الدورة الجنسية . هناك بعض الحيوانات ليس لها طور ليوتيني خلال دورتها الجنسية ولكنها تحتاج الى إشارة الجماع أما لإحداث تطور كامل واستمرار للجسم الأصفر Corpus Iuteum مثل الجرذان والفئران واللاموس او لإحداث الاباضة وتكوين الجسم الأصفر مثل الأرانب والقطط وابن مقرض وهذه لايمكن أن يحفز رحمها للغرس ما لم تتزاوج فضلا عن أن الرحم يثبط نمو الكيسة الاريمية حتى يتحسس بفعل الهرمونات المبيضية (Finn and Porter, 1975).

اثبتت التجارب التي قام بها Yoshinaga and Adams, (1966) أن حقن البروجيسترون بمفرده خلال فترة قبل الكلم لايحدث درجة التحسس التي تظهرها الجرذان التي هيأت للحمل الكاذب بل يحتاج الى الاستروجين لإحداث نمو ساقطي طبيعي بعد عملية الكلم الميكانيكي لرحم الجرذ . تتحدد فترة التحسس للرحم في اليوم الثالث عندما يكون الكلم كيمياويا في الجرذان المهيأة للحمل الكاذب بفعل البروجيسترون (De Feo, 1963) وتتناسب طول فترة التحسس عكسيا مع قوة التحسس والأخيرة تتناسب طرديا مع جرعة الاستروجين خلال الفترة السابقة للكلم (Parr *et al*., 1986).

تؤدي الستيرويدات المبيضية الاستروجين والبروجيستيرون أدوارا مهمة بتحضير الرحم لغرس الكيسة الاريمية (Paria *et al*., 1993 ؛ Slayden and Keater, 2007) وعند قلة إفرازهما فان عملية الغرس سوف لن تبدأ ولكن بدلا عن ذلك فان الكيسة الاريمية والرحم سيدخلان في طور السكون والذي يعرف بالغرس المتأخر Delayed implantation (Paria *et al*., ؛ Spencer and Bazer, 2002 ؛ Lokugamage *et al*., 2010 1993).

إن تقبل الرحم للغرس يحتاج لفعل البروجيستيرون / او الاستروجين على الرحم لتنظيم الانتاج الموضعي للسايتوكينات وعوامل النمو وعوامل التضاعف الجيني

والبروستاكلاندينات خلال مسالك الافراز الجنبي Paracrine والذاتي Autocrine (Joyce *et al*., 2007b). تظهر أهمية البروجيستيرون في تنظيم البروستاكلاندينات لتكوين البروتينات الضرورية مثل Uterine milk proteins و Uteroferrin (Spencer *et al*., 1999 ؛ Spencer and Bazer, 2002). ان هرمون البروجيستيرون ضروري لنشوء الحمل والحفاظ عليه في كل اللبائن فهو يزيد من انتاج خلايا السدى عبر نظرية ان البروجيستيرون نوع Progestamedins يعمل على ظهارة تجويف الرحم وكذلك على خلايا الاديم الظاهر الغاذي (Bazer *et al*., 2009). في المجترات والخنازير الهرمونات المانعة لتحلل للجسم الأصفر Antiluteolytic hormones لقبول الحمل والحفاظ على الجسم الأصفر هي InterferonT (IFNT) و Estrodiol (E2) على التوالي والتي بدورها تحث مستلمات الاوكسيتوسين Oxytocine وبذلك تحث تحرير دفعات PGF2-α Prostaglandin المحللة للجسم الأصفر لمنع نكوص (تنكس Regression) الجسم الأصفر بتوجيه إفراز PGF2α لداخل تجويف الرحم حيث مكان تمثيله (Bazer *et al*., 2008 ,2009).

ان الصفة الشائعة لفترة ماقبل الغرس للحمل في حيوانات المزرعة والجرذان واللبائن العليا هي إنتاج الانترفيرونات type II (IFNS) من قبل الاديم الظاهر الغاذي Trophectoderm. يبدو أن الانترفيرونات IFNs تؤثر على تقبل الرحم للحمل وتكوّن النسيج الساقطي ونمو الاسخاد والتطور باللبائن العليا (المجترات والخنازير والقوارض) (Bazer *et al*., 2008, 2009). هذه الانترفيرونات لها قوة مضادة للفايروسات ومثبطة مناعية Immunosuppressive فضلا عن نشاطها الحياتي. ان تقبل الرحم للغرس يحتاج الى البروجيسترون P4 والذي يسمح لنشاط الانترفيرونات و Chorionic gonadotropin و Lactogenic hormones (Slayden and Keater, 2007 ؛ Fazleabas, 2007 ؛ Joyce *et al*., 2007a., 2007b).

ان الخلايا الغاذية المخلاوية Syncytiotrophoblast لجنين الإنسان تفرز Chorionic Gonadotropin (CG) من اليوم الثامن الى العاشر من وقوع الحمل ، فخلال الحمل يكون تعبير البروستوكلاندين Prostaglandin محدداً للنسيج الساقطي لبطانة الرحم لحين ضمان وصول البروجيستيرون P4 واستجابة بطانة الرحم له سامحاً لنشوء الحمل والحفاظ عليه (Fazleabas, 2007). ان نافذة تقبل الرحم للغرس في النساء The window of uterine

receptivity to implantation هي بين اليوم السادس والعاشر بعد التبويض واجتياح الجنين لبطانة الرحم تبدأ عند حوالي اليوم الحادي عشر فهرمون CG يعمل خلال تكوين LH-CGR من قبل ظهارة الرحم وخلايا السدى لتحفيز تكون النسيج الساقطي Decidualization لخلايا السدى والتي : ١) تفرز IGFBP1, Prolactine PRL ؛ ٢) زيادة الوذمة Edema ؛ ٣) تكوين خيوط اكتين العضلات الملساء Smooth muscle actin و Prostoglandin – endoperoxise synthase 2 ؛ ٤) زيادة تولد الأوعية الدموية Angiogenesis وتدفق الدم ؛ 5) ملامح Expression عامل مثبط ابيضاض الدم Leukemia inhibitory factor من الغاذية وهو أيضا يزيد تكون النسيج الساقطي لخلايا سدى بطانة الرحم (Fazleabas *et al*., 2004).

٢ ـ٦ تعرف الأم على الحمل ***Maternal Recognition of Pregnancy***

إن الحفاظ على ديمومة الحمل باللبائن يحتاج الى جسم اصفر فعال لينتج البروجيستيرون لدعم الوظيفة الإفرازية لبطانة الرحم الذي يسهم في التطور الجنيني المبكر والغرس وتكوين الاسخاد . إن تمييز الأم لإشارات الحمل من الجنين إليها يكون اما بوساطة الجسم الأصفر إذ تعمل الهرمونات مباشرة عليه للحفاظ على نشاطه او بفعل مضاد للجسم الاصفر كما في منع الهرمونات لإفراز الرحم من المواد المحللة للجسم الأصفر المتمثلة بالموثين Prosaglandin $F_2\alpha$ ، والنتيجة هي الحفاظ على نشاط الجسم الأصفر .

ان افراز البروجيستيرون وعوامل النمو والسايتوكينات تكون هي المسؤولة لتقبل الرحم لانغراس الجنين في معظم اللبائن (Fazleabas *et al*., 2004 ؛ Soares, 2004) . ففي القوارض عملية التزاوج تحفز تحرير البرولاكتين من الفص الامامي للغدة النخامية والتي تعمل كهرمون مغذي ابتدائي لتكوين الجسم الاصفر وانتاج البروجيستيرون ليمتد لليوم الثاني عشر من الحمل إذ تبدأ هرمونات Lactogenic المفرزة من الجنين والنسيج الساقطي الرحمي بالنشاط للحفاظ على نشاط الجسم الأصفر (Soares, 2004) .

يحفز هرمون البروجيستيرون P4 خلال نافذة الغرس في الانسان التطور المظهري للغدد الرحمية والنشاط الافرازي بوساطة غدد الرحم ونقصان في مستلمات الاستروجين والتي تؤثر على تقبل الرحم للجنين (Fazleabas, 2007) . ان مستلمات الاستروجين ومستلمات البروجيستيرون تنحصران في المنطقة القاعدية لبطانة الرحم Basal

mesoderm. تكون مستلمات البروجيستيرون قبيل الغرس بكمية وفيرة في خلايا سدى الرحم Uterine stroma (Kelly *et al*., 2001) كما تتصف نافذة الغرس بالإنسان بظهور ملامح الانتيكرينات Integrin heterodimers a1B1, a4B, and avB3 والتي ترتبط بـ Vitronectin و Fibronectin وغيرها والتي تؤسس الارتباط بين الاديم الظاهر الغاذي Trophoplastic epithelium للجنين المجتاح لبطانة الرحم والجهاز الوعائي للام والذي يمتد لتكوين السخد الدموي من النوع Haemochorial Placentation التي تتميز به القوارض والانسان (Peyman and Hammond, 1992). شيء اخر يؤثر فيه هو هرمون البروجيستيرون P4 وهو زيادة افراز الغدد الرحمية كاستجابة لوجود هذا الهرمون (Aboagye-Mathiesen *et al*., 1996 ؛ Peyman and Hammond, 1992) كما قد يحتاج توفر Glycodelin و Calcitonin لعملية الغرس (Ma *et al*., 2003).

يزداد إفراز الغدد الرحمية كاستجابة لوجود البروجيستيرون P4 والذي يحتوي كلوبين رحمي Uteroglobin Histone A2 و Spermidine / Spermine acetyl ، و Transferase2 و Leukocyte protease inhibitor و Secretory metallothionein كذلك فان البروجيستيرون P4 يثبط هيئة البروتينات منها / Cysteine Collagen type VII, Glycene – rich protein 2 (Aboagye-Mathiesen *et al*., 1996) . وافرازات الغدد الرحمية ممكن أن :-

١- تنظم تكاثر الكيسة الاريمية او خلايا أخرى بالرحم ؛ ٢) لها تأثير مثبط مناعي Immune suppressive يكبح جماح تكاثر خلايا T و B ؛ ٣) تحمي الجنين من الإصابات الفيروسية ؛ ٤) تنظم التمايز الخلوي والهيئة لمستضدات الخلايا السطحية ؛ ٥) تحفيز تعبير E-globulin Expression وهو مكون هيموكلوبين الجنين ؛ ٦) يكبح تعبير Preto- oncogenes الذي يؤثر على نمو الغاذية وتمايزها (Hess *et al*., 2007). لقد أشار الباحث Kumer *et al*., (2001) وجماعته إلى أن Guamylate – binding protein يحفز الغاذية بالانترفيرونات IFNG, IFNA والتي تعد دليلاً قوياً على قبول الرحم للغرس.

٢ ـ ٧ التفاعلات النسجية المصاحبة لعملية الغرس

٢ ـ٧ ـ١ الغراوي *Collagen*

قاس الباحثان Enders and Carter (2006) تركيز الكولاجين (النسبة المئوية للوزن الجاف للنسيج) بطريقة Hydroxyproline analysis وذكرا أن النسبة أقل معنويا في مناطق الغرس منها في غير مناطق الغرس في كل المساحات المدروسة. اما التراكيز في الطبقة العضلية الرحمية في الجهة المضادة للمساريق الرحمي وسدى منطقة الغرس فتبقى ذاتها على مدى الأيام المدروسة (Jackson and Jenkins, 1991)، على العكس من ذلك فان تركيز الكولاجين في المنطقة المساريقية الرحمية من بطانة الرحم تبدأ في الزيادة من اليوم السادس الى الثامن من الحمل فيما يقل تركيزه خلال النسيج الساقط الجنيني عن اليومين السابع والثامن من الحمل (Enders *et al*., 2000) ومظهر الكولاجين ضمن المنطقة الجنينية يبدو أن له خاصية مهمة لاستجابة الرحم للغرس بالفأر (Spencer *et al*., 2007 ؛ Clark *et al*., 1992) .

إن تركيز الكولاجين يزداد خلال الحمل مقارنة مع التراكيز في نسيج الرحم غير الحامل (Sati *et al*., 2008) وأشار الباحثون أنفسهم إلى ضرورة ملاحظة توزيع الكولاجين إذ يكون مختلفا ما بين الحالتين . ففي حالة عدم وجود الحمل تتوزع ألياف الكولاجين بصورة شبه متساوية في أنسجة بطانة الرحم وفي حالة الحمل وخاصة خلال فترة الغرس يكون النقصان بالكولاجين في النسيج الساقطي الابتدائي بصورة اقل مما هو موجود قرب عضلات الرحم Myometrium قرب موقع الغرس ويتواجد الكولاجين أكثر حول الأوعية الدموية القادمة من منطقة المثلث المساريقي الرحمي (Sati *et al*., 2008 ; Enders, 2000) مما يعطي إسنادا لنظرية إعادة التشكيل Remodelling للرحم خلال فترة الحمل (Moll and Lane, 1990 ; Wang *et al*., 2004).

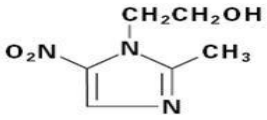
درس الباحثون (Carter and Enders, 2004 ؛ Ball *et al*., 2006 ؛ Han *et al*., 2010) دورة تكوّن وفقد الكولاجين التي تحدث خلال الفترة من اليوم السادس الى منتصف اليوم التاسع إذ أكّد هؤلاء الباحثون فضلا عن باحثين آخرين (Burton and Fowden, 2012 ؛ Sun *et al*., 2010) ان تصنيع الكولاجين قرب موقع الغرس وباتجاه النسيج الساقطي هو للمساعدة في إحداث الورم الساقطي Deciduoma . وكرر الباحثون

أعلاه أهمية التراكم في هذا الموقع يكون بالفترة التي يحتاجها الجنين لتغذية نفسه إذ ان ألياف الكولاجين تعمل شبكة من الألياف حول الاوعية الدموية التي ستغذى السخد وخاصة الشرايين اللولبية اي باتجاه أوعية دم النسيج الساقطي للأم والذي يجهز منطقة الغرس (Dey *et al*., 2004) وتزداد الالياف عند انحراف الجنين نحو منطقة المثلث المساريقي الرحمي Mesometrial triangle (Salehnia *et al*., 2006 ؛ Enders *et al*., 2006).

٢ ـ ٨ الميترونيدازول – الفلاجيل® ***Metronidazole - Flagyl*** ®

٢ – ٨ – ١ الوصف ***Description***

ينتشر حول العالم الاعتلال بالإصابات الطفيلية خاصة بالبلدان المتطورة و METRONIDAZOLE (MTZ) هو الدواء المختار لعلاجها في الصغار والبالغين بسن التكاثر. والفلاجيل FLAGYL® الاسم التجاري للـ (MTZ) هو مضاد صناعي للابتدائيات وعامل مضاد للبكتريا وله تأثير قاتل للبكتريا Bactericidal ضد معظم عتر البكتريا اللاهوائية في المختبر (الزجاج *in vitro)* وكذلك تأثيره على المشعرات Trichomonocidal activity (Khalil *et al*., 2007) وصيغته التركيبية هي:



وعقار الفلاجيل التجاري المستعمل بالبحث يحتوي على مواد غير فعالة ، سواغات Recipients ، مكونة بصورة رئيسية من نشاء القمح . طرق إعطائه عن طريق الفم Orally rout او موضعي Topically أو عن طريق الشرج Rectal rout او عن طريق الوريد Intravenous rout وعن طريق المهبل Intravaginal rout . ان تأثير الـ MTZ هو نفسه إذا ما أعطي عن طريق الفم او الوريد (Ralph and Kirby, 2011). تمثيل MTZ بالكبد والتخلص منه (٦٠ الى ٨٠ % من الجرعة) وتصفيته بصورة رئيسية هو عن طريق الإدرار. عمر النصف له فيه هو ٦-٧ ساعات وبالصفراء عن طريق البراز ٦-١٥% (Gulland, and Carwardine, 1987) والتمثيل الذي يظهر بالإدرار هو أساسا نتيجة أكسدة السلسلة [1-(β-hydroxyethyl)-2-hydroxymethyl-5-nitroimidazole and 2-methyl-5-nitroimidazole-1-yl-acetic acid] وارتباط Glucuronide مع MTZ غير المتغير والذي يشكل كحد أعلى ٢٠ % من الكمية الكلية يكون بحد أعلى 10

$ml/min/1.73\ m^2$. كما تظهر بقايا من MTZ في السائل المخي الشوكي Cerebrospinal fluid واللعاب Saliva وحليب الام بتراكيز مشابهة لتلك الموجودة بالبلازما. والتراكيز القاتلة للبكتريا منه قد وجدت بالقيح Pus من الخراجات الكبدية . يتبع تناول MTZ عن طريق الفم امتصاص جيد ليصل أعلى تركيز له في بلازما الدم بعد ساعة الى ساعتين من التناول وهو اكبر مكون يظهر في البلازما وان اقل من ٢٠ % من MTZ الدائر بالدورة الدموية مرتبط ببروتينات البلازما ، واخذ جرعة ٢٥٠ ملغم، ٥٠٠ ملغم او ٢٠٠٠ ملغم ينتج عنه تركيز بالبلازما مقداره 6µg/ml , 12µg/ml ; 40 µg/ml على التوالي . أشار الباحث Edwards, (1993) إلى عدم وجود اختلافات بالاستفادة الحيوية Bioavailability بين الذكور والإناث ؛ وبسبب الاختلافات الوزنية فان مستواه بالبلازما بالذكور عموما اقل ، كما وتقل تصبيغة البلازما من MTZ في حالة ضعف نشاط الكبد (Ralph and Kirby, 2011).

٢-٨-2 المعلومات الصيدلانية *Pharmacological Informations*

الاسم الشائع Metronidazole

تركيبه الكيماوي 1-(β-hydroxyethyl)-2-methyl-5-nitroimidazole

الاسم الكيماوي 2-Methyl-5-nitroimidazole-1-ethanol

الصيغة الجزيئية Molecular Formula: $C_6H_9N_3O_3$.

الوزن الجزيئي Molecular Weight : 171.15.

الهيئة الفيزيائية: بلورات بلون ابيض الى اصفر شاحب أو مسحوق بلوري.

الذوبانية Solubility: يذوب بالماء والكحول؛ وقليلا بالايثر والكلوروفورم.

Melting Point: 163 °C ;Saturated solution pH5.8.

٢-٨-٣ الجرعة *Dosage*

ممكن إعطاء الإنسان البالغ جرعة تصل حتى ٢ غم من الفلاجيل®، اما جرعة واحدة ١غم على جرعتين ليوم واحد فقط او ٢٥٠ ملغم ثلاث أوقات يوميا لمدة أسبوع ؛ للأطفال: ٣٥ الى ٥٠ ملغم/ كغم /٢٤ ساعة مقسمة على ثلاثة أوقات عن طريق الفم لمدة لاتتجاوز ١٠ ايام (Gulaid, 1978). اجريت دراسات عدة على الجرذان باستعمال جرع مختلفة من MTZ لمدة طويلة عن طريق الفم اشارت إحصائيا الى وجود زيادة معنوية بحدوث أورام مختلفة خاصة بالثدي والكبد بين إناث الجرذان ، فيما لم تحدث زيادة معنوية في الهامستر

(Mudry *et al*., 2001). دراسات تاثير الفلاجيل® على الخصوبة والتكاثر التي اجريت على الفئران والجرذان باستعمال جرع مضاعفة من MTZ عن طريق الفم لم تشر الى تأثيره على الخصوبة (Khalil *et al*., 2007)؛ اما على الحمل فان اعطاء الفلاجيل® للنساء الحوامل لم يتسبب بظهور مضاعفات على الأم اما على نمو الأجنة فلم يعرف للآن ؛ ولأجل ذلك يجب الابتعاد عن استعمال الفلاجيل خاصة في أثناء فترة الثلث الأول من الحمل 1st trimester (Jorgensen *et al*., 2011).

أعطي MTZ بجرعة 40-50 ملغم / كغم حقنة بالوريد لكلب تحت التخدير تسبب في هبوط ضغط الدم ونبض القلب بعد مدة 30 إلى ٦٠ دقيقة بعد الزرق أما بالإنسان فان MTZ يمتص خلال ساعة الى ساعتين بعد التجريع الفموي ، فبعد إعطاء جرعة ٥٠٠ ملغم عن طريق الفم فان مستواه في بلازما الدم يصل الى ١٣ملغم /لتر وعن طريق الزرق بالوريد بعد الفترتين نفسيهما ٢٦ و ١٢ ملغم /لتر على التوالي (Auger *et al*. ,1988) ونصف عمر الطرح على الأكثر ٧ إلى ٨ ساعات . ولمقارنة الحركة الدوائية Pharmacokinetics للعقار عن طريق الفم وعن طريق الوريد تشير الدراسات إلى تشابه التركيز ببلازما الدم ضمن الفترة الزمنية نفسها (Jensen and Guglar, 198415) .

٢ـ٨ـ ٤ استعمالات MTZ في علم الأحياء الدقيق *Uses of MTZ in Microbiology*

للـ MTZ تأثير قاتل على المشعرات Trichomoniasis كما في حالة الاصابة بالمشعرات *T. vaginalis* (Nix *et al*., 1995؛ Sobel, 2005) وداء المتحولات Amoeba كما في مرض المتحولة (الاميبا) المتنسجة *Entamoeba histolytica* (Stratton *et al*., 1992) ، ان اقل تركيز مثبط Minimum inhibitory concentration (MIC) في المختبر *in vitro* لمعظم عتر هذه الكائنات هو 1µg/ml أو اقل من ذلك (Ralph and Kirby, 2011) ، كما ان له تأثيراً ضد معظم البكتريا اللاهوائية مثل Bacilli and cocci، Anaerobic gram – negative (gr-ive) Anaerobic (gr+ive) (Templeton, 1976) لذا فهو يستعمل لحالات الاسهال المتوسطة الشدة وذلك لرخص ثمنه (Shankar, 2008). ان مدة العلاج بالـ MTZ هي ٧- ١٠ ايام وفي الحالات المعقدة لمدة ١٤ يوم وبجرعة مفردة مقدارها ٤٠٠ ملغم (Buschini *et al*., 2009).

٢ـ٨ ـ ٥ تشوه الجنين *Teratogen on pregnancy*

اظهرت الدراسات ان الفلاجيل يعبر الحاجز المشيمي Placental barrier ويدخل الدورة الجنينية بسرعة ولايحدث تسمم للجرذان عند إعطائها MTZ بجرعة 20 gm/kg/day. في بعض الدراسات لوحظ بان هناك موت للأجنة (Auger *et al.*, 1988). لاتوجد دراسات معتمدة كافية على النساء وبسبب ان تجارب التكاثر على الحيوانات المختبرية لا تكون مطابقة لاستجابة الإنسان دائما ولكون MTZ مسرطن بالقوارض لذلك اوصت تلك الدراسات بعدم استعمال العقار في فترة الحمل الا في الحالات الضرورية تماما لعبوره الحاجز المشيمي وتأثيره على تكون أعضاء الجنين Organogenesis . وبالنسبة للأمهات المرضعات اوصت ايضا بالتوقف عن الإرضاع عند المعالجة بالعقار لظهوره بنسب عالية بالحليب مشابهة لتركيزه في بلازما الدم (Auger *et al.*, 1988). اشارت بعض الدراسات بوجود اعتقاد بان التعرض للفلاجيل خلال فترة الحمل ربما يزيد خطر السرطان بفترة الطفولة وحتى للبالغين ، فالدراسات على الحيوانات المختبرية باستعمال الفلاجيل عموما أظهرت بان المعالجة به لا تسبب تشوهات ولادية او مشاكل اخرى خلال فترة الحمل (Ornelas-Aguirre *et al.*, 2006). ولحد الآن ليس من الواضح في ما إذا كان الفلاجيل آمن للاستعمال خلال فترة الحمل ام لا (Löfmark *et al.*, 2010؛ Gulland and Carwardine, 1987).

وضعت منظمة الدواء والغذاء الأمريكية Drug and Food Agency (DFA) معايير لتصنيف الاخطار المحتملة للأجنة من الأدوية المستخدمة في أثناء فترة الحمل فأعطت الدرجة B للعلاجات غير المدروسة بدقة للنساء الحوامل ولكن لم يظهر انها تسبب اذىً للجنين في الدراسات الحيوانية ومن ضمنها الفلاجيل الذي يعبر المشيمة ويزيد خطر الإصابة بسرطانات معينة بالفئران والجرذان. وليس معروفا للآن في ما إذا كان الشيء نفسه أيضا حقيقة للإنسان اخذين بالحسبان بان الحيوانات لا تستجيب دوما للعلاجات بطريقة استجابة الإنسان نفسها، لذلك أعطيت المرتبة B عند استعماله بالنساء الحوامل لمعالجة حالات داء المشعرات او بكتريا المهبل خلال مراحل الحمل (Gulaid, 1978). كما لا يجب استعمال MTZ خلال فترات الحمل المختلفة وأيضا ينصح بعدم استعماله عند الإصابة بأمراض الكبد

لعدم إمكانية التخلص من متبقيات العقار بالبلازما وكذلك عدم استعماله مع المشروبات الكحولية.

٢ – ٨ ـ ٦ الأعراض الجانبية عند استعمال الفلاجيل® *Side effects of Flagyl* ®

لوحظت الأعراض الجانبية التالية خلال استعمال الفلاجيل®: بالفم طعم حاد غير مرغوب فيه Sharp unpleasant taste ، تشقق اللسان Furry tongue ، التهاب اللسان Glossitis واللثة Stomatitis مع نمو مفاجئ للمبيّضات Candida. كما يؤثر الفلاجيل على تكون الدم Hematopoietic مؤدياً الى قلة كريات الدم البيض Leukopenia ، ونادرا قلة الصفيحات Thrombocytopenia ، ويؤثر على الجهاز القلبي الوعائي Cardio vascular ، تسطح T- wave عند تخطيط القلب ، وللفلاجيل تأثير على الجهاز العصبي المركزي مسببا التهاب السحايا الطاهر (غير الجرثومي) Aseptic meningitis، عدم توازن In coordination ضُعف عصبي عام وغيرها كما يصاحب استعمال عقار MTZ لفترات طويلة مضاعفات جانبية عديدة أهمها الرعشة العصبية وتضخم الرأس واعتلال الأعصاب البصرية والمحيطية والأطراف. وللفلاجيل تأثير على الجهاز البولي مسببا عسر البول Dysurea ، التهاب المثانة Cystitis وبيلة متعددة Polyurea كما يقل تصفية الإدرار للـ MTZ في حالة الفشل الكلوي ، وتنخفض نسبة التخلص من العقار في حالة هبوط وظيفة الكبد كذلك أعراض جانبية تشمل الجهاز الهضمي كالغثيان ١٢% من المرضى صداع وتقيؤ وحرقة المعدة ، تقلصات البطن وإمساك أو إسهال (Löfmark *et al*., 2010). الأمان والفعالية في الأطفال غير مدروسة جيدا ماعدا حالة علاج الإصابة بالاميبا Amebiasis (Goldman *et al*., 1986) .

٢-٨-٧ التداخل مع الفحوصات المختبرية

Interference with laboratory tests

لوحظ أن MTZ قد يتداخل مع نتائج بعض فحوصات الكيمياء السريرية المختبرية لمصل الدم مثل Alanine aminotransferase (ALT, SGPT) ، Asparate aminotransferase (AST,SGOT) ، Lactate dehydrogenase (LDG) ، Triglyceride ، Hexokinase glucose ، والتقييم الانزيمي للاكسدة – الاختزال للـ

(NAD+ ⇄ NADH) والتداخل هو بسبب التشابه بالامتصاصية للـ NADH (340nm) و MTZ (322nm) عند PH 7 (Chacko and Bhide, 1996) .

٢-٨-٨ التداخل مع الادوية *Interference with drugs*

خلال المعالجة بالـ MTZ يجب الامتناع عن تناول المشروبات والمرطبات الحاوية على الكحول لمدة يوم على الأقل وذلك لاحتمال تفاعل Disulfiram –like reaction and abuse effect (قيء وتسارع النبض Vomiting and Tachycardia) (Buschini *et al.*, 2009) هذه الحالات يبدو أنها بسبب تثبيط أكسدة Acetaldehyde المادة المأيضة الأولية للكحول Primary metabolite of alcohol . للـ MTZ تأثير قوي كمانع لتأثير الـ Warfarin ينتج عنه تطويل وقت التجلط مزيدا خطر النزيف بزيادة التقويض الايضي للكبد Liver catabolism (Jensen and Guglar, 1985).

للفلاجيل تأثير صاد على الأعصاب العضلية Neuro – muscular عند اخذ جرعة ١٥ ملغم / كغم وزن حي كما يسبب دمارا للكلية لتسببه بتقليل طرح Lithium وزيادة نسبته بالدم مؤديا الى التسمم ؛ كما يقوم MTZ بتقليل طرح 5-fluorouracil مؤديا الى زيادة فرص التسمم به والى زيادة مستويات Busulfan بمصل الدم (Furukawa *et al.*, Auger *et al.*, 1988 ؛ Furukawa *et al.*, 2007a ؛ 2007b).

٢-٨-٩ الدراسات الماسخة *Teratogenic studies*

الـ MTZ مسرطن Carcinogenic ، ومطفر Mutogenic في الجرذان والفئران إذ لوحظ تسريعه لسرطان الرئة ، وعند اعطائه بجرع عالية جدا (50mg/kg/day) ، ٣٣ ضعف الجرعة المعتادة للإنسان لوحظ ان هناك زيادة ملحوظة لحدوث سرطان الكبد الخبيث بالذكور، وفي الدراسات على الفار هناك ايضا زيادة معنوية لحدوث سرطان الغدد اللمفاوية والرئة والثدي في الإناث ، فمع كل هذه النتائج فان الدراسات باللبائن *in vivo* فشلت في توضيح التدمير الجيني Genetic damage. أجريت عدة دراسات على الخصوبة بالفئران بإعطاء ستة أضعاف الجرعة المقررة للإنسان استنادا على mg/m^2 ولم يظهر دليل على ضعف الخصوبة Impairment of fertility (Teicher *et al.*, 1987).

اشار الباحثان Jensen and Guglar, (1985) ان تأثير MTZ على الأجنة والمسخ Teratogenic في الأرانب والفئران فحينما جرعت الأرانب عقار الفلاجيل فموياً بشكل كبسولات بجرع مقدارها ٣٠ الى ٢٠٠ ملغم /كغم/ يومياً لمدة تراوحت ما بين ثلاثة الى ثلاثة عشر يوم خلال مدة الحمل لم تلاحظ أي تأثيرات تسمم جنيني Embryonic toxicity ولا مسخ نتيجة لذلك إلاعطاء . في دراسة للباحث Mudry *et al*. (2001) تم حقن الأرانب بالوريد بجرعة خمسة عشر وثلاثين ملغم/ كغم/ يوم من اليوم السادس – الثامن عشر من فترة الحمل فلم تلاحظ أية فروق معنوية إحصائية بين مجموعة السيطرة والمجاميع المعالجة لأي معيار جنيني، عدا أماكن الغرس Implantation sites إذ لوحظ تأثير العقار مسبباً زيادة مقدارها عشرة - خمسة عشر فقد ما قبل الغرس Pre-implantation.

دراسة الباحث Mudry *et al*., (1994) على الجرذان أوضحت أن إعطاء MTZ مع العليقة بتركيز0.13 % لمدة 18 يوم حمل لمدة تراوحت ما بين عشرة أيام في مدة الحمل الأوسط Mid-gestation و 40 يوم (قبل وبعد الحمل) تبين عدم وجود أي تاثير سام على الاجنة او المسخ . تم حقن الجرذان بجرع 15 و 30 ملغم /كلغم /يوم من الأيام 5-7 من الحمل فلوحظ ان هناك زيادة معنوية إحصائية بمعدل عدد الانغراسات والأجنة التي على قيد الحياة لكل ذرية بالمجاميع المعطاة MTZ وعدم وجود أي اختلافات في أي من معايير الجنين الأخرى. في دراسات أخرى على الفئران اذ جرعت من اليوم السادس الى الخامس عشر من الحمل بعقار MTZ عن طريق الفم بجرعة مقدارها 10 و 20 ملغم /كغم/ يوم وجد بان العقار خال من أي نشاط ماسخ Teratogenic activity (Buschini *et al*., 2009؛ Ornelas- Aguirre *et al*., 2006) .أما في الإنسان فالمعلومات المستنتجة من الدراسات أشارت إلى عدم تسجيل أي تشوهات زيادة عن النسبة الطبيعية المحددة قياسا بالنساء غير المعالجات بالعقار (Jensen and Guglar, 1985). قيست قدرة MTZ على التطفير في نظامين من الفحص، الأول البكتريا كعتر مؤثرة للتأثير المطفر إذ كانت النتائج موجبة والآخر فحص Dominant lethal test يقيس تأثير MTZ على الخلايا الجرثومية للبائن. أعطي MTZ مع غذاء الجرذان بجرع يومية مقدارها 75 ، 150 ، 600 ملغم /كلغم في مجموعتين لم يظهر ما يثبت وجود تفاعلات مؤثرة على المظهر الفيزياوي والسلوك ووزن الجسم واستهلاك الطعام ولكن ظهر ان بقاء الجرذان المعالجة على قيد الحياة أفضل منه في مجموعة فئران السيطرة غير المعالجة (Miyachi *et al*., 2006).

٢-٨-١٠ طريقة عمل الفلاجيل *Mode of action of MTZ*

ان MTZ سام للخلية البكتيرية اللاهوائية (Eisenstein *et al*., 2007) ويحدث التسمم خلال أربع عمليات :-

١- يدخل الكائن الحي الدقيق :- MTZ مركب له وزن جزيئي واطئ ينتشر عبر غشاء البكتريا الهوائية واللاهوائية وله فعالية محددة ضد الكائنات الدقيقة اللاهوائية (Ings *et al*., 2002).

٢- له تأثير مختزل للبروتينات الناقلة بين الخلايا اذ ان MTZ يختزل من قبل البايروفيت Ferredoxin oxido reductase system بالمايتوكوندريا بالأحياء اللاهوائية المجبرة.

٣- تتفاعل الدقائق المختزلة المتوسطة مع الأهداف الداخل خلوية intracellular الجزيئات الوسيطة السامة للخلية Cytotoxic تتفاعل مع DNA الخلية المضيفة منتجا عن ذلك كسر وتدمير في خيط حلزون DNA (Garry and Nelson, 2003).

٤ - تكسير النواتج الوسطية السامة للخلية والقتل مرتبط بتركيز MTZ المستعمل (Mudry *et al*., 2001).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

٣ – ١ العقار المستخدم

تم استخدام عقار الفلاجيل® Flagyl (Metronidazole) التجاري من شركة Sanofi Aventis الفرنسية (Flagyl® 500 mg, Metronidazole – Oral use Film coated tablets. Composition: Metronidazole 500 mg. Excipients: wheat starch (gluten), povidone K30, magnesium stearate, hypromellose, macrogol 20000, for one film coated tablet. Dose: 20 - 40 mg / kg /day; 4-8 mg / 200 gm/day.) على هيئة حبوب وان تركيز المادة الفعالة فيها ٥٠٠ ملغم/حبة تم طحنها وإذابتها في ماء مقطر لعمل عالق تركيزه ٩ ملغم / ٠.٩ مل ماء وإعطائها عن طريق الفم بجرعة مقدارها ٩ ملغم / ٢٠٠ غم من وزن الحيوان الحامل يوميا بعد وزن الحيوان مقدما لحساب الجرعة المقررة بحسب الوزن ، ولمدة سبعة أيام لمجموعة حيوانات عمر سبعة أيام حمل ولمدة تسعة أيام لمجموعة حيوانات عمر تسعة أيام حمل ومن اليوم الأول من تأكيد الحمل. والجرعة تم حسابها على وفق ما أورده Paget and Barnas (1964) والتي كانت مطابقة للجرعة المقررة من قبل الشركة المصنعة للعقار.

١- المعاملة الأولى T1 : مجموعت السيطرة سبعة وتسعة ايام من الحمل فقد جرعتا فمويا ماء مقطر بدلا من العلاج.
٢- المعاملة الثانية : T2 جرعت فمويا ماء مقطر جرعة علاجية من العقار والمقررة من قبل الشركة المنتجة له والتي عادلت (٩ ملغم/ ٢٠٠ غم من وزن الحيوان/ يوم).
٣- المعاملة الثالثة T3 : جرعت فمويا ضعف الجرعة العلاجية (١٨ ملغم/٢٠٠ غم من وزن الحيوان / يوم).
٤- والمعاملة الرابعة T4 : جرعت فمويا ثلاثة أضعاف الجرعة العلاجية من العقار (٢٧ ملغم/٢٠٠ غم من وزن الحيوان / يوم).

٣ – ٢ حيوانات التجربة *Animals of the experiment*

استخدم في هذه التجربة ٩٦ جرذ ٦٤ أنثى و٣٢ ذكر من النوع الشائع الجرذ الأبيض المختبري *Rattus norvegicus* الذي جلب أساسا من مختبر السيطرة الدوائية والبيولوجية في وزارة الصحة - بغداد بأعمار أكثر من ثمانية أسابيع وأوزان تراوحت مابين ٢٠٠ – ٣٠٠ غم . ربيت الحيوانات في وحدة الحيوانات المختبرية بكلية التربية للعلوم الصرفة جامعة كربلاء مع مراعاة عزل الإناث عن الذكور لمنع التزاوج وتحت ظروف حرارية بمعدل ٣٥°م وفترة إضاءة ١٢ ساعة باليوم وتهوية جيدة وتغذيتها على عليقة خاصة معروفة المكونات لحد الشبع (ملحق-٧) وماء طيلة فترة التربية. وروقبت لمدة شهر قبل البدء بالتجربة للتأقلم والتأكد من حسن حالتها الصحية وكونها غير حوامل.

٣ - ٣ تصميم التجربة *Experiment Design*

جدول ٣-١: تصميم التجربة.

مدة الحمل بالأيام	المجموعة الضابطة ماء مقطر T1	المعاملات بالفلاجيل /٢٠٠غم وزن حي: جرعة علاجية ٩ ملغم T2	ضعف الجرعة ١٨ ملغم T3	ثلاثة أضعاف الجرعة ٢٧ ملغم T4	أنواع الفحوصات للمعاملات جميعها
الفترة الأولى ٧ أيام (7dpc)	n 8♀	n 8♀	n 8♀	n 8♀	اولا- فحص نسيجي لطبقات الرحم وباستعمال صبغات: Hematoxylin & Eosin-1 Periodic Acid Schiff's st. -2 Gomori's One Step-3 Trichrome Stain Alcian Blue (AB) pH 2.5-for -4 acidic mucopolysaccharides Alcian Blue (AB)-pH 1.0 for -5 sulphated mucopolysaccharides. ثانيا - تقييم هرمونات: Estrodiol-1 Progesterone -٢ ثالثا - حجم الرحم رابعا- وزن الرحم خامسا - قطر الرحم سادسا - عدد الأجنة بالرحم
الفترة الثانية ٩ أيام من الحمل (9dpc)	n 8♀	n 8♀	n 8♀	n 8♀	

٣-٤-١ المواد الكيمياوية المستخدمة

جدول ٣-٢: المواد الكيمياوية المستخدمة بحسب اسم الشركة والمنشأ .

	المواد	اسم الشركة المصنعة	المنشأ
١	ايثانول ٩٦ %	Scharlau	اسبانيا
٢	حامض الهيدروكلوريك	BDH	انكلترا
٣	حامض البكريك	Thomas Baker	الهند
٤	زايلين Xylene	Scharlau	اسبانيا
٥	شمع البارافين	Histo-Line Lab,OWax	ايطاليا
٦	Sodium Metabisulfite($Na_2S_2O_5$)	BDH	انكلترا
٧	عدة Vidas® Estradiol (E 2)	Bio Merieux SA	فرنسا
٨	عدة Vidas® Progesterone	Bio Merieux SA	فرنسا
٩	فحم	BDH	انكلترا
١٠	فلاجيل®	Sanofi Aventis	فرنسا
١١	فورمالديهايد 40% -38	Iraqi co.	العراق
١٢	Phosphotungstic acid	Gainland chemical co.	انكلترا
١٣	كاشف Light Green reagent	BDH	انكلترا
١٤	كاشف Periodic Acid reagent	BDH	انكلترا
١٥	كاشف Schiff's reagent	BDH	انكلترا
١٦	كحول مطلق	Scharlau	اسبانيا
١٧	كلوروفورم	Scharlau	اسبانيا
١٨	كليسيرين ٩٩ %	Gainland Chem. Co.	انكلترا
١٩	ورق ترشيح	Turck 0.33mm Zelpa	بلجيكا
٢٠	مادة Chromo trope 2R	BDH	انكلترا
٢١	مادة DPX	Himedia Lab. Put. Ltd	الهند
٢٢	مادة Basic fuchsin	BDH	انكلترا
٢٣	ملون مادة Alcian Blue 8GX	Fluka AG Buchs SG	سويسرا
٢٤	ملونات هيماتوكسيلين وايوسين	BDH	انكلترا

٣ ـ ٤ ـ ٢ الأدوات المستخدمة

جدول ٣-٣ : الأدوات المستخدمة بحسب اسم الشركة والمنشأ .

	الأدوات	اسم الشركة المصنعة	المنشأ
١	اواني تلوين زجاجية	S.I.E.	الباكستان
٢	سلايدات واغطيتها	China MHECO	الصين
٣	سيت تشريح	S.I.E.	الباكستان
٤	قناني بلاستيكية خالية من EDT	Gold star	الاردن
٥	كاميرا رقمية	Sony and Optica	الصين
٦	ورنية قياس	Botch co.	المانيا

٣ ـ ٤ ـ ٣ الأجهزة المستخدمة

جدول ٣-٤ : الأجهزة المستخدمة بحسب اسم الشركة والمنشأ.

	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
١	حمام مائي	Chicago Surgical & Electrical co.	امريكا
٢	جهاز طرد مركزي	Heraeus Christ	المانيا
٣	جهاز Microtome	Histo-Line Lab. Mod. MRS 3500	ايطاليا
٤	جهاز Vidas	Bio Merieux SA	فرنسا
٥	خلاط مغناطيسي	Tianjin Taisite Ins.co.	الصين
٦	صفيحة ساخنة	Lassco	الهند
٧	فرن	Daihan-lab. Tech	كوريا
٨	مجهر camera Lucida	Olympus	اليابان
٩	مجهر ضوئي	Human scope	المانيا
١٠	ميزان	Sartorius	المانيا

٣-٥ توزيع حيوانات التجربة

تم توزيع الحيوانات المختبرية للتجربة وعددها ٦٤ جرذاً أنثى على أقفاص التربية وتقسيمها على مجموعتين رئيسيتين مثلما موضح في الجدول ٣-١، الأولى مجموعة الحيوانات الحوامل في عمر ٧ أيام بعد التزاوج (7dpc) وقد ضمت ٣٢ جرذ كما ضمت المجموعة الثانية مجموعة الحيوانات الحوامل بعمر ٩ أيام بعد التزاوج (9dpc) على العدد نفسه من الجرذان الإناث فيما قسمت حيوانات كل مجموعة رئيسية على أربعة معاملات جرعت فمويا باستعمال قطارة مدرجة : الأولى معاملة السيطرة إذ تم تجريعها ماء مقطر فقط وعددها ٨ اناث حوامل، والثانية جرعت عقار الميترونيدازول (الفلاجيل) بجرعة علاجية مقدارها ٩ ملغم وعددها ٨ إناث حوامل، والمعاملة الثالثة تم تجريعها ضعف الجرعة العلاجية من العقار نفسه ومقدارها ١٨ ملغم وعددها ٨ إناث حوامل، أما المعاملة الرابعة والأخيرة فقد تم تجريع افرادها بثلاثة أضعاف الجرعة العلاجية ومقدارها ٢٧ ملغم من العقار نفسه وعددها ٨ إناث حوامل أيضا والجرعة محسوبة لكل ٢٠٠غم وزن حي. وقد تم وضع جرذ ذكر واحد مع كل أنثيين من حيوانات التجربة في قفص التربية الذي أبعاده ٣٠ × ٢٠ ×٢٠ سم لغرض التزاوج. تم فحص الحيوانات في صباح اليوم التالي من إطلاق الذكور مع الإناث للبحث عن الإناث المتزاوجة وتأكيد التزاوج والذي عادة كان بظهور سدادة المهبل Vaginal plug (سدادة التزاوج Copulatory plug)، والتي هي عبارة عن خليط من إفرازات الغدد الحوصلية Vesicular Glands والغدد المتجلطة Coagulatory glands للذكر والذي يملأ المهبل من عنق الرحم الى فتحة الفرج والتي تظهر بعد ١٦ إلى ٢٤ ساعة وتبقى لفترة حوالي 48 ساعة (Parkes, 1926). ويمكن الاعتماد على هذه الطريقة لغاية حوالي 80 إلى 90 % على تشخيص التزاوج وحدوث الحمل من وجود هذه السدادة (Snell, 1941) فضلاً عن ذلك تم الفحص ألمجهري لمسحة من المهبل للتأكد من وجود بقايا النطف، وعدّ هذا اليوم اول يوم للحمل (Eveline *et al*., 2002).

تم إجراء عملية تشريح حيوانات مجموعتي الفترتين الأولى فترة عمر ٧ و ٩ أيام من بدء الحمل. ففي اليوم السابع تم تشريح حيوانات مجموعة السيطرة والمعاملة بالجرعة العلاجية وضعفها وثلاثة أضعافها بعد تخديرها باستنشاق مادة الكلوروفورم (Chloroform) المخدرة في حيز محصور. ثم التشريح عن طريق عمل شق بطني طولي من مؤخرة الحيوان باتجاه الصدر باستعمال عُدة تشريح طبية لكشف قرني الرحم والمبايض ، وتم استئصال الرحم لوحده بقطعه من نهاية عنق الرحم (Uterine cervix) ثم نظف من الدهون المتصلة به على طوله

وكذلك تم قطع المبايض كاملة منه فأصبح الرحم جاهزا لإجراء عمليات التقطيع النسجي عليه، تم وزن الرحم وقطره الخارجي – أبعاده الخارجية – باستعمال أداة القياس الورنيّة (Vernier) عند منطقة الجنين وقياس حجمه بطريقة حجم السائل المزاح (في سائل الفورمالين ١٠%)، كما تم حساب عدد الأجنة في قرني الرحم لكل مجموعة، مع ملاحظة عدم ترك الرحم يجف وذلك بترطيبه بسائل الفورمالين ١٠% باستمرار في أثناء العمل لمنع تغيرات مابعد الموت عليه Post-mortem changes لاحقا.

٣-٦ الفحوصات المختبرية

أولا – تقطيع وتلوين أنسجة الرحم باستعمال الملونات التالية :

١. Hematoxylin & Eosin st. (H & E)
٢. Periodic Acid Schiff's stain (PAS)
٣. Gomori's One- Step Trichrome Stain
٤. Alcian blue-acidic st., pH 2.5
٥. Alcian blue-neutral st., pH 1

ثانيا: قياس مستوى هرمونات Progesterone ; Estrodiol

ثالثا- قياس حجم ووزن وقطر الرحم وعدد الأجنة فيه.

٣ - ٧ التقطيع النسيجي

أجريت عمليات التقطيع النسجي كافة وتحضير الملونات وعملية التلوين وعمل الشرائح الزجاجية، وتصويرها، وقراءتها في مختبر الدراسات العليا بكلية التربية للعلوم الصرفة، إذ تم تقطيع قرون أرحام الحيوانات عرضيا لحجم حوالي نصف سم^{3} عند الخط المار من منتصف الجنين بمشرط طبي حاد Scalpel، وضعت فورا في عبوات بلاستيكية حجم ٥٠ مل حاوية على ٣٠ مل من محلول الفورمالين المحضر حديثا تركيز ١٠ % (فورمالين ٣٨% ١٠٠مل في ٩٠٠ مل ماء حنفية) كمثبت وحافظ مناسب لعينة الرحم (Clark, 1960) . تركت لمدة اكثر من ٤٨ ساعة لإتمام عملية التثبيت Fixation وحفظ نسيج عينة الرحم في الحالة الطبيعية وذلك بقتله بسرعة ومنع حصول تغيرات مابعد الموت ولو بسيطة به في أثناء التثبيت وفقدان صفاته الطبيعية بسبب تحرر الإنزيمات الحالة الذاتية Autolysis كذلك بسبب البكتريا المرافقة من النسيج نفسه. قبل البدء بإجراء عملية التقطيع غسلت العينات مرات عدّة بماء الحنفية الجاري

لحين إزالة أية بقايا للفورمالين المستعمل للتثبيت، بعدها تم سحب الماء من العينات – الزموهة Dehydration باستعمال مادة وسط تختلط مع الماء بإمرارها بسلسلة كحولات متصاعدة التراكيز من الكحول الاثيلي Ethanol التجاري تركيزه ٩٦ % تراكيز ٧٠% (٧٠ مل كحول + ٢٦ مل ماء مقطر) و ٨٠% (٨٠ مل كحول + ١٦ مل ماء مقطر) و ٩٠% (٩٠ مل كحول + ٦ مل ماء مقطر) و ٩٦% ، ثم تمريرين في كحول مطلق ١٠٠% ولمدة ساعتين لكل تركيز وصولا لمرحلة التوضيح (الترويق) Clearing باستعمال مادة وسيطة بين الوسط المزيل للماء ووسط التشريب بالشمع لعدم امتزاج الكحول مع الشمع ، واستعمل الزايلين لذلك إذ وضعت كل عينة فيه لمدة ساعتين أيضا لحين ما أصبحت شفافة رائقة بعدها أُجريت عملية التشريب Infiltration لمنع تشوه العينة في أثناء التقطيع النسيجي بغمرها في شمع البارافين المنصهر النقي (Melting point 56-58°C; Formula Cn H_2n + 2) في فرن كهربائي حرارته 60°م، والذي تم ترشيحه بورق الترشيح للتأكد من خلوه من الشوائب، المضاف إليه زايلين بنسبة حجم ١:١ موضوعة في بيكر زجاجي صغير حجم ٥ ملم^3 ثم نقلت العينة الى بارافين ١ وبارافين ٢ المنصهرين وفي الفرن عند حرارة ٥٨°م ولمدة ساعتين لكل واحد منهما أيضا، بعدها نقلت العينة من البيكر الى قالب معدني بقطعتين على شكل حرف L تم صنعه يدويا يتناسب حجمه مع حجم العينة لعمل القوالب الشمعية. نقلت العينات من الشمع المنصهر الأخير إلى القالب وهي عملية الطمر أو الاسجاء Embedding، إذ تم قبل الصب مسح القالب بمادة الكليسيرين Assay 99.5% لتسهيل انفصال القالب المعدني عن المكعب الشمعي الحاوي على العينة فيما بعد، مُليء القالب بشمع منصهر جديد وعندما أصبح قاع القالب شبه متصلب نقلت العينة من الشمع الأخير باستخدام ملاقط مدفئة ووضعت بوسط القالب بعيدا قليلا عن القاع باتجاه طولي إذ سيكون تقطيع سكين المشراح لعينة الرحم فيما بعد بشكل عرضي ودفنت قصاصة تعليم ورقية برمز العينة بجانب القالب الشمعي. ترك القالب ليتصلب ببطيء بهواء المختبر (Clark, 1960).

لصق القالب الشمعي المتصلب على حامل خشبي مكعب الشكل باستعمال الشمع المنصهر وركّب على جهاز المشراح الدوار الرقمي Digital rotary microtome لتقطيع الشرائح بسمك ٥µ m (Stetten and Steedman, 1960) إذ وضعت العينة المدفونة بالشمع قريبة من جهة سكين المشراح. رفعت المقاطع الرقيقة من حافتها باستعمال فرشاة صغيرة الى حمام مائي بدرجة حرارة ٤٥ °م لإفراد المقطع. حمّلت الشرائط من الحمام المائي بعد دقيقة إلى الشرائح الزجاجية Mounting الممسوحة بطبقة رقيقة من لاصق ماير Myer's albumen adhesive (آح البيض ٥٠ مل – جليسيرول ٥٠ مل – ثايمول بضع قطرات لمنع التعفن،

المتجانس جيدا والمصفى) وضعت بضع قطرات من الماء بين الشريحة الزجاجية وشريط الشمع الحاوي على العينة. تم تعليم الشرائح الزجاجية بحفر الرمز الخاص بكل شريحة باستعمال قلم كتابة ماسي، ثم وضعت على صفيحة ساخنة Hot plate حرارتها ٤٠ ºم لمدة حوالي الساعة ليتمدد الشمع ويلتصق بصورة اقوى على الشرائح ويتبخر الماء الزائد منها ثم نظفت ووضعت في فرن كهربائي Oven حرارته ٣٠ ºم لليوم التالي.

٣ ـ ٨ تلوين الشرائح النسجية

الخطوة الأولى في أنواع الملونات كلها كانت إزالة الشمع من المقاطع Dewaxing . نظفت الشرائح بعد التلوين بمسحها بقطعة قماش لإزالة الالوان الزائدة المتناثرة من حول العينة. حملت العينات Mounting بتغطيتها بالغطاء الزجاجي Cover slip رقم ١ سمكه ٠.١٣ - ٠.١٦ ملم باستخدام مادة DPX كمادة محملة إذ وضعت ثلاث قطرات صغيرة منه على غطاء الشريحة الزجاجي وقلبت الشريحة الزجاجية الحاوية على العينة فوقه مع الضغط الهادئ لنشر المادة اللاصقة بانتظام عليها والتخلص من الفقاعات الهوائية.

استعملت الملوّنات الخاصة التالية لتلوين شرائح الأنواع المختلفة من الأنسجة:

٣-٨-١: ملون هيماتوكسيلين هارس Harris' Hematoxylin : ملون قاعدي عام استعمل لتلوين النواة بلون ازرق غامق dark blue ، **مكوناته هي** :

- بلورات هيماتوكسيلين Hematoxylin crystals ١ غم
- كحول اثيلي مطلق Absolute alcohol ١٠ مل
- شب البوتاسيوم Aluminum and potassium sulphate ٢٠ غم
- اوكسيد الزئبق Mercuric oxide ٠.٥ غم
- ماء مقطر ٢٠٠ مل

مبدأ عمل الملون: لزيادة التضاد بين الأنسجة المختلفة ومكونات الخلايا. (تحضير الملون ملحق ٨)

طريقة التلوين (Drury and Wallington, 1976) **:**

١- أزيل الشمع من الشرائح Deparaffinized بوضعها أولاً في الزايلين في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة ٥٨ °م لمدة عشر دقائق أخرجت بعدها لتوضع في الزايلين ٢ ولمدة ١٠ دقائق أيضا.

٢- إعادة الماء للنسيج (التموء Hydration) بالتمرير في تغييرين من كحول اثيلي مطلق تركيز ١٠٠% لمدة دقيقتين لكل تغيير.

٣- ثم في سلسلة هابطة من كحولات تركيز ٩٠% و ٨٠% و ٧٠% لمدة دقيقتين لكل تركيز أيضا.

٤- غسلت بالماء الجاري لمدة دقيقتين.

٥- التلوين بملون الهيماتوكسيلين Hematoxylin لمدة خمسة دقائق.

٦- غسلت بالماء الجاري لمدة ٢٠ دقيقة.

٧ - غمرت الشرائح الزجاجية في ملون الايوسين الكحولي:

٣-٨-٢ ملون الايوسين Eosin الكحولي (Humason, 1974) كملون حامضي مضاد للهيماتوكسيلين Counter stain لتلوين السايتوبلازم باللون الأحمر الزهري - الوردي Pink والنواة باللون الأزرق Blue لمدة ثلاث دقائق.

مكوناته: ايوسين Eosin Y ١غم؛ ١٠٠٠ مل كحول اثيلي ٧٠%؛ حامض الخليك الثلجي ٥ مل. (تحضير الملون ملحق ٩)

٨- غمرت الشرائح بالكحول الاثيلي تركيز ٩٠ % لمدة ١٠ ثواني.

٩- ثم بتغييرين من كحول مطلق لدقيقتين لكل تغيير.

١٠- نقلت الى تغييرين من الزايلين الجديد غير الذي استعمل لإزالة الشمع ، دقيقتين لكل تغيير للترويق.

- نظفت الشرائح الزجاجية من الأسفل والأعلى بمسحها بقطعة قماش ناعمة مع الانتباه الى عدم جفاف العينة في أي مرحلة من المراحل.

١١- غطيت الشرائح بالأغطية الزجاجية بعد وضع الـ DPX عليها كمادة محملة.

٣-٨-٣: ملون (PAS) Periodic Acid Schiff's stain

وقد استخدم لتلوين التراكيب الحاوية على الجزيئات الكبيرة من الكاربوهيدرات (كلايكوجين Glycogen وكلايكوبروتين Glycoprotein والكولاجين Collagen والغشاء القاعدي Basment membrane والليفين (Fibrin (Carson and Christa, 2009) إذ يتلون الكلايكوجين والكاربوهيدرات الأخرى بلون قرمزي Magenta والنواة بلون احمر زهري - وردي Pink والكولاجين بلون احمر ارجواني غامق Dark purplish red والفبرين بلون زهري والسايتوبلازم بلون رمادي.

مبدأ عمل الملون: تقوم Periodic Acid Schiff's stain بأكسدة آصرة الكاربون- كاربون مكونا الديهايد ليصل الى Fuchsine-sulfurous acid الذي يكوّن اللون القرمزي.

- **مكونات الملون:**

محلول A:

- Periodic acid 1.0 gm
- Distilled water 200 ml
- Normal Hydrochloric acid 1.7 ml (Hydrochloric acid specific gravity 1.19 - 8.3 ml in 91.6 ml Distilled water).

خلطت المواد جيدا وخزنت في دورق ايرلنماير وعلّمت.

- **محلول B**: (Lillie's Cold Schiff's Reagent**)** ومكوّن من:

- Basic fuchsin 1.0 gm
- Sodium metabisulfite ($Na_2S_2O_5$) 1.8 gm
- Hydrochloric acid 1.0 ml
- Activated charcoal 1000.0 gm (تحضير الصبغة ملحق ١٠)

<u>خطوات التلوين:</u>

١- اتبعت الخطوات السابقة في ملون الهيماتوكسيلين من إزالة الشمع Deparaffinized إلى التموء Hydration وصولا إلى الماء المقطر.

٢- وضعت الشرائح الزجاجية في ملون Periodic Acid Schiff's stain لمدة ١٥ دقيقة.

٣- غمرت بالماء المقطر لمدة ٥ دقائق.

٤- وضعت الشرائح في Schiff's Reagent لمدة ١٥ دقيقة.

٥- غمرت في محلول Sulfurous acid لمدة دقيقتين.

٦- غسلت بالماء الجاري لمدة ٥ دقائق ثم غمرت بالماء المقطر.

٧- ميّزت بعدها لمدة دقيقتين في كحول حامضي Acid alcohol المحضر بالنسب التالية (٩٩ مل كحول ٧٠% مع ١ مل حامض الهيدروكلوريك HCl).

٨- غسلت بعدها بماء الحنفية لثلاث دقائق.

٩- ثم عملية الزموهة بسلسلة كحولات صاعدة التركيز ٧٠% و ٨٠% و ٩٠% وتغييرين ١٠٠% فالترويق بالزايلين تغيرين فالتحميل باستعمال مادة DPX وغطاء الشريحة الزجاجية، ثم تم وضعها في الحاضنة الكهربائية بدرجة ٤٠°م لتجف.

٣-٨-٤ ملون Periodic Acid Schiff's stain (PAS) المعاملة مع انزيم Diastase:

وقد استخدم للكشف عن وجود Glycogenic mucopolysaccharides من عدمه (Drury and Wallington, 1976). وذلك بتلوين شرائح العينات بملون (PAS) Periodic Acid Schiff's stain بالطريقة المعتادة ثم تعريضها الى إنزيم Diastase والذي استعيض عنه بمادة اللعاب Saliva إذ تركت لمدة نصف ساعة، بعدها غسلت الشرائح بماء الحنفية الجاري لمدة خمس دقائق، ثم سحب الماء منها وروّقت وحمّلت بالطريقة الروتينية في التلوين بملون Periodic Acid Schiff's stain(PAS) فالنتيجة الموجبة للتفاعل في الشرائح المعاملة بالأنزيم عنت وجود Non glycogenic mucopolysaccharides أما عدم ظهور الملون في الشرائح المعاملة بإنزيم الـ Diastase فهذا عنى وجود Glycogenic mucopolysaccharides (Ross and Pawlina, 2006).

٣-٨-٥: ملون الالسين الازرق Alcian Blue st. 8GX: استخدم تركيبان من هذا الملون:

A - ملون Alcian Blue acidic st. pH 2.5 الحامضي لصبغ الكاربوهيدرات الحامضية الميوسين Mucin و Acid carbohydrates mucopolysaccharides باللون الازرق (Drury and Wallington, 1976 ؛ McManus and Mowry, 1963).

مكوناته:

- Alcian Blue st. 8GX 0.1 gm
- (3ml acetic acid : 97 ml distilled water) 3% acetic acid 100 ml

- تم ترشيح الملون قبل الاستخدام.

B -ملون (pH 1.0) Alcian Blue neutral المتعادل

لتلوين فقط Sulphated carbohydrates بلون احمر قرمزي Magenta.

مكوناته:

- Alcian Blue st. 8GX 0.1 gm
- (1.7ml HCl + 20ml distilled water=1 N HCl) 0.1 N HCl 100ml

- تم ترشيح الملون قبل الاستخدام.

٣-٨-٦: ملون Gomori's One-Step Trichrome Stain: (Hansen, 2006)

واستخدم لتلوين وتمييز الالياف الكولاجينية والياف العضلات الملساء Distinguishing collagen and smooth muscle fibers إذ تظهر الألياف الغراوية الكولاجين بلون اخضر وليس بلون ازرق لأننا استخدمنا صبغة الأخضر الفاتح Light Green بدلا من ملون الانيلين الازرق Aniline Blue؛ أما النواة والسايتوبلازم والليفين Fibrin والألياف العضلية Muscle fibers فبلون احمر. كما أننا استخدمنا مادة Phosphotungstic acid بدلا من مادة Phosphomolybdic acid.

مكونات الملون:

١. Bouin's Solution

- Picric acid (saturated aqueous - about 1.22%) $(NO_3)_3C_6H_2OH$ 75 ml
- Formaldehyde 37% - 40% 25 ml
- Acetic acid 5 ml

٢. Gomori's Trichrome Stain

- Chromo trope 2R 0.6 gm
- Light green reagent 0.6 gm

- Glacial acetic acid 5% 1.0 ml
- Phosphotungstic acid 1.0 gm
- Distilled water 100 ml

٣- Concentrated hydrochloric acid 1.0 ml

مبدأ عمل الملون:

يقوم ملون البلازما (Chromotrope 2R) بالاتحاد مع ملون ألياف النسيج الرابط الأخضر الخفيف في محلول Phosphotungstic acid المضاف إليه حامض ألخليك الثلجي Glacial acetic acid إذ يلون العضلات والسايتوبلازم وفي ذات الوقت يؤخذ Tungstate ion من قبل الألياف الغراوية وسرعان ما تتحد ملون ألياف النسيج الرابط Connective tissue مع هذا المعقد ملونة الكولاجين بلون اخضر. (تحضير الصبغة ملحق ١١)

طريقة التلوين:

- أزيل الشمع بنفس خطوات الملونات السابقة.
- التموء Hydration .
- شطفت جيدا بالماء المقطر لعدة دقائق.
- ثبتت المقاطع بغمرها في محلول بون Bouin's solution لمدة ساعة واحدة وتحت درجة حرارة ٥٦°م في الفرن الكهربائي.
- أخرجت الشرائح من الفرن وتركت لتبرد ثم غسلت بالماء الجاري جيدا لمدة حوالي ٤ دقائق ولحين اختفاء اللون الأصفر منها.
- غمرت بالماء المقطر لدقيقتين.
- وضعت في ملون Gomori's Trichrome Stain لمدة ١٠ دقيقة.
- ميزت لمدة دقيقتين في تركيز Acetic acid 0.5% .
- سحب الماء منها Dehydrated بتغيير واحد من الكحول تركيز ٩٥% وبسرعة وبثلاث تغييرات من الكحول المطلق ١٠٠%.
- روقت بتمريرين من الزايلين لمدة دقيقتين لكل تمرير.
- حملت بوضع غطاء الشريحة ومادة DPX ووضعت على الصفيحة الحارة لعدة ساعات لتجف.

٣- ٩ تقييم مستوى الهرمونات *Hormonal assay*

تم سحب الدم من قلب الحيوان مباشرة في اثناء تشريحه لاستخلاص مصل الدم منه لغرض فحص تراكيز الهرمونات باستعمال أنابيب غير حاوية على مضاد التجلط EDT Free Tubes إذ تم ترك عينة الدم حوالي 30 دقيقة لإكمال التجلط بدرجة حرارة الغرفة ، ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي لمدة ٣ دقائق سرعة ٢٠٠٠ دورة / دقيقة - ولم يستعمل الموقف لايقاف دوران الجهاز - ثم سحب المصل بتأني بواسطة أنبوبة ماصة (Protocols for the Preparation of Blood Plasma and Serum, 2009)، بعدها نقل المصل الى جهاز Vidas® للفحوصات الهرمونية، لغرض إجراء التقييم الكمي لهرمون الاسترادايول Estradiol - باستخدام تقنية Enzyme-Linked Fluorescent (ELFA) Immunoassay For The Quantitative Determination باستعمال العدة kit الخاصة وهي Vidas® Estrodiol II (E2 II) والتقييم على أساس الاقتران ألتزاحمي مع ظهور الاستشعاع النهائي إذ أن الطور الصلب المستلم يعمل كطور صلب في التقييم وان المواد الأولية للتقييم تكون جاهزة للاستخدام في داخل العدة الداخلة للجهاز الذي يعمل ذاتيا وتم العمل كما يلي:

- معايرة عينة السيطرة؛ وتبريد جو المختبر عند حوالي عشرين درجة مئوية.
- سحب 200 µl من المصل وبدرجة حرارة الغرفة بالماصة ووضع في الحفرة الأولى للقطعة البلاستيكية الخاصة بالجهاز والحاوية على عشرة حفر الحفر الثانية والثالثة والرابعة فارغات والخامسة مخصصة للمادة المقترنة Conjugated substance والسادسة فارغة والسابعة والثامنة والتاسعة للغسيل بالمحلول الدارئ والحفرة العاشرة تحوي على المادة الكيميائية الأخيرة للتفاعل.
- أدخلت الحاوية للجهاز لقراءتها خلال مدة حوالي ساعة واحدة.
- عند اكتمال التفاعل أزيلت المواد الصلبة وأخرجت القطعة المستطيلة من الجهاز وتخلص منها بصورة سليمة كون المواد المستخدمة مواد مسرطنة وكاوية وأيضا من أصل بشري وحيواني وحتمال احتوائها على عناصر امراضية.
- اظهر الجهاز نتائج التقييم ذاتيا بعد مقارنتها مع المنحني القياسي الذي تم تخزينه بالجهاز بعد المعايرة ببدء العمل؛ والنتيجة النهائية تكون مقدّرة بالبيكوغرام / مل (pg /ml) وكذلك التقييم الكمي لهرمون البروجيستيرون Progesterone Assay (PRG) باستخدام تقنية Enzyme-Linked Fluorescent Immunoassay For The Quantitative Determination (ELFA) وبإتباع نفس الخطوات المتبعة بتقييم هرمون الاسترادايول

أعلاه ولكن باستعمال العدة الخاصة بهرمون البروجيستيرون والنتيجة النهائية لقراءة الجهاز مقدّرة بالنانوغرام / مل (ng/ml).

٣-١٠ حجم الرحم:

تم قياس حجم الرحم بطريقة احتساب السائل المزاح وذلك باستخدام اسطوانة زجاجية مدرجة حاوية على سائل (محلول فورمالين ١٠%) وقراءة ارتفاع السائل فيها ثم غمر الرحم كاملا بالسائل وقراءة ارتفاع السائل ثانية فالفرق بين القراءتين هو حجم الرحم بالمليليتر.

٣-١١ وزن الرحم:

وذلك بوزن الرحم بالميزان الكهربائي الدقيق بعد إزالة الشحوم الملتصقة به وقطع قرنيه وقص المبايض عن القرنين.

٣-١٢- قطر الرحم :

باستخدام أداة الورنية Wernier

٣-١٣- عدد الأجنة بالرحم:

إذ من السهل حساب عدد الأجنة في كل قرن من قرني الرحم عيانيا.

٣-١٤ - التحليل الإحصائي

تم إجراء تحليل التباين لتجربة عاملية ٤×٢×٨ مكررات وفق التصميم العشوائي الكامل لدراسة تأثير التجريع بالعقار ومدة الحمل في مستويات هرموني الاسترادايول والبروجيستيرون وحجم ووزن وقطر الرحم وعدد الأجنة فيه واختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات باستخدام اختبار اقل معنوي Least Significant Differences (L.S.D.) (الساهوكي ووهيب، ١٩٩٠) ، وتم بيان العلاقات الخطية بين مستويات جرع العقار وهرموني الاسترادايول والبروجيستيرون باستعمال معادلة الانحدار الخطي Linear Regression الذي يعبر عن هذه العلاقات بمعادلات خطية بين جرع العقار ومستويات الهرمونين مع معاملات الارتباط (r) Correlation Coefficient لكل علاقة.

الفصل الرابع

النتائج

The Results

تتصف إناث الجرذان بان كل حالات الحمل الطبيعي فيها وغرس كيستها الأريمية Blastocyst يبتدئ في المنطقة المضادة للمساريق الرحمي من بطانة الرحم ينتقل بعدها الحمل الى المنطقة المساريقية الرحمية من البطانة .

اعتمدت قراءة نتائج البحث على اليومين السابع والتاسع من الحمل، اللذان تم اعتمادهما كأساس لدراسة المتغيرات التي تحدث في أجنة إناث الجرذان الحوامل وكذلك في بطانة أرحامهن في أجزائه المضادة للمساريق الرحمي أولاً وفي أجزائه المساريقية الرحمية ثانيا، تم الاعتماد في تحديد المتغيرات النسجية في اليومين المذكورين أعلاه بصورة أساسية على ملوني الهيماتوكسيلين والايوسين H&E وملون كوموري متعددة الألوان ذات الخطوة الواحدة Gomori's - one step trichrome stain.

وقد قسمت دراسة النتائج على المواضيع الآتية :

أولا - المتغيرات في النسيج الساقطي Decidual tissue .

ثانيا – المتغيرات في هجرة – أو غزو Invasion- الخلايا الغاذية من جانب الجنين إلى جانب الأم .

ثالثا – توزيع الألياف الغراوية .

رابعا – المتغيرات الهرمونية والتي شملت هرموني الاسترادايول (الاستروجين) والبروجيستيرون .

خامسا: المتغيرات في وزن الأرحام وحجمها وقطرها وكذلك عدد الأجنة فيها.

سادسا : التحليل الإحصائي للنتائج .

٤ – ١ اليوم السابع من الحمل 7dpc

خلال وصف الشكل الظاهري للرحم في هذا اليوم لوحظ أن الحمل في مجموعة السيطرة والمجاميع المعالجة يظهر على شكل انتفاخات عقدية تمتد على طول قرني الرحم (صورة٤-1).

أولا - المتغيرات في النسيج الساقطي :

أظهرت نتائج قراءة المقاطع النسجية الملوّنة بملوّن الهيماتوكسيلين والايوسين H&E وملّون كوموري متعدد الألوان ذات الخطوة الواحدة Gomor's- one step trichrome stain المأخوذة من مناطق الغرس لمجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة بالفلاجيل في هذا اليوم من الحمل نتائج مشابهة لما موجود في الحمل الطبيعي إذ اتصفت بطانة الرحم بالتحويرات الضرورية التي تدلل على حدوث التفاعل الساقطي الذي هو من الدلائل المهمة لنجاح عملية الغرس ونجاح الحمل لاحقا (الصور ٤-٢ و ٤-٣ و٤-٤)، لقد تمثل هذا الأمر بالتوزيع المنتظم لمناطق النسيج الساقطي في بطانة الرحم Endometrium وكذلك ابتداء الغرس للكيسة الاريمية في الجزء المضاد للمساريق من بطانة الرحم مصحوبا بتكدس النسيج الساقطي حول منطقة الغرس والمناطق المحيطة بها متمثلة بالنسيج الساقطي الابتدائي الذي كان على شكل طوق من الخلايا المتراصة الخالية من الاوعية الدموية (صورة ٤-٢) حول منطقة الغرس والكيسة الاريمية المنغرسة في حين ظهرت منطقة النسيج الساقطي الثانوية التي تشكل الطوق الثاني المحيط بمنطقة الغرس اقل تماسكا وقد تمثل ذلك بتواجد الأوعية الدموية واضحا ما بين خلايا النسيج الساقطي لتلك المنطقة فيها (صورة ٤-٣). اما في الجهة المقابلة للمنطقة المضادة للمساريق من بطانة الرحم وهي المنطقة المساريقية من بطانة الرحم فقد ظهر النسيج الساقطي فيها اقل تماسكا، أما في منطقة الغرس فقد لوحظ اختفاء الطبقة الظهارية لبطانة الرحم Endometrial epithelium (صورة ٤- ٣).

لقد ابتدأ الغرس كما بينا سابقا في بطانة الرحم في جزئه البعيد عن المساريق الرحمية إذ لوحظ في هذه المنطقة :

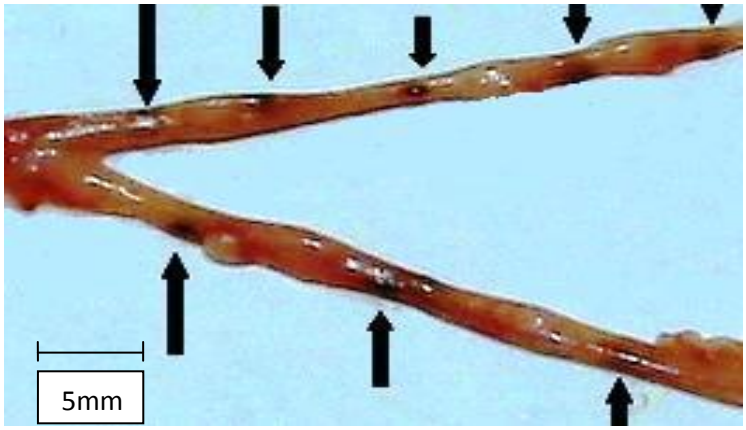
أ- ابتداء التمايز في خلايا السدى الرحمي لبطانة الرحم Endometrium وتحولها الى خلايا ساقطية في عملية مهمة تصاحب الغرس وهي Decidualization او التفاعل الساقطي Decidual reaction والذي عنى إشارة مهمة إلى نجاح عملية الغرس، كما ولوحظ أيضا أن بطانة الرحم مقسمة على أربع مناطق (الصور ٤-٢ و ٤-٣ و ٤-٤) :

١) منطقة النسيج الساقطي الابتدائي (PDZ) والتي كاننت فيها خلايا السدى الرحمي مكتنزة ومتراصة مع بعضها وخالية من الاوعية الدموية ، وخلايا هذه المنطقة كبيرة الحجم نسبيا مركزية النواة شملت على صفوف عدة من الخلايا كما موضحة بالصور ٤- ٢ و ٤-٣ و ٤-٤ و ٤-٥.

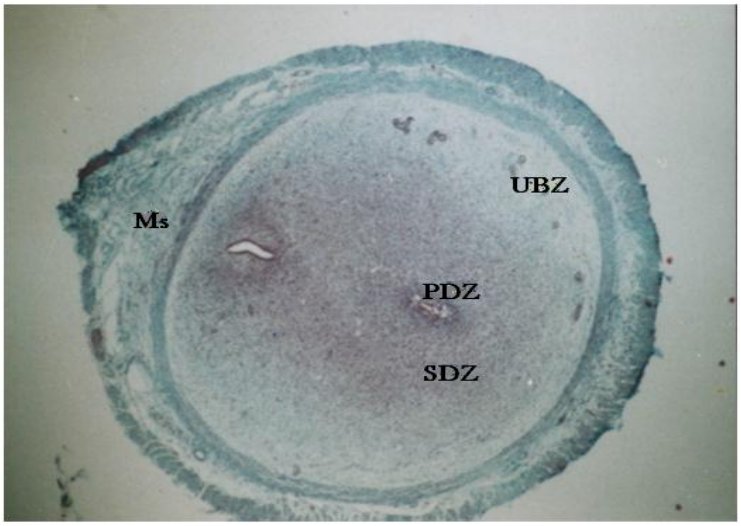
٢) منطقة النسيج الساقطي الثانوي (SDZ) والتي تقع مابين طبقة النسيج الساقطي الابتدائي (PDZ) ومنطقة النسيج الساقطي غير المتمايزة (UDZ) من المنطقة القاعدية (BZ) لبطانة الرحم، وشكلت خلايا طبقة النسيج الساقط ي الثانوية (SDZ) معظم بطانة الرحم وكانت على شكل حلقة حول طبقة النسيج الساقطي الأولي (PDZ). إن أهم ما لوحظ في هذه المنطقة هو وفرة الأوعية الدموية ووجود فسح بينية مابين الخلايا ، ولهذه الخلايا حجم اصغر نسبيا من خلايا طبقة النسيج الساقطي الابتدائي (PDZ) وكما موضحة في صورة (٤-٢).

٣) منطقة الغرس Implantation Zone (IZ): وهي منطقة صغيرة تقع ملاصقة للجنين من جهة بطانة الرحم المضادة للمساريق الرحمية إذ اختفت في هذه المنطقة الطبقة الظهارية لبطانة الرحم Endometrial epithelium (الصور ٤-٣ و ٤-٤).

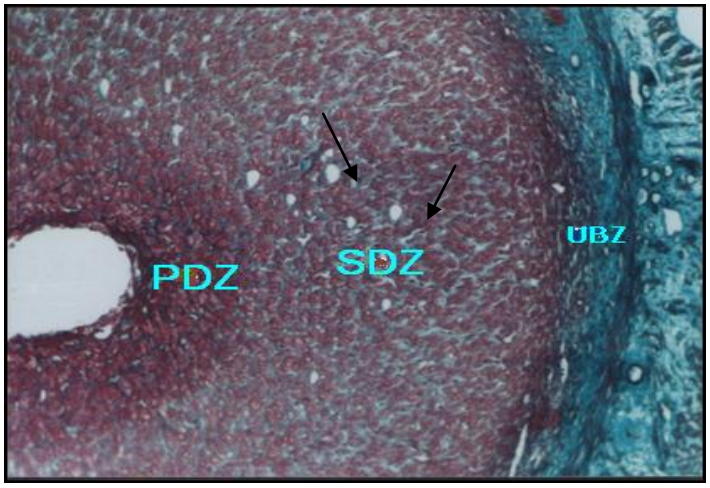
٤) منطقة النسيج الساقطي غير المتمايزة (UDZ) : والتي تقع مابين طبقة النسيج الساقطي الثانوي (SDZ) والطبقة العضلية الداخلية للرحم Inner circular layer of myometrium وكانت خلايا هذه المنطقة صغيرة الحجم نسبيا مقارنة مع طبقة النسيج الساقطي الثانوي (SDZ) و طبقة النسيج الساقطي الابتدائي (PDZ) والتي بدت اصغر حجما (الصور: ٤-٢ و ٤- ٣ و ٤-٤).



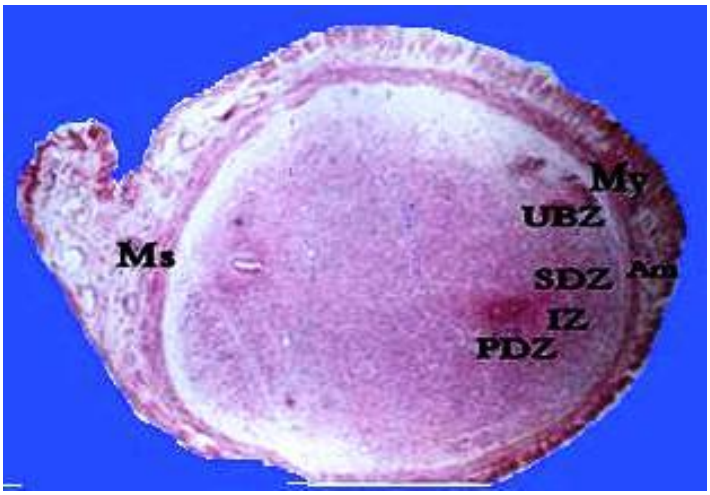
صورة ٤-١: يمثل مناطق بدايات الحمل (الغرس Implantation) كما مؤشر عليها بالأسهم في فترة الحمل عند اليوم السابع – مجموعة السيطرة.



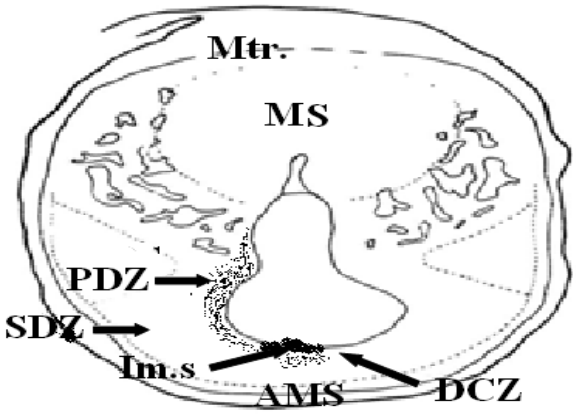
صورة ٤-٢: مقطع مستعرض لرحم انثى جرذ حامل من مجموعة السيطرة في اليوم السابع يبين توزيع مناطق النسيج الساقطى في بطانة الرحم وكذلك يبين انتشار الالياف الغراوية (وقد اصطبغت باللون الاخضر) وتكدسها في المنطقة البعيدة نسبيا عن منطقة الغرس والنسيج الساقطي الابتدائي وازدياد انتشارها كلما اتجهنا نحو منطقة النسيج الساقطى الثانوية وغير المتمايزة من بطانة الرحم. منطقة النسيج الساقطي غير المتمايزة (UBZ) ؛ منطقة النسيج الساقطي الاولي (PDZ) ؛ منطقة النسيج الساقطي الثانوي (SDZ)؛ Mesometrial (Ms) site جهة المساريق الرحمي. Gomori's one step trichrome stain، X٤٠.



صورة ٤ - ٣ : مقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم السابع من الحمل (7dpc) – مجرعة جرعة علاجية واحدة من الفلاجيل يبين توزيع خلايا النسيج الساقطي إذ تكون منطقة النسيج الساقطي الابتدائي (PDZ) أكثر تماسكا من خلايا منطقة النسيج الساقطي الثانوي (SDZ) والتي توجد فيها أوعية دموية (الأسهم السوداء) في حين تختفي الاوعية الدموية في المنطقة التي سبقتها. يلاحظ اختفاء الألياف الغراوية (اللون الاخضر) في منطقة النسيج الساقطي الابتدائي وازدياد تجمعها كلما اتجهنا الى منطقة النسيج الساقطي الثانوي (SDZ) ومنها الى المنطقة القاعدية غير المتمايزة (UBZ) ؛ بينما لاتوجد ألياف غراوية ضمن منطقة (PDZ). Gomori's, one step trichrome stain X٨٠ .



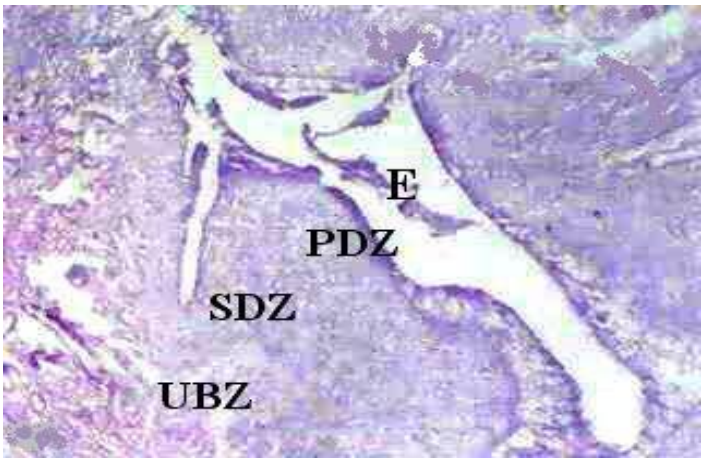
صورة ٤-٤: مقطع نسيجي مستعرض للرحم في اليوم السابع من الحمل لأنثى جرذ معالج بضعف الجرعة العلاجية من الفلاجيل ؛ يلاحظ وجود التفاعل الساقطي وتوزيع النسيج الساقطي في بطانة الرحم، منطقة النسيج الساقطي غير المتمايزة (UBZ) ؛ منطقة النسيج الساقطي الابتدائي (PDZ) ؛ منطقة النسيج الساقطي الثانوي (SDZ) ؛ المنطقة القاعدية غير المتمايزة (UBZ) ، الغلالة العضلية للرحم Myometrium (My) ؛ مكان الغرس(Iz) Implantation zone ، الجهة المضادة للمساريق الرحمي (Am) Antimesometrial site ؛ جهة المساريق الرحم Mesometrial site (Ms) . H&E، X٤٠.



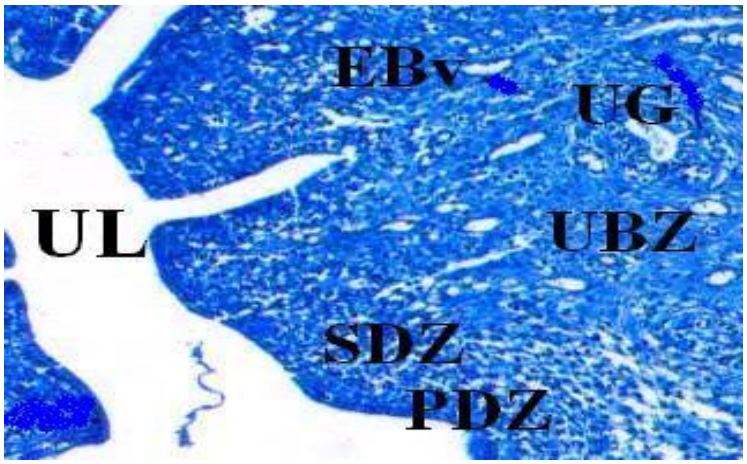
صورة ٤- ٥: رسم تخطيطي لصورة مقطع عرضي نسجي بالمجهر الضوئي مرسومة باستعمال الكاميرا ليوسيدا Camera Lucida. لرحم جرذ يوضح توزيع المناطق ومكان الغرس في رحم أنثى الجرذ الحامل في اليوم السابع 7dpc؛ (PDZ) منطقة النسيج الساقطي الابتدائي Primary Decidual Zone؛ (SDZ) منطقة النسيج الساقطي الثانوي Secondary Decidual Zone؛ (Im.s) مكان الغرس Implantation site؛ (AMS) المنطقة المضادة للمساريق الرحمي Antimesometrial Site؛ (DCZ) منطقة نسيج ساقطي جيبي - مستترDecidual Crypt Zone؛ (MS) جهة المساريق الرحمي Mesometrial Site ؛ (Mtr) المثلث المساريقي الرحمي Mesometrial triangle.

لم يلاحظ وجود أي تفاعل موجب للنسيج الساقطي بكل مناطقه في حيوانات السيطرة ومجاميع العلاج. عند استعمال ملوّن الـ PAS (صورة ٤-٦) ولكن بالمقابل كان هنالك تفاعل ايجابي عند استعمال ملوّن الالسين الزرقاء ذي الأس الهيدروجيني ٢,٥ pH (الصور ٤-٧ و ٤-٨) في حين اختفى هذا التفاعل عند الأس الهيدروجيني ١.٠ pH من نفس الملون (صورة ٤-٩).

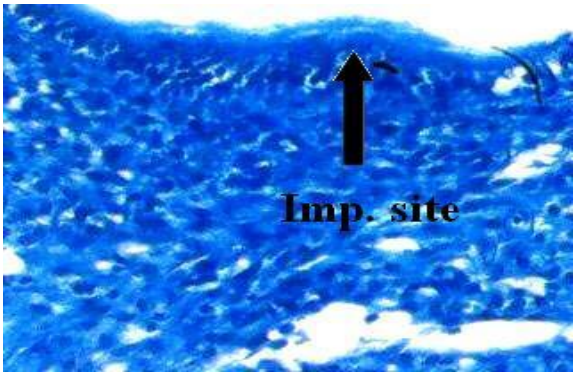
كما لوحظ زيادة في حجم الغدد الرحمية وكذلك كثرة الالتواءات فيها Tortousity كجزء من التفاعل ألساقطي الذي حدث في بطانة الرحم كما تبين (صورة ٤-١٠) والذي يلاحظ من خلاله وجود مقاطع مستعرضة لهذه الغدد في المكان نفسه إذ دلل وجود هكذا ترتيب للغدد على درجة الالتواء الذي يتميز به عادة كل نجاح في عملية الحمل في أيامه الأولى (صورة ٤-١٠)، لم يلاحظ وجود أي تفاعل للغدد الرحمية عند استعمال ملون PAS (صورة ٤-٦) ولكن بالمقابل كان هنالك تفاعل ايجابي عند استعمال ملون الالسين الزرقاء ذي الأس الهيدروجيني ٢,٥ (الصور ٤-٧ و ٤-٨).



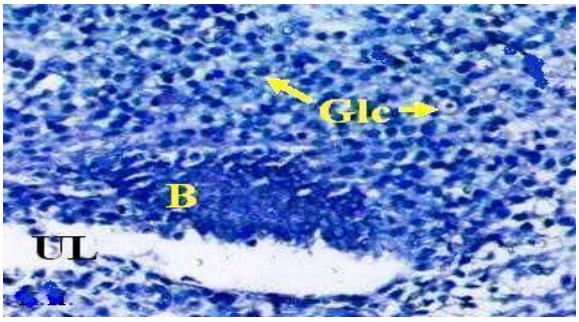
صورة ٤ - ٦ : صورة مجهرية لمقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم السابع من الحمل (7dpc) من مجموعة السيطرة وقد بدى التفاعل السلبي في بطانة الرحم ومن ضمنها النسيج الساقطي. منطقة النسيج الساقطي غير المتمايزة (UBZ) ؛ منطقة النسيج الساقطي الاولي (PDZ) ؛ منطقة النسيج الساقطي الثانوي (SDZ) ؛ الجنين (E) Embryo. . PAS stain , ١٠٠ X .



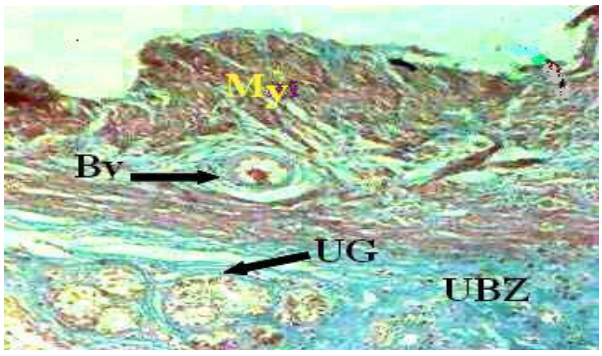
صورة ٤-٧ : صورة مجهرية لمقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم السابع من الحمل (7 dpc) مجرع بضعف الجرعة العلاجية من الفلاجيل ؛ تظهر التفاعل الموجب لمتعدد السكريات الحامضية في نسيج ظهارة الرحم وفى النسيج الساقطي بكل أجزاءه فضلا عن الغدد الرحمية ؛ (EBv) وعاء دموي جنيني ؛ غدة رحمية (UG) ؛ نسيج ساقطي اولي (PDZ) ؛ نسيج ساقطي ثانوي (SDZ)؛ نسيج ساقطي قاعدي غير متمايز (UBZ)؛ تجويف الرحم Uterine Lumen (UL) ؛ صبغة الالسيان الزرقاء ذات الأس الهيدروجيني ٢,٥ Alcian Blue stain pH 2.5, X100.



صورة ٤-٨ : صورة مجهرية لمقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم السابع من الحمل (7dpc) ومجرع بضعف الجرعة العلاجية من الفلاجيل. الشكل يوضح مكان الغرس Implantation site = (Imp. Site) وكذلك ظهارة الرحم وخلايا النسيج الساقطي وقد أبدت التفاعل الايجابي مع صبغة الالسيان الزرقاء ذات الأس الهيدروجيني ٢,٥ Alcian Blue stain pH ٢.٥، X100 .



صورة ٤-٩ : صورة مجهرية لمقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم السابع من الحمل (7dpc) ومجرع بثلاثة أضعاف الجرعة العلاجية من الفلاجيل. مكان غرس الكيسة الاريمية Blastocysts (B) ، Glycogen (Glc) loaded cells بدايات ظهور خلايا مكتنزة بالكلايكوجين ؛ تجويف الرحم Uterine Lumen (UL)، صبغة الالسيان الزرقاء ذات الأس الهيدروجيني ١.٠ Alcian Blue stain pH 1.0 - X100 .



صورة ٤- ١٠ : مقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم السابع من الحمل (7dpc) ومجرعة بثلاثة أضعاف الجرعة العلاجية من الفلاجيل ، توضح وجود الألياف الغراوية في منطقة النسيج الساقطي غير المتمايزة Undifferentiated Basal Zone (UBZ)؛ وعاء دموي Blood Vessel(BV) ؛ غلالة عضلية رحمية Myometrium (My). Gomori's- one step trichrome stain، X100 .

ب : هجرة الخلايا الغاذية *Trophoblast invasion*

عند دراسة هذه الفترة من الحمل لم تكن هجرة الخلايا الغاذية واضحة من خلال قراءتنا للشرائح النسجية بالتقنية المتوفرة حاليا.

ج– توزيع الألياف الغراوية *Collagen fibers distribution*

لقد بين ملون Gomori's- one step trichrome stain توزيع الألياف الغراوية في بطانة الرحم والنسيج الساقطي، ففيما يخص منطقة النسيج الساقطي الابتدائي (PDZ) ونتيجة لالتصاق الخلايا مع بعضها واختفاء الفسح البينية للخلايا نسبيا فلم يلاحظ وجود الألياف الغراوية في هذه المنطقة (صورة ٤-٤) على العكس من ذلك لوحظ وجود ألياف غراوية في المنطقة التالية لها وهي طبقة النسيج الساقطي الثانوي (SDZ) ولكن بكميات قليلة (صورة ٤-٣) وزادت كمية الألياف الغراوية كلما اتجهنا نحو المنطقة القاعدية غير المتمايزة (الصور ٤-٢ و ٤-٣) (UBZ) . يلاحظ وفرة الأوعية الدموية والتي احاطتها وفرة من الألياف الغراوية المرتبة على شكل حلقات خاصة حول الغدد الرحمية (صورة ٤- ١٠).

٤-٢ : اليوم التاسع من الحمل 9 dpc

أولا: المتغيرات في النسيج الساقطي:

ظهرت مواقع الغرس في هذا اليوم كدلالة على نجاح الحمل بشكل ايجابي إذ كانت الأجنة المغرسة حديثا تبدو من خلال النظر الى الرحم من الخارج ،عند فتح التجويف ألبطني على هيئة انتفاخات واضحة في قرني الرحم تشبه خرز المسبحة Beaded appearance (صورة ٤-١١). لقد بدا النسيج ألساقطي على درجة كبيرة من النمو والتطور إذ شمل معظم خلايا السدى الرحمي لبطانة الرحم بجزيئها المساريقي والمضاد للمساريق وكان هذا جليا وواضحا في المقاطع النسجية المصبوغة بملون الهيماتوكسيلين والايوسين H&E وملون الكوموري المتعدد الألوان ذي الخطوة الواحدة إذ بدت بطانة الرحم وبضمنها النسيج الساقطي منقسمة على خمس مناطق :

١. منطقة نسيج ساقطي جيبي – مستتر (DCZ) (صورة ٤ -١٢-A) تقع عند قطب النسيج المضاد للمساريق الرحمي وباتصال مباشر مع الجنين، كانت الخلايا الساقطة لهذه المنطقة مصفوفة مكونة جدران النسيج المستتر DCZ .
٢. منطقة النسيج المضاد للمساريق الرحمي (صورة ٤ - ١٢-A):

شكلت هذه المنطقة جزء من النسيج الساقطي المكتظ والمرصوص بإحكام في الجانب المضاد للمساريق الرحمي لبطانة الرحم؛ وهذا الجزء امتد من النسيج المستتر DCZ باتجاه النسيج غير الساقطي والتي هي المنطقة القاعدية غير .(UBZ) من بطانة الرحم.

٣. المنطقة القاعدية غير المتمايزة (UBZ) :

وهي المنطقة غير الساقطية وغير المتمايزة من بطانة الرحم وقد احيطت من الخارج بالمحفظة المتليفة Fibrinoid capsule؛ وخلايا هذه المنطقة تمثل خلايا شبه – اريمية ليفية Fibroblast –like cells من خلايا بطانة الرحم الأصلية، ولها فسح واسعة مابين خلاياها.

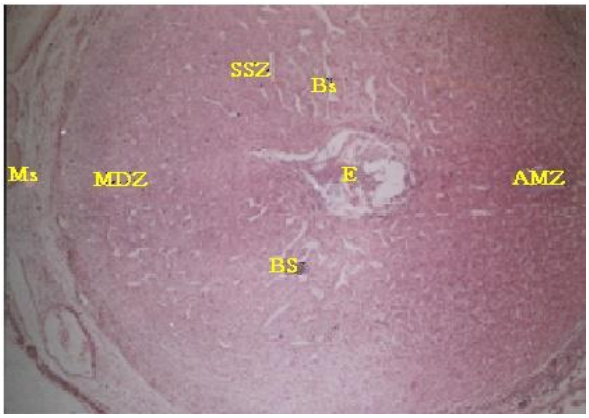
٤. منطقة النسيج الساقطي المساريقي الرحمي (MDZ) (صورة ٤ -١٢ - A):

وهذه المنطقة من النسيج الساقطي شغلت الحيز الممتد مابين العضلات الرحمية Myometrium وقطب الجنين Embryonic pole والخلايا الساقطة لهذه المنطقة غير مكتظة ومتراصة كما في (ADZ) النسيج الساقطي في المنطقة المضادة للمساريق من بطانة الرحم، ومن التراكيب التي تم ظهورها في هذه الفترة هي الجيبانيات الدموية Blood sinusoids الواسعة والملتوية.

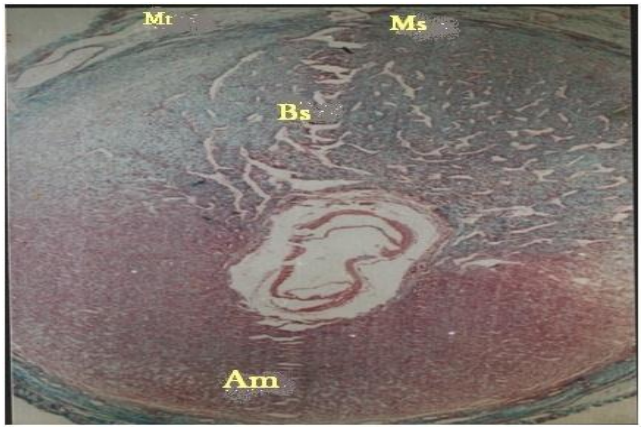
٥. منطقة الخلايا الساقطة شبه الشائكة Spiny – shaped deciduas cells zone (SSZ) (الصور ٤-١٢B و ٤-١٣):

ظهرت بأطراف منطقة النسيج المساريقي الساقطي (MDZ) ، واتصفت بصغر حجم خلاياها وان الفسح البينية للخلايا في هذه المنطقة كانت واسعة. ويبين هذا الشكل أيضا شدة اللون الأخضر في هذه المنطقة وهى دلالة على وفرة الألياف الغراوية وكيف أن هذه الشدة في اللون وكمية الألياف قد أصبحت اقل كلما اتجهنا الى منطقة النسيج الساقطي في المنطقة المضادة للمساريق من بطانة الرحم التي امتدت من المثلث المساريقي الرحمي باتجاه الجنين (الصور ٤-١٢B,A و ٤-١٣).

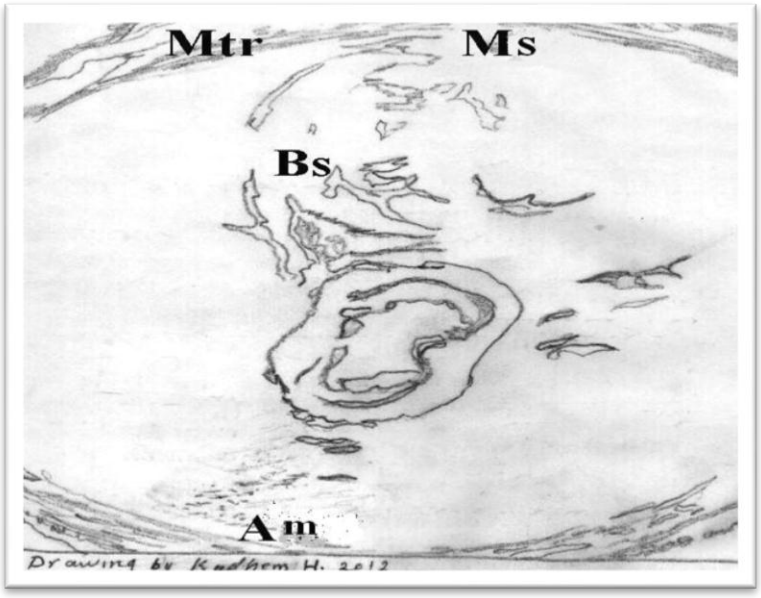
صورة ٤ - ١١: صورة تمثل مناطق الحمل (الغرس Implantation) عند اليوم التاسع من الحمل(9 dpc) مجموعة السيطرة. يلاحظ وجود انتفاخات متعددة في قرني الرحم على شكل حبات المسبحة Beaded appearance



صورة ٤- ١٢-A : مقطع عرضي في رحم الجرذ مأخوذ من منطقة الجنين (9 dpc) يبيّن توزيع مناطق بطانة الرحم؛ Antimesometrial Zone (AMZ) المنطقة المضادة للمساريق الرحمي؛ Blood sinusoids (Bs) ؛ (Ms) Mesometrial site جهة المساريق الرحمي Embryo (E) الجنين؛ Mesometrial Decidual Zone (MDZ) منطقة النسيج الساقطي المساريقي؛ Spiny Shaped decidual Zone (SSZ) منطقة الخلايا الساقطة شبه الشائكة، صبغة H&E، ٨٠ X.



صورة ٤-١٢-B: مقطع عرضي لرحم أنثى جرذ مجرع بضعف الجرعة العلاجية من الفلاجيل (9 dpc) يبين ظهور الفسح الدموية الواسعة والملتوية في منطقة النسيج الساقطي المساريقي الرحمي ؛(Am) Antimesometrial site المنطقة المضادة للمساريق الرحمي؛ (Bs) Blood sinusoids؛ (Mtr) Myometrium غلالة عضلية رحمية ؛ Mesometrium site (Ms) جهة المساريق الرحمي. X80, . Gomori's- one step trichrome stain



صورة ٤-١٢- C : رسم تخطيطي للشكل ٤-١٣ لصورة بالمجهر الضوئي مرسومة باستعمال الكاميرا ليوسيدا Camera Lucida. Am المنطقة المضادة للمساريق الرحمي؛ (Bs) Blood sinusoids ؛ غلالة عضلية رحمية (Mtr) Myometrium ؛ (Ms) Mesometrium site جهة المساريق الرحمي.

ثانيا : الخلايا الغاذية :

فيما يخص الخلايا الغاذية أوضحت نتائج هذا اليوم من الحمل تزامن ظهورها الواضح في الرحم الحامل مع انتقال الجنين من المنطقة المضادة للمساريق من بطانة الرحم إلى الجهة المساريقية من البطانة نفسها (الصور ٤-١٢-A و ٤-١٢-B و ٤-١٣)، إذ لوحظ في هذا اليوم أيضا أن الخلايا الغاذية للجنين Trophoblasts والأوعية الدموية للجنين (EBV) Embryonic Blood Vessels قد كونت ما يمكن تسميته بمنطقة الساق Stem Area (SA) إذ اندفعت الخلايا الغاذية من هذه المنطقة باتجاه النسيج الساقطي Decidual tissue لتحيط بجيبانيات الأوعية الدموية لرحم الأم Maternal blood sinusoids (BS) ومن اتجاهات مختلفة (الصور ٤-١٤ و ٤-١٥ و ٤-١٦) وهذا الترتيب هو جزء من الانتظام فيما يشبه المتاهة Labyrinthine arrangement والتي ستتكون لاحقا والذي يميز تكوين السخد من النوع المشيمي الدموي Hemochorial placenta في الجرذان الحوامل .

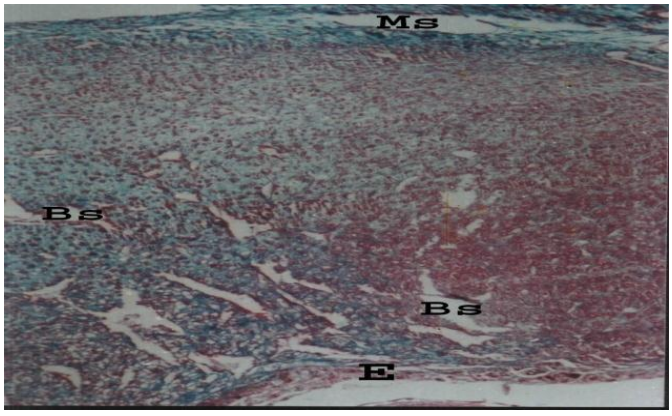
اتصفت الخلايا الغاذية (صورة ٤-١٦) بأن لها شكلاً مدوراً وذات نوى داكنة وقد اندفعت باتجاه النسيج ألساقطي المساريقي الرحمي وكانت الخلايا الساقطة على نوعين الأول بدت نواة

خلاياه اقل دكانة من الخلايا الغاذية والثاني وقد بدت خلاياه على شكل فسح خلوية ذات سايتوبلازم باهت اللون كما لوحظ أيضا أن الخلايا الغاذية قد تجاوزت النسيج الساقطي لتقترب أكثر وأكثر من الأوعية الدموية في هذه المنطقة (الصور ٤-١٤ و ٤-١٦)، وقد لوحظ في هذا اليوم التصاق خلايا الطبقة الغاذية للجنين بخلايا النسيج الساقطي للرحم في اليوم التاسع من الحمل؛ فضلا عن احتقان الجيوب الدموية الرحمية MS بالدم ويتبين في الشكل اندفاع الخلايا الغاذية باتجاهها وهذا هو ما يجب حدوثه لتكوين السخد من النوع المشيمي الدموي Haemochorial placentation في الجرذ (الصور ٤-١٤ و ٤-١٥).

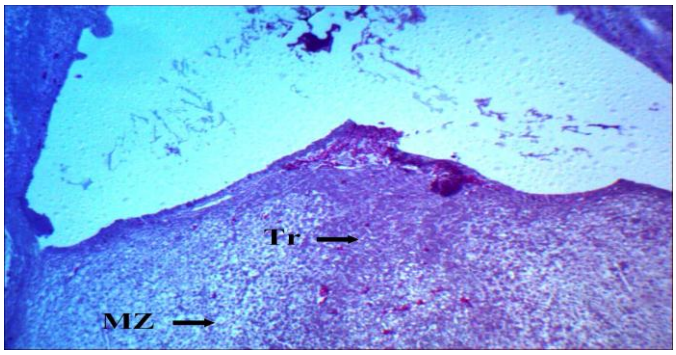
ثالثا: الالياف الغراوية:

عند استخدام صبغة Gomor's One- step trichrome stain بدت الألياف الغراوية غير متساوية التوزيع خلال المناطق المختلفة للنسيج الساقطي وبطانة الرحم Endometrium، كما لم تظهر الألياف الغراوية في منطقة النسيج الساقطي المستتر Decidual Crypt Zone (DCZ) ولا في Antimesometrial Decidual Zone (ADZ) ولكن شوهدت بوفرة في المثلث المساريقي الرحمي Mesometrial triangle والجزء الطرفي لمنطقة النسيج الساقطي المساريقي Mesometrial Decidual Zone (MDZ) بالقرب من عضل الرحم Myometrium والمثلث المساريقي الرحمي خاصة حول الأوعية الدموية لهذه المنطقة إذ كانت شدة اللون الأخضر في منطقة النسيج ألساقطي المساريقي الرحمي وهي دلالة على وفرة الألياف الغراوية وكيف أن هذه الشدة في اللون وكمية الألياف قد أصبحت اقل كلما اتجهنا الى منطقة النسيج الساقطي في المنطقة المضادة للمساريق من بطانة الرحم (الصور ٤- ١٢- B و ٤-١٣) ، كما أن كمية لابأس بها من الألياف الغراوية شوهدت في منطقة الخلايا الساقطة شبه الشائكة Spiny – shaped deciduas cells zone (SSZ)؛ وتركيز عال من الألياف الغراوية ضمن المنطقة القاعدية غير المتمايزة The undifferentiated basal zone (UBZ) إذ تجمعت مابين خلايا السدى غير المتمايزة وبين غدد بطانة الرحم Endometrial glands (صورة ٤-١٢ A).

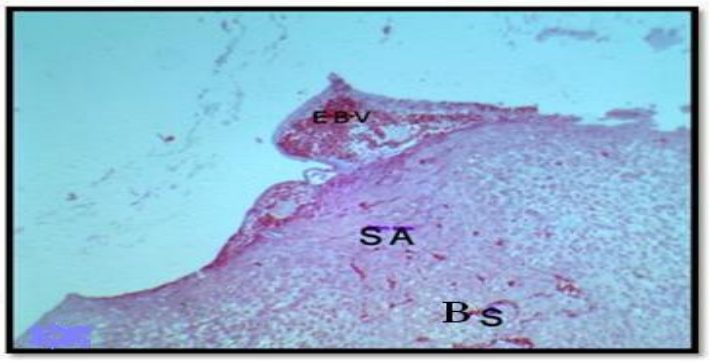
يتبين من الصورة (٤-١٣) أن الألياف الغراوية كانت موجودة فقط حول جيبانيات الأوعية الدموية لطبقة النسيج الساقطي الرحمي المساريقي Mesometrial Decidual Zone (MDZ) وهي غير موجودة في أماكن اخرى من النسيج الساقطي المساريقي كما وجدت الألياف الغراوية فقط في طرف النسيج الساقطي Outskirt of collagen fibers(Os) مجاورة لطبقة العضلات الرحمية Myometrium (Mm) (اللون الأخضر).



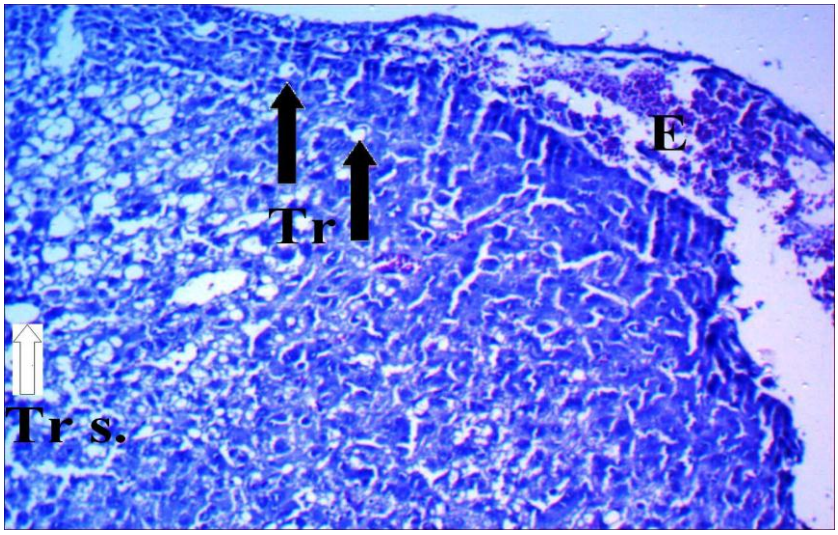
صورة ٤-١٣: صورة مكبرة للمقطع المستعرض الذي ظهر فى صورة ٤-١٢- B لتبيان الصورة الواضحة للنسيج الساقطي والفسح الدموية وكذلك توزيع الألياف الغراوية للنسيج الساقطي في المنطقة المساريقية من بطانة الرحم. Blood sinusoids (BS)جيوب دموية؛ Embryo (E) جزء من الجنين؛ Mesometrial site of the endometrium (Ms) منطقة المساريق الرحمي لبطانة الرحم Gomori's -One step trichrome stain , X١٠٠.



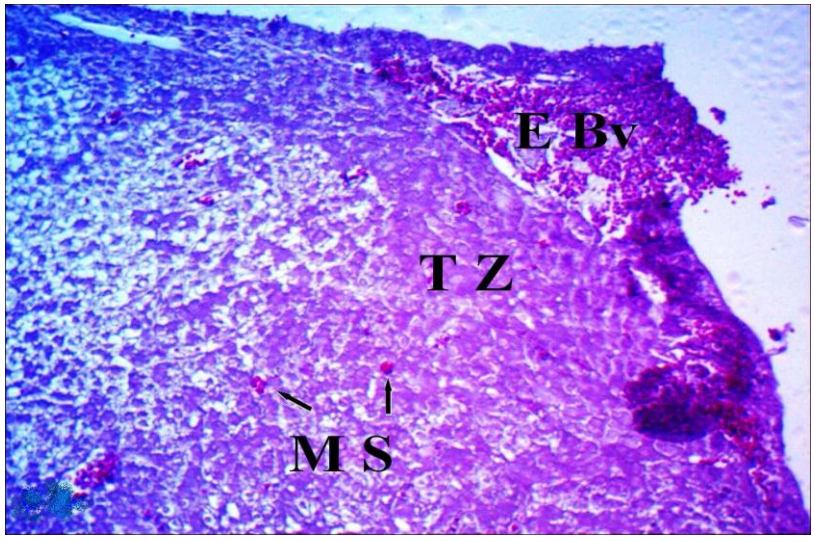
صورة ٤- ١٤: مقطع نسجي لرحم انثى (9 dpc) مجرعة بثلاثة أضعاف الجرعة العلاجية من الفلاجيل يوضح كيف ان الخلايا الغاذية (Tr) قد اندفعت من الجنين باتجاه النسيج الساقطي في المنطقة المساريقية الرحمية من بطانة الرحم (MZ) صبغة H&E. X100.



صورة ٤-١٥ : صورة مجهرية لمقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم التاسع من الحمل (9 dpc) يظهر الخلايا الغاذية Trophoblast لجنين انثى جرذ مجرعة بجرعة علاجية واحدة من الفلاجيل وقد كونت ما يسمى منطقة الساق Stem Area (SA)؛ الأوعية الدموية للجنين Embryonic Blood Vessels (EBV) ؛ جيبانيات الأوعية الدموية لرحم الأم Maternal blood sinusoids (BS). X100.Gomori's- one step trichrome stain



صورة ٤- ١٦: يبين تحول الجنين (E) الى الجانب المساريقي من بطانة الرحم (9 dpc). يلاحظ في هذا الشكل اندفاع الخلايا الغاذية (Tr) نحو النسيج الساقطي في منطقة النسيج الساقطي المساريقي الرحمي والذي ظهرت خلاياه على نوعين الأول بدت نواة خلاياه اقل دكانة من الخلايا الغاذية والثاني (Tr s) وقد بدت خلاياه على شكل فسح خلوية ذات سايتوبلازم باهت اللون. صبغة H&E، X٢٠٠.



صورة ٤-١٧ : صورة مجهرية لمقطع عرضي في رحم الجرذ في اليوم التاسع من الحمل (9 dpc) لأنثى مجرعة بثلاثة أضعاف الجرعة العلاجية من الفلاجيل توضح التصاق الخلايا الغاذية (TZ) بالنسيج الساقطي لانثى جرذ حامل ؛ جيبانيات دموية Mesometrial sinusoids (Ms) ؛ اوعية دموية جنينية Embryonic Blood vessels (EBv) ، Gomori's One- step trichrome stain, X100.

٤ – ٣ التغيرات الهرمونية *Hormonal changes*

والتي شملت هرموني الاستراديول Estrodiol والبروجيستيرون Progesterone.

٤-٣-١ تأثير تجريع عقار الفلاجيل –الميترونيدازول- في مستوى هرمون الاستراديول في مصل دم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

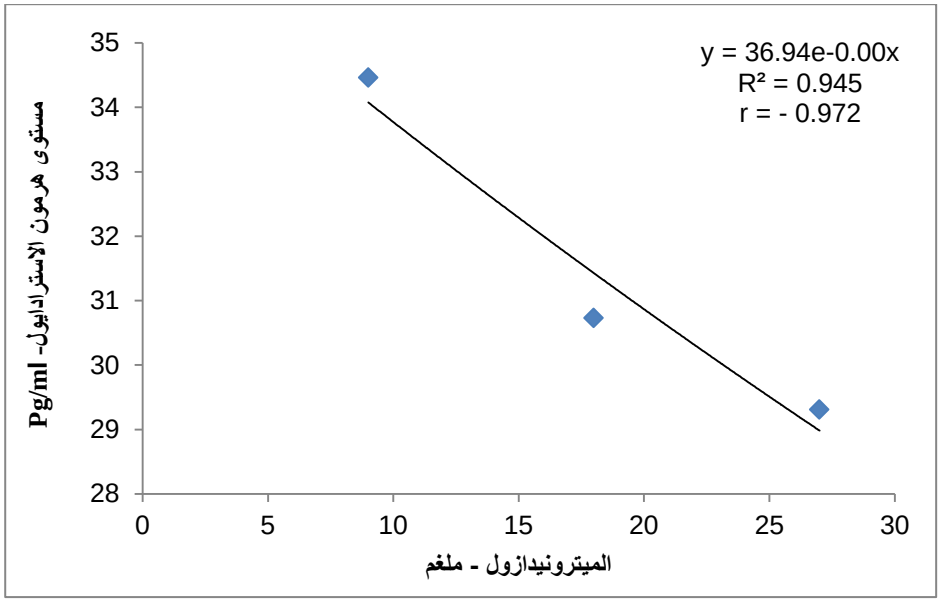
أظهرت نتائج الدراسة وكما بين الجدول (٤-١) أن تجريع إناث الجرذ النرويجي الحامل بعقار الميترونيدازول بجرعة علاجية T2 وضعف الجرعة T3 أدى إلى انخفاض في مستوى هرمون الاستراديول في مصل الدم الا أن هذا الانخفاض لم يصل إلى مستوى المعنوية $p>0.05$ مقارنة مع مجموعة السيطرة T1 في حين أن تجريع الحوامل بثلاثة أضعاف الجرعة T4 قد أدى الى انخفاض معنوي $p<0.05$ في مستوى هرمون الاستراديول مقارنة مع مجموعات السيطرة T1 والجرعة العلاجية T2 وضعفها T3 وهذا ما أظهرته علاقة الارتباط r بين جرعة الميترونيدازول ومستوى الهرمون خلال مدتي الحمل سبعة وتسعة أيام إذ بلغت ٠.٩٧٢ - و ٠.٩٩٨ - للمدتين على التوالي، وكانت علاقة الارتباط غير معنوية $p>0.05$ عكسية لفترة ٧ أيام ومعنوية $p<0.05$ عكسية لفترة ٩ أيام وهذا يعني انه كلما ازدادت جرعة العقار كلما قل مستوى هرمون الاستراديول وكما موضح ذلك في الشكلين (٤-١ و٤-٢). كما لم يكن هناك تأثير معنوي $p>0.05$ لمدة الحمل في متوسط مستوى الهرمون حيث بلغ المستوى في مصل الدم ٣١.٩٤ و ٢٩.٣٧ Pg/ml خلال مدتي الحمل ٧ و ٩ أيام على التوالي.

جدول ٤-١: تأثير تجريع الفلاجيل – الميترونيدازول - في مستوى هرمون Estradiol في مصل دم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل (Pg/ml).

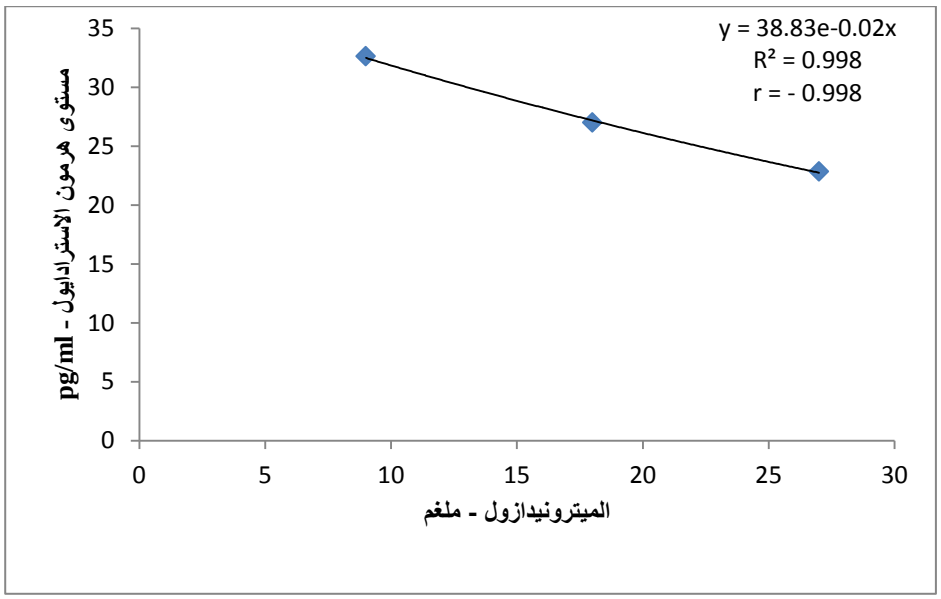
المجاميع / المدة	T1 السيطرة ماء مقطر	T2 فلاجيل٩ملغم	T3 فلاجيل١٨ملغم	T4 فلاجيل٢٧ملغم	متوسط الهرمون لمدة الحمل ±الخطأ القياسي
عمر ٧ ايام من الحمل	33.27 ± 3.72	34.46 ± 2.91	30.73 ± 2.74	29.31 ± 2.33	٣١.٩٤ ±١.٤٦
عمر ٩ ايام من الحمل	35.02 ± 3.14	32.62 ± 2.57	26.99 ± 2.42	22.84 ± 3.12	٢٩.٣٧ ±١.٥٩
متوسط الهرمون للمعاملات ±الخطأ القياسي	٣٤.١٥ ±٢.٣٦ A	٣٣.٥٤ ±١.٨٩ A	٢٨.٨٦ ±١.٨٣ AB	٢٦.٠٨ ±٢.٠٤ B	

المتوسط ± الخطأ القياسي

الحروف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية أفقيا عند مستوى احتمال $P < 0.05$



شكل ٤-١ : يوضح العلاقة الاسية بين جرعة عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ أيام ومستوى هرمون الاستراديول في مصل دم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-٢ : يوضح العلاقة الاسية بين جرعة عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام ومستوى هرمون الاستراديول في مصل دم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

٤-٣-٢ تاثير تجريع الفلاجيل – الميترونيدازول- في مستوى هرمون البروجيستيرون في مصل دم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

يلاحظ من الجدول (٤- ٢) أن تجريع إناث الجرذ النرويجي الحامل بعقار الميترونيدازول بجرعة علاجية T2 وضعف الجرعة T3 وثلاثة أضعافها T4 قد أدى الى انخفاض معنوي $p<0.05$ في مستوى هرمون البروجيستيرون في مصل الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة T1 ، وهذا ما أظهرته علاقة الارتباط r بين جرعة الميترونيدازول ومستوى الهرمون خلال مدتي الحمل سبعة وتسعة أيام حيث بلغت ٠.٩٨٠ - و ٠.٩٧١ - للمدتين على التوالي ، وكانت علاقة الارتباط غير معنوية $p>0.05$ عكسية وهذا يعني انه كلما ازدادت جرعة العقار كلما قل مستوى هرمون البروجيستيرون وكما موضح ذلك في الشكلين (٤-٣ و٤-٤) . كما ان هناك تأثير معنوي $p<0.05$ لمدة الحمل في متوسط مستوى الهرمون حيث بلغ المستوى في مصل الدم ٥١.٨٨ و ٤٤.٩٢ ng/ml خلال مدتي الحمل ٧ و ٩ أيام على التوالي.

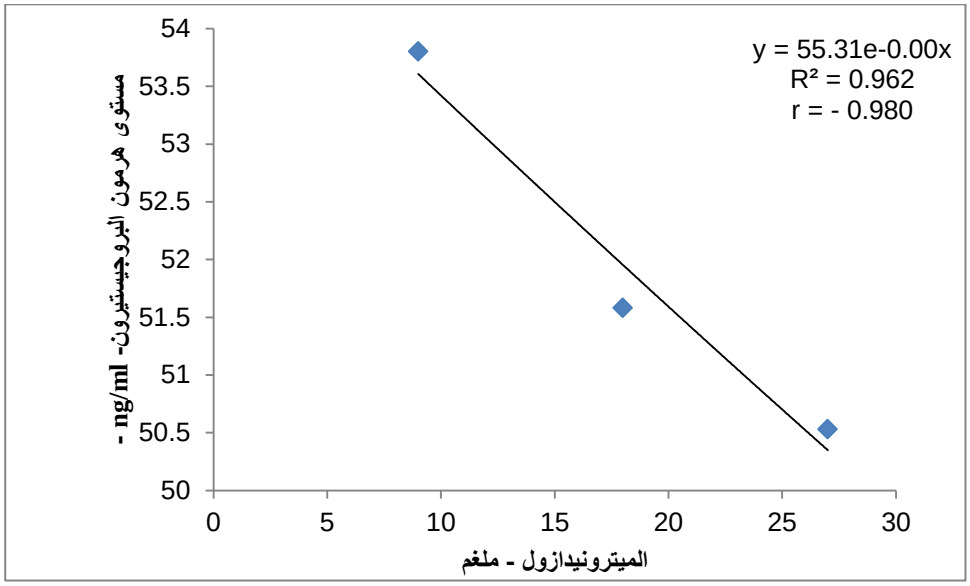
جدول ٤-٢: تأثير تجريع الفلاجيل – الميترونيدازول - في مستوى هرمون البروجيستيرون Progesterone في مصل دم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل (ng/ml).

المجاميع / المدة	T1 السيطرة ماء مقطر	T2 فلاجيل٩ملغم	T3 فلاجيل١٨ملغم	T4 فلاجيل٢٧ملغم	متوسط الهرمون لمدة الحمل ±الخطأ القياسي
عمر ٧ ايام من الحمل	52.09 ±3.10 a	53.80 ± 2.51 a	51.58 ± 3.01 a	50.03 ± 2.65 a	٥١.٨٨ ±١.٣٧ a
عمر ٩ ايام من الحمل	60.90 ± 3.88 b	40.63 ± 251 b	39.33 ± 2.53 b	38.81 ± 3.31 b	٤٤.٩٢ ±٢.٣٠ b
متوسط الهرمون للمعاملات ±الخطأ القياسي	٥٦.٥٠ ±2.86 A	٤٧.٢٢ ±2.76 B	٤٥.٤٦ ±2.79 B	٤٤.٤٢ ±1.81 B	

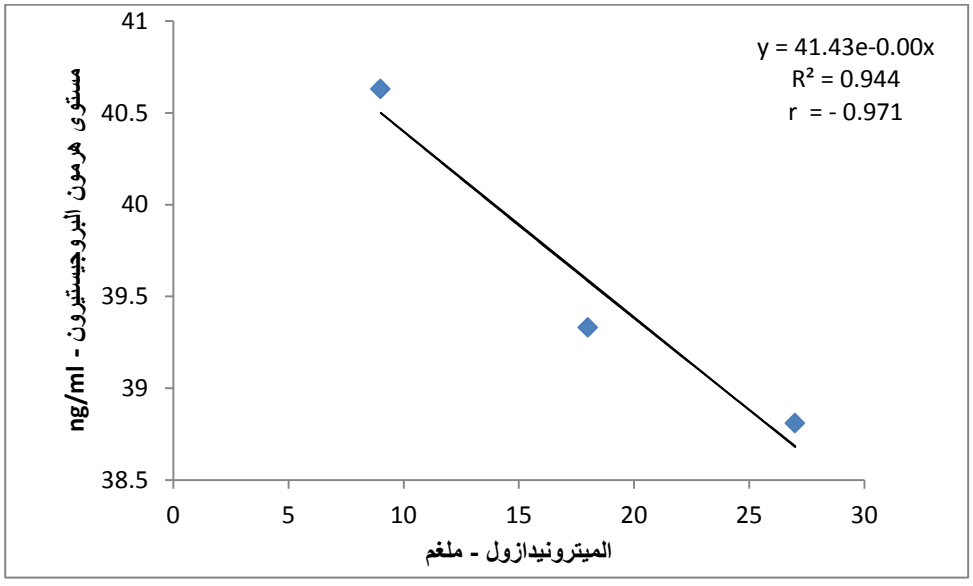
المتوسط ± الخطأ القياسي

الحروف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا عند مستوى احتمال $P < 0.05$

الحروف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية أفقيا عند مستوى احتمال $P < 0.05$



شكل ٤-٣ : يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ أيام ومستوى هرمون البروجيستيرون في مصل دم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-٤: يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام ومستوى هرمون البروجيستيرون في مصل دم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

٤-٣-٣ تاثير تجريع الفلاجيل – الميترونيدازول- في حجم رحم اناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل

أظهرت نتائج الدراسة وكما بين الجدول (٤-٣) أن تجريع إناث الجرذ النرويجي الحامل بعقار الميترونيدازول بجرعة علاجية T2 وضعف الجرعة T3 وثلاثة أضعافها T4 لم يكن لها تأثير معنوي $p>0.05$ في حجم الرحم مقارنة مع مجموعة السيطرة T1 ، من جهة أخرى وكما أشارت النتائج الى عدم وجود فروقات معنوية $p>0.05$ بين هذه المجاميع في حجم الرحم وهذا ما أظهرته علاقة الارتباط r العكسية بين جرعة العقار وحجم الرحم لكنها لم تصل الى مستوى المعنوية $p>0.05$ إذ كلما ازدادت جرعة العقار انخفض حجم الرحم اذ بلغت قيمة معامل الارتباط r ٠.٨٨٧ - و ٠.١٥١ - لمدتي الحمل ٧ و ٩ أيام على التوالي كما في الشكلين (٤-٥ و ٤-٦). كما يشير الجدول (٤-٣) الى أن هناك تأثيرا معنوياً $p<0.05$ لمدة الحمل في متوسط حجم الرحم إذ بلغ الحجم ٣.٨٨ و ٤.٥٣ ملم^3 خلال مدتي الحمل ٧ و ٩ ايام على التوالي.

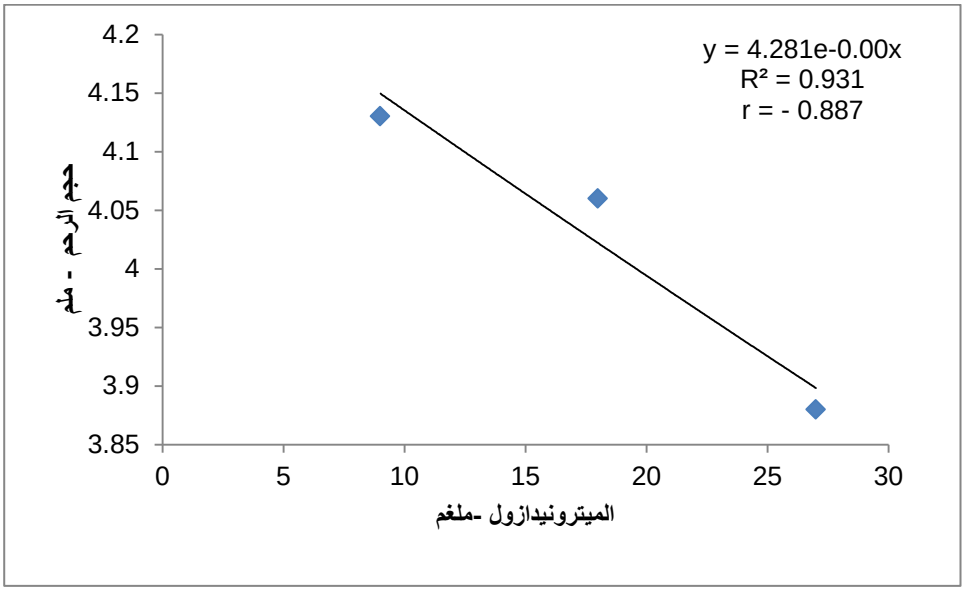
اما علاقة الارتباط r بين مستوى هرمون البروجيستيرون وحجم الرحم فكانت علاقة ارتباط طردية اذ بلغت ٠.٨٢٥ لمدة الحمل ٧ أيام فيما كانت العلاقة عكسية لمدة الحمل ٩ ايام إذ بلغت ٠.٠٨٣ - الا أن هذه العلاقة لم تصل الى مستوى المعنوية $p>0.05$ كما موضح في الشكلين (٤-٧ و ٤-٨).

جدول ٤-٣ : تأثير تجريع الفلاجيل في حجم رحم إناث الجرذ النرويجي*R. norvegicus* الحوامل (ملم^3).

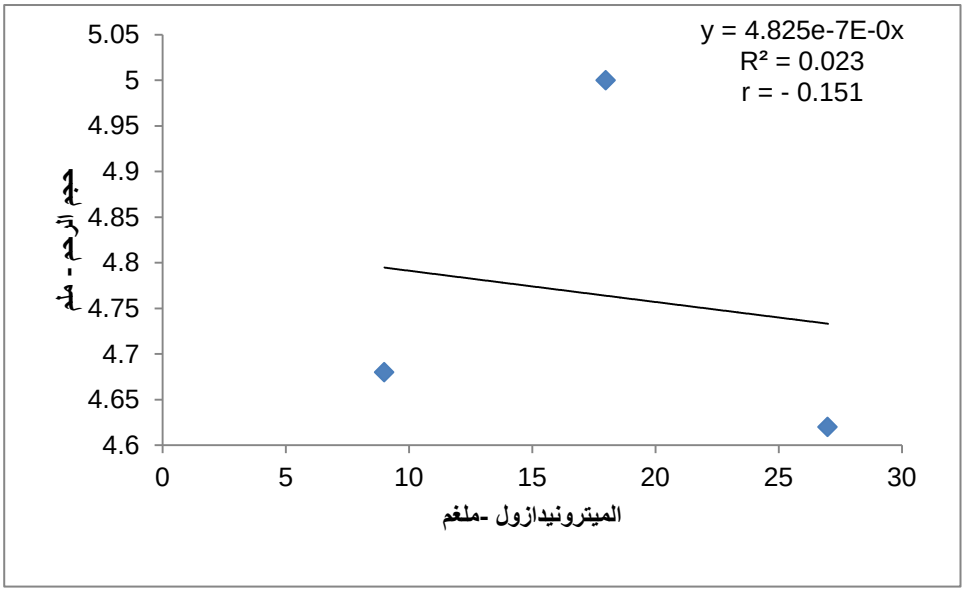
المجاميع / المدة	T1 السيطرة ماء مقطر	T2 فلاجيل٩ملغم	T3 فلاجيل١٨ملغم	T4 فلاجيل٢٧ملغم	متوسط الحجم لمدة الحمل ±الخطأ القياسي
عمر ٧ ايام من الحمل	٣.٤٤ ± 0.30	٤.١٣ ± 0.33	٤.٠٦ ± 0.28	٣.٨٨ ± 0.26	٣.٨٨ ± ٠.١٥ a
عمر ٩ ايام من الحمل	٤.٣١ ± 0.34	٤.٣١ ± 0.80	٥.٠٠ ± 0.48	٤.٥٠ ± 0.40	٤.٥٣ ±٠.٢٦ b
متوسط حجم الرحم ±الخطأ القياسي	٣.٨٨ ± ٠.٢٥	٤.٢٢ ± ٠.٤١	٤.٥٣ ± ٠.٣٠	٤.١٩ ±٠.٢٥	

المتوسط ± الخطأ القياسي

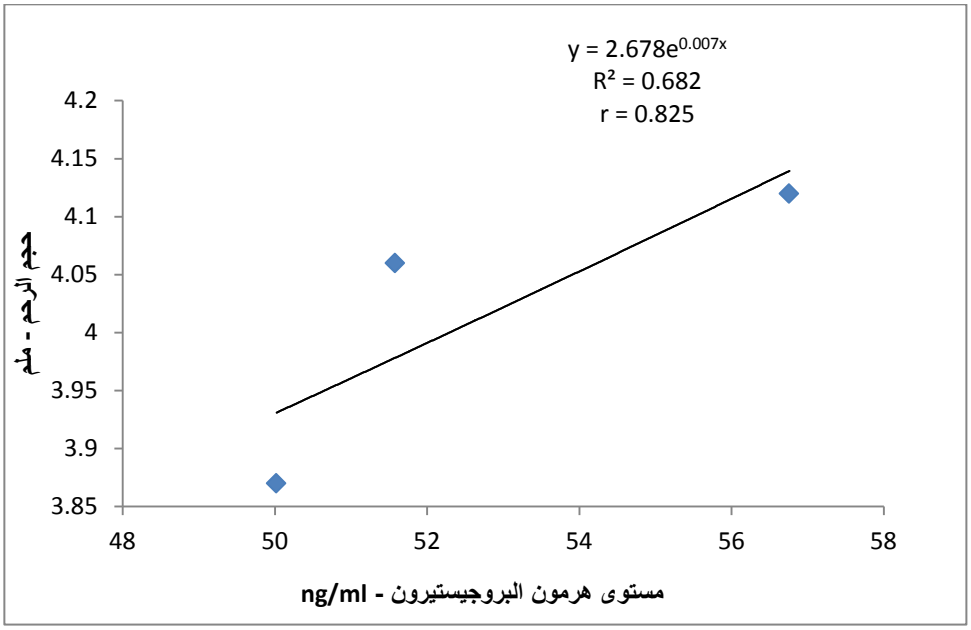
الحروف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا عند مستوى احتمال $P < 0.05$



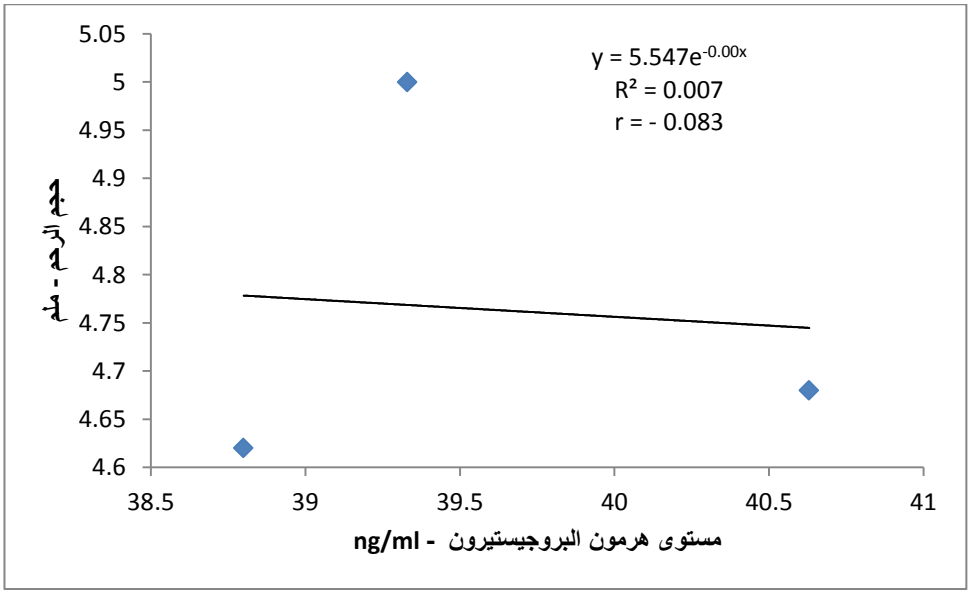
شكل ٤-٥: يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ أيام وحجم أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤- ٦: يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام وحجم أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-٧: يوضح العلاقة الأسيّة بين مستوى هرمون البروجيستيرون وحجم الرحم - بعمر حمل ٧ ايام لاناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-٨: يوضح العلاقة الاسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون وحجم الرحم - بعمر حمل ٩ أيام لإناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

٤-٣-٤ تأثير تجريع الفلاجيل في وزن رحم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

بين الجدول (٤-٤) أن تجريع إناث الجرذ النرويجي الحامل بعقار الميترونيدازول بجرعة علاجية T2 وضعف الجرعة T3 وثلاثة أضعافها T4 لم يكن لها تأثير معنوي $p>0.05$ في وزن الرحم مقارنة مع مجموعة السيطرة T1 ،من جهة أخرى أشارت النتائج الى عدم وجود فروقات معنوية $p>0.05$ بين هذه المجاميع في وزن الرحم وهذا ما أظهرته علاقة الارتباط r العكسية بين جرعة العقار ووزن الرحم إذ بلغت قيمة معامل الارتباط ٠.٦٤٧ - و ٠.٨٦٦- لمدتي الحمل ٧ و ٩ أيام على التوالي كما في الشكلين (٤-٩ و٤-١٠) إذ كانت علاقة الارتباط غير معنوية $p>0.05$ عكسية حيث كلما ازدادت جرعة العقار انخفض وزن الرحم. كما يشير الجدول ٤-٤ الى أن هناك تأثير معنوي $p<0.05$ لمدة الحمل في متوسط وزن الرحم حيث بلغ الوزن ٠.٤٣ و ٠.٥١ غم خلال مدتي الحمل ٧ و ٩ ايام على التوالي.

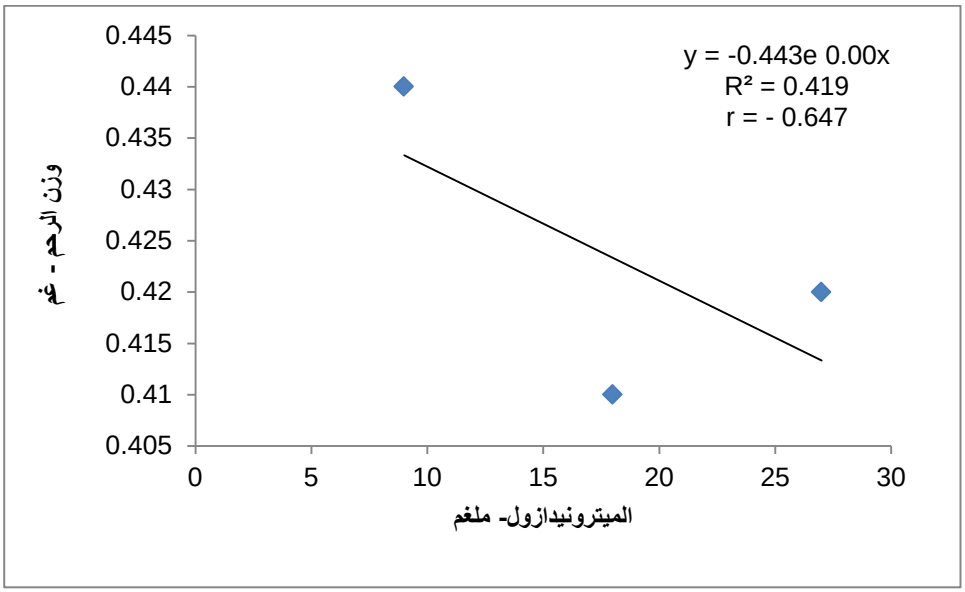
أما علاقة الارتباط r بين مستوى هرمون البروجيستيرون ووزن الرحم فكانت علاقة ارتباط غير معنوية $p>0.05$ طردية إذ بلغت ٠.٧٦٨ لمدة الحمل ٧ أيام وهذا يعني انه كلما ازداد مستوى البروجيستيرون ازداد وزن الرحم، فيما كانت العلاقة غير معنوية $p>0.05$ طردية لمدة الحمل ٩ أيام إذ بلغت ٠.٩٧٩ كما موضح في الشكلين (٤-١١ و ٤-١٢).

جدول ٤-٤ : تأثير تجريع الفلاجيل– الميترونيدازول - في وزن رحم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل (غم).

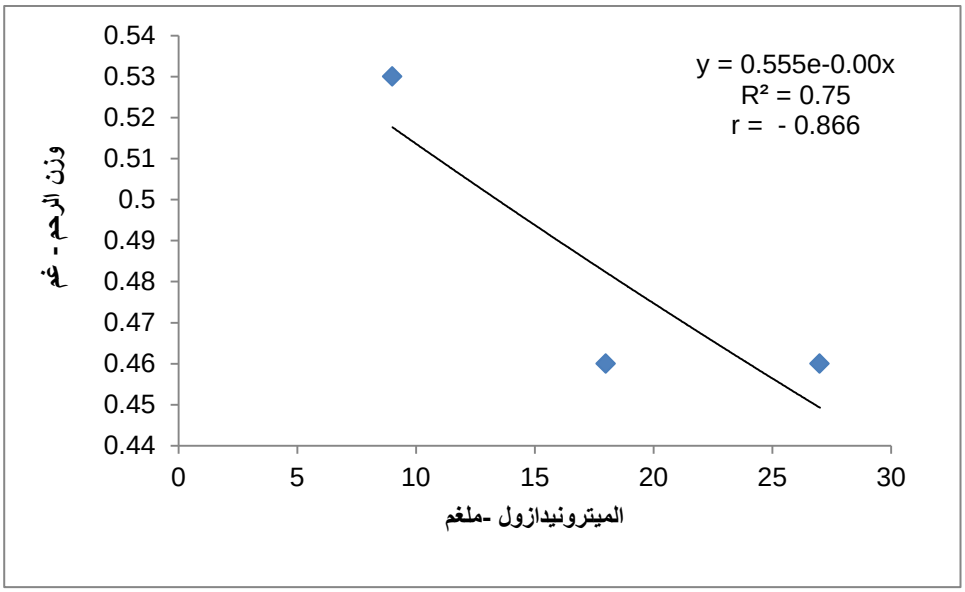
المجاميع / المدة	T1 السيطرة ماء مقطر	T2 فلاجيل٩ملغم	T3 فلاجيل١٨ملغم	T4 فلاجيل٢٧ملغم	متوسط الوزن لمدة الحمل ±الخطأ القياسي
عمر ٧ ايام من الحمل	٠.٤٣ ± 0.02	٠.٤٤ ± 0.04	٠.٤١ ± 0.02	٠.٤٢ ± 0.02	٠.٤٣ ± ٠.٠٢ a
عمر ٩ ايام من الحمل	٠.٥٨ ± 0.04	٠.٥٣ ± 0.04	٠.٤٦ ± 0.03	٠.٤٦ ± 0.03	٠.٥١ ±٠.٠٤ b
متوسط المعاملة ±الخطأ القياسي	٠.٥١ ± ٠.٠٤	٠.٤٠ ± ٠.٠٤	٠.٤٤ ± ٠.٠٢	٠.٤٤ ±٠.٠٣	

المعدل ± الخطأ القياسي

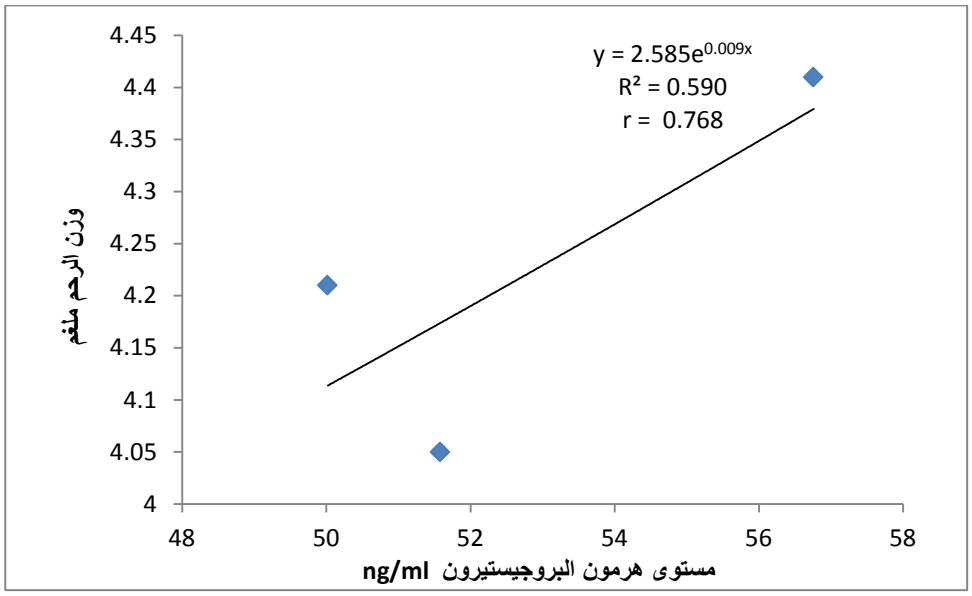
الحروف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا عند مستوى احتمال $P < 0.05$



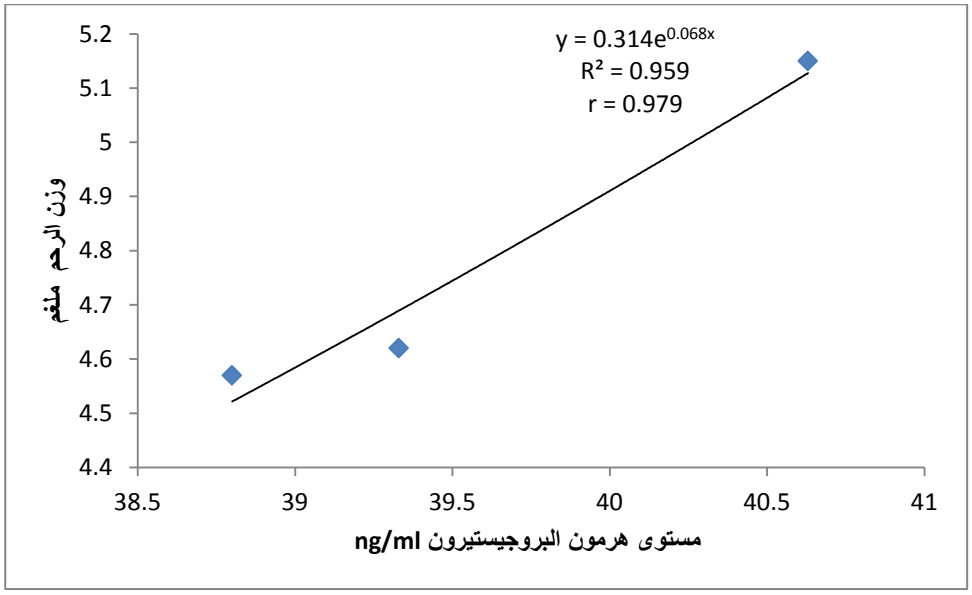
شكل ٤-٩ : يوضح العلاقة الاسية بين جرعة عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ أيام ووزن أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-١٠ : يوضح العلاقة الاسية بين جرعة عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام ووزن أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-١١: يوضح العلاقة الأسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون ووزن الرحم - بعمر حمل ٧ أيام لإناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-١٢ : يوضح العلاقة الأسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون ووزن الرحم - بعمر حمل ٩ أيام لإناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

٤-٣-٥ تأثير تجريع الفلاجيل – الميترونيدازول - في قطر رحم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

أوضحت نتائج الدراسة وكما بين الجدول (٤-٥) عدم وجود فروقات معنوية $p>0.05$ في قطر الرحم مقارنة مع مجموعة السيطرة T1 لإناث الجرذ النرويجي الحامل المجرع بعقار الميترونيدازول بجرعة علاجية T2 وضعف الجرعة T3 وثلاثة أضعافها T4، كما أشارت النتائج الى عدم وجود فروقات معنوية $p>0.05$ في قطر الرحم بين مجاميع الحيوانات المجرعة بالجرع الثلاث من العقار وهذا ما أظهرته علاقة الارتباط r بين جرعة العقار وقطر الرحم إذ بلغت قيمة معامل الارتباط ٠.١٣٠- و ٠.٧٦٦- لمدتي الحمل ٧ و ٩ أيام على التوالي كما موضح في الشكلين (٤-١٣ و ٤-١٤) إذ كانت علاقة الارتباط غير معنوية $p>0.05$ عكسية وهذا يعني انه كلما ازدادت جرعة العقار قل قطر الرحم.

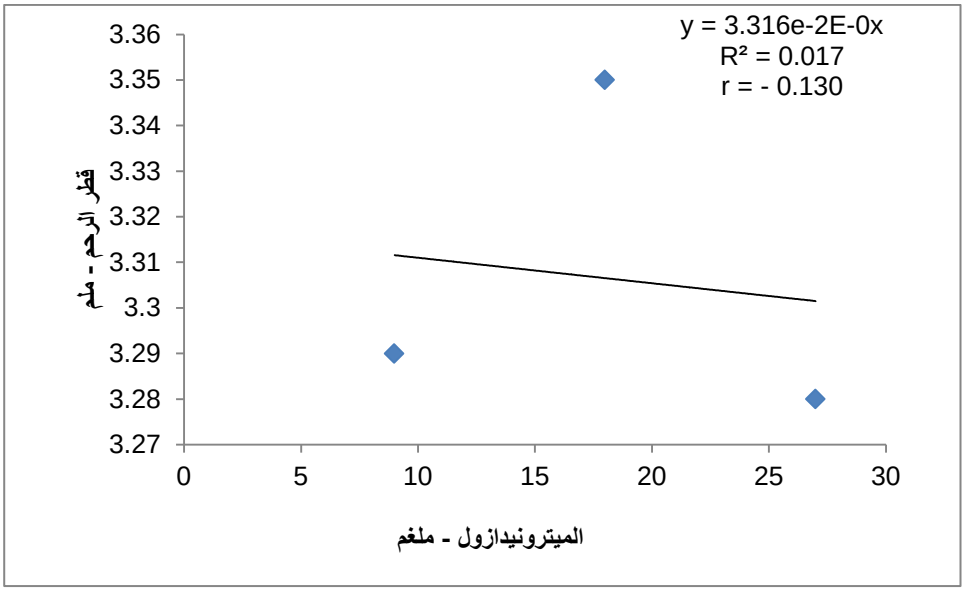
كما بين الجدول (٤-٥) وجود تأثير معنوي $p<0.05$ لمدة الحمل على قطر الرحم اذ بلغ قطر الرحم ٣.٣٣ و ٤.٧٣ ملم لمدتي الحمل ٧ و ٩ أيام على التوالي، وبالنسبة لعلاقة الارتباط r بين مستوى هرمون البروجيستيرون وقطر الرحم فقد وجد هنالك علاقة ارتباط طردية لمدة حمل ٧ أيام وعكسية لمدة حمل ٩ ايام الا أن هذه العلاقة لم تصل الى مستوى المعنوية حيث بلغت ٠.٩٠٤ و ٠.٧١٧– لمدتي الحمل على التوالي كما موضح بالشكلين (٤-١٥ و ٤-١٦).

جدول ٤-٥ : تأثير تجريع الفلاجيل– الميترونيدازول - في قطر رحم إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل (ملم).

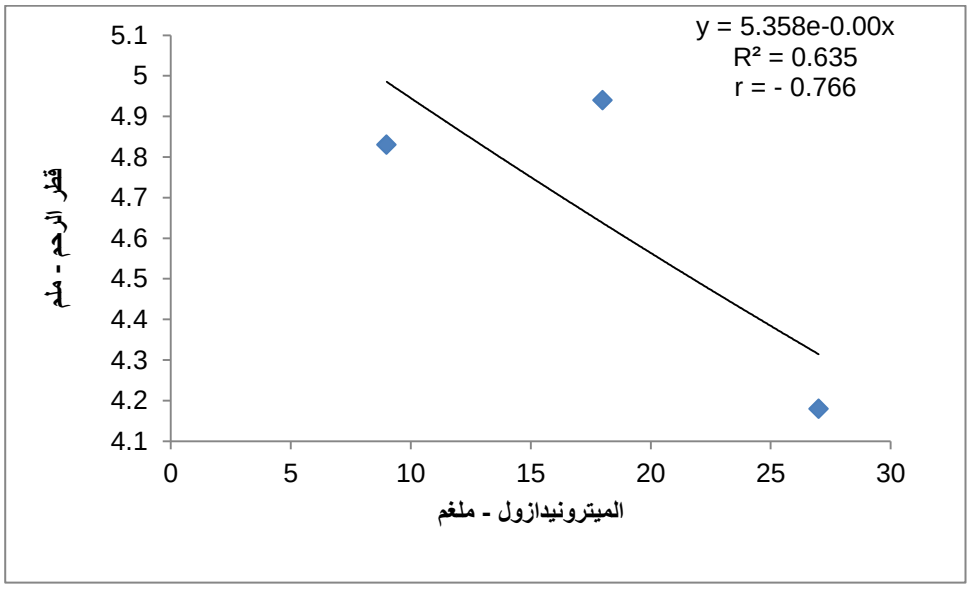
المجاميع / المدة	T1 السيطرة ماء مقطر	T2 فلاجيل٩ملغم	T3 فلاجيل١٨ملغم	T4 فلاجيل٢٧ملغم	متوسط القطر لمدة الحمل ±الخطأ القياسي
عمر ٧ ايام من الحمل	٣.٤٠ ± 0.34	٣.٢٩ ± 0.23	٣.٣٥ ± 0.17	٣.٢٨ ± 0.01	٣.٣٣ ± ٠.١١ a
عمر ٩ ايام من الحمل	٤.٩٥ ± 0.57	٤.٨٣ ± 0.31	٤.٩٤ ± 0.31	٤.١٨ ± 0.33	٤.٧٣ ± ٠.١٧ b
متوسط المعاملة ±الخطأ القياسي	٤.١٨ ± ٠.٣٣	٤.٠٦ ± ٠.٧٢	٤١٥ ± ٠.٢٧	٣.٧٥ ± ٠.٢٢	

المعدل ± الخطأ القياسي

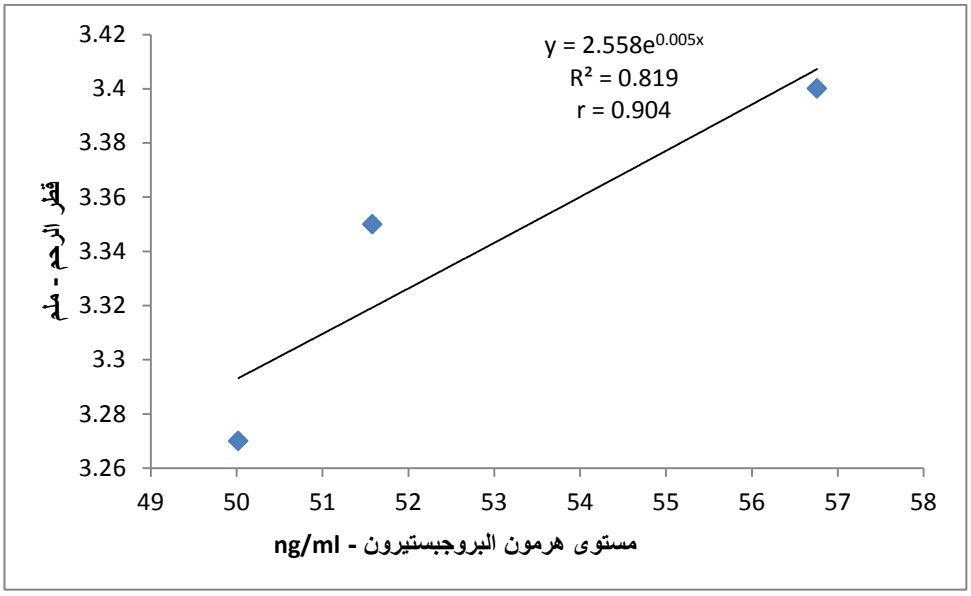
الحروف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا عند مستوى احتمال $P < 0.05$



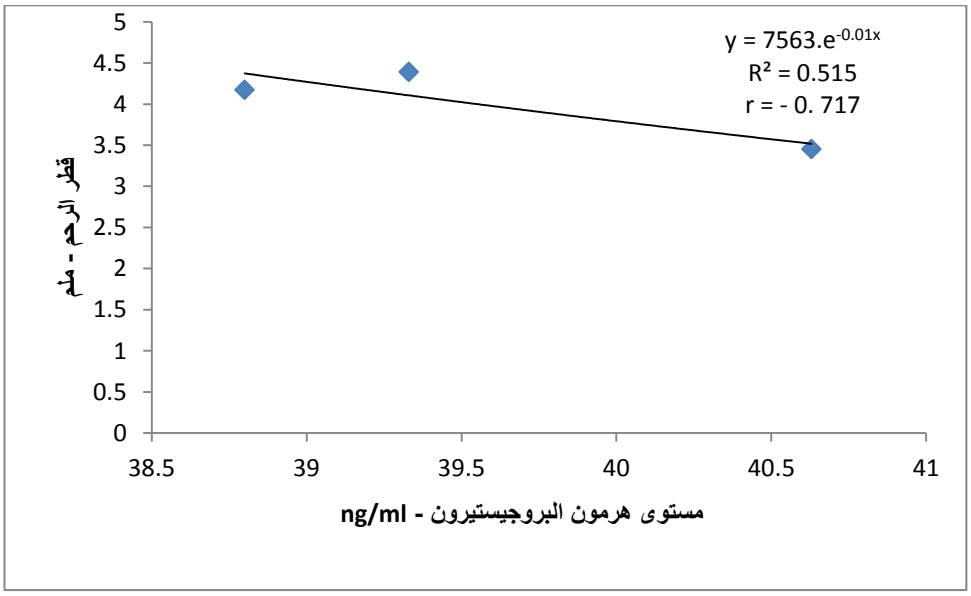
شكل ٤-١٣ : يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ ايام وقطر أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-١٤: يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام وقطر أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-١٥ : يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ أيام وقطر أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-١٦ : يوضح العلاقة الاسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون وقطر الرحم - بعمر حمل ٩ أيام لإناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

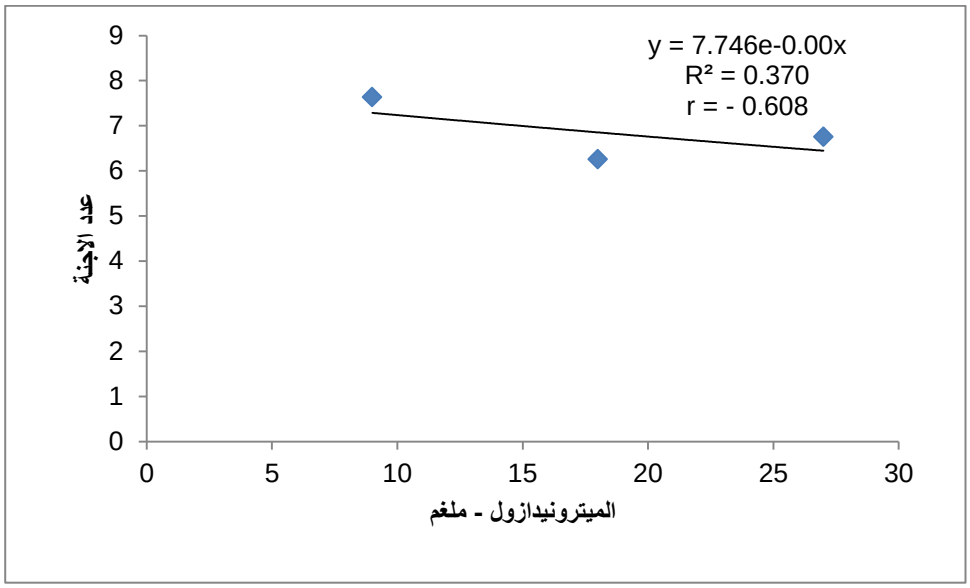
٤-٣-٦ تأثير تجريع الفلاجيل– الميترونيدازول - في عدد الأجنة في إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

يلاحظ من الجدول (٤-٦) وجود انخفاض في متوسط عدد الأجنة في مجموعة الاناث المجرعة بالجرعة العلاجية من العقار T2 مقارنة مع مجموعة السيطرة T1 الا أن هذا الانخفاض لم يصل الى مستوى المعنوية $p>0.05$ في حين يوجد انخفاض معنوي$p<0.05$ في عدد الأجنة بين مجاميع الاناث المجرعة بضعف الجرعة وثلاثة أضعاف الجرعة من العقار مقارنة مع مجموعة السيطرة بينما لاتوجد اختلافات معنوية بين مجاميع الاناث الثلاثة المجرعة بعقار الميترونيدازول على الرغم من وجود انخفاض في متوسط عدد الأجنة الا أن هذا الانخفاض لم يصل الى مستوى المعنوية، وأظهرت علاقة الارتباط r بين جرع العقار وعدد الأجنة علاقة ارتباط عكسية غير معنوية $p>0.05$ والتي تعني انه كلما ازدادت جرعة العقار كلما أدت إلى انخفاض في عدد الاجنة بالرحم اذ بلغت قيمة معامل الارتباط ٠.٦٠٨ – و ٠.٦٣٦ – لمدتي الحمل ٧ و ٩ ايام على التوالي كما في الشكلين (٤-١٧ و ٤- ١٨) ، كما بين الجدول (٤-٦) عدم وجود تاثير معنوي $p>0.05$ لمدة الحمل على عدد الأجنة إذ بلغ متوسط عدد الأجنة ٧.٤١ و ٧.٦٦ لمدتي الحمل ٧ و ٩ أيام على التوالي، لقد بلغت قيمة معامل الارتباط r بين مستوى هرمون البروجيستيرون وعدد الأجنة لمدة الحمل ٧ أيام ٠.٠٠ وهذا يعني عدم وجود علاقة بينهما . اما بالنسبة لعلاقة الارتباط بين مستوى هرمون البروجيستيرون وعدد الأجنة لمدة الحمل ٩ أيام فكانت قيمتها ٠.٨٠٤ وهي علاقة ارتباط طردية والتي تعني انه كلما ازداد عدد الأجنة ازداد مستوى هرمون البروجيستيرون كما موضح في الشكلين (٤-١٩ و ٤-٢٠).

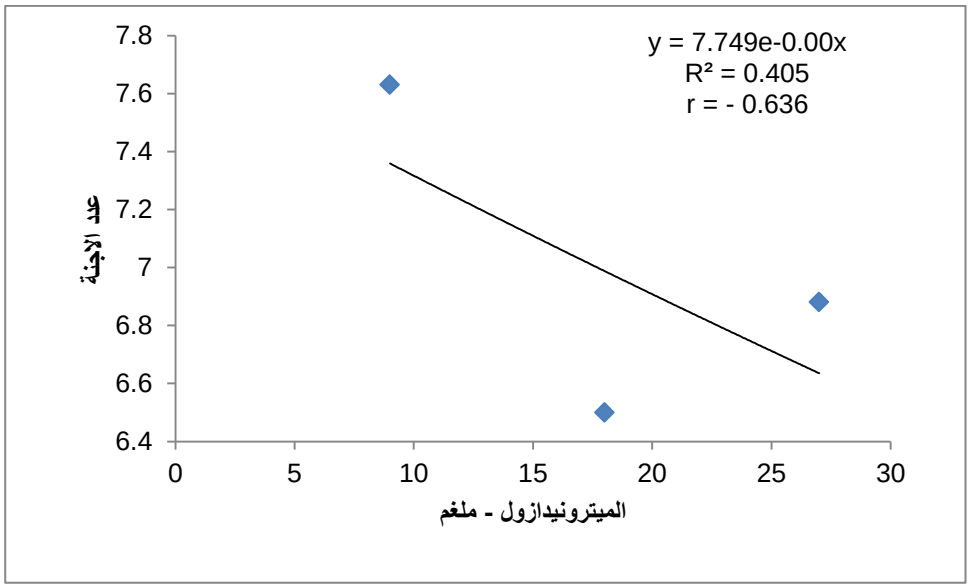
جدول ٤- ٦ : تأثير التجريع بالفلاجيل- الميترونيدازول- في عدد الأجنة في أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

المجاميع / المدة	T1 السيطرة ماء مقطر	T2 فلاجيل٩ملغم	T3 فلاجيل١٨ملغم	T4 فلاجيل٢٧ملغم	متوسط عدد الأجنة لمدة الحمل±الخطأ القياسي
عمر ٧ ايام من الحمل	٩.٠٠ ± 1.17	٧.٦٣ ± 0.84	٦.٢٥ ± 0.65	٦.٧٥ ± 0.59	٧.٤١ ± 0.44
عمر ٩ ايام من الحمل	٩.٦٣ ± 0.82	٧.٦٣ ± 0.80	٦.٥٠ ± 1.05	٦.٨٨ ± 1.09	٧.٦٦ ± ٠.٥٠
متوسط المعاملة ± الخطأ القياسي	٩.٣٢ ± ٠.٦٩ A	٧.٦٣ ± ٠.٥٦ AB	٦.٣٨ ± ٠.٦٠ B	٦.٨٦ ± ٠.٦٠ B	

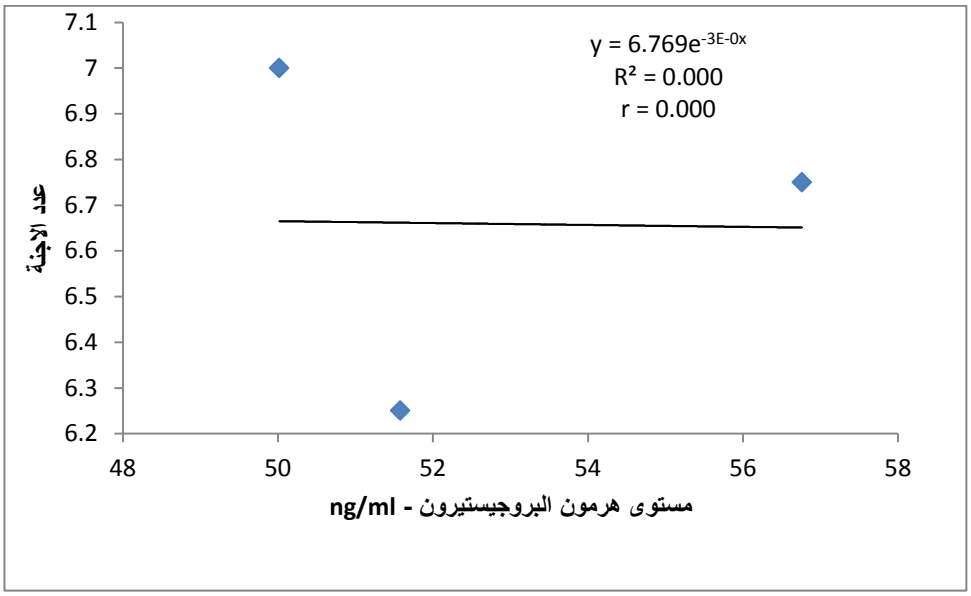
المعدل ± الخطأ القياسي
الحروف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية افقيا عند مستوى احتمال $p < 0.05$



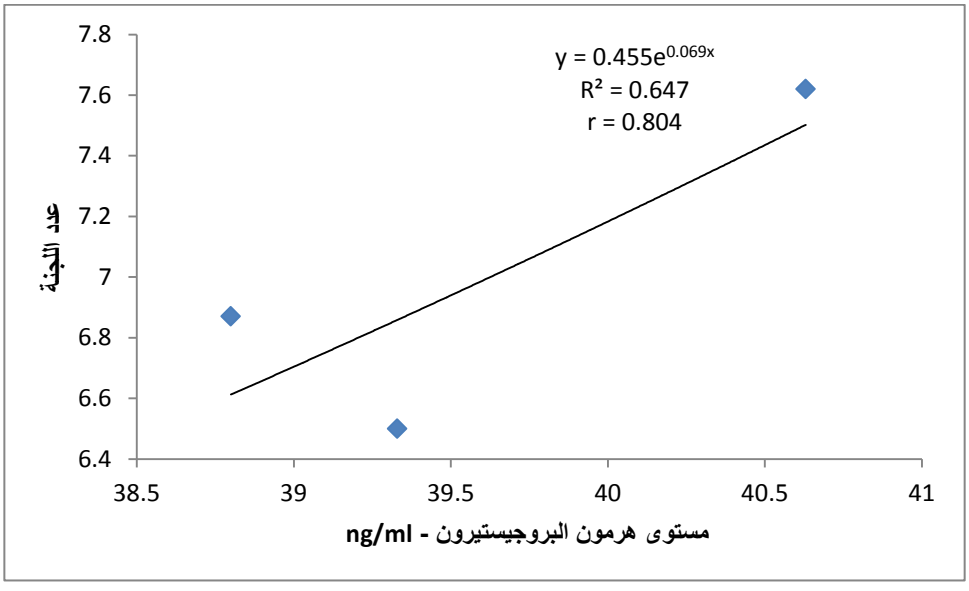
شكل ٤-١٧ : يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٧ ايام وعدد الأجنة في أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤-١٨: : يوضح العلاقة الاسية بين عقار الفلاجيل – الميترونيدازول - بعمر حمل ٩ ايام وعدد الاجنة في أرحام إناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤- ١٩ : يوضح العلاقة الاسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون وعدد الاجنة في الرحم - بعمر حمل ٧ أيام لاناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.



شكل ٤- ٢٠: يوضح العلاقة الاسية بين مستوى هرمون البروجيستيرون وعدد الأجنة في الرحم - بعمر حمل ٩ أيام لإناث الجرذ النرويجي *R. norvegicus* الحوامل.

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

بينت نتائج البحث الحالي وباستخدام طرق التقييم الهرموني والطرق النسجية عدم تأكد تأثير عقار الفلاجيل على الحمل في مراحله الأولى وتحديدا في اليومين السابع والتاسع منه وهو ما توصل إليه الباحثون (2007) Khalil *et al*., (2006) Ornelas-Aguirre *et al*., من عدم وجود تأثير ضار Teratogenic للعقار المستخدم مهدد للجنين (Ghosh, 2010 ؛Huppert, 2009؛ Sobel, 2005؛ Forna and Gülmezoglu, 2003 ؛ Chacko and Bhide,1996) أو للحمل (Huppert, 2009) على أنسجة وخلايا الأم أو الجنين في فترة الغرس عند استعمال الفلاجيل بالجرعة العلاجية أو أضعافها (Sobel, 2005 ؛Ghosh, 2010).

عند ملاحظة نتائج التقييم الهرموني في مجموعة السيطرة ومجاميع العلاج بعقار الميترونيدازول يلاحظ عدم ظهور فروقات معنوية $p>0.05$ في تأثير العقار على مستوى الاسترادايول في فترتي الحمل وعدم وجود فروقات معنوية بين متوسط الهرمون لمدتي الحمل بالنسبة للبروجيستيرون ما يدل على المسار الطبيعي للصورة الهرمونية التي يكون عليها سير وتتابع الهرمونات الاساسية المسيطرة على عملية الحمل في اليومين السابع والتاسع من الحمل والتدقيق في النتائج النسجية التي تميل الى هذا الاتجاه هو حدوث التفاعل الساقطي الذي يرتبط درجة نموه وتطوره كأحد العلامات البارزة في نجاح الحمل خاصة في الحيوانات ذات الأسخاد الدموية المشيمية كما اشار الباحثان (Wooding and Burton, 2008) فضلا عن ذلك فقد شملت المتغيرات النسجية التي تشير إشارة واضحة الى نجاح عملية الحمل في بداياته الأولى أي عملية الغرس ما يلي:

اولاً: حدوث التفاعل الساقطي Decidual reaction.

ثانياً:هجرة الخلايا الغاذية Trophoplastic cells migration من جانب الجنين Fetal side الى سدى بطانة الرحم Endometrial stroma والذي يمثل جانب الأم.

ثالثاً:َ تغير في كمية الألياف الغراوية Collagen fibers.

ان تكوين النسيج الساقطي الذي يعد من العلامات البارزة في الحمل خاصة في الحيوانات التي لها سخد من النوع المشيمي الدموي Haemochorial placenta . إذ ذكر Welsh and Enders (1991) بان أي نجاح لعملية الغرس ولتطور الجنين يرتبط ارتباطا مباشرا مع تكوين النسيج الساقط

وعدد من المتغيرات التي تحصل فيه. ان اية مقارنة للنتائج المستحصلة لمجاميع الجرذان المعالجة لليومين السابع والتاسع من الحمل ومقارنة تلك النتائج مع ما حصل من المتغيرات في النسيج الساقط للفترة نفسها في مجموعة السيطرة تعكس وتبين بصورة واضحة الخطوات والمراحل الطبيعية والتي يلعب النسيج الساقطي دورا مهما فيها وحتى بتطور نمو الجنين في الفترات اللاحقة وهذه تشاهد في الحمل الطبيعي للجرذان (Wooding and Burton, 2008؛ Welsh and Enders, 1991) من تلك الملاحظات والنتائج ما حصل في منطقة النسيج الساقطي الابتدائي PDZ وهي خلوها من الشعيرات الدموية والتصاق خلايا النسيج الساقطي مع بعضها وبشدة وخلوها من الألياف الغراوية وان منطقة النسيج الساقطي الابتدائية PDZ هذه تبدأ اولا في المنطقة المضادة للمساريق من بطانة الرحم وهذا موافق لما ذكره الباحثون السابقون Whitley & Cartwright (2010) بخصوص التسلسل الطبيعي لعملية الغرس في القوارض ومنها الجرذان. لقد بينت الدراسات السابقة باستخدام المجهر الالكتروني وجود أنواع متعددة من الارتباطات مابين الخلايا الساقطية على شكل ارتباط مصمت وارتباط تنافذي ؛ ان وجود هكذا ترتيب في النسيج الساقطي الابتدائي PDZ هو لعمل حاجز بوجه الاندفاع الزائد لعملية الغزو التي تقوم بها الخلايا الغاذية باتجاه بطانة الرحم خاصة في الفترة الأولى من مرحلة الغرس (Enders and Carter 2006؛ Eveline , 2002) فضلا عن ذلك أن هذا النوع من الارتباط هو لإعطاء نوع من الدعم التركيبي Structural support لبطانة الرحم وقد بينت دراسات سابقة ان وجود الارتباط المصمت وخلو هذه المنطقة من الأوعية الدموية له أهمية كبرى في منع أي مواد ضارة من الوصول من دم الأم الى الجنين المغرس حديثا (Jones *et al*., 2007؛ Jones *et al*., 2006؛ Parr and Parr, 1986) وهذا بالضبط ما يحدث في الدماغ إذ تمتلك الخلايا البطانية للشعيرات الدموية المغذية للدماغ هذا النوع من الارتباط فيما بينها ولاتسمح بعبور المواد الضارة من الدم الى الدماغ (Abbott, 2002).

أوضحت الدراسة عدم وجود أية فوارق نسجية تركيبية ما بين مجموعات المعالجة ومجموعة السيطرة فيما يخص وجود منطقة النسيج الساقطي الثانوي SDZ، كما لوحظ في البحث وما ذكره (Kelly *et al.* ,2001) وجود الفسحة البينية ما بين الخلايا الساقطة وكثرة الأوعية الدموية مما سيعطى فرصة لتوارد المواد الغذائية عن طريق هذه الاوعية، وهذا الترتيب سيساعد الجنين المغرس حديثا في توسعه وانتقاله باتجاه المنطقة المساريقية من بطانة الرحم والتي سيكتمل فيها تكوين النسيج الساقطي المساريقي الرحمي والذي سيمثل حينها جانب الأم من السخد والذي سيستمر الى نهاية الحمل، ومن الامور التي ميزت النسيج المساريقي الرحمي هو كثرة وجود الأوعية والجيوب الدموية وامتدادها مع

الرافد الأكبر من الأوعية الدموية في المثلث المساريقي الرحمي الذي سترده الأوعية الدموية المغذية للرحم وخاصة الشريان الرحمي الأوسط.

إن النتائج المذكورة في هذه الفقرة هي مطابقة لما ذكره Afshor *et al*., (2012) فضلا عن باحثين سابقين (Wooding and Burton, 2008؛ Carter *et al*., 2005؛ Enders, and , 2004 Carter ؛ Allen *et al*., 2003؛ Blankenship, and Enders, 2003؛ Adamson *et al*., 2002؛ Enders *et al*., 2001 ؛ Christoffern and Nillson, 1988b) .

ان أهمية وجود خلايا النسيج الساقطي خلال فترة الحمل وخاصة خلال مراحله الأولى تأتي نتيجة كون هذه الخلايا لها وظائف منها:

١. إنتاج المواد المغذية للجنين قبل تطور جهازه الوعائي وكان هذا واضحا من وجود بعض خلايا النسيج الساقطي وقد بدا الهيولي (السايتوبلازم) الخاص به فارغا عند استخدام صبغة الـ PAS والـ Alcian Blue مما يشير الى احتواء هذه الخلايا على الكلايكوجين وقد تمت الاشارة الى هذا المحتوى من قبل Christie, (1966)، وقد بين الباحث المذكور فضلا عن الباحثين Wooding and Burton,(2008) إلى ان تغذية الجنين في مرحلة الغرس وقبل تطور الدورة الدموية السخدية الرحمية Uteroplacental blood circulation والتي تعتمد بصورة أساسية على محتوى الخلايا الساقطة إلى الكلايكوجين وما تقوم الغدد الرحمية به من افرازات وهذا النوع من التغذية يسمى التغذية النسجية Histotrophic nutrition ويقابلها وعند تطور الأوعية الدموية السخدية الرحمية ما يسمى التغذية الدموية Haemotrophic nutrition .

٢. إنتاج الهرمونات مثل البرولاكتين.

٣. تلعب هذه الخلايا دورا في عدم رفض الجنين من قبل الأم بوصفه جسما غريبا وكان هذا واضحا في منطقة النسيج الساقطي الابتدائي والذي تميز بالتصاق خلاياه مع بعضها بروابط ما بين الخلوية من النوع المصمت وخلوه من الأوعية الدموية. وقد تمت الإشارة إلى هذا الدور الذي تلعبه الخلايا الساقطة من لدن باحثين آخرين في رحم الفئران والجرذان والقرود (Sati *et al*., 2008) والانسان (.Sara *et al*., 2012).

ان نجاح عملية الغرس في الحيوانات المعالجة بالفلاجيل تمثل مرحلة انتقالية مهمة للتقدم نحو النجاح التام لعملية الحمل وهذا مطابق لما ذكره الباحثون Miller *et al*., (2008) . إن عملية الغرس والتي تبدأ وتنتهي خلال الأسبوعين الأولين من الحمل هي مرحلة حرجة وخطرة بالنسبة الى الخطوات اللاحقة من الحمل يشترك فيها جانبان هما الأم والجنين، فمن جانب الأم يحدث التمايز من خلال سدى

بطانة الرحم Endometrium stroma وتكوين النسيج ألساقطي إذ ان أي تباطؤ في تكوين هذا النسيج يعني الإقلال من قابلية الرحم نحو تقبل الجنين القادم (Enders *et al*., 2005; Carter *et al*., 2005) إذ ان هكذا نوع من التباطؤ في تكوين النسيج يعني صغر حجم السخد المتكون وينعكس ذلك بالتالي على تباطؤ عملية النمو مؤديا بالتالي الى فشل عملية الحمل ككل (Carter *et al*., 2007). فقد تبين من دراسة نتائج البحث الحالي ان انتشار هذه الخلايا وهجرتها فيما بين أجزاء النسيج ألساقطي وكانت المرحلة المهمة حين انتقال الجنين من جهة النسيج المضاد للمساريق الرحمي الى جهة النسيج ألساقطي المساريقي الرحمي Mesometrial decidual tissue، إن انتشار الخلايا الغاذية بهذه الطريقة مطابق لما ذكره الباحثون Carter *et al*. (2004) و Allen *et al*. (2003) و(2001) ,.Enders *et al* و Enders *et al*., (2000) الذين أعطوا تفصيلا دقيقا لأهمية هذا النوع من الانتشار الى داخل النسيج الساقطي وبطانة الرحم خلال فترة الحمل الطبيعي في الجرذان، ولقد بين الباحثون انفسهم ان تسرب وانتشار الخلايا الغاذية يمكن أن يصل ليس فقط الى النسيج الساقطي بل إلى الأوعية الدموية المغذية للسخد في الجرذان الحوامل والى تلك الموجودة في المثلث المساريقي الرحمي Mesometrial triangle.

ان هجرة الخلايا الغاذية لحين وصولها الى الاوعية الدموية المغذية للسخد هي من المميزات المهمة لنجاح الحمل في كل أنواع الاسخاد ذوات النمط المشيمي الدموي الموجودة في الإنسان والقوارض (Dey *et al*., 2004) ؛Makrigiannakis and Minas, 2007 ؛Wooding and Burton, 2008) . ان أهمية الغزو الذي تقوم به الخلايا الغاذية لمنطقة النسيج الساقطي وبالتالي وصولها الى الأوعية المغذية للسخد هدفه هو إعادة الهيكلة والتركيب Remodeling لجدران الأوعية الدموية وخاصة الشرايين اللولبية وبما يتلاءم والحاجة الى نجاح الحمل إذ يشتمل إعادة التركيب على إزالة الطبقة البطانية لهذه الاوعية ، ومن المدهش ان الخلايا الغاذية الدموية Endovascular Trophoblast والتي هي نوع من الخلايا الغاذية تحل محل الخلايا البطانية، والشيء الآخر الذي تعمله الخلايا الغاذية الدموية هي إزالة الصفيحة المرنة الداخلية Internal elastic laminae والخلايا العضلية الملساء الموجودة في الطبقة الوسطى لجدران الشرايين المغذية للمشيمة إذ يصبح الشريان في هذه الحالة خاليا من خلاياه البطانية والصفيحة المرنة الداخلية وكذلك الخلايا العضلية الملساء (Whitley and Cartwright, 2010)، والنتيجة المتوخاة من هذه التحورات في الشريان هي توسيع قطره الداخلي ليكون قادرا على تجهيز السخد بكمية اكبر من الدم وبدفق مصاحب بضغط دموي اقل مما كان عليه قبل الحمل (Ball *et*

(Anin *et al*., 2004 ؛*al*., 2006 إذ تصبح الشرايين الملتوية خارج نطاق سيطرة الجهاز العصبي الذاتي وبالتحديد الأعصاب الحركية الوعائية Vasomotor nerves (Whitley and Cartwright, 2010) وهذا بالضبط ما يحتاجه السخد والجنين وخاصة في النصف الثاني من الحمل (Pijnenborg) *et al*., 2006.

ان من بين خصائص النسيج الساقطي بالمنطقة المضادة للمساريق الرحمي هي صغر المسافات البينية الخلوية Intercellular spaces يصاحب ذلك تكوين أنواع خاصة من معقدات سطوح الخلايا والتصاق الخلايا مع بعضها Intercellular attachments وهذا يدعم الفكرة التي توفرها خلايا النسيج الساقطي للام وتحديد مدى الغزو لنسيج الام خارج النطاق المسموح به الذي يراد ان تصل إليه هجرات الخلايا الغاذية لأنسجة الام المختلفة والتي لها دور في ديمومة الحمل وتحديدا النسيج الساقطي والشرايين الملتوية(Whitley and Cartwright, 2010) ، ان سطوح الخلايا تبدي تخصصا لوظائف الالتصاقات Adherence junctions الضرورية والتي بمجموعها وبالاشتراك مع الخيوط السايتوبلازمية Cytoplasmic filaments لهذه الخلايا تلعب دورا مهما بالحفاظ على الالتصاق والإسناد الهيكلي لهذا النسيج إذ توجد لييفات الكولاجين Collagen fibrils وبعدد قليل جدا والتركيب يدعى الزوائد الصفاحية Lamellar processes الذي يعد شكلا مهما من العلاقة بين خلية وأخرى إذ ان هذا الترابط ما بين الخلايا يعنى مزيدا من سطوح الالتصاق ما بين الاغشية الخلوية للخلايا المتجاورة مع بعضها (Gartner and Hiatt, 2007) وبذلك تتحقق احدى متطلبات الحاجة الاساسية لوجود النسيج الساقطي ألا وهى إعطاء الدعم لترتيب الانسجة الجنينية وانسجة الام التى ستشترك فى تكوين السخد والذى بالتأكيد يشارك كلا النوعين من الانسجة انسجة الجنين وانسجة الام فى تكوينه. ان ما توصلت اليه نتائج البحث من استنتاج حول احدى وظائف النسيج الساقطي متفقة مع Wooding and Burton, (2008) فى استعراضهما لاهمية وجود النسيج الساقطي فى انواع السخد في اللبائن ذوات التواجه المباشر بين الطبقة المخلاوية الغاذية Syncytiotrophoblast، وهي احدى المشتقات الخلوية للخلايا الغاذية والتي كانت اولى خلايا المواجهة المباشرة التى بدأت الالتصاق الأول مابين أنسجة الجنين وأنسجة رحم الام في اثناء عملية غرس الكيسة الاريمية ولاحقا النسيج الساقطي (Singh and Aplin, 2009)، ان الوظيفة الرئيسية والمهمة لهذا التشكيل هي الحفاظ على مساحة سطحية واسعة للنسيج، وكما تقدم فان تكوّن النسيج الساقطي في المنطقة المضادة للمساريق الرحمي من بطانة الرحم يعنى ذلك الإقلال من المنطقة المحتوية على المادة بين الخلوية Intercellular matrix وان الفسح ما بين الخلايا ستتقلص لغاية إنهاء الفسح البينية وان اختزالها يبدو انه يشمل اختفاء بعض لييفات الكولاجين في بعض مناطق النسيج الساقطي

وتحديدا منطقة النسيج الساقطي الابتدائي في اليوم السابع من الحمل ولكنها موجودة في منطقة النسيج الساقطي الثانوية اذ بدا وجود الأوعية الدموية واضحا في هذه المنطقة من النسيج الساقطي في اليوم السابع من الحمل، لقد كان للألياف الغراوية وجودا واضحا خلال اليوم التاسع من الحمل وخاصة في ما بين خلايا النسيج الساقطي للمنطقة المساريقية من بطانة الرحم إذ تكثر هنالك الجيوب الدموية فيما بين خلايا النسيج الساقطى، ان اختفاء الألياف الغراوية في اليوم السابع في منطقة النسيج الساقطي الابتدائية وظهورها مجددا فى منطقة النسيج الساقطي الثانوية وكثرتها الملحوظة في النسيج الساقطي في اليوم التاسع حول الأوعية الدموية يشير إشارة واضحة إلى الدور الذي تلعبه الألياف الغراوية في إعطاء الدعم النسجي للنسيج الساقطي وللأوعية الدموية في أماكن تواجدها وهذا موافق للنتائج التي توصل اليها الباحثون Sati *et al*. (2008) من ان زيادة كبيرة تحصل في كمية الالياف الغراوية في الرحم الحامل تصل الى نسبة ٥٠٠ % مقارنة بالرحم غير الحامل، كما لوحظ في دراسات سابقة أيضا قلة عدد الخلايا البلعمية Macrophages في سدى المنطقة المضادة للمساريق الرحمي خلال تكوين النسيج الساقطي مما يقلل من احتمالية التهام الليفات الكولاجينية (O'Sher *et al*., 1983)، ان قلة الخلايا البلعمية في منطقة النسيج الساقطي له اهمية كبيرة في ابراز دور الالياف الغراوية في الحفاظ على التغيرات الوظيفية الطبيعية المهمة والاساسية في الشرايين اللولبية التي تحمل دم الام الى منطقة السخد والتي تلعب دورا مهما في إنجاح الحمل كما اشار الى ذلك الباحثون Harris *et al. (*2006).

لم تتوضح صورة الغاذية Trophoblast بصورة جلية في اليوم السابع لعدم توفر التقنية المناسبة من تقنية نسجية مناعية او مجهر الكتروني لكي نحصل على صورة واضحة لتواجد الخلايا الغاذية والتي تكون مهمتها الاولية خلال بداية عملية الغرس هي تعريف الام بالقادم الجديد والمقصود به هو الجنين المغرس حديثا وهذا يتأتى من إرسال الخلايا الغاذية إشارات جزيئية إلى الأم قبل وفي اثناء وبعد عملية الغرس (Handschuh *et al*., 2007). فضلا عن ذلك ان التزامن الذي لوحظ في نتائج البحث الحالي بين غزو وهجرة الخلايا الغاذية لبطانة الرحم الحامل وقلة تواجد الألياف الغراوية بين خلايا النسيج الساقطي في اليوم السابع فى منطقة النسيج الساقطي الابتدائية هو لقيام الخلايا الغاذية بإفراز إنزيمات هاضمة للألياف الغراوية وتحطيم كل مكونات المواد البينية ما بين الخلايا Extracellular matrixمثالها Matrix metalloproteinase و Proteases وهذا ما توصل إليه الباحثان Bischof and Cohen(٢٠١٠) وقد يعود السبب الى أن الخلايا الغاذية تلعب دورين يبدوان متناقضين ولكنهما في حقيقة الأمر مهمين إذ أن قيام الخلايا الغاذية بافرازها الانزيمات الهاضمة للالياف الغراوية وهذا الأمر يبدو انه مهم في منطقة النسيج ألساقطي الابتدائي التي ستستفيد من اختفاء الألياف الغراوية لزيادة

التصاقها مع بعضها لتكون مصدّا مهما بوجه اندفاع الخلايا الغاذية الزائد نحو بطانة الرحم في منطقة الغرس وهذا يعنى حسب رأى الباحثين الاخيرين حماية لرحم الأم ولكن بعد استقرار الحمل في اليوم التاسع من الحمل وانتقاله الى الجهة المساريقية من بطانة الرحم نرى ان الخلايا الغاذية قد لعبت فى اليوم السابع دورا مختلفا عن دورها الذي لعبته في لاحقا اي اليوم التاسع حيث الوفرة الواضحة للألياف الغراوية عما كانت عليه سابقا.

من المتغيرات الأخرى لخلايا سدى بطانة الرحم هو تكوين خلايا شوكية Spiny cells والتي تختلف بالحجم عن غيرها باحتوائها على عدة نوى Polyploidy بسبب تحدد شكلها المضلع وامتدادها بهذه المنطقة كما أورده الباحثان Osol and Mandala, (2009) والاختلاف الواضح عن اليوم السابع وما قبله انها توجد بشبكة معقدة من البروزات السايتوبلازمية مما يعطيها المظهر الشوكي وهذا التركيب الشوكي الهيكلي لهذه الخلايا مع بعضها بالاشتراك مع الليفات وطريقة ارتباط الخلايا مع بعضها تعد عناصر داعمة إضافية للنسيج (Kaufmann *et al*., 2003).

من الخصائص الأخرى لهذه المنطقة هو العدد الكبير من الخلايا الحرة النشطة بالحركة الواقعة في شبكة بروزات الخلية الشوكية والتي تحتوي على خلايا محببة والتي بدت تحت المجهر الضوئي مشابهة لمحتويات الغدد الرحمية، ان دور هذه الخلايا المحببة في عملية اضمحلال النسيج غير مؤكدة جيدا بعد ولكن يعتقد ان لها دورا في إنتاج الأجسام المناعية المضادة (Lyall, 2006)، كما أمكن ملاحظة امتدادات الفسح البينية في الأجزاء الطرفية المسماة مساحات الكلايكوجين Glycogen areas خاصة عند اليوم التاسع من الحمل وهذه المناطق ضرورية للنسيج المساريقي الرحمي الساقطي وأهميتها كأهمية الخلايا الشوكية، ومناطق الكلايكوجين لاتحتوي عادة على كمية من الكلايكوجين أما الفسح نفسها فإنها تحتوي على سائل متجانس (Han *et al*., 2010).

أما فيما يتعلق بوجود الأوعية الدموية فقد أوضحت النتائج وجود اختلاف واضح فيما بين الأوعية الدموية الموجودة في النسيج الساقطي وبين أوعية المنطقة القاعدية، في حين اختلفت الأوعية الدموية في هاتين المنطقتين عن تلك الاوعية الواقعة قبيل تكوّن النسيج غير الساقطي بعمر سبعة ايام في أن الأخيرة تكون قريبة جدا وملاصقة لخلايا النسيج الساقطي عند تكونه بتقدم الحمل في عمر تسعة أيام لتلبية الاحتياج المتزايد من الدم لنمو الجنين. إن كل هذه التغيرات والاختلافات على مستوى الخلايا والأنسجة فيما بين مكونات وعناصر الجنين والرحم تعطي فكرة عن مدى تعقيد عملية غرس الجنين برحم الأم ومنذ الساعات الأولى لها لحين اكتمال عمليات الغرس وتكوّن السخد واستمرار نجاح الحمل لنهايته وهذا موافق لما ذكره الباحثان Karmakar and Das, (2002).

كما أوضحت نتائج البحث تطوراً وتمايزاً نسجيا كبيرا Histological development and differentiation للغدد الرحمية اذ ان هذا التطور لهذه الغدد مهم جدا في بداية الحمل وتعد افرازاتها من الاهمية بمكان لتزويد الجنين بالغذاء Histotrophic nutrition خاصة عند انتقال الكيسة الاريمية Blastocysts من القناة الرحمية Oviduct الى الرحم وبقاء الكيسة الاريمية ليوم أو يومين طافية في تجويف الرحم قبل إتمام غرسها في بطانة الرحم والغذاء عبارة عن مجموعة من البروتينات السكرية Glycoproteins، ان هذا الترتيب للغدد الرحمية هو عين ما يحصل في الحمل الطبيعي كما بين الباحثون Jacob *et al*., (2012) و Pijnenborg *et al*., (2006) و Lopata *et al*., (2002) و Enders and Liu, (2000) في الجرذ والفأر و في الإنسان.

كما دللت نتائج البحث الحالي على عدم تأثر المتغيرات النسجية والفسيولوجية التالية في رحم الجرذان الحوامل بذلك العقار في هذه الفترة من الحمل وباستعمال الجرع السابقة نفسها وهذا مطابق لما أورده الباحثون Mudry *et al*., (2001) إذ أشاروا الى عدم وجود فروقات معنوية بين مجموعة السيطرة والمجموعات المعاملة بجرع مختلفة من الميترونيدازول فيما يخص موت الأجنة أو تشوهها في فترة ما قبل غرس الأجنة في إناث الجرذان؛ فيما وجد الباحثون أنفسهم بان هناك فروقا معنوية طفيفة بين مجموعة السيطرة والمجموعات المعاملة بجرع مختلفة من الميترونيدازول في فترة ما بعد الغرس تراوحت ما بين ١٢ و ١٧.٨ %.

اما دور الهرمونات في عملية الغرس فتشتمل على تفاعلات مشتركة متبادلة بين الكيسة الاريمية والرحم المستلم (Lopata, ١٩٩٦؛ Spencer *et al*., 2004a)، وجاهزية الرحم المستلم تكتمل بتفاعلات متداخلة بين الاستراديول والبروجيستيرون اللذان يؤثران على نوع الخلايا الخاصة مظهريا وجزيئيا، والتغيرات الرحمية هذه مهمة لقبول وتطور الجنين في تجويف الرحم (Murphy, 2000; Murphy *et al*., 1981).

ان تجريع اناث الجرذ النرويجي الحامل بعقار الميترونيدازول بجرعة علاجية وضعف الجرعة أدى الى انخفاض في مستوى هرمون الاستراديول في مصل الدم الا ان هذا الانخفاض لم يصل الى مستوى المعنوية $p>0.05$ في حين أن تجريع الحوامل بثلاثة أضعاف الجرعة T4 قد أدى الى انخفاض معنوي $p<0.05$ في مستوى الهرمون وهذا يعني انه كلما ازدادت جرعة العقار كلما قل مستوى هرمون الاستراديول كما لم يكن هناك تأثير معنوي$p>0.05$ لمدة الحمل في متوسط مستوى الهرمون وهذا مطابق لما أورده الباحث Soares, (2004) ، كما بينت النتائج وجود انخفاض معنوي $p<0.05$ في مستوى هرمون البروجيستيرون في مصل الدم وهذا يتعارض مع وجوب زيادة هذا الهرمون في أثناء مدة

الحمل، مثلما ذكره الباحثون عن أهمية هذا الهرمون في فرص النجاح المتوخاة من وجوده لعملية تقبل الجنين وإتمام الحمل (Spencer and Bazer, 2002).

إن ملاحظات الباحثين المستحصلة باستخدام المجهر الالكتروني لم تؤكد فكرة فعالية تصنيع هرمونات الاسترادايول والبروجيستيرون ولكن هناك دلائل تؤكد بان خلايا النسيج الساقطي للجرذان تمتلك مستلمات لها وتشير الى انها أي خلايا النسيج الساقطي تكون هدفا نسجيا لبعض الستيرويدات الجنسية (Salehnia *et al*., 2006 ; Ma *et al*., 2003).

اما اختلاف نتائج تأثير الميترونيدازول - الفلاجيل- في حجم ووزن وقطر الرحم وعدد الأجنة مابين وجود انخفاض معنوي في المعايير المدروسة أعلاه أو عدم وجود اختلاف معنوي أو وجود الاختلاف ولكنه لم يصل الى مستوى المعنوية $P>0.05$ فلابد من إعادة النظر بصورة جدية في سلامة العقار للاستعمال بفترات الحمل ودراسة الأضرار المحتملة عند استعماله للنساء الحوامل أو في الطب البيطري للحيوانات والتي قد يكون لهذا العقار آثاراً تراكمية Cumulative effects فيهما على حد سواء كون العقار يستعمل على نطاق واسع في المجال البيطري لعلاج كثير من الأمراض ولأغراض التسمين، وهذا مطابق لمعايير منظمة الدواء والغذاء الأمريكية Drug and Food Agency (DFA) لتصنيف الأخطار المحتملة للأجنة من جرّاء استخدام الأدوية في أثناء فترة الحمل التي أعطت الدرجة B للعلاجات غير المدروسة بدقة للنساء الحوامل ومنها عقار الميترونيدازول – الفلاجيل . أما فيما يتعلق بنتائج العلاقة بين مستوى هرمون البروجيستيرون وبين حجم ووزن وقطر الرحم وعدد الاجنة فيه التي أوضحت وجود علاقات طردية في اغلبها فهذا مطابق لمنطق المفاهيم الفسيولوجية السائدة ولم نعثر في الدراسات العديدة التي تناولت موضوع العلاقة بين هرمون البروجيستيرون والحمل على من تناول هذا الموضوع تشير إشارة واضحة الى عدم تأثر عملية غرس الكيسة الاريمية بتناول الدواء موضوع البحث الحالي ولكن الحذر مطلوب وبحاجة الى دراسات أخرى لمتابعة ما يحصل في الرحم والسخد وكذلك الجنين من متغيرات سلبية ممكن أن يحدثها عقار الفلاجيل.

الاستنتاجات

Conclusions

على الرغم من حساسية فترة الغرس وأهميتها في إنجاح الحمل فقد تبين من خلال الدراسة :

- ان عقار الفلاجيل ليس له تأثير ضار يعيق عملية الغرس او على أنسجة وخلايا الأم أو الجنين عند استعمال الفلاجيل بالجرعة العلاجية او ضعفها اوثلاثة أضعافها .
- كذلك عدم وجود تأثير ضار Teratogenic للعقار المستخدم مهدد للجنين أو للحمل في مراحله الأولى وتحديدا في اليومين السابع والتاسع منه ما يدل على المسار الطبيعي للصورة الهرمونية المسيطرة على عملية الحمل فى هذه الفترة.
- ان تجريع اناث الجرذ الحوامل بالعقار بثلاثة أضعاف الجرعة قد أدى الى انخفاض معنوي في مستوى هرمون الاستراديول في مصل الدم.
- ان التجريع بالجرع الثلاثة قد ادى الى انخفاض معنوي في مستوى هرمون البروجيستيرون.
- وجود انخفاض معنوي في عدد الأجنة بين مجاميع الإناث المجرعة بضعف الجرعة وثلاثة أضعافها من العقار.

التوصيات

Recommendations

على ضوء النتائج المستخلصة من هذا البحث والتي كانت مطابقة لمعايير منظمات الدواء والغذاء الدولية المختلفة لتصنيف الأخطار المحتملة للأجنة من الأدوية المستخدمة في أثناء فترة الحمل التي أعطت الدرجة B لعقار الميترونيدازول – الفلاجيل :

- إعادة النظر بصورة جدية في سلامة عقار الميترونيدازول – الفلاجيل - للاستعمال بفترات الحمل الأولى ودراسة الأضرار المحتملة عند استعماله للنساء الحوامل.
- الحاجة إلى دراسات أخرى للفترات اللاحقة من الحمل لمتابعة تأثير العقار على ما يمكن أن يسببه من تأثيرات جانبية على الحمل أو على تكوين الأعضاء المختلفة للجنين وعدم حدوث تشوهات خلقية فيها باستخدام تقنيات متطورة أكثر مثل المناعة الكيميائية النسجية Immunohistochemistry و المجهر الالكتروني.

المصادر

THE REFERENCES

المصادر العربية

البعلبكي، منير (١٩٨٠). المورد: قاموس انكليزي – عربي، الطبعة الرابعة عشر، دار العلم للملايين، بيروت، لبنان.

ألجليلي، محمود (١٩٧٨). المعجم الطبي الموحد، انكليزي – عربي: الطبعة الثانية، مطبعة المجمع العلمي العراقي.

الخطيب، احمد شفيق (١٩٨٦)، معجم المصطلحات العلمية والفنية والهندسية، انكليزي – عربي. الطبعة السادسة، مكتبة لبنان ، بيروت، لبنان.

الراوي، خاشع محمود (١٩٨٤). المدخل الى الإحصاء: الطبعة الثانية، مطبعة جامعة الموصل.

سالم، محمد حلمي؛ أيوب، مصطفى عبد الستار؛ طه، طه احمد (٢٠٠٧). فسيولوجيا التناسل في الثدييات.١٤١-١٥٢ ،ط ١، مكتبة بستان المعرفة، مصر.

الساهوكي، مدحت ووهيب، كريمة محمد (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب ، مطبعة جامعة بغداد .

الياس، انطون الياس وادوار ا. الياس (١٩٨٠). قاموس الياس العصري: الطبعة الثالثة والعشرون، شركة دار الياس العصرية، القاهرة، مصر.

المصادر الأجنبية

Abbott, N.J**.** (2002). Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. J. Anat. 6:629-38.

Aboagye-Mathiesen, G.; Toth, F.D.; Zdravkovic, M. and Ebbesen, P. (1996). Functional characteristics of human trophoblast interferons. Am. J. Rep. Immunol. 35:309–317.

Abrahamsohn, P.A. (1983). Ultrastructural study of the mouse antimesometrial deciduas. Anat. Embryol. 166:263 – 274.

Abrahamsohn, P.A. and Zorn, T.M. (1993). Implantation and decidualization in rodents. J. Exp. Zool. 266:603–628.

Abrahamsohn, P.A.; Lundkvist, O. and Nilsson, O. (1983). Ultra structure of the endometrial blood vessels during implantation of the rat blastocyst: Cell. Tiss. Res. 229: 269-80.

Abrahamsohn, P.A.; Zorn, T.M.T. and Oliveira, S.F. (2002). Decidua in rodents. In: Glasser S.R.; Aplin J.D.; Giudice L.C.; Tabibzadeh S., eds. The endometrium. New York: Taylor, Francis, 279–293.

Adamson, S.L.; Lu, Y.; Whiteley, K.J.; Holmyard, D.; Hemberger, M.; Pfarrer, C. and Cross, J.C. (2002). Interactions between trophoblast cells and the maternal and fetal circulation in the mouse placenta. Dev. Biol. 15; 250(2):358-73.

Afshor, Y.; Jeong, J.W.; Roquerio, D.; Dehayo, F.; Lydon.J.; Radnor, R.; Miele, L. and Fazeleabas, A. (2012). Notchi mediate uterine stromal differentiation and is critical for complete decidualization in the mouse. J. FASEB (Federation of Am. Soci.) Exp. Biol. 26: 292-294.

Allen, W.R.; Carter, A.M.; Chavatte-Palmer, P.; Dantzer, V.; Enders, A.C.; Freyer, C.; Leiser, R. and Miglino, M.A. (2003). Comparative placentation--a workshop report. Plac. 24 Suppl A:S100-3.

Anderson, J.W. (1969). Ultrastructure of the placenta and fetal membranes of the dog. Anat. Rec. 165: 15 – 36.

Anin, S.A.; Vince, G. and Quenby, S. (2004). Trophoblast invasion. Hum. Fert. (Camb) 7:169–174.

Anthony, M.C. and Enders, A.C. (2010). Placentation in mammals once grouped as insectivores. Inter. J. Dev. Biol. 54:483-93.

Ashton, S.V.; Whitley, G.S.; Dash, P.R.; Wareing, M.; Crocker, I.P.; Baker, P.N. and Cartwright, J.E. (2005). Uterine spiral artery remodeling involves endothelial apoptosis induced by extravillous trophoblasts through Fas/FasL interactions. Arterioscler. Thromb.Vasc. Biol. 25:102-8.

Atkinson, J.J. and Senior, R.M. (2003). Matrix metalloproteinase -9 in lung remodeling Am. J. Respir. Mol. Biol. 28:12-24.

Auger, P.; Bourgouin, J. and Bagot, C. (1988). Intravenous metronidazole in the treatment of abdominal sepsis: once three times daily administration. Curr. Ther. Res. 43: 494-502.

Ball, E.; Bulmer, J.N.; Ayis, S.; Lyall, F. and Robson, S.C. (2006). Late sporadic miscarriage is associated with abnormalities in spiral artery transformation and trophoblast invasion. J. Pathol. 208:535–*542.*

Bany, B.M. and Cross, J.C. (2006). Post-implantation mouse conceptuses produce paracrine signals that regulate the uterine endometrium undergoing decidualization. Dev. Biol. 294: 445–456.

Bazer, F.W.; Burghardt, R.C.; Johnson, G.A.; Spencer, T.E. and Wu, G. (2008). Interferons and progesterone for establishment and maintenance of pregnancy: interactions among novel cell signaling pathways. J. Rep Biol. 8: 179–211.

Bazer, F.W.; Spencer, T.E. and Johnson, G.A. (2009). Interferons and uterine receptivity. Seminars in Reproductive Medicine, the Society for Rep. and Fer.. 27: 90–102.

Bischof, P. and Cohen, M. (2010). Endometrial factors and blastocyst implantation. Ind. J. Physiol. Pharmacol. 54 (5):١٦-٧

Blankenship, T.N. and Enders, A.C. (1997). Trophoblast cell -mediated modifications to uterine spiral arteries during early gestation in the macaque. Acta. Anat. 158: 227-36.

Blankenship, T.N. and Enders, A.C. (2003). Modification of uterine vasculature during pregnancy in macaques. Mic. Res. Tech. 60:390-401.

Burgharde, R.C.; Burghardt, J.R.; Taylor, J.D.; Reeder, A.T.; Nguen, B.T.; Spencer, T.E.; Bayless, K.J. and Johnson, G.A. (2009). Enhanced focal adhesion assembly reflects increased mechanosensation and mechanotransduction at maternal–conceptus interface and uterine wall during ovine pregnancy. J. Rep. 137: 567–582.

Burton, G.J.; Jauniaux, E. and Charnock-Jones, D.S. (2007). Human early placental development: potential roles of the endometrial glands. Plac. 28:64–69.

Burton, G.J. and Fowden, A.L. (2012). The placenta and developmental programming: Balancing fetal nutrient demands with maternal resource allocation. Plac. 33: 23-27.

Buschini, A.; Ferrarini, L.; Franzoni, S.; Galati, S.; Lazzaretti, M.; Mussi, F.; Northfleet de Albuquerque, C.; Maria A.D.Z. and Poli, P. (2009). "Genotoxicity reevaluation of three commercial nitroheterocyclic drugs: nifurtimox, benznidazole, and metronidazole," J. Parasitol. Res. V. 2009, 11 pages.

Carson ,D.D.; Lagow, E.; Thathiah, A.; Al-Shami, R.; Farach-Carson, M.C.; Vernon, M.; Yuan L,; Fritz, M.A. and Lessey, B. (2002). Changes in gene expression during the early to mid-luteal (receptive phase) transition in human endometrium detected by high-density microarray screening. J. Mol. Hum. Rep. 8: 871–879.

Carson, F.L. and Christa, H. (2009). Histotechnology: a self-instructional text (3 ed.). Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press. pp. 137–139.

Carter, A.M. ; Blankenship, T.N.; Künzle, H. and Enders, A.C. (2005). Development of the haemophagous region and labyrinth of the placenta of the *Echinops telfairi*. Plac. 26:251-61.

Carter, A.M. ; Blankenship, T.N.; Künzle, H. and Enders, A.C. (2004). Structure of the definitive placenta of the *Echinops telfairi.* Plac. 25(2-3):218-32.

Carter, A.M. ; Croy, B.A.; Dantzer, V.; Enders, A.C.; Hayakawa, S.; Mess, A. and Soma, H. (2007). Comparative aspects of placental evolution: a workshop report. Plac. Suppl. 28 :129-132.

Carter, A.M. ; Enders, A.C.; Jones, C.J.P.; Pfarrer, C.; Pijnenborg, R. and Soma, H. (2006). Comparative placentation Mess and animal models: patterns of trophoblast invasion - a workshop report. Plac. Suppl. 27:30-33.

Carter, A.M. ; Enders, A.C.; Künzle, H.; Oduor-Okelo, D. and Vogel, P. (2004). Placentation in species of phylogenetic importance: the Afrotheria. Anim. Rep. Sci. 82-83:35-48.

Carter, A.M. and Enders, A.C. (2004). Comparative aspects of trophoblast development and placentation. Rep. Biol. and Endocrinol. 2:46.

Carter, A.M. ; Goodman, S.M. and Enders, A.C. (2008). Female reproductive tract and placentation in sucker-footed bats (Chiroptera: Myzopodidae) endemic to Madagascar. Plac. 29:484-91.

Carter, A.M. and Martin, R.D. (2010). Comparative anatomy and placental evolution. In: Placental bed disorders, 1st ed. R. Pijenenborg, I. Brosens and R. Romero (eds.).Cambridge University Pr.,Cambridge.pp:109-126.

Chacko, M. and Bhide, S. V. (19٩6). Carcinogenicity, perinatal carcinogenicity and teratogenicity of low dose metronidazole (MTZ) in Swiss mice. J. Canc. Res. Clin. Oncol. 112:135-140.

Christie, G. A. (1966). Implantation of the rat embryo glycogen and alkaline phosphatases. J. Rep. Fert. 12,279 – 294.

Christoffern, R.H. and Nillsson, B.0. (1988). Morphology of the endometrial microvasculature during early placentation in the rat. Cell Rssu. Res. 253: 209-220.

Clark, D.E.; Hurst, P.E.; McLennan, I.S. and Myers, D.B. (1993). Immunolocalization of collagen type I and laminin in the uterus on Days 5 to 8 of embryo implantation in rat: Anat. Rec. 237: 8-20.

Clark, D.E.; Hurst, P.E., D.B. Myers and Spears, G.F. (1992). Collagen concentrations in dissected tissue compartments of rat uterus on Days 6, 7 and 8 of pregnancy. J. Rep. Fert. 94:169 – 175.

Clark, G. (1960). Staining procedures used by the biological stain commission, 3ed edition. Williams & Wilkins Co.. pp.13.

Cornelis, G.; Heidmann, O.; Bernard-Stoecklin, S.; Reynaud, K.; Véron, G.; Mulot, B. and Heidmann, T. (2012). Ancestral capture of *syncytin-Car1*, a fusogenic endogenous retroviral *envelope* gene involved in placentation

and conserved in Carnivora., Proc. Nat. Aca. Sci. 109: 2206-2207.

Cross, J.C. (2005). How to make a placenta: mechanisms of trophoblast cell differentiation in mice--a review. Plac. 26 (Suppl.): 3–9.

Cross, J.C. and Mickelson, L. (2006). Nutritional influences on implantation and placental development. Nut. Rev. 64: 72–91.

Demir, R.; Yaba, A. and Huppertz, B. (2010). Vasculogenesis and angiogenesis in the endometrium during menstrual cycle and implantation. Acta. Histoch. 112: 203–214.

De Feo, V.J. (1963). Temporal aspect of uterine sensitivity in the pseudopregnant or pregnant rat. Endocrinol. 72:305 – 316.

De Feo, V.J. (1967). Decidualization in cellular biology of the uterus. Ed. By Ralph. M. Wynn Appleton. Century-Crofts, New York. PP.191-291.

Dey, S.K.; Lim, H.; Dos, S.K.; Reese, J.; Poria, B.C.; Daikoku, T. and Wang, H. (2004). Molecular cues to implantation. Endocrinol. Rev.25: 341-373.

Dimitriadis, E.; Nie, G.; Hannan, N.J.; Paiva, P. and Salamonsen, L.A. (2010). Local regulation of implantation at the human fetal–maternal interface. International. J. Dev. Biol. 54:313–322.

Drury, R.A. and Wallington, E.A. (1976). Carelton's histological techniques Oxford Univ. Press, New York, Toronto.

Edwards, D.I. (1993). Nitroimidazole drugs--action and resistance mechanisms: Mechanisms of action. J. Antimicrob. Chemother. 31:9.

Eisenstein, B.I.; Moselio, S.; Schaechter, M. and Engleberg, N. (2007). "DNA and Chromosome Mechanics". In mechanisms of microbial disease. Hagerstwon, MD: Lippincott Williams & Wilkins. pp. 28.

Ejima, K.; Koji, T.; Tsuruta, D.; Nanri, H.; Kashimura, M. and Ikeda, M. (2000). Induction of apoptosis in placentas of pregnant mice exposed to lipopolysaccharides: Possible involvement of Fas/Fas ligand system. Biol. Rep. 62:178–185.

Enders, A.C. (2000). Trophoblast-uterine interactions in the first days of implantation: models for the study of implantation events in the human. Seminars in reproductive medicine 18:255-63.

Enders, A.C. (2002). Formation of monozygotic twins: when does it occur? Plac. 23:236.

Enders, A.C. (2005). Structure of the ovaries of the Nimba otter shrew, Micropotamogale lamottei, and the Madagascar hedgehog tenrec, Echinops telfairi . Plac. 28:794-802.

Enders, A.C. and Carter, A.M. (2006). Comparative placentation: some interesting modifications for histotrophic nutrition - a review. Plac. 27: 11-16.

Enders, A.C. and Carter. A.M. (2004). What can comparative studies of placental structure tell us?--A review. Plac. 25:3-9.

Enders, A.C. and Liu, I.K. (2000). A unique exocelom-like space during early pregnancy in the horse. Plac. 21:575-83.

Enders, A.C. and Schlafke, S. (1967). A morphological analysis of the early implantation stages in the rat. Am. J. Anat. 120: 185-226.

Enders, A.C. and Schlafke, S. (1969). Cytological aspects of Trophoblast uterine interaction in early implantation . Am. J. Anat. 125: 1 – 30.

Enders, A.C. and Schlafke, S. (1972). Implantation in the ferret:epithelial penetration. Am. J. Anat. 133:291 – 315.

Enders, A.C.; Blankenship, T.N.; Conley, A.J. and Jones, C.J. P. (2006). Structure of the midterm placenta of the spotted hyena, Crocuta crocuta, with emphasis on the diverse hemophagous regions. Cells, tissues, organs 183:141-55.

Enders, A.C.; Blankenship, T.N.; Fazleabas, A.T. and Jones, C.J. (2001). Structure of anchoring villi and the trophoblastic shell in the human, baboon and macaque placenta. Plac. 22:284-303.

Enders, A.C.; Jones, C.J.; Lantz, K.C.; Schlafke, S. and Liu, I.K. (2000). Simultaneous exocrine and endocrine secretion: trophoblast and glands of the endometrial cups. J. Rep. Fert. Supp. :615-25.

Enders, A.C.; Meyers, S.; Vandevoort, C.A. and Douglas, G.C. (2005). Interactions of macaque blastocysts with epithelial cells in vitro. Hum. Rep. (Oxford, England) 20: 3026-32.

Erel, C.T.; Dane, B.; Calay, Z.; Kaleli, S. and Aydinli, K. (2001). Apoptosis in the placenta of pregnancies complicated with IUGR. Int. J. Gynecol. Obs. 73: 229–235.

Eveline, P.C.T.; Rijk, D.; VAN Esch, E. and Flik, G. (2002). Pregnancy dating in the rat: placental morphology and maternal blood parameters .Toxicol. Pathol. 30: 271–282.

Fas, L. (2002). Uterine spiral artery remodeling involves endothelial apoptosis induced by extravillous trophoblasts through Fas interactions. Dev. Biol. 15, 250 :358-73.

Fazleabas, A.T. (2007). Physiology and pathology of implantation in the human and nonhuman primate. Seminars in Reproductive Medicine, 25: 405–409.

Fazleabas, A.T.; Kim, J.J. and Strakova, Z. (2004). Implantation: embryonic signals and the modulation of the uterine environment – a review. Plac. 25, the human and nonhuman primate. Seminars in Reproductive

Medicine, 25, 405–409.

Finn, C.A. and Martin, L. (1972). Endocrine control of the timing of endometrial sensitivity to a decidual stimulus. Biol. Rep. 7, 82-86.

Finn, C.A. and Porter, D.G. (1975). The uterus – Hand book in reproduction biology, V.1, Elek Science, London, 17 – 104.

Forna, F. and Gülmezoglu, A.M. (2003). Interventions For Treating Trichomoniasis In Women. Cochrane Database Syst. Rev. CD000218.

Fuller, W.B.; Guoyao, W.; Thomas, E.S.; Greg, A.J.; Robert, C.B. and Kayla, B. (2011). Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. Oxf. J. Li. Sci. Med. MHR: Basic sci. Rep. Med. Vie., Current Issue 17 : 135-152.

Furukawa., S.; Hayashi S., ; Usuda, K.; Abe, M.; Hagio, S. and Ogawa, I. (2011a). Toxicological pathology in the rat placenta. J. Toxicol. Pathol. 24: 95–111.

Furukawa, S.; Hayashi, S.; Hayashi, S.; Usuda, K.; Abe, M. and Ogawa, I. (2011b). The relationship between fetal growth restriction and small placenta in 6-mercaptopurine exposed rat. Exp. Toxicol. Pathol. 63: 89–95.

Furukawa, S.; Usuda, K.; Abe, M.; Hayashi, S. and Ogawa, I. (2007a). Busulfan-induced apoptosis in rat placenta. Exp. Toxicol. Pathol. 59: 97–103.

Furukawa, S.; Usuda, K.; Abe, M. and Ogawa, I. (2007b). Microencephaly and microphthalmia in rat fetuses by busulfan. Histol. Histopathol. 22: 389–397.

Furuse, M.; Itoh, M.; Hirase, T.; Nagafuchi, A.; Yoneura, S.; and Tsukita, S. (1993). Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight

junctions. J. Cell Biol. 123: 1777-1788.

Garry, V.F. and Nelson, R.L. (2003). Host-mediated transformation: Metronidazole. Mut. Res. 190 : 289-295.

Gartner, L.P. and Hiatt, J.L. (2007). Color textbook of histology. 3rd international edition. W.B. Saunders and Elsevier, China.

Ghosh, A.K. (2010). Infectious diseases, Mayo Clinic Internal Medicine Board Review: 9th edition Oxford university press. Ch. 15, Part 1: 503-509.

Goldman, P.; Koch, R.L. and Yeung, T.C. (1986). Comparing the reduction of nitroimidazoles in bacteria and mammalian tissues and relating it to biological activity. Bioch. Pharmacol. 35:43.

Goodwin, M. and Yap, A.S. (2004). Classical cadherin adhesion molecules: coordinating cell adhesion, signaling and the cytoskeleton. J. Mol. Histol. 35: 839–844.

Guillomot, M. (1995). Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. J. Rep. Fert. 49 39–51.

Gulaid, M. (1978). Determination of Metronidazole and Its Major Metabolites in Biological Fluids by High Pressure Liquid Chromatography, Br. J. Clin. Pharmacol. 6:430–432.

Gulland, F.M. and Carwardine, P.C. (1987). Plasma Metronidazole levels in an Indian elephant (*Elephas maximus*) after rectal administration. Vet. Record 120:440.

Gumbiner, B.M. (1987). Structure, biochemistry, and assembly of epithelial tight junctions. Ame. J. Physiol. 253:749-758

Gumbiner, B.M. (1993). Breaking through the tight junction barrier. J. Cell Biol. 123:1631-1633.

Han, J.; Li, L.; Hu, J.; Yu, L.; Zheng, Y.; Guo, J.; Zheng, X.; Yi, P. and Zhou, Y. (2010). Epidermal growth factor stimulates human trophoblast cell migration through Rho A and Rho C activation. Endocrinol. 151: 1732–1742.

Handschuh, K.; Guibourdenche, J.; Tsatsaris, V.; Guesnon, M.; Laurendeau, I.; Brion, D.E.- and Fournier, T. (2007). Human chorionic gonadotropin produced by the invasive trophoblast but not the villous trophoblast promotes cell invasion and is down-regulated by peroxisome proliferator-activated receptor-γ Endocrinol. 1: 148.

Hansen, L. (2006). Gomori rapid one step trichrome stain; origin: Am. J. Clin. Pathol. 1950, 20:661-63.

Harris, L.K. (2009). Trophoblast-vascular cell interactions in early pregnancy: how to remodel a vessel. Physiol. (Bethesda) 24: 58–71.

Harris, L.K. (2010). Review: Trophoblast-vascular cell interactions in early pregnancy: how to remodel a vessel. Plac. 31 Suppl: 93-98.

Harris, L.K.; Jones, C.J. and Aplin, J.D. (2009). Adhesion molecules in human trophoblast–a review. II. Extravillous Trophoblast.Plac.30:299–304.

Harris, L.K.; Keogh, R.J., Wareing, M.; Baker, P.N.; Cartwright, J.E.; Aplin, J.D. and Whitley, G.S.J. (2006). Invasive trophoblasts stimulate vascular smooth muscle cell apoptosis by a fas ligand-dependent mechanism. Am. J. Pathol. 169:1863-1874.

Harvey, E.B. (1964). Mast cell distribution in the uterus of cycling and pregnant hamster. Anat. Rec. 148: 507 – 516.

Hay, W.W. (2006). Placental-fetal glucose exchange and fetal glucose metabolism. Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc. 117: 321–340.

Hayes, M.A.; Quinn, B.A.; Keirstead, N.D.; Katavolos, P.; Waelchli, R.O. and Betteridge, K.J. (2008). Proteins associated with the early intrauterine equine conceptus. Reproduction in Domestic Animals 43: 232–237.

Hedlund, K.; Nilsson O.; Reinius S. and Aman G. (1972). Attachment reaction of the uterine luminal epithelium at implantation : light and electron microscopy of the hamster, guinea pig , rabbit and mink . J. Rep. Fert. 29: 131 – 132.

Hemberger, M.; Nozaki, T.; Masutani, M. and Cross J.C. (2003). Differential expression of angiogenic and vasodilatory factors by invasive trophoblast giant cells depending on depth of invasion. Dev. Dyn. 227:185–191.

Herington, J.L. and Bany, B.M. (2007). The conceptus increases secreted phosphoprotein 1 gene expression in the mouse uterus during the progression of decidualization mainly due to its effects on uterine natural killer cells. Rep. 133:1213–1221.

Hess, A.P.; Hamilton, A.E.; Talbi, S.; Dosiou, C.; Nyegaard, M.; Nayak, N.; Genbecev; Krtolica, O.; Mavrogianis, P.; Ferrer, K. and Kruessel, J. (2007). Decidual stromal cell response to paracrine signals from the trophoblast: amplification of immune and angiogenic modulators. J. Biol. Rep. 76: 102–117.

Holst, P.A. and Phemister R.D. (1971). The prenatal development of the dogs: pre-implantation events. Biol. Rep. 5:194 – 206.

Humason, C.L. (1974). Animal tissue techniques .W. Freeman, San Francisco,

California, 641 pp.

Huppertz, B.; Gauster, M.; Orendi, K.; König, J. and Moser, G. (2009). Oxygen as modulator of trophoblast invasion. J. Anat. 215: 14–20.

Huppert, J.S. (2009). Trichomoniasis in teens: An Update. Curr. Opin. Obs. Gynecol. 21:371-8.

Irwin, J.C.; Dalas, F.L. and Giudice, L.C. (1994). Growth factor and decidualization in vitro. Ann. NY Acad. Sci. 734: 7-18.

Ings, R.M.J.; McFadzean, J.A. and Ormerod, W.E. (2002). The mode of action of metronidazole in *Trichomonas vaginalis* and other micro-organisms. Bioch. Pharmacol. 23 : 1421-1429.

Jacob, M.; Karen, M. and Downs, D. (2012). Signaling in the posterior region of the mouse gastrula suggests manifold roles in the fetal-umbilical connection and posterior morphogenesis, final edited form as: PMC.J. Dev. Dyn. 240:2175–2193.

Jackson, C.J. and Jenkins, K.L. (1991). Type I collagen fibrils promote rapid vascular tube formation upon contact with apical side of endothelium: Exp. Cell Res. 192: 319-23.

Jansson, T. and Powell, T.L. (2006). Human placental transport in altered fetal growth: does the placenta function as a nutrient sensor? – a review. Plac. 27: 91–97.

Jensen, J.C. and Guglar, R. (1985) .Interaction between metronidazole and drugs eliminated by oxidative metabolism. Clin. Pharmacol. Ther. 37: 407-410.

Johnson, G.A.; Burghardt, R.C.; Bazer, F.W. and Spencer, T.E. (2003). Mini review: osteopontin: roles in implantation and placentation. J. Biol. Rep. 69:1458–147.

Jones, C.J.P.; Carter, A.M.; Aplin, J.D. and Enders, A.C. (2007). Glycosylation at the fetomaternal interface in hemomonochorial placentae

from five widely separated species of mammal: is there evidence for convergent evolution? Cells, tiss. org. 185:269-84.

Jones, C.J.; Enders A. C. and Fazleabas, A.T. (2001). Early implantation events in the baboon (*Papio anubis*) with special reference to the establishment of anchoring villi. J. Plac. 22:440-56.

Jones, H.N.; Ashworth, C.J.; Page, K.R. and McArdle (2006). Cortisol stimulates System A amino acid transport and SNAT2 expression in human placental cell line (BeWo). Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 291.

Jorgensen, M.A.; Manos, J.; Mendz, G.L. and Hazell, S.L. (2011). The mode of action of metronidazole in Helicobacter pylori: futile cycling or reduction. Oxford J. Med. J. Antimic. Chemoth. 41 : 67-75.

Joyce, M.M.; Burghardt, R.C.; Geisert, R.D.; Burghardt, J.R.; Hooper, R.N. Ross, J.W.; Ashworth, M.D. and Johnson, G.A. (2007a). Pig conspectuses secrete estrogen and interferons to differentially regulate uterine STAT1 in a temporal and cell type-specific manner. Endocrinol. 148: 4420–4431.

Joyce, M.M.; Burghardt, R.C.; Hooper, R.N.; Jaeger, L.A.; Spencer, T.E.; Bazer, F.W. and Johnson, G.A. (2007b). Pig conspectuses increase uterine interferon regulatory factor-1 (IRF-1), but restrict expression to stroma through estrogen-induced IRF-2 in luminal epithelium. Biol. Rep. 77: 292–302.

Karmakar, S. and Das, C. (2002). Regulation of trophoblast invasion by IL-1β and TGF-β1. Ame. J. Rep. Immunol. 48: 210–219.

Katayama, K.; Ueno, M.; Takai, H.; Ejiri, N.; Uetsuka, K.; Nakayama, H.; Doi, K. (2002). Ethylnitrosourea induced apoptosis and growth arrest in the Trophoplastic cells of rat placenta. Biol. Rep. 67: 431–435.

Kaufmann, P.; Black, S. and Huppertz, B. (2003). Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. Biol. Rep. 69: 1–7.

Kelly, R.W.; King, A.E. and Critchley, H.O. (2001). Cytokine control in human endometrium. Rep. 121:3-19.

Kennedy, T.G. (1983). Embryonic signals and the initiation of blastocyst implantation. (Review), Aust. J. Biol. Sci. 36:531 – 543.

Kennedy, T.G. (1997). Physiology of Implantation. 10th World Congress on In Vitro Fertilization And Assisted Reproduction, Canada.

Khalil, W.K.B., Mahmoud, M.A.; Zahran, M.M. and Mahrous, K.F. (2007). A sub-acute study of Metronidazole toxicity assessed in Egyptian *Tilapia zillii*. J. Appl. Toxicol. 27: 380–390.

Knofler, M. (2010). Critical growth factors and signalling pathways controlling human trophoblast invasion. Inter. J. Dev. Biol. 54: 269–280.

Koh, P.O.; Kwak, S.D.; Kim, H.J.; Roh, G.; Kim, J.H.; Kang, S.S.; Choi, W.S. and Cho, G.J. (2003). Expression patterns of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide and its type I receptor mRNAs in the rat placenta. Mol. Rep. Dev. 64:27-31.

Krehbiel, l.R.H. (1987). Cytological studies of the decidual reaction in the rat during early pregnancy and in the production of deciduomata. Physiol. Zool.10:212–238.

Kumer, S.; Li, Q.; Dua, A.; Ying, Y.K.; Bagchi, M.K. and Bagchi, I.C. (2001).

Messenger ribonucleic acid encoding interferon-inducible guanylate binding protein 1 is induced in human endometrium within the putative window of implantation. J. Clin. Endocrinol. Meta. 86: 2420–2427.

Lee, K.Y. and Demayo, F.J. (2004). Animal models of implantation. Rep. 128: 679-695.

Lim, H.; Song, H.; Paria, B.C.; Reese J.; Das, S.K. and Dey, S.K. (2002). Molecules in blastocyst implantation: Uterine and embryonic perspectives. Vit. Hor. 64: 43-76.

Löfmark, S.; Edlund, C. and Erik, N.*C.* (2010). Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. Clin. Infect. Dis.50 :16-23.

Lokugamage, A.U.; Rai, R. and Landles, C. (2010). Natural selection of human embryos: impaired decidualization of endometrium disables embryo–maternal interactions and causes recurrent pregnancy loss. Plos. One 5: 10287.

Lopata, A. (1996). Blastocyst-endometrial interaction: an appraisal of some old and new ideas. Mole. Hum. Rep. 2 : 519-525.

Lopata, A.; Bentin-Ley, U. and Enders, A. (2002). "Pinopodes" and implantation. Rev. End. Meta. Dis. 3:77-86.

Lyall, F. (2006). Mechanisms regulating cytotrophoblast invasion in normal pregnancy and pre-eclampsia. Aust. New Ze. J. Obs. Gynaecol. 46 266–273.

Ma, W.; Song, H.; Das, S.K.; Paria, B.C. and Dey, S.K. (2003). Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation. PNAS 100 : 2963-2968.

Makrigiannakis, A. and Minas, V. (2007). Mechanisms of implantation. Rep. Biom. Onl. 14:102-9.

McManus, F.A. and Mowry, R.W. (1963). Staining methods histological and histochemical . Harper and Row Publishers, Inc Maryland. Medical Div., Harper & Row Publishers. 4 : p. 99.

Meyers, S.A.; Ming-Wen, L.; Enders, A.C. and Overstreet, J.W. (2009). Rhesus macaque blastocysts resulting from intracytoplasmic sperm injection of vacuum-dried spermatozoa. J. Med. Primatol. 38:310-7.

Miller, M.; Liao, Y.; Gomez, A.M.; Gaydos, C.A. and D'Mellow, D. (2008). Factors associated with the prevalence and incidence of trichomonas vaginalis infection among African American women in New York city who use drugs. J. Infect. Dis. 15;197:503-9.

Miyachi, Y.; Imamura, S. and Niwa, Y. (2006). Anti-oxidant action of metronidazole: a possible mechanism of action in rosacea. Brit. J. Dermatol. 114; 2: 231–234.

Mojdeh, S.; Mitra, A. and Mandana, B. (2006). The impact of ovarian stimulation on mouse endometrium: a morphometrical study. Iran. J. Rep. Med. 4 : 7-11.

Moll, U.M. and Lane, B.L. (1990). Proteolytic activity of first trimester human placenta: localization of interstitial collagenase in villous and extravillous Trophoblast. Histoch. 94: 555-60.

Mossman, H.W. (1987) vertebrate fetal membrane: comparative ontogeny and morphology; evolution; phylogenetic significance; basic function. pp 80-83.macmillan pr. ltd, London.

Mudry, M.D.; Carballo, M.; De Vinuesa, L.M.; Gonzalez, C.M. and Larripa, I. (1994). Mutagenic bioassay of certain pharmacological drugs: III. Metronidazole (MTZ). Mut. Res. 305: 127-132.

Mudry, M.; Martínez-Flores, I.; Palermo, A.; Carballo, M.; Egozcue, J. and Caldés, M.G. (2001). Embryolethality induced by metronidazole (MTZ) in *Rattus norvegicus*. Ter. Carc. Mut. 21: 197–205.

Murphy, C.R. (2000). Junctional barrier complexes undergo major alterations during the plasma membrane transformation of uterine epithelial cells. Hum. Rep. 15: 182-188.

Murphy, C.R.; Swift, J.G.; Mukherjee, T.M. and Rorgers, A.W. (1981). Effects of ovarian hormones on cell membranes in the rat uterus. II. Freezefracture studies on tight junctions of the lateral plasma membrane of the luminal epithelium. Cell Biophys. 3: 57-69.

Nilsson, O. (1972). Ultrastructure of the process of secretion in the rat uterine epithelium at preimplantation.). Ultrastruct. Res. 40: 572-580.

Nix, D.E.; Tyrrel, R. and Müller, M. (1995). Pharmacodynamics of metronidazole determined by a time-kill assay for Trichomonas vaginalis. Antim. Age. Chemo. 39:1848.

Ornelas-Aguirre, J.M.; Gómez-Meda, B.C.; Zamora-Perez, A.L.; Ramos-Ibarra, M.L.; Batista-González, C.M. and Zúñiga - González, G.M. (2006). Micronucleus induction by metronidazole in rat vaginal mucosa. Env. Mol. Muta. 47: 352–356.

O'Sher, J.D.; Kleinfeld, R.G. and Morrow, H.A. (1983). Ultra structure of decidualization in the pseudo pregnant rat. Am. J. Anat. 166:271-298.

Osol, G. and Mandala, M. (2009). Maternal Uterine Vascular Remodeling During Pregnancy . Physiol. (Bethesda) 24: 58–71.

Paget, G.E. and Barnas, J.H. (1964). Evaluation of drug activities, Pharmacometrics. V.I., Ed by O. R. Laurance and A. L. Bachanch Academic Press.

Pandian, A. M. C., Lambert, R. D. and Roy, R. (1988). Immunosuppressive effects of rabbit blastocoelic fluid and embryo culture medium J. Rep. Immunol. 13: 221-234.

Parast, M.M.; Aeder, S. and Sutherland, A.E. (2001). Trophoblast giant-cell differentiation involves changes in cytoskeleton and cell motility. Dev. Biol. 230:43-60.

Paria, B.C.; Zhao, X.; Das, S.K.; Dey, S.K. and Yoshinaga, K. (1999). Zonula occludens-1 and E-cadherin are coordinately expressed in the mouse uterus with the initiation of implantation and decidualization. Dev. Biol. 208: 488-501.

Paria, B.C., Huet-Hudson, Y.M. and Dey, S.K. (1993). Blastocyst's state of activity determines the "window" of implantation in the receptive mouse uterus. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 90: 10159-10162.

Parkes, A.S. (1926). Observations on the oestrous cycle of the albino mouse. Proc. Roy. Soc. 100: 151-170.

Parr, M.B., Tung, H.N. and Parr, E.L. (1986), The ultra structure of the rat primary decidual zone. Am. J. Anat. 176: 423–436.

Parr, M.B. and Parr, E.L. (1986). Permeability of the primary decidual zone in the rat uterus: studies using fluorescent-labeled proteins and dextrans. Biol. Rep. 34:393–403.

Peyman, J.A. and Hammond, G.L. (1992).Localization of interferon-γ receptor in first trimester placenta to trophoblasts but lack of stimulation of HLA-DRA, -DRB, or invariant chain mRNA expression by interferon-γ. J. Immunol. 149: 2675–2680.

Pijnenborg, R. and Vercruysse, L. (2010). Animal models of deep trophoblast invasion. In: Placental bed disorders, 1st ed. R Pijnenborg, I Brosens, and R. Romero (eds.). Cambridge Uni. Press, Cambridge. 127–140.

Pijnenborg, R.; Vercruysse, L. and Hanssens, M. (2006). The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies. Plac. 27:939–958.

Protocols for the Preparation of Blood Plasma and Serum (2009). The Magdalen Centre · The Oxford Science Park Pro. Imm. Lim. PR31 Version 1.0 03.

Ralph, E.D., and Kirby, W.M.M. (2011). Bioassay of metronidazole with either anaerobic or aerobic incubation, J. Infect. Dis. 132:587–591.

Rogers, P.A.C., Murphy, C.R., Rogers, A.W. and Gannon, B.J.(1983). Capillary patency and permeability in the endometrium surrounding the implanting rat blastocyst Int. J. Microcirc. Clin. Exp. 2: 241-249.

Ross, H. and Pawlina, W. (2006). Histology: a text and atlas. (5th ed.). Hagerstown, MD: Lippincott Williams & Wilkins. pp. 788.

Saitou, M.; Fujimoto, K.; Doi, Y.; Itoh, M., Fujimoto, T.; Furuse, M.; Takano, H.; Noda, T. and Sukita, S. (1998). Occludin-deficient embryonic stem cells can differentiate into polarized epithelial cells bearing tight junctions. J. Cell Biol. 141: 397-408.

Salehnia, M.; Arianmanesh, M. and Beigi, M. (2006). The impact of ovarian

stimulation on mouse endometrium: a morphometrical study. Iran. J. Rep. Med. 4, pp: 7-11.

Sara, S.M; Pauline, Yi. and Laura, T.G. (2012). "Endometrial Stem Cells and Reproduction," J. Obs. Gyn. Inter., V. 2012, 5 p.

Sati, L.; Y. Demir, A.; Sarikcioglu, L. and Demir, R. (2008). Arrangement of collagen fibers in human placental stem villi. J. Acta Histoch. 110 : 371–379.

Scott, M.A.; Liu, I.K.; Overstreet, J.W. and Enders, A.C. (2000). The structural morphology and epithelial association of spermatozoa at the uterotubal junction: a descriptive study of equine spermatozoa in situ using scanning electron microscopy. J. Rep. Fer. Suppl. :415-21.

Shankar, P.S. (2008). Clostridium Difficile Infection. J. Post. Med. Edu., Trai. Res. 6 III :23-29.

Sharkey, A.M. and Smith, S.K. (2003). The endometrium as a cause of implantation failure. Best Practice & Research. Clin. Obst. Gyn. 17 :289–307.

Singh, H. and Aplin, J.D. (2009). Adhesion molecules in endometrial epithelium: tissue integrity and embryo implantation. J. Anat. 215: 3–13.

Slayden, O.D. and Keater, C.S. (2007). Role of progesterone in nonhuman primate implantation. Sem. Rep. Med. 25: 418–430.

Snell, G.D. (1941). Biology of the laboratory mouse. Blakiston, Philadelphia. pp: 497-498.

Soares, M.J. (2004). The prolactin and growth hormone families: pregnancy-specific hormones/cytokines at the maternal–fetal interface. Rep. Biol. Endocrinol. 2:51-52.

Sobel, J.D. (2005). What's new in bacterial vaginosis and trichomoniasis? . Infect. Dis. Clin. North. Am. 19:387-406.

Spencer, T.E.; Johnson, G.A.; Bazer, F.W. and Burghardt, R.C. (2007). Fetal–maternal interactions during the establishment of pregnancy in ruminants. Soc. Rep. Fer. Suppl. 64: 379–396.

Spencer, T.E.; Ott, T.L.; Gertler, A.; Gootwine, E. and Bazer, F.W. (1999). Effects of recombinant ovine interferon τ, placental lactogen and growth hormone on the ovine uterus. J. Biol. Rep. 61:1409–1418.

Spencer, T.E. and Bazer, F.W. (2002). Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. J. Front. Biol. 7: 1879–1887.

Spencer, T.E**.;** Johnson, G.A.; Bazer, F.W. and Burghardt, R.C. (2004). Implantation mechanisms: insights from the sheep. Rep. 128:657-68.

Spencer, T.E.; Johnson, G.A.; Burghardt, R.C. and Bazer, F.W. (2004). Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. J. Biol. Rep. 71: 2–10.

Stetten, D. and Steedman, M. (1960). Glycogen metabolism. Physiol. Rev. 40:505.

Stratton, C.W.; Weeks, L.S. and Aldridge, K.E. (1992). Inhibitory and bactericidal activity of selected beta-lactam agents alone and in combination with beta-lactamase inhibitors compared with that of cefoxitin and metronidazole against cefoxitin-susceptible and cefoxitin-resistant isolates of the Bacteroides fragilis group. Diag. Microbiol. Infect. Dis. 15:321.

Sun, X.; Xie, H.; Yang, J.; Wang, H.; Bradshaw, H.B. and Dey, S.K. (2010). Endocannabinoid signaling directs differentiation of trophoblast cell lineages and placentation. Proc. Nat. Aca.Sci.USA. 28,107: 16887–16892.

Teicher, M.H.; Altesman, R.I.; Cole, J.O. and Schatzberg, A.F. (1987). Possible nephrotoxic interaction of lithium and metronidazole. J.A.M.A. 257: 3365-3366.

Templeton, R. (1976). Metabolism and pharmacokinetics of metronidazole: A Review. Excerpta. Medica., I.C.S. 438. Proceedings of the International Metronidazole Conference. Montreal. pp. 28-49.

Tocher, J.H. and Edwards, D.I. (1994). Evidence for the direct interaction on reduced metronidazole derivatives with DNA bases. Bioch. Pharmacol. 48:1089.

Tsukita, S. and Furuse, M. (2000). Pores in the wall: claudins constitute tight junction strands containing aqueous pores. J. Cell. Biol. 149: 13-16.

Tsukita, S., Furuse, M. and Itoh, M. (1999). Structural and signaling molecules come together at tight junctions. Curr. Opin. Cell. Biol. 11: 628-633.

Tung, H.N.; Parr, M.B. and Parr, E.L. (1986). The permeability of the primary decidual zone in the rat uterus: an ultra structural tracer and freeze fracture study. Biol. Rep. 35:1045–1058.

Vercruysse, L.; Caluwaerts, S.; Luyten, C. and Pijnenborg, R. (2006). Interstitial trophoblast invasion in the decidua and mesometrial triangle during the last third of pregnancy in the rat. Plac. 27: 22–33.

Waddell, B.J.; Hisheh, S.; Dharmarajan, A.M. and Burton, P.J. (2000). Apoptosis in rat placenta is zone-dependent and stimulated by

glucocorticoids. Biol Rep. 63: 1913–1917.

Wang, X.; Matsumoto, H.; Zhao, X.; Sanjoy, K.D. and Paria, B.C. (2004). Embryonic signals direct the formation of tight junctional permeability barrier in the decidualizing stroma during embryo implantation. J. Cell Sci. 117:53-62.

Welsh, A. and Enders, A.C. (1991). Chorioallantoic placenta formation in the rat: I Luminal epithelial cell death and the extracellular modifications in the mesometrial region of implantation chambers:Am.J.Anat. 192:215-31.

Whitley, G.S.J. and Cartwright, J.E. (2009). Trophoblast-mediated spiral artery remodelling: a role for apoptosis. J. Anat. 215(1): 21–26.

Whitley, G.S.J. and Cartwright, J.E. (2010). Cellular and Molecular Regulation of Spiral Artery Remodeling: Lessons from the Cardiovascular Field. Plac. 31: 465–474.

Wooding, P. and Burton, G. (2008). Comparative placentation. Structures, functions and evolution. Berlin, Springer-Verlag, pp. 320-365.

Yoshinaga, K. and Adams, C. E. (1966). Delayed implantation in the spayed progesterone treated adult mouse. J. Rep. Fert. 12: 593-595.

الملاحق

جدول ملحق ١ : تحليل التباين لتاثير التجريع بالميترونيدازول في مستوى هرمون الاسترادايول في إناث الجرذ النرويجي الحوامل *R.norvegicus*.

S.O.V.	D.F.	SS	MS	F cal.	F table
Between treatments	3	749.627	249.876	3.71	2.78
Period	1	118.701	118.701	1.76	4.02
Treat. x Per.	3	123.498	41.166	0.611	2.78
Error	56	3774.662	67.405		
Total	63	4766.489			

جدول ملحق 2 : تحليل التباين لتأثير التجريع بالميترونيدازول في مستوى هرمون البروجيستيرون في إناث الجرذ النرويجي الحوامل *R. norvegicus*.

S.O.V.	D.F.	SS	MS	F cal.	F table
Between treatments	3	1457.892	485.964	6.29	2.78
Period	1	774.300	774.300	10.02	4.02
Treat. x Per.	3	1339.099	496.340	6.42	2.78
Error	56	4329.139	77.31		
Total	63	7900.340			

جدول ملحق ٣: تحليل التباين لتاثير التجريع بالميترونيدازول في وزن رحم اناث الجرذ النرويجي الحوامل *R. norvegicus*.

S.O.V.	D.F.	SS	MS	F cal.	F table
Between treatments	3	0.05	0.017	2.13	2.78
Period	1	0.10	0.010	12.5	4.02
Treat. x Per.	3	0.03	0.010	1.25	2.78
Error	56	0.44	0.008		
Total	63	0.62			

جدول ملحق 4: تحليل التباين لتأثير التجريع بالميترونيدازول في حجم رحم إناث الجرذ النرويجي الحوامل *R. norvegicus*.

S.O.V.	D.F.	SS	MS	F cal.	F table
Between treatments	3	3.453	1.150	0.77	2.78
Period	1	6.890	6.891	4.62	4.02
Treat. x Per.	3	1.390	0.464	0.31	2.78
Error	56	83.625	1.493		
Total	63	95.359			

جدول ملحق 5: تحليل التباين لتأثير التجريع بالميترونيدازول في قطر الرحم في إناث الجرذ النرويجي الحوامل *R. norvegicus*.

S.O.V.	D.F.	SS	MS	F cal.	F table
Between treatments	3	1.983	0.661	0.95	2.78
Period	1	30.802	30.803	44.38	4.02
Treat. x Per.	3	1.276	0.425	0.61	2.78
Error	56	38.847	0.694		
Total	63	72.909			

جدول ملحق 6: تحليل التباين لتأثير التجريع بالميترونيدازول في عدد الأجنة في إناث الجرذ النرويجي الحوامل *R. norvegicus*.

S.O.V.	D.F.	SS	MS	F cal.	F table
Between treatments	3	80.562	26.854	4.16	2.78
Period	1	1.000	1.000	0.15	4.02
Treat. x Per.	3	0.875	0.292	0.05	2.78
Error	56	361.500	6.455		
Total	63	443.937			

جدول ملحق -٧ : نسب مكونات العليقة المقدمة لحيوانات التجربة.

اسم المادة	النسبة المئوية
حنطة	٢٠
شعير	٣٥
ذرة	٢٠
فول الصويا	١٥
بروتين نباتي	٨.٥
ملح طعام	٠.٥
حجر الكلس مطحون	١.٠

ملحق ٨ : تحضير ملون هيماتوكسيلين هارس Harris' Hematoxylin :

حضّر الملون بإذابة الهيماتوكسيلين بالكحول وأذيب الشب بالماء بدرجة حرارة تسخين معتدلة ، خلط المحلولان سوية وسخنا لغاية الغليان بسرعة ثم ابعد عن النار ببطيء وأضيف إليه اوكسيد الزئبق باعتناء شديد فتحول لون المحلول إلى البنفسجي الغامق وسخن ثانية بلطف لحين وصوله لدرجة الغليان وبقي يغلى لمدة خمس دقائق، وضع الإناء الحاوي على الملون في الماء البارد ليبرد بسرعة. ثم قبل الاستعمال أضيف إلى الملون حامض ألخليك الثلجي Glacial acetic acid ٣ مل لكل ٩٧ مل لتحسين تلوين النواة (Ross and Pawlina, 2006) مع ملاحظة ترشيح Filtration الملون قبل الاستعمال بورق الترشيح الخشن.

ملحق ٩ : تحضير ملون ايوسين Eosin Y :

حضر بإذابة ١ غم من الملون في ١٠٠٠ مل كحول اثيلي ٧٠% ثم أضيف إليها ٥ مل من حامض ألخليك الثلجي Glacial acetic acid.

ملحق ١٠ : تحضير صبغة Periodic Acid Schiff's stain (PAS):

حضر الملون كما يلي: أضيف Basic fuchsine الى ماء بدرجة الغليان ودوّر على جهاز الدوار المغناطيسي الكهربائي Magnetic stirrer لحين الذوبان التام. برد المحلول لدرجة ٥٠ ºم وأضيف اليه Sodium metabisulfite ($Na_2S_2O_5$). صب المحلول في قنينة غامقة محكمة الغلق ووضعت في الثلاجة لمدة ٢٤ ساعة. تلون المحلول بلون بني فاتح الى اصفر. أضيف الى المحلول مسحوق الفحم Charcoal- بعد تنشيطه بالتسخين عند درجة حرارة ٦٠ºم بالفرن الكهربائي لمدة نصف ساعة - ورجّ جيدا لمرات عدة خلال مدة ربع ساعة ثم رشّح باستعمال ورقة ترشيح نوع Whatman 2 وتطلب الترشيح إبدال ورق الترشيح لمرات عدة في دورق زجاجي مغلّف بورق اسود وخزّن بالثلاجة عند حرارة ٤-٨ºم لحين الاستعمال . علما أن المحلول النهائي عديم اللون تماما. وقد اتخذت الاحتياطات اللازمة لعدم تماس مكونات الملون خاصة Basic fuchsine مع الأيدي بلبس الكفوف المطاطية كونها مواد كاوية مخدشة ومسرطنة.

محلول Sulfurous acid وحضر كما يلي:

- ٦ مل محلول ١٠ % Sodium metabisulfite
- ٥ مل Normal Hydrochloric acid (١.٧ مل HCl مع ٢٠ مل ماء مقطر والناتج هو 1N HCl.

ملحق ١١ : طريقة تحضير ملون Gomori's One-Step Trichrome Stain:

- أذيبت مكونات الملون بالترتيب بالماء المقطر.
- ثم أضيف إليها حامض الهيدروكلوريك HCl.
- ترك ليركد لمدة ٢٤ ساعة بالثلاجة عند درجة ٤ °م قبل الاستخدام.
- لم يتم ترشيحه قبل الاستخدام.

SUMMARY

The aim of the present study was to demonstrate the possible effect of the commercial Metronidazole MTZ (Flagyl®) on the implantation of embryo in the pregnant rat's uterus (*Rattus norvegicus).*The days 7 and 9 days post coitum were chosen as representative days for early pregnancy. For that purpose, 64 female rats were selected for the present experiment. All the experimental rats were given oral daily different dosage of the drug, which include: 9mg\200 gm body weight (BW); double that dosage (18mg\200 gm BW); and triple the first dose (27 mg\200 gm BW) for seven days and nine days respectively. The former two days were taken as the base upon in which the results of the present work were depicted.

The histological and physiological results of the present work was clearly shown that the implantation of Blastocyst has occurred in the antimesometrial side of endometrium and at 7dpc most of its will modified to Decidual tissue as in all types of placentation. The anti mesometrial decidual tissue was divided in the present work into primary decidual zone, secondary decidual zone, implantation zone, and undifferentiated decidual zone. The uterine glands were noticed to be affected by process of implantation; they have enlarged in size and have become more tortuous. It was clearly shown that primary decidual tissue was devoid of collagen fibers while the secondary decidual tissues were having spars fibers. Most of the fibers were concentrated mainly in the mesometrial decidual tissue at day 9 dpc and exactly alongside the spiral arteries which supply the placenta with maternal blood. Another prominent observation of the present work was the migrating trophoblast cells from the embryo to mother.

The results statically revealed that taking treatment and double dose MTZ for 7 dpc group cause decrease the level value of Estradiol hormone in blood serum but this decrease was not significant $p>0.05$ but it was significant $p<0.05$ at the triple dose .This result was confirmed by the

correlation factor (r) between MTZ and Estradiol hormone which was not significant $p>0.05$ inversely for 7dpc and significant $p<0.05$ for 9 dpc, and for Progesterone was cause significant $p<0.05$ decrease the value of blood serum level, the correlation factor (r) between MTZ and Progesterone hormone was significant $p<0.05$ inversely. The effect of the three doses of MTZ on uterine size revealed no significant effect $p>0.05$, but there was significant effect $p>0.05$ of pregnant period on the size, the correlation factor (r) was right in 7dpc and reverse un significant $p>0.05$ for 9dpc, and for the effect of MTZ on the diameter of uterus for 7 and 9dpc revealed no significant effect $p>0.05$ for the three dosages and there was significant differences between the treatments. There was no significant $p>0.05$ decrease in the numbers of embryos at the three dosages, and the correlation factor (r) was inversely and there was no significant differences $p<0.05$ between the treatments. The results revealed to significant $p<0.05$ right correlation between progesterone and uterine size, weight, and number of fetuses.

The histological results of the present work together with the analysis of the results statistically were in favor of considering that there was no harmful effect of the drug MTZ on the process of implantation on days 7 and 9dpc.

Ministry of Higher Education & Scientific Research

University of Kerbela

College of Education for pure sciences

Department of Biology

EFFECT OF (FLAGYL®) METRONIDAZOLE ON THE IMPLANTATION OF EMBRYOS IN THE UTERUS OF NORWEGIAN RAT *Rattus norvegicus*

A Thesis Submitted to the College of Education for Pure Sciences - Kerbela University as a Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master

in Biology- Zoology

By

KAHDEM MADJEED HADDAO

(B.V. M. & S. -1978)

Supervised by

Assistant Professor **Assistant Professor**

Hussain Ali Abdul Lateef **Dr. Akram Yousif Yasear**

2011 *A.D.* **-** **1432 *A.H.***