دراسة بعض جوانب الكفاءة التناسلية في الأرانب المعالجة بالهيدروكورتيزون

جواد كاظم العراك
كلية الطب البيطري-جامعة بغداد

الخلاصة

بهدف معرفة بعض التغيرات الوظيفية – التركيبية والكيمياء حيوية ذات علاقة بالكفاءة التناسلية والتي من الممكن أن تطرأ نتيجة لإستعمال مركب الهيدروكورتيزون كأحد المركبات القشرانية السكرية . أستخدم (12) من ذكور الأرانب البالغة ، وزعت عشوائياً إلى مجموعتين متساويتين مجموعة السيطرة ومجموعة المعالجة .
خلال فترة ما قبل المعالجة (5 أيام) تم جمع نماذج دموية للحصول على بلازما الدم من جميع الأرانب بين يوم وآخر ، خلال فترة المعالجة والبالغة (14 يوماً) تم حقن كل أرنب من مجموعة المعالجة بـ 20 ملغم/كغم من وزن الجسم من عقار الهيدروكورتيزون بالعضل يومياً بينما حقنت مجموعة السيطرة بالحجم نفسه من المحلول الملحي الطبيعي . أستمر جمع نماذج الدم بين يوم وآخر ولغاية مرور 48 ساعة على آخر حقنة . تمت التضحية بالحيوانات بعد الحصول على ، آخر نموذج دم وتم الحصول على مقاطع نسيجية من الخصى لدراسة الصفة التركيبية – الوظيفية .
أستخدمت نماذج بلازما الدم لقياس تركيز الهورمون الذكري (التستوستيرون) و هورمون محفز الخلايا البينية (ICSH) .
أظهر التحليل الإحصائي لمعدلات تراكيز هورمون التستوستيرون في بلازما الدم تسبب العقار بإنخفاض معنوي ($P<0.05$) مقارنة بمجموعة السيطرة أما تراكيز الهورمون المحفز للخلايا البينية في بلازما دم مجموعة المعالجة فلم تختلف معنوياً عن ما يقابلها من تراكيز في مجموعة السيطرة .
أن الصفة التركيبية – الوظيفية لخصى الأرانب في مجموعة المعالجة تميزت بحصول تغيرات هدمية في مواقع متفرقة من بطانة بعض النبيبات المنوية وانخفاض نسبي في عدد الخلايا البينية مع صغر أنويتها وتجمع مادتها الكروماتينية مشيرة إلى حصول تعطل جزئي في عملية تكوين الحيامن وتخليق الهورمونات الذكرية .
أن النتائج التي تم الحصول عليها قد أوضحت أن للهيدروكورتيزون تأثيراً فعالا على محور النخامية – قشرة الكظرية للأرانب عند استعماله بالجرعة وطريقة الحقن وفترة المعالجة المحددة .

المقدمة

تميزت هورمونات قشرة الغدد الكظرية بالأهتمام الواسع من قبل الباحثين والعاملين في ميادين الطب والصيدلة ومنذ وقت بعيد خاصة القشرانيات السكرية (Glucocorticoids) لما تحدثه من تغيرات في التفاعلات الأيضية الكاربوهيدرات والدهون والبروتينات ولفعاليتها المضادة للألتهابات (1) إضافة إلى إستخدامها لمعالجة الكثير من الإنحرافات الوظيفية للعديد من أعضاء جسم الإنسان أو الحيوان مثل التهابات

الجلد والأكزيما (2) والتهابات العيون (3) وغيرها . أن عقار الهيدروكورتيزون من القشرانيات السكرية شائعة الأستعمال إلا إن هناك العديد من التأثيرات الجانبية غير المرغوبة المرافقة لإستخدامه مثل حالات الإجهاض في الحيوانات المختبرية والحلقية وتغيرات في الصفات التركيبية – الوظيفية للمبايض والخصى (4،5) تم تصميم هذه الدراسة لتقويم الهيدروكورتيزون من خلال بعض التغيرات التركيبية – الوظيفية والكيمياء حيوية التي تصاحب استعماله بجرعات علاجية ولفترة مناسبة في الأرانب .

المواد وطرق العمل

حيوانات التجربة :

أستخدم في هذه الدراسة (12) من ذكور الأرانب النيوزلندية البيضاء تراوحت أعمارها بين (8-12) شهراً و أوزانها بين (1،5 – 3)كغم ، قدّم لها الماء والعلف الأخضر والمركز يومياً طيلة فترة التجربة .

تصميم التجربة :

وزعت الحيوانات عشوائياً إلى مجموعتين متساويتين :

أ- مجموعة السيطرة .

ب- مجموعة المعالجة .

أخضعت الأرانب إلى فترة ما قبل المعالجة (5 أيام) جمعت فيها نماذج دموية في اليوم الأول والثالث والخامس عن طريق الوريد الأذني وتم عزل البلازما بواسطة جهاز الطرد المركزي المبرد (Refrigerated centrifuge , Hettich, K25) حيث نقلت إلى أنابيب فارغة نظيفة و حفظت بدرجة (16-) منوية لحين الإستخدام في اليوم الأخير من فترة ما قبل المعالجة بدأت فترة المعالجة البالغة (14 يوما) وذلك بالحقن اليومي العضلي بـ (20 ملغم /كغم من وزن الجسم) هايدروكورتيزون Hydrocortisone-upjoin لكل أرنب من مجموعة المعالجة في حين حقنت أرانب مجموعة السيطرة بالحجم نفسه من المحلول الملحي الطبيعي . خلال فترة المعالجة تم تطبيق نفس الفقرات المتبعة في فترة ما قبل العلاج في ما يخص نظام جمع نماذج الدم ولغاية مرور (48 ساعة) على آخر حقنة بعد الأنتهاء من جمع نماذج الدم تم قتل الحيوانات عن طريق التخدير بالكلوروفورم حتى الموت وتم الحصول على نماذج من الخصى وضعت في محلول مثبت لتحضير شرائح نسيجية مصبوغة منها لدراسة التغيرات التركيبية – الوظيفية في عملية تخليق الحيامن والتغيرات في الخلايا البينية.

تم قياس تركيز هورمون التستوستيرون والمحفز للخلايا البينية في بلازما الدم بطريقة التحليل المناعي الإشعاعي (RIA) في مختبر الوفاء في بغداد وفق خطوات وصفتها شركة (CIS) الفرنسية المنتجة للعدّد (Kits) الخاصة بالقياس وتم احتساب عدد نبضات أشعة كاما في الدقيقة الواحدة (Counts / minuts, C.P.M.) لجميع أنابيب القياس بواسطة عداد كاما و المرتبط بحاسبة إلكترونية (1260 Multi Gamma Counter , LKB, Wallac, Finland – with Tele Type printer, Model 43) .

أخضعت معدلات تراكيز الهورمونات في بلازما الدم للتحليل الإحصائي باستخدام اختبار – T لتحديد الفروق المعنوية وبمستوى (5%) بين مجموعتي السيطرة و المعالجة .

النتائج

قياس تراكيز الهورمونات في بلازما الدم .

1- هورمون التستوستيرون :

كانت معدلات تراكيز هورمون التستوستيرون (نانوغرام/مليلتر من بلازما الدم)لأرانب مجموعتي السيطرة والمعالجة مقاربة لبعضها البعض خلال فترة ما قبل المعالجة (جدول رقم 1) فيما أخذت معدلات التراكيز لمجموعة المعالجة بالإنخفاض بصورة واضحة ومعنوية (احتمال الخطأ اقل من 5%) في نماذج الدم التي جمعت بعد المباشرة بالمعالجة (بعد مرور 48 ساعة من حقن الهيدروكورتيزون) حيث بلغت ما بين (0.50 ± 1.14) و (1.86 ± 0.69) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة حيث كانت ما بين (2.29 ± 1.64) و (4.60 ± 3.23) .

2- هورمون محفز الخلايا البينية :

أظهر التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين معدلات تراكيز الهورمون لمجموعتي السيطرة والمعالجة خلال مرحلة ما قبل المعالجة . لم يتسبب حقن الهيدروكورتيزون (فترة المعالجة) بأية تغيرات معنويةبين معدلات تركيز الهورمون في مجموعة المعالجة مع ما يقابلها في حيوانات السيطرة حيث تراوحت التراكيز بين (1.07 ± 0.15) و (1.29 ± 0.19) لمجموعة السيطرة وبين (1.02 ± 0.34) و (1.28 ± 0.16) لمجموعة المعالجة (جدول رقم 2) .

الصفة التركيبية – الوظيفية للخصى :

أظهر الفحص المجهري للشرائح النسيجية المصبوغة لمجموعة المعالجة حصول تغيرات هدمية في مواقع عديدة في بطانة النبيبات المنوية مع احتفاظها بصفة تركيبية – وظيفية طبيعية كما كانت هناك خلايا جرثومية منسلخة في تجاويف النبيبات المنوية مع طلائع عملاقة (Spermatid Gaint cells) كما لوحظ اختلاف في مظهر الخلايا الجرثومية المبطنة مع تبدل في مواقعها .أما الخلايا البينية فقد لوحظ انخفاض نسبي في عددها مع صغر النوى وتجمع المادة الكروماتينية في نوى بعضها ، إضافة إلى زيادة النسج الضام المحيط بالنبيبات المنوية نتيجة لحقن الأرانب بالهيدروكورتيزون (صورة رقم 2،3) .

جدول رقم (1) معدلات تركيز التستوستيرون (نانوغرام/مليلتر) للأرانب المعالجة بالهيدروكورتيزون .

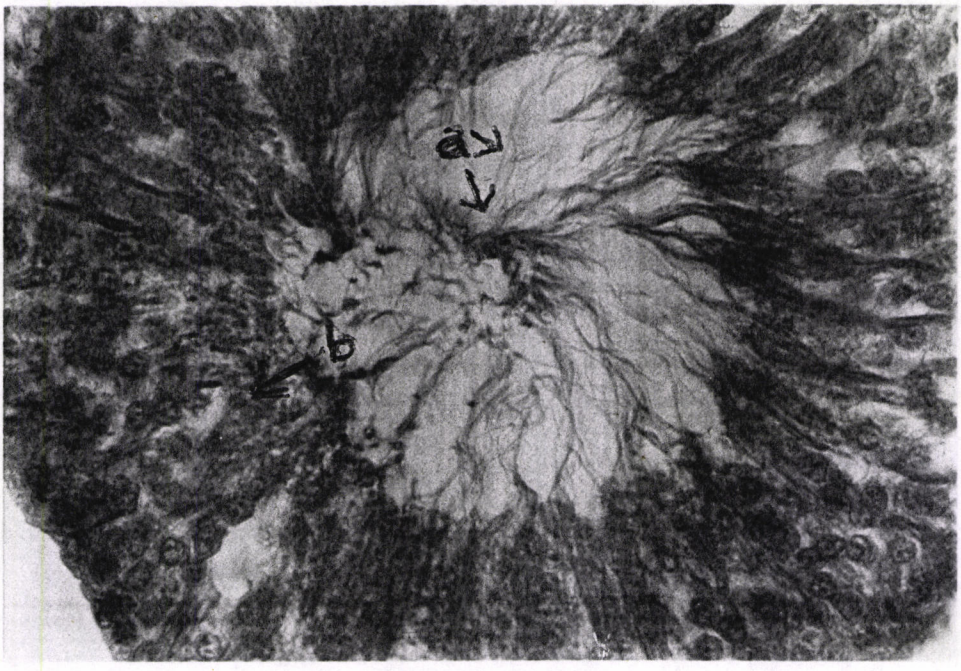
المجاميع	فترة التجربة (يوم)									
	مرحلة قبل العلاج			مرحلة العلاج						
	1	3	5_a	7	9	11	13	15	19_b	21
مجموعة السيطرة	4.12 ± 3.17	4.76 ± 1.81	3.63 ± 2.79	2.91 ± 2.14	2.29 ± 1.64	3.61 ± 1.80	3.77 ± 4.23	2.91 ± 2.14	4.01 ± 2.44	3.73 ± 1.12
مجموعة المعالجة	4.97 ± 2.95	3.63 ± 2.79	3.87 ± 2.87	0.79 ± 0.69	0.50 ± 1.14	1.73 ± 1.72	1.86 ± 0.69	0.88 ± 1.00	1.52 ± 1.48	1.53 ± 1.00

- الأرقام تمثل المعدلات - ± الإنحراف القياسي (M ± S.D.) .
- * توجد فروق معنوية بين المعدلات (احتمال الخطأ اقل من 5%) .
- a المباشرة بحقن الهيدروكورتيزون .
- b آخر حقنة بالهيدروكورتيزون .

جدول رقم (2) معدلات تركيز هورمون محفز الخلايا البينية (miu / ml) للأرانب المعالجة بالهيدروكورتيزون .

المجاميع	فترة التجربة (يوم)									
	مرحلة قبل العلاج			مرحلة العلاج						
	1	3	5a	7	9	11	13	15	19b	21
مجموعة السيطرة	1.16 ± 0.12	1.43 ± 0.07	1.40 ± 0.18	1.25 ± 0.09	1.15 ± 0.11	1.07 ± 0.15	1.13 ± 0.12	1.20 ± 0.11	1.29 ± 0.19	1.25 ± 0.09
مجموعة المعالجة	1.24 ± 0.16	1.38 ± 0.17	1.09 ± 0.12	1.02 ± 0.34	1.07 ± 0.14	1.13 ± 0.18	1.04 ± 0.11	1.15 ± 0.11	1.28 ± 0.16	1.03 ± 0.10

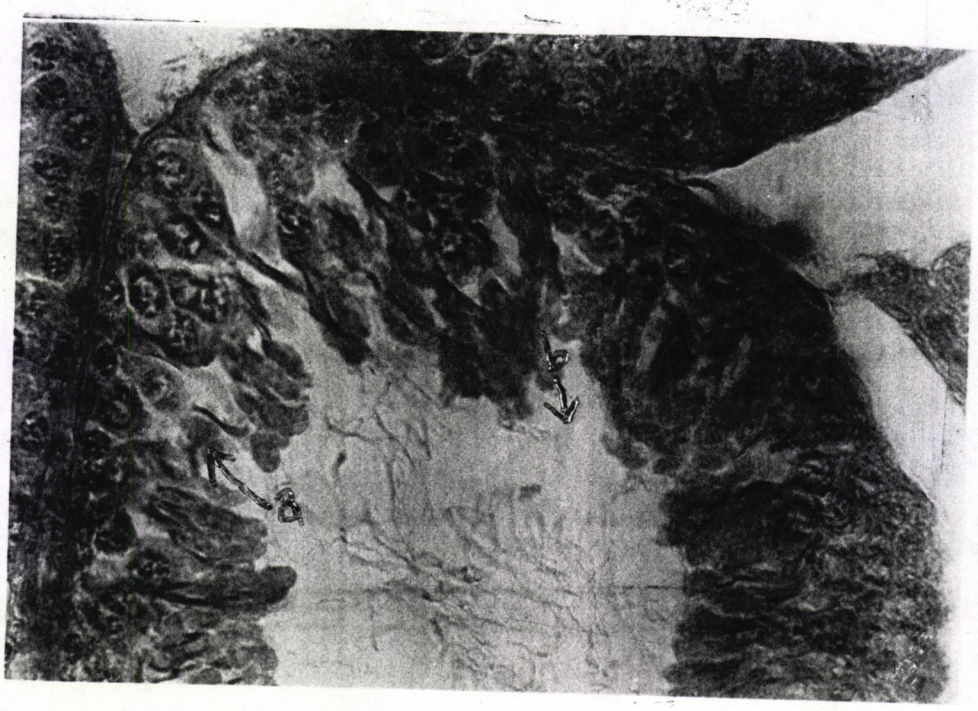
- الأرقام تمثل المعدلات - ± الإنحراف القياسي (M± S.D.) .
- a المباشرة بحقن الهيدروكورتيزون .
- b آخر حقنة بالهيدروكورتيزون .



صورة رقم (1) : مقطع في خصية أرنب من مجموعة السيطرة يلاحظ فيه انتظام الطبقات الجرثومية المبطنة للنبيب المنوي مع وجود النطف فيه . (هيماتوكسلين – آيوسين X 132) .

a - تجويف النبيب المنوي ووجود النطف فيه .

b– الطبقات الجرثومية المبطنة للنبيب المنوي .



صورة رقم (2) :- مقطع في خصية أرنب من مجموعة المعالجة يلاحظ فيه a . وجود تغيرات هدمية في الخلايا المبطنة للنبيب المنوي b . عدم وجود النطف في تجويفه .
(هيماتوكسلين – آيوسين X 132) .

صورة رقم (3) : مقطع في خصية أرنب من مجموعة المعالجة تلاحظ فيه الفضلات الخلوية من تجاويف النبيبات المنوية بضمنها طلائع منوية عملاقة مع تغيرات هدمية في الخلايا البينية و زيادة في النسيج الضام المحيط بالنبيبات .
(هيماتوكسلين – آيوسين X 132)
a - الفضلات الخلوية .
b– تغيرات هدمية .

المناقشة

1- هورمون التستوستيرون :

أن انخفاض مستوى هورمون التستوستيرون في بلازما الدم نتيجة لحقن الأرانب بعقار الهيدروكورتيزون قد يرجع إلى فعل العقار المباشر على أنسجة الخصى مؤدياً إلى تثبيط بعض مراحل تخليق الهورمونات الستيرويدية في الخلايا البينية والى خفض عدد المستقبلات التي يتحد معها الهورمون والمتواجدة على السطح الخارجي لغشاء الخلايا البينية (6) وهذا ما تمت ملاحظته من قبل (7) كما أنه من الممكن أن يعمل الهيدروكورتيزون على تقليل استهلاك أنسجة الخصى لسكر العنب وبالتالي إلى انخفاض معدلات تخليق مركب (NADPH) الضروري لعملية تخليق الهورمونات الستيرودية (8) . وهناك الكثير من الدراسات التي تؤكد وجود تأثير مباشر للقشرانيات السكرية على عملية تخليق التستوستيرون في الخصى (6) .

2- الهورمون المحفز للخلايا البينية :

أن نتائج التجربة الحالية قد جاءت باتجاه تعطيل العلاقة الإسترجاعية السالبة بين هورمون التستوستيرون الذي تخلفه وتفرزه الخصى وبين الهورمون المحفز للخلايا البينية الذي تخلقه وتفرزه النخامية نتيجة لحقن الأرانب بالهيدروكورتيزون .

أن استمرار معدلات إفراز الهورمون المحفز للخلايا البينية ضمن الحدود الطبيعية أدت إلى إعاقة استجابة الغدة النخامية المتوقعة نتيجة للتغيرات في تراكيز التستوستيرون وهذا ما أشار أليه (9،10) في دراسة على الجرذان والإنسان حيث أشاروا إلى أن المعالجة بالقشرانيات السكرية لم يحدث تغيرات ملموسة في تراكيز الهورمون المحفز للخلايا البينية .

3- الصفة التركيبية – الوظيفية للخصى :

أن التغيرات التركيبية في الخصى نتيجة المعالجة بالهيدروكورتيزون تشير إلى تعطل جزئي في وظيفة الخصى الرئيسية (تكوين الحيامن وتخليق الخلايا الذكرية) ، حيث أشير إلى تغيرات هدمية في الخلايا الجرثومية المبطنة للنبيبات المنوية لخصى الجرذان والفئران عند حقنها بالكورتيزون (11) كما لوحظ انخفاض بعض صفات السائل المنوي للأكباش المعالجة بجرع علاجية للديكساميثازون (12) إن انخفاض مستويات التستوستيرون خلال فترة المعالجة تعزز بالتغيرات التي لوحظت على الخلايا البينية في مقاطع خصى حيوانات مجموعة المعالجة كما إن التغيرات التركيبية – الوظيفية يمكن أن تشير إلى التأثير المباشر للهيدروكورتيزون على الخصى (13) .

References

1- Harper , H.A. and Grodsky , G.M. (1975) . The chemistry and function of the hormone , In: Harper, H.A. (Ed) . Review of physiological chemistry . 15th ed . Lang medical publications librairie du Liban .

2- Scott, D.W. (1980) . Feline dermatology 1900-1978 : Amonograph . J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 16:331-332 .

3- Brightman, A.H. (1982) . Opthalmicuse of glucocorticoid . The Vet. Clinics of North America Small Animal practics , 12: 33-39 .

4- Robson, J. and Sharaf , A. (1952) . Effect of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and cortisol on pregnancy . J. physiology . , 116 : 236-243 .

5- Jackson, P.G.G. (1979) . Dystocia in heifers following induction of parturition using corticosteroids . Vet. Rec. 104 : 75 . (Bet. Bull . , 49, 1979, Abst. No . 4848

6- Catt , K.J. ; Tsuruhara, T.; Mendelson, C.; Ketelslegers , J.M. and Dufan, M.L. (1974) . Gonadotrophin binding and activation of interstitial cells of the testes. Curr. Top. Melec . Endocrinol , 1: 1-30 . Cited by Franchimount , 1983) .

7- Ambine , T.H. and Hsueh , A.J.W. (1981) . Direct inhibititory effect of glucocorticoids upon testicular LH receptor and steriodogensis in vivo and vitro. Endocrinol ., 108: 2142-2148 .

8- Desjardins , C. and Ewing, L.L. (1971) . Testicular metabolism in a drenalectomized and corticosterone treated rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 137: 578-583.

9- Vergans, H.L. and Eik-Nes, K.B. (1975) . Hypothalmic pituitary – testicular system and adrenocortical function . Acta endocrinol , 81: 198-207 .

10- Doerr, P. and Pirke, M. (1976) . Cortisol – induced suppression of plasma testosterone in normal adult males. J. clin. Endocrinol Metab ., 4: 622-629 .

11- Albert, A. (1961) . The mammalian testis in : Young , W.C. sex and internal secretions . Third edition Vol. 1. The William and Wilkins Co .

12- Mehdi, A.W.R.; Al- Jiboori , N.A.; Al- Shathier, N.M. and Injidi , M. (1980) . Effect of a synthetic glucocorticoid on sexual behaviour and semon characteristics of ram . The 146th National meeting of the American Association for the Advancement of science .

13- Hanson , V.; Weddinton , S.C.; French , F.S.; Mclean, W.; Smith , A.; Nayfeh, S.N.; Ritzen, R.M. and Hagenas, L. (1997) . Secretion and role of androgen – binding proteins in the testis and epididiymes . J. Reprod. Fertil., Suppl. 24: 17-33 .

Astudy of some aspects of reproductive Performance in rabbits treated with Hydrocortisone

J.K. Al- Ar rak
College of veterinary medicine, university of Baghdad

Summary

This experiment was carried out to study the changes in some of the structural – functional and biochemical aspects that are related to reproductive performance as a result of using glncocorticoid – hydrocortisone .

Twelve adult male rabbit were divided into two equal groups : control and treatment . During pretreatment period (Five days) blood samples were collected from all animals on every other days . During the treatment period (14) days each animal of the treatment group was injected daily , intramuscularly with hydrocortisone . Rabbit of the control group were injected with the same dose of normal physiological saline . Blood samples were collected as described above until (48) hours after last injection . All animals were scarified and samples from testicular tissue were taken to study structural – functional aspect .

Statistical analysis showed significant ($P < 0.05$) decrease in plasma testosterone of hydrocortisone treated rabbits , plasma levels of ICSH of both treatment and control groups of rabbits were parallel to each other ($P< 0.05$) .