دراسة تأثير عقار الفولتارين على الخصوبة في ذكور خنازير غينيا

أسيل نجاح صبر
مدرس مساعد /كلية التربية/ جامعة القادسية

الخلاصة Abstract

هدفت الدراسة الحالية إلى معرفة تأثير عقار الفولتارين بجرعة (3.15) ملغم / كغم من وزن الجسم على وزن الخصى وغدة البروستات والنسب المئوية للنطف الحية والنطف الميتة وأقطار النبيبات المنوية في ذكور خنازير غينيا ، وقد بينت النتائج حدوث ارتفاع معنوي في أوزان الخصى وغدة البروستات وانخفاض معنوي في النسبة المئوية للنطف الحية وأقطار النبيبات المنوية ،وزيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف الميتة إضافة إلى حدوث انسلاخ في الخلايا الظهارية وخلايا سرتولي ،وحدوث انكماش في النبيبات المنوية للخصية .

المقدمة introduction

يعد الفولتارين Voltarine من الأدوية غير الستيرويدية المضادة للالتهاب (NSAID) التي تعمل على تسكين ومنع حدوث الالتهاب وتخفيض الحرارة و تستعمل بكثرة في علاج الأمراض المزمنة ، (Jurgen ,2000) .ورغم الفوائد العلاجية لهذه الأدوية إلا أنها تسبب بعض الآثار الجانبية حيث تزيد هذه الأدوية من قابلية حدوث القرحة في المعدة وتحطم بطانة القناة الهضمية وحدوث النزف (Fries *et al*.,1998).

يستعمل الفولتارين لمعالجة التهاب المفاصل الروماتيزمي والالتهاب المفصلي العظمي ، كما يستعمل بشكل محلول لعلاج التهابات العين مثل التهاب الملتحمة و القرنية و تقرح القرنية، (Gillis,1998) . تقوم آلية عمل الفولتارين على تثبيط صنع البروستاكلاندينات من خلال تثبيط إنزيم السايكلواوكسيجينيز - 1 حيث يعمل على خفض إنتاج المواد الأولية لتصنيع البروستاكلاندينات من حامض الاراشيدونك (Krogh ,1991) .

البروستاكلاندينات مجموعة من الحوامض الكاربوكسيلية غير المشبعة التي تحوي على (20) ذرة كاربون مع حلقة خماسية ،(Hamberg and Samuelsson, 1965). ويمكن اعتبارها هورمونات موضعية تنتشر على نطاق واسع في أنسجة وسوائل جسم الإنسان والحيوان وتؤثر في العديد من الاليات الخلوية ،ومن انواعها F1,F2,E1,E2,E3 .

(Bergstrom and Samuelson ,1968)

تفرز البروستاكلاندينات في الذكور في السائل المنوي ، حيث تعد الانبورة Ampulla والحويصلات المنوية المصدر الرئيس لها، وتلعب دور هام في تحفيز الغدد الجنسية الذكرية اللاحقة ، عملية تكوين النطف Spermatogenesis ، وإفراز هورمون الاندروجين ،(Berndtson *et al*.,1979) ، كما أنها تتوسط بشكل طبيعي في إفراز هورمونات النخامية الأمامية كالهورمون المحفز للخلايا البينية (ICSH) والهورمون المحفز للجريب (FSH) والبرولاكتين Prolactin .

(Ranter *et al*.,1974;Sato *et al*.,1974;Kisser *et al*.,1978)

ولهذه الهورمونات علاقة مباشرة بعملية تكوين النطف.

وقد أشار (Jones *et al*.,1976) إلى أن حقن البروستاكلاندين F1 في الأرانب يؤدي إلى تحفيز وإفراز الهورمون المحفز للخلايا البينية (ICSH) الذي يعمل على زيادة تحرير هورمون الشحمون الخصوي Testosterone .

هدفت الدراسة الحالية إلى معرفة تأثير عقار الفولتارين على بعض عوامل الخصوبة في ذكور خنازير غينيا لما لهذا العقار من استعمال طبي واسع وتأثيرات جانبية سلبية.

المواد وطرائق العمل *Materials and Methods*

استخدم في هذه الدراسة (16) ذكرا من خنازير غينيا (*Cavia procellus*) باعمار بالغة تراوحت ما بين (70-100)يوم حسب ما اشار الباحث (Collins,1972)، وباوزان تراوحت ما بين (500- 750)غم حيث وضعت الحيوانات في اقفاص بلاستيكية بابعاد (35*15 50*) سم ،فرشت ارضيتها بنشارة الخشب وتمت تغذيتها الى حد الاكتفاء*ad libitum*، طيلة فترة التجربة البالغة (70) يوم .
قسمت الحيوانات بشكل عشوائي إلى مجموعتين :-
المجموعة الأولى :- تمثل مجموعة السيطرة، وجرعت فمويا بماء الشرب العادي طيلة فترة التجربة.

المجموعة الثانية :- تمثل المجموعة التي جرعت فمويا بالفولتارين بجرعة(3.15) ملغم / كغم من وزن الجسم ،لمدة (70) يوم والذي تم تحضيره بإذابة مسحوق الفولتارين (25) ملغم في (10) مل من الماء المقطر ، (Cannon *et al.*,2000)
وزنت جميع الحيوانات قبل البدء وبعد الانتهاء من التجريع ،قتلت الحيوانات بعد انتهاء مدة التجريع باستخدام جرع عالية من الايثر، وأحدثت فتحة في كيس الصفن وادخل خلالها المقص واستمر القطع عبر المنطقة الاربية حيث تم فصل البربخ الأيمن والبربخ الأيسر كما تم فصل غدة البروستات،وقد تم وزن الخصيتين اليمنى واليسرى وغدة البروستات باستخدام الميزان الحساس (Sartorius) ، حفظت الخصى بعد ذلك في محلول بوين لمدة (12) ساعة ثم حفظت في محلول الفورمالين حيث خضعت نماذج الخصى لخطوات تحضير المقاطع النسجية (Vacca,1986) .

فحصت شرائح المقاطع النسجية بالمجهر الضوئي لملاحظة التغيرات النسجية التي قد أحدثها الفولتارين في التركيب النسيجي للخصية ، كما تم قياس أقطار النبيبات المنوية باستخدام
المقياس العيني المتري الدقيق Ocular micrometer.
جرى حساب النسبة المئوية للنطف الحية والنطف الميتة وذلك بقطع ذيل البربخ في طبق بتري حاوي على (2) مل من المحلول الملحي الفسلجي تركيز(0.9%) ،ثم أخذت قطرة من المحلول ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة وأضيف إليها قطرة من صبغة الايوسين – نكروسين ثم خلطت القطرتان على الشريحة برفق بواسطة شريحة أخرى ،ثم اخذ بطرف الشريحة الثانية جزء من الخليط وسحب بزاوية حادة على الشريحة الأولى ووضعت الشرائح المستخدمة بعد جفافها في الحاضنة بدرجة (37) درجة مئوية وبعد جفافها تم فحصها بالعدسة الزيتية ,(السعدي ،1989)،وتم حساب النسبة المئوية للنطف الحية(التي لم تأخذ الصبغة) والنسبة المئوية للنطف الميتة (التي أخذت الصبغة) في (100) نطفة من كل شريحة.

التحليل الإحصائي :- تم استخدام اختبار (T-test) لمقارنة معدلات أوزان الخصى وغدة البروستات والنسبة المئوية للنطف الحية والنسب المئوية للنطف الميتة وأقطار النبيبات المنوية بين مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بالفولتارين ، عند مستوى احتمال $P < 0.05$.

(Schefler, 1980)

النتائج *Results*

بينت نتائج معاملة ذكور خنازير غينيا بالفولتارين بجرعة(3.15) ملغم / كغم من وزن الجسم لمدة (70)يوم ، حدوث ارتفاع معنوي بمستوى احتمال ($P < 0.05$) في أوزان الخصى و أوزان غدة البروستات بالمقارنة مع أوزان كل منها لمجموعة السيطرة ،(الجدول 1) .
كما بينت النتائج حدوث انخفاض معنوي بمستوى احتمال($P>0.05$) في النسبة المئوية للنطف الحية و زيادة معنوية بمستوى احتمال ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للنطف الميتة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ،(الجدول1)

إضافة إلى حدوث انخفاض معنوي بمستوى احتمال (P<0.05) في اقطار النبيبات المنوية في خنازير غينيا المعاملة بالفولتارين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ،(الجدول 1) .

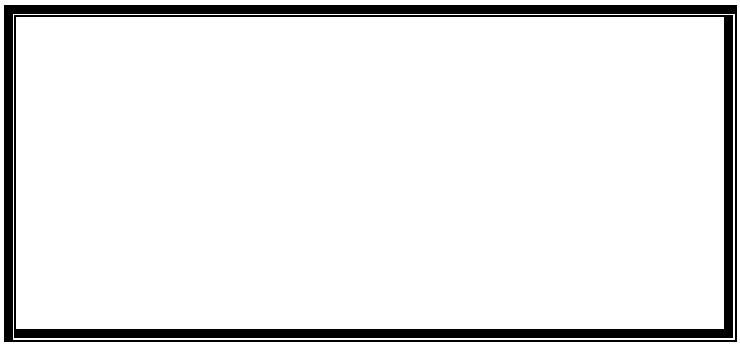
التغيرات النسجية المرضية في نسيج الخصية :-

أوضح الفحص المجهري للمقاطع النسجية لخصى مجموعة المعاملة، وجود تغيرات نسجية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة تمثلت بحدوث انسلاخ الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات المنوية و هي عبارة عن خلايا سرتولي Sertoli cells- تحورة الى خلايا عمودية ،وعدد قليل من سليفات النطف، من الغشاء القاعدي للنبيبات المنوية ،(صورة 1) اضافة الى حدوث انكماش في النبيبات المنوية ،(صورة2) .

التفاصيل	مجموعة السيطرة M ± S.E	المجموعة المعاملة بالفولتارين M ± S.E	التحليل الإحصائي
وزن الخصى(غرام)	2.45 ± 0.06	5.75 ± 0.04	*
وزن غدة البروستات (غرام)	1.2 ± 0.03	3.1 ± 0.01	*
النسبة المئوية للنطف الحية	93.3 ± 1.3	70.5 ± 4.1	*
النسبة المئوية للنطف الميتة	6.6 ± 1.9	29.4 ± 3.2	*
أقطار النبيبات المنوية (بالمايكروميتر)	209.85 ± 0.11	201.12 ± 0.16	*

الجدول(1) : يبين تأثير المعاملة بالفولتارين بجرعة (3.15)ملغم / كغم من وزن الجسم ،على وزن الخصى وغدة البروستات والنسبة المئوية للنطف الحية و الميتة وأقطار النبيبات المنوية في ذكور خنازير غينيا.(المعدل ± الخطأ القياسي)

* وجود فرق معنوي بمستوى احتمال (P< 0.05)



صورة (1): توضح مقطع في خصية خنزير غيني معامل بالفولتارين ،حيث تشير الأسهم إلى انسلاخ الخلايا الظهارية عند الغشاء القاعدي للنبيب المنوي . صبغة هارس هيماتوكسيلين – ايوسين ،X 100

صورة(2):توضح مقطع في خصية خنزير غيني معامل بالفولتارين ،حيث تشير الأسهم إلى مواقع انكماش النبيب المنوي .صبغة هارس هيماتوكسيلين- ايوسين (اللون الأصفر يعود لاستخدام الفلتر)،100X

المناقشة *Discussion*

أوضحت نتائج الدراسة الحالية حدوث زيادة معنوية في وزن الخصى وغدة البروستات في ذكور خنازير غينيا المعاملة بالفولتارين ، وقد أشار (Collier and Flower ,1971)إلى أن الأدوية غير الستيرويدية المضادة للالتهاب ومنها الفولتارين تعيق عملية تصنيع البروستاكلاندينات وتقلل من مستوى البروستاكلاندين E وF في السائل المنوي ، إضافة إلى ذلك فان البروستاكلاندينات A,F,E تقلل من أوزان الخصى والغدد الجنسية اللاحقة في ذكور الجرذان والفئران عن طريق تداخلها مع إنتاج هرمون الاندروجين . ان البروستاكلاندينات تتركز بشكل كبير في السائل المنوي والخصى والبروستات ،(Tokugawa *et al*.,1998). لذلك فقد يكون الفولتارين من خلال تثبيطه لتصنيع البروستاكلاندينات قد احدث تأثيرا معاكسا وبالتالي أدى إلى زيادة وزن الخصى و غدة البروستات في ذكور خنازير غينيا المعاملة .

وجد (Flint *et al*.,1975) أن البروستاكلاندين F2 يعمل على تقليل التجهيز الدموي للخصى والغدد اللاحقة بها في ذكور الجرذان لذلك فقد يكون الفولتارين قد احدث تأثيرا معاكسا لدور البروستاكلاندين F2 و أدى إلى زيادة وزن الخصى وغدة البروستات في ذكور خنازير غينيا المعاملة .

إن البروستاكلاندينات تعمل كمحفز كيميائي Chemical stimulator لتقلص العضلات الملساء المحيطة بالخصى والغدد الجنسية اللاحقة لإفراغ محتوياتها من الافرازات المنوية مثل البروستاكلاندين E وF ، لذلك فان تثبيط صنع هذه البروستاكلاندينات يمكن ان يؤدي الى ارتخاء العضلات الملساء المحيطة و بالتالي عدم قدرة الخصى والغدد الجنسية اللاحقة على افراغ محتوياتها من الافرازات وبالتالي حصول الزيادة في وزنها . (Cosentino *et al.*,1984)

ان الانخفاض المعنوي في النسبة المئوية للنطف الحية والزيادة المعنوية في النسبة المئوية للنطف الميتة الذي احدثته معاملة ذكور خنازير غينيا بالفولتارين ، قد تعود الى دور الفولتارين قي تثبيط انزيم السايكلو اوكسيجينيز، حيث اوضح (Roy and Ratnam,1992) من خلال دراسة قاما بها ان خلايا نطف الانسان لها القابلية على صنع البروستاكلاندينات خارج الجسم من حامض الاراشيدونك بفعل انزيم السايكلو اوكسيجينيز .

وقد اكدت دراسة قام بها (Gottlieb *et al.*,1988) ان للبروستاكلاندين E دورا رئيسيا في حركة النطف من خلال تاثيرها المباشر على محتوى النطف للادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) حيث يعمل على تحفيز حركة النطف وزيادة قابليتها على الاخصاب من خلال زيادة كمية الادينوسين ثلاثي الفوسفات في السائل المنوي .

كما يحفز البروستاكلاندين E1 دخول ايونات الكالسيوم الى النطفة ليزيد من تركيز ايونات الكالسيوم داخل الخلية ليساعد في اختراق البيضة وحدوث الاخصاب ، (Michael *et al.*,1998)

للبروستاكلاندينات دور في تنظيم افراز سوائل البربخ حيث يعمل انزيم السايكلواوكسيجينيز - 1 الذي يتموضع في الخلايا القاعدية للظهارة المبطنة للبربخ على تصنيع البروستاكلاندين E2 في ظهارة البربخ التي تلعب دورا مهما في تحفيز ظهارة البربخ على افراز السوائل والالكتروليتات الضرورية لادامة النطف ، (Wong ,1986). لذلك فقد يكون للفولتارين تاثير مثبط لهذه البروستاكلاندينات مؤثرا بذلك على ايض النطف و نضجها ، حيث اشار Krause *et al.*,2003) الى ان عملية تثبيط انزيم السايكلواكسيجينيز من خلال المعاملة تتم بشكل غير مقترن مع تنفس المتقدرات Mitochondrial respiration و بالتالي تثبيط عملية اكسدة المادة الخاضعة لانتاج الادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) في متقدرات خلايا نطف الجرذان وبالتالي التاثير في حيوية النطف وحركتها .

وقد تعود الزيادة المعنوية الحاصلة في النسبة المئوية للنطف الميتة في ذكور خنازير غينيا المعاملة بالفولتارين الى دوره في زيادة نفوذية اغشية النطف و بالتالي تحطمها .

(Tibble *et al.*,2002)

و سببت معاملة ذكور خنازير غينيا بالفولتارين انخفاضا معنويا في اقطار النبيبات المنوية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، وهذا يعود الى التغيرات النسجية المرضية التي احدثها الفولتارين في التركيب النسجي للخصى والمتمثلة بحدوث انكماش في النبيبات المنوية ، اضافة الى ذلك فقد احدث الفولتارين انسلاخا في خلايا سرتولي من الغشاء القاعدي و التي لها فائدة كبيرة في الاسناد والتغذية للخلايا النطفية ،فضلا عن دورها في عملية تكوين النطف، (Lacy ,1973)

المصادر References

المصادر العربية

السعدي ،حسين عبد الكريم (1989) . التناسل الاصطناعي .الجزء الاول .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ،جامعة بغداد .

المصادر الأجنبية

Bergstrom ,S. and Samuelsson,B.(1968).The prostagladins.Endeavour.

27 :109-113.(Cited by Cenedella,R.J.(1975).Prostaglandins and male reproductive . Adv.Sex.Horm.Kes.,1:325-358)

Berndtson, W.E.,Chenoweth ,P.J.,Seidel,G.E.,Jr-Pickett,B.W. and Olor ,T.T.(1979).Influence of PGF2a on spermatogenesis, spermatozol output,seminal quality ,testosterone levels and libido of yearling beef bulls. J.Anim.Sci .,49(3):736-741.

Cannon GW, Caldwell J.R., Holt,P. et al.(2000).Rofecoxib as aspecfic inhibitor of cyclooxygenase2 with clinical efficacy comparable with that of diclofenac sodium :results of the one year randomized clinical trail in patient with osteoarthritis of the knee and hip .Rofecoxip phase III protocol O35 study Group . Arthritis Rheum.,43:978-987.

Collier, J.G.and Flower, R.J.(1971).Effct of aspirin on human seminal prostaglandins.Lancet .,ii:852.(Cited by Cenedella R.J.(1975). Prostaglandins Adv.Sex.Horm.Kes.,1:325- and male reproductive physiology. 358.)

Collins,G.R. (1972).Syllabus for the laboratory animal technology . American association for laboratory animal science, Joliet. Publ.,72(2):440-445.

Cosentino,M.J.Takihara,H.,Burhop,T.W. and Cockett,A.T.(1984)
.

Regulation of rat epididymal epithelium . J. Physiol., 378:335- 346.

Flint,A.P.F.,Frosling,M.L.,Mitchell,M. Turnbull,A.C.(1975). Temporal relationsion between changes in oxytocin and prostaglandin F levels in respons to vaginal distension in the pregnant rat and puberal ewe .J. Repord.Fert.,43:551- 554 .

Fries,J.F.,Singh,G. and Ramey , D.R.(1998). The clinical epidemiology of nonesteroidal anti –inflammatory drug gastropathy. In:Vane,J.R.,Botting,R.M.(eds). Clinical significance and potential of selective Cox –2 inhibitors. London .U.K.William Harvey press.

Gillis ,M.C. (1998). Compen dium of pharmaceuticals and specialties .33rd ed. Dttawa : Canadian pharmacists association.772.

Gottlieb,C.,Svanbory, K.,Enerboth ,P. and Bygdeman , M. (1988). Effects of prostaglandins on human sperm function in vitro and seminal adenosine triphosphate content. Fertile. Steril ., 49(2): 322-327.

Hamberg, M. and Samuelsson,B.(1965). Biochem. Biophys. Acta.,106:215 –217.(Cited by Cenedella, R.J.(1975). Prostaglandins and male reproductive physiology. Adv. Sex.Horm. Kes.,1:325-358) .

Jones,E.,E-Brain ,J.B. and Odeel W.D.(1976). Postcoital luteinizing hormone releasing in male and female rabbits as determinal by radioimmunoassay .Fertil. Steril.,27:848.

Jurgen ,S.(2000).Pharmcological basis for the therapy of pain and inflammation with nonsteroidal anti-inflammatory drugs.Arthritis.Res.,2(5):379-385.

Kisser,T.E.,Milvae,R.A.,Hafs,H.D.,Oxender ,W.D. and Louis,T.M.(1978). Comparsion of testosterone and androstendione secretion in bulls given PGF2a or luteinizing hormone. J.Anim.,Sic.,46(2):436-442.

Krause,M.M., Brand ,M.,Krauss,S.Meisel ,C.,Vergin,H., Burmester, G.R. and Buttgereit ,F.(2003).Non – steroidal anti- inflammatory drugs and a selective cyclooxygenase-2 inhibitor uncouple mitochondria in intact cells .Arthritis.Rheum.,48:1438-1444.

Krogh ,C.M.C. (1991). Compendium of pharmaceulicals and specialties 26th ed. Otawa :Candian pharmacist association. 850.

Lacy ,D. (1973). Androgen dependency of spermatogenesis and physiological significance of steroid metabolism in vitro by th seminiferous tubules,Endocrine function of human testes. Vol.I.,ed . James ,V.H.T.,Serio,M.and Martini,L., Academic Press,New York.

Michael ,H.,Thomas,H., Gunter, S. and Thomas, G. (1998). Anew prostaglandin E1 receptor mediats calcium influx and acrosome reaction in human spermatozoa. Cell biology ., 95:3008 –3013 .

Ranter, A., Wilson, N.C., Strivatava, L. and Peake,G.R. (1974).Stimulating effect of rat anterior pituitary cyclic AMP and luteinizig hormone release . Prostaglandins.,5 :165 –171.

Roy, A.C. and Rantman ,S.S. (1992). Biosynthesis of prostaglandins by human spermatozoa in vitro and their role in acrosome reaction and fertilization . Mol .Repord . Development ., 33:303 –306 .

Sato , T., Tyujo ,T., Tesaka, T., Ishikawa, J. and Igarashi, M.(1974). Follicle stimulating hormone and prolactin release induced by prostaglandins in the rat . Prostaglandins ., 5:483 –490.

Schefler , W.C. (1980). Statistics for the biological science . 2nd ed. Addison , Wesely publication company . California.

Tibble, J. A., Sigthorsson, G., Foster, R. and Bjarnasal ,L. (2000). Comparsion of intestinal toxicity of rofecoxib, selective Cox2 inhibitor and indomethacin in the experimental rat . Scand.J. Gastroenterol., 53: 802 –907 .

Tokugawa ,Y., Kunishige , L. Kubota, Y., Shimoya, K., Nobunaga, T., Kimura , T., Saji, F., Murata, Y., Eguchi, N.,Oda, H., Uradae,Y. and Hayaishi, O. (1998) . Lipocalin – type prostaglandin D synthase in human male reproductive organs and seminal plasma . Biol.Repord ., 58 : 600 – 607.

Vacca, L. (1985). Laboratory manual of histochemistry. 1st ed. Raven press. Newyork.

Wong ,P.Y. (1986) .Fluid transport and sperm maturation in the epididymal . Biomed., Res. 2: 233 –240 .