دور عقار الكابركولين في استحداث النوى الصغيرة وتشوهات رؤوس النطف في ذكور الفأر الأبيض

م.م. أشواق شاكر نعمة

كلية الطب البيطري - جامعة القادسية / الديوانية - العراق

الخلاصة

صممت الدراسة الحالية لغرض الوقوف على أهم التأثيرات الوراثية لعقار الكابركولين من خلال بعض المعايير المختبرية التي أجريت على ذكور الفئران البيض. تناولت هذه المعايير اختبار النوى الصغيرة واختبار تشوهات رؤوس النطف .جرعت الفئران بجرعتين من العقار (0.01 و 0.003 ملغم /كغم) عن طريق أنبوبة خاصة لهذا الغرض ولفترة 4 أسابيع وبمعدل جرعتين في الأسبوع .

ومن خلال النتائج ظهر ارتفاع طفيف في نسبة تكون النوى الصغيرة حيث بلغ (0.02 ملغم/كغم) عند التجريع بالتركيز (0.003 ملغم/كغم) مقارنة مع السيطرة السالبة (0.01 ملغم/كغم) حيث لم يشكل هذا الارتفاع فرقاً معنوياً، كما ارتفعت نسبة تكون النوى الصغيرة عند التجريع بالتركيز (0.01 ملغم /كغم) حيث بلغت (0.03 ملغم/كغم) ولم يشكل أي فرق معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة(0.01 ملغم/كغم)، ومن جانب آخر أظهرت الدراسة ارتفاع نسبة تشوهات رؤوس النطف إلى (3.7 ملغ/ كغم) و(3.9 ملغم/ كغم) عند التجريع بالتركيزين (0.003 و 0.01 ملغم/كغم) على التوالي عند المقارنة مع السيطرة السالبة (3.6 ملغم/كغم) إلا أن هذا الارتفاع لم يشكل أي فروقات معنوية حسب الطرائق الإحصائية.

المقدمة

يعد عقار الكابركولين احد العقاقير الطبية المهمة والفعالة حيث يستخدم على نطاق واسع و خصوصاً عند الإناث . تتجلى أهمية العقار بفعاليته العالية في تنظيم عمل الغدة النخامية حيث أن العقار يعمل على خفض مستوى هرمون البرولاكتين (هرمون الحليب) الذي يفرز من الفص الأمامي للغدة النخامية (Colao *et al*., 2002) ، يكون قابل للذوبان في بعض المحاليل مثل الكحول الاثيلي و الكلوروفورم و غير قابل للذوبان في الماء (Colao *et al*., 2003). ويتصف عقار الكابركولين بقدرته الانجذابية تجاه مستقبلات الدوبامين D_2 ألا أن له خاصية انجذاب واطئة تجاه مستقبلات D و aI و a2 ومستقبلات السيروتونين (Casanueva *et al*., 2006).

لوحظ من خلال بعض الدراسات العلمية التي أجريت على مجموعة من المرضى المصابين بفرط هرمون البرولاكتين والمعالجين بالعقار أعلاه حدوث تخلخل في ضغط الدم جراء اخذ العلاج بجرعات عالية لذلك يفضل أن يؤخذ العقار مع مواد طبية معروفة لمنع حدوث أي خلل في ضغط الدم (Feigenbaum *et al*., 1996).

ذكر كل من (Colao *et al*., 2004) و(Casanueva *et al*., 2006) و(Colao *et al*., 1996) إن لعقار الكابركولين تأثيرات وراثية، حيث أظهرت الدراسات الخاصة بالوراثة السرطانية التي أجريت على رتبة القوارض والمتمثلة بالفئران والجرذان والمعاملة بعقار الكابركولين المأخوذ عن طريق أنبوبة خاصة تصل إلى المعدة إن هنالك ارتفاع طفيف في الخلايا المسرطنة عند منطقتي عنق الرحم cervix و جسم الرحم bodg of uterus إضافة إلى أورام غدية. ومن جانب آخر أظهرت الدراسات الخاصة بالطفرات الوراثية بان العقار اظهر نتائج سالبة تجاه هذه الطفرات حيث شملت هذه الدراسات الطفرات الخاصة بالبكتريا مثل بكتريا *Salmonella typhimurium* واختبارات الطفرات الجينية في البكتريا وعملية أضرار وإصلاح شريط DNA في *Saccharomyces cerevisiae* والتشوهات الكروموسومية في الخلايا اللمفية للإنسان كما أظهرت الاختبارات والدراسات العلمية سلبية العقار تجاه تخليق النوى الصغيرة لنقي العظام في الفئران (Schlechte, 2007).

إن استخدام العقار بواقع 0.003 ملغم/كغم يومياً ولمدة أسبوعين قبل التزاوج أو طوال فترة التزاوج سوف يثبط أو يمنع حدوث الحمل . في حين ذكر (Colao *et al*., 1996) إن استخدام الجرعة المذكورة أعلاه قبل الولادة أو طوال فترة الرضاعة سوف تثبط النمو وتسبب موت الأجنة الناشئة بسبب نقصان إفراز الحليب. أما الاختبارات التي أجريت على الفئران عند تجريعها بواقع 8 ملغم/كغم فلم يتم تسجيل أي تأثيرات وراثية أثناء أو خلال مرحلة تكوين الأعضاء باستثناء ملاحظة بعض التأثيرات السمية. أما على صعيد استخدام الأرانب

كحيوانات للتجربة فقد ذكر (Leong *et al*., 2000)إن معالجة الأرانب بواقع 0.5 ملغم/كغم خلال فترة تكوين الأعضاء سوف يترك أضرار سمية متمثلة بانخفاض وزن الجسم وعدم استهلاك وامتصاص الطعام بشكل جيد.

كما ذكرت الدراسات السابقة أفضلية استخدام عقار الكابركولين لمعالجة ارتفاع مستوى هرمون البرولاكتين مقارنة مع عقار البروموكربتين حيث لوحظ إن استخدام عقار الكابركولين بواقع 0.5 ملغم /كغم وبمعدل مرتين في الأسبوع يخفض مستوى البرولاكتين بنسبة 77% أما عقار البروموكربتين فان استخدام الجرعة الخاصة به بواقع 2.2 ملغم/كغم وبمعدل مرتين في اليوم سوف يخفض مستوى البرولاكتين إلى 59% وهذا يظهر أفضلية عقار الكابركولين وفعاليته العالية في علاج فرط إفراز الحليب (Webster *et al*., 1994).

المواد وطرائق العمل

- حيوانات التجربة Laboratory animals

استخدمت ذكور الفئران البيض وبمعدل عمر يتراوح بين (10-12) أسبوع وبوزن (25± 3) غم والتي جهزت من قبل جامعة بغداد ووزعت في أقفاص لدائنية بشكل مجاميع وحسب حاجة التجربة وقد أعطيت الحيوانات الماء والعليقة المتكاملة القيمة الغذائية حيث تم تقسيم الحيوانات إلى 3 مجاميع ، مجموعة السيطرة والتي تم تجريعها بالماء المقطر، ومجموعتين تم تجريعهما بواقع (0.01و0.003ملغم / كغم) عن طريق أنبوبة خاصة تصل إلى المعدة وعلى مدى أربعة أسابيع وبجرعتين أسبوعيا (0.1) مل حيث تم مقارنة نتائج المعاملتين مع نتائج السيطرة السالبة.

- المحاليل المستعملة

1. داريء الفوسفات الملحي Phosphate Buffered saline (PBS)

اتبعت طريقة (Hudson & Hay, 1980)

2. داريء سورنسن Sorenson's Buffer

حضر المحلول حسب طريقة (Yaseen, 1990).

3. ملون كمزا Giemsa Stain

جهز الملون من معهد المصول واللقاحات ببغداد و استخدمت وفقاً للطريقة المرفقة مع العدة.

4. ملون ايوسين Eosin Stain

اتبعت طريقة (Wyrobek & Bruce, 1975).

5. مصل الدم AB للإنسان

جهز مصل الدم للإنسان من صنف AB من مصرف الدم وقسم إلى أحجام متساوية من أنابيب معقمة وحفظ في المجمدة (- 20مْ) لحين استعماله كمواد طاهية Opsonins.

-الطرائق المختبرية Laboratory methods

تضمنت الطرائق المختبرية إجراء بعض الفحوصات الوراثية في ذكور الفار الأبيض:

فحص النوى الصغيرة Micronuclei Assay

لغرض إجراء هذا الفحص فقد اعتمدت طريقة (Schmid, 1976)

*** فحص تشوهات رؤوس النطف** Sperm Headed Abnormality Assay

شرحت الفئران واستخرجت النطف من البربخ Epidiymis وباستخدام الطريقة الموصوفة من قبل (Wyrobek & Bruce, 1975)

-الطرائق الإحصائية

تم تحليل نتائج هذه الدراسة باعتماد النظام الإحصائي (SPSS, 1985) وفقاً للنموذج الإحصائي التالي One way classification:

$$Yij= \mu + \alpha_i + eij$$

Yij= تمثل معدل الصفة قيد الدراسة.

μ= تمثل المتوسط العام للتجربة.

α_i= تمثل تأثير الجرع حيث i= السيطرة السالبة والجرع 0.003 و 0.01 ملغم/ كغم.

eij= تمثل الخطأ العشوائي.

وقد استخدم اختبار اقل فرق معنوي Least Significant Difference (L.S.D.) لمعرفة معنوية الاختلافات بين معدلات العوامل المختلفة.

النتائج والمناقشة

توضح النتائج المدرجة في الجدول رقم (1) دور عقار الكابركولين في رفع مستوى النوى الصغيرة الا ان هذا الارتفاع كان طفيفاً جداً بحيث انه لم يشكل أي فروق معنوية عند المقارنة مع السيطرة السالبة والتي بلغت (0.01) حيث نلاحظ ارتفاع بسيط عند التجريع بالتركيزين (0.01 و 0.003ملغم/كغم) حيث بلغت نسبة النوى الصغيرة (0.02 و 0.03 نواة صغيرة/خلية) على التوالي وهذا ما أكدته بعض الدراسات البحثية في هذا المجال حيث أكد (Webster *et al*., 1994) إن نتائج اختبار عقار الكابركولين تجاه الطفرات الوراثية كانت سالبة حيث شملت هذه الاختبارات دراسة الطفرات في البكتريا والتشوهات الكروموسومية في الخلايا اللمفية للإنسان إضافة إلى دراسة تأثير العقار في رفع نسبة النوى الصغيرة لنقي العظم في الفئران والتي كانت سالبة أيضا وتوضح الصورة رقم (1) خلية طبيعية اما الصورة (2) توضح خلية حاوية على نواة صغيرة.

من جانب أخر اظهر الجدول رقم (2) والخاص باختبار تشوهات رؤوس النطف، ان تجريع الحيوانات المختبرية بواقع (0.01 و 0.003 ملغم/كغم) أدى إلى رفع مستوى التشوهات إلى 3.7 و 3.9 إلا إن هذا الارتفاع لم يشكل أي فروق معنوية عند المقارنة مع السيطرة السالبة والتي بلغت (3.6) حيث كان هذا الارتفاع بسيطاً لم يشكل أي فروق معنوية كما بينته الطرائق الإحصائية وتوضح الصورة رقم (3) نطفة غير طبيعية الرأس. وهذا الارتفاع جاء مطابقاً لنتائج الدراسات الخاصة بالوراثة السرطانية التي أجريت على رتبة القوارض والمتمثلة بالفئران والجرذان والمعالجة بعقار الكابركولين المأخوذ عن طريق أنبوب خاص يصل إلى المعدة والتي أظهرت ارتفاع طفيف في الخلايا المسرطنة عند منطقتي العنق والرحم في الفئران (Passos *et al*., 2002). كما أكد(Colao *et al*.,2002) أن المعاملة بالعقار لم يسبب أي زيادة واضحة في نسبة الأورام الخبيثة في الرحم أو الأورام الغدية.

ذكر(Feigenbaum *et al*., 1996) أن وجود الأورام بنسبة ضئيلة يعود بدوره إلى فعالية العقار في إخماد أو تثبيط إفراز هرمون البرولاكتين وما لهذا الهرمون من دور فعال في القوارض من خلال المحافظة على الجسم الأصفر.

يعود تأثير عقار الكابركولين في إحداث ارتفاعات طفيفة في نسبة النوى الصغيرة وتشوهات رؤوس النطف إلى التأثير الواضح في تقليل إفراز هرمون البرولاكتين وهذا بدوره يقلل من نسبة هرموني الاستروجين والبروجستيرون ، إما في الذكور فان نقصان البرولاكتين يكون مرتبط مع نقصان الهرمون اللوتيني والذي يعتقد بان له تأثير تعويضي في المحافظة على صنع الهرمونات الستيرويدية حيث أن هنالك ميكانيكية هرمونية يعتقد بان لها دور خاص(Casanueva *et al*., 2006).

إن لهذه الهرمونات الدور الفعال في زيادة تكوين البروتين والـRNA في كثير من الأنسجة خاصة العضلات مثل الغدد اللبنية والرحم وان أي خلل في صناعة شريط الـ RNA يسبب خلل في صناعة وتضاعف شريط الـ DNA وبالتالي يؤدي إلى تقديم ايعازات غير صحيحة وخلق خلايا بشكل عشوائي مما يسبب حدوث الأورام (Colao *et al*., 2004).

جدول (1) : النسبة المئوية للخلايا الحاوية على نوى صغيرة في ذكور فئران السيطرة السالبة والفئران المجرعة بعقار الكابركولين بجرعتين (0.003 و 0.01 ملغم/ كغم) .

الفترة (يوم)	المعدل ± الخطأ القياسي (%)			الاحتمالية ≤		
	السيطرة السالبة	الحيوانات المجرعة بالعقار		I	II	III
		0.003 ملغم/ كغم	0.01 ملغم/ كغم			
30	± 0.016 0.0029	0.004 ± 0.02	0.0024 ± 0.034	غير معنوية	غير معنوية	غير معنوية

الاحتمالية I: المقارنة بين السيطرة السالبة والحيوانات المجرعة بالعقار الجرعة 0.003 ملغم/كغم.

الاحتمالية II: المقارنة بين السيطرة السالبة والحيوانات المجرعة بالعقار الجرعة 0.01 ملغم/كغم.

الاحتمالية III: المقارنة بين الحيوانات المجرعة بالتركيزين 0.003 و 0.01 ملغم/كغم.

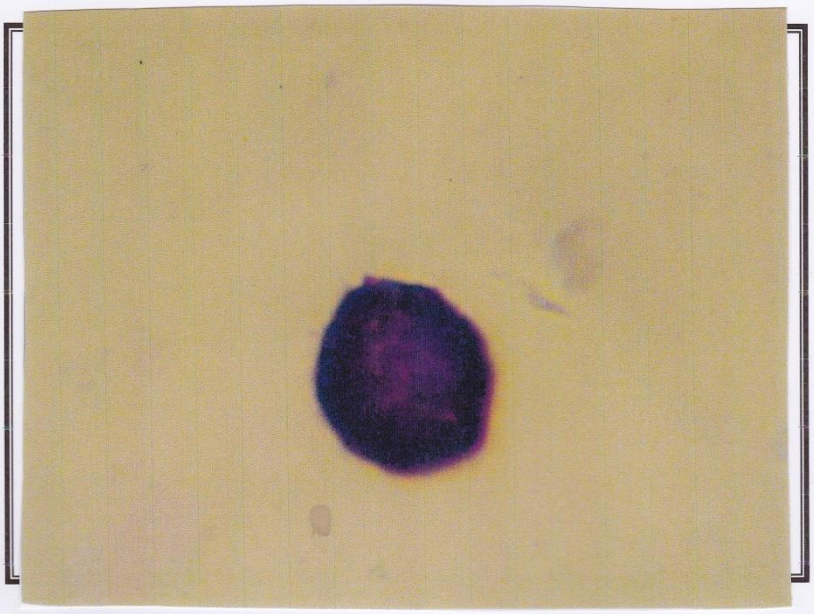
جدول (2) : النسبة المئوية للنطف غير الطبيعية في ذكور فئران السيطرة السالبة والفئران المجرعة بعقار الكابركولين بجرعتين (0.003 و 0.01 ملغم/ كغم).

الفترة (يوم)	المعدل ± الخطأ القياسي (%)			الاحتمالية ≤		
	السيطرة السالبة	الحيوانات المجرعة بالعقار		I	II	III
		0.003 ملغم/ كغم	0.01 ملغم/ كغم			
30	0.208±3.68	0.165±3.78	0.274±3.98	غير معنوية	غير معنوية	غير معنوية

الاحتمالية I: المقارنة بين السيطرة السالبة والحيوانات المجرعة بالعقار الجرعة 0.003 ملغم/كغم.

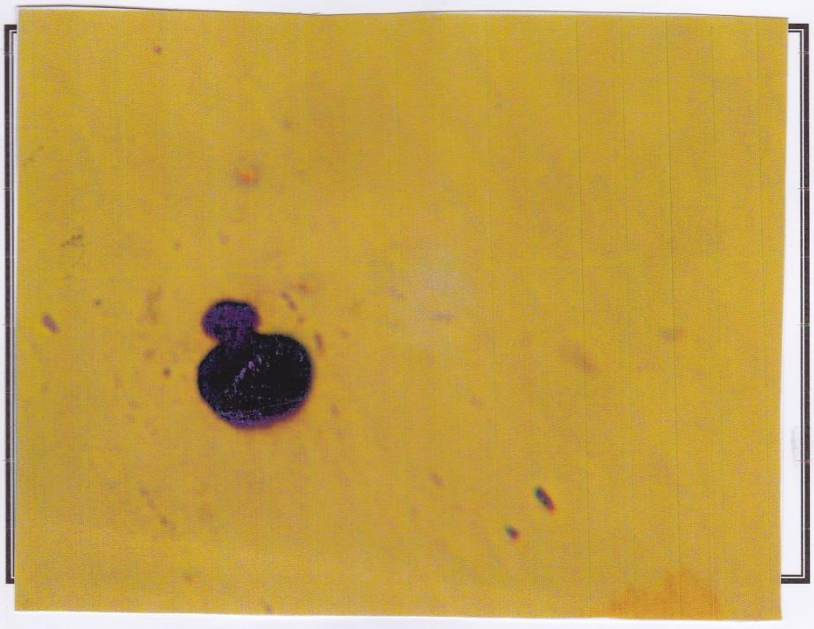
الاحتمالية II: المقارنة بين السيطرة السالبة والحيوانات المجرعة بالعقار الجرعة 0.01 ملغم/كغم.

الاحتمالية III: المقارنة بين الحيوانات المجرعة بالتركيزين 0.003 و 0.01 ملغم/كغم.



صورة رقم (1) : توضح خلية طبيعية

صبغت بملون كمزا كبرت 1000



صورة رقم (2) : توضح خلية حاوية على نوى صغيرة

صبغت بملون كمزا كبرت 1000 مره

صورة رقم (3) : توضح نطفة غير طبيعية

صبغت بملون الايوسين وكبرت 400 مره

References

Casanueva, F.; Molitch, M.E.; Schlechte, J.A.; Abs, R.; Bonert, V. & Bronstein, M.D. (2006). Guidelines of the pituitary society for the management of prolactinomas. *Clin. Endocrinol. (Oxf).*, 65: 265-573.

Colao, A.; De Rosa, M.; Sarnacchiaro, F.; Di Sarno, A.; Landi, M. L. & Iervolino, E. (1996). Chronic treatment with CV 205-502 restores the gonadal function in hyperprolactinemic males. *Eur. J. Endocrinol*., 135: 548-552.

Colao, A.; Di Sarno, A.; Pivonello, R.; Di Somma, C. & Lombardi, G.(2002). Dopamine receptor agonist for treating prolactinomas. *Expert. Opin. Investig. Drugs.*, 11: 787-800.

Colao, A.; Sarno, A.D.; Cappabianca, P.; Briganti, F.; Pivonello, R. & Somma, C.D. (2003). Gender differences in the prevalence, clinical features and response to cabergoline in hyperprolactinemia. *Eur. J. Endocrinol*., 148: 325-331.

Colao, A.; Vitale, G.; Cappabianca, P.; Briganti, F.; Ciccarelli, A. & De Rosa, M. (2004). Outcome of cabergoline treatment in men with prolactinoma: effect of a 24- month treatment on prolactin levels, tumor mass, recovery of pituitary function, and semen analysis. *J.Clin. Endocrinol*. *Metab*., 89: 1704-1711.

Feigenbaum, S.L.; Downey, D.E.; Wilson, C.B. & Jaffe, R.B. (1996). Trans-sphenoidal pituitary resection for preoperative diagnosis of prolactin-secreting pituitary adenoma in women: Long-term follow up. *J. Clin. Endorcinol. Metab.*, 81: 1711-1719.

Gillam, M.P.; Molitch, M.E.; Lombardi, G. & Colao, A. (2006). Advances in the treatment of prolactinomas. *Enocr. Rev*., 27: 485-534.

Hudson, L. & Hay, F.C. (1980). Practical Immunology. Blackwell Scientific Publications. UK.

Leong, K.S.; Foy, P.M.; Swift, A.C.; Atkin, S.L.; Hadden, D.R. & MacFarlane, I.A. (2000). CSF rhinorrhoea following treatment with dopamine agonists for massive invasive prolactinomas. *Clin. Endocrinol. (Oxf).*, 52: 43-49.

Nachtigall, L.; Valassi, E.; Lo, J.; McCarty, D.; Passeri, J. & Biller, B. (2009). Gender effects on cardiac vascular function in hyperprolactinemic patients receiving cabergoline: a retrospective study. *Clin. Endocrinol.*, 72: 53-58.

Passos, V.Q.; Souza, J.J.; Musolino, N.R. & Bronstein, M.D. (2002). Long-term follow-up of prolactinomas: normoprolactinemia after bromocriptine withdrawal. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., 87: 3578-3582.

Schlechte, J. A. (2007). Long-term management of prolactinomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 92: 2861-2865.

Schmid, W. (1976). The Cell Micronucleus Test for Cytogenesis analysis. In: Chemical Mutagens Principles and Methods for their Detection. Vol. 4. Hollaender, A. (Ed.). Plenum Press, New York & London. Pp: 31-53.

SPSS. (1985). SPSS-Xuser's Guide. SPSS. Inc., Chicago, IL.

Webster, J.; Piscitelli, G.; Polli, A. Ferrari, C.I. & Ismail, I. (1994). Scanlon MF for cabergoline comparative study group. A comparison of cabergoline and bromocriptine in the treatment of hyperprolactinemic amenorrhea. *N. Engl. J. Med*., 331: 904-909.

Wyrobek, A. J. & Bruce, W.R. (1975). Chemical induction of spermalities in mice. *Proc. Acad. Natl. Sci.*, 72: 4425-4429.

Yaseen, N.Y. (1990). Cytogenetic study of human colorectal cancer cell. Ph.D. Thesis, Sheffield University, UK.

The Role of Cabergoline in Creating Micronucleus and Sperm Headed Abnormality in Male Albino Mouse

Ashowk S. Nehma

Vet. Med. Coll./ Al-Qadisiyah Univ.

Al-Diwaniyah/ Iraq.

Abstract

The present study was designed to stand on genetic effects important of cabergoline by some laboratory investigations in male albino mice include the micronucleus test and sperm headed abnormality assay. The animals were treated with two oral doses of drug (0.003 and 0.01 mg/kg) given by gavaga for 4 weeks and twice weekly.

The result appeared a slight increase in ratio of micronucleus to (0.02) ml/kg in the first dose (0.003 ml/kg) compare with the negative control (0.01 ml/kg), but this increase was not significantly, also the ratio of micronucleus was increase in (0.01 ml/kg) to (0.03 ml/ kg) and there is no significantly compare with the negative control.

On the other hand the results showed a slight increase in ratio of sperm headed abnormality to (3.7 and 3.9 ml/kg) when receiving (0.003 and 0.01 ml/kg) respectively compare with negative control (3.6 ml/kg) but this increase was not significantly.