



دراسات فسيولوجية ونسجية على تأثير الهيدروكورتيزون على الكلى في الأرانب البيضاء النيوزيلاندية

نورة إبراهيم الزاعل*، عبدالسلام موسى بوالحاج وزينب علي شعيب
قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة عمر المختار - ليبيا

تاريخ الاستلام: 9 فبراير 2017 / تاريخ القبول: 25 أبريل 2017.

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v32i1.126>:Doi

المستخلص: استهدفت هذه الدراسة اختبار تأثير عقار الهيدروكورتيزون سكسينات الصوديوم على كل من بعض وظائف الكلى وكذلك على التركيب النسيجي للكلى في الأرانب النيوزيلاندية البيضاء Newzealand White Rabbits. شملت التجربة على 30 أرنب من الذكور بوزن يتراوح ما بين 1500 - 2500 جرام، وتم تقسيمها إلى 4 مجاميع ضابطة وأخرى معاملة بالدواء لفترات زمنية مختلفة؛ وذلك على حسب مدة الحقن. بعد معاملة الأرانب بعقار الهيدروكورتيزون بجرعة 10 مجم/كجم بشكل يومي تبين أن العقار لم يؤدي إلى تغير أوزان الأرانب المعاملة لمدة أسبوع. وحدثت زيادة غير معنوية في أوزان الأرانب المعاملة لمدة أسبوعين والمعاملة بالتدرج، ولكن المعاملة الفجائية سجلت انخفاضاً غير معنوي في أوزان الأرانب مقارنة بوزنها قبل الحقن. سجل ارتفاع معنوي في تركيز اليوريا، الكرياتينين، البروتين الكلي، الألبومين وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم بعد المعاملة لمدة أسبوع، ولكن لوحظ انخفاض معنوي بسيط في تركيز اليوريا وعدم وجود فرق معنوي في تركيز الكرياتينين وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم بعد المعاملة لمدة أسبوعين. في حين كانت هناك زيادة معنوية في البروتين الكلي والألبومين قد سجلت بعد أسبوعين من المعاملة. مع ملاحظة أن المعايير المدروسة في المعاملة الفجائية لم تتغير مقارنة بالمجموعة المعاملة لمدة أسبوعين ولكنها عادت إلى المعدلات الطبيعية بعد المعاملة التدريجية أظهر الفحص النسيجي للقشرة الكلوية ظهور مادة حامضية الاصطباج داخل تجاويف بعض الأنبيبات القاصية الملفوفة في المجموعة المعاملة لمدة أسبوعين. كما أظهر النخاع الكلوي في المجموعتين المعاملتين وجود نفس المادة داخل تجاويف بعض الأنبيبات الجامعة. ويزيادة مدة المعاملة ظهرت فجوات في سيتوبلازم العديد من الخلايا المبطنة للأنبيبات الجامعة. وتم مشاهدة نفس التغيرات النسيجية المرضية في كلى الأرانب التي تم إيقاف المعاملة فيها فجأة، وكذلك المجموعة التي تم إيقاف معاملتها تدريجياً ولكن ظهرت هذه التغيرات بصورة أخف في المجموعة الأخيرة.

الكلمات المفتاحية: الهيدروكورتيزون ، الكلى ، فسيولوجي ، نسيجي ، الأرانب.

المقدمة

التركيب النسيجي للكلى ووظائفها الحيوية. وقد تم اختيار عقار هيدروكورتيزون سكسينات الصوديوم كمثال لهذه العقاقير. الجلوكوكورتيكويدات Glucocorticoids هي مجموعة هرمونات إسترويدية أهمها هرمون الكورتيزول Cortisol وتؤثر أساساً على تمثيل الكربوهيدرات، ومن هنا جاءت التسمية (خليل، 2005). ووظائف الهيدروكورتيزون الرئيسية هي رفع مستوى الجلوكوز في الدم من خلال تخليق الجلوكوز Gluconeogenesis؛ وهو اصطناع الكبد

إن كثرة استخدام العقاقير الاستيرويدية في علاج العديد من الأمراض الحادة والمزمنة، أصبح من الأمور الشائعة، وحيث إن معظم هذه الأمراض دائمة التكرار وتستوجب العلاج بشكل يومي لفترات طويلة ومتكررة؛ لذا كان من الضروري التعرف على الآثار الجانبية لهذه العقاقير، ومن هنا تم اقتراح مشروع هذا البحث لدراسة تأثير هذه العقاقير على

استخدام هذا العقار على الكلى،، بالإضافة إلى معرفة مدى ارتباط الأثر الضار لهذا العقار بطول الفترة الزمنية للمعاملة.

المواد وطرق البحث

حيوانات التجارب: استخدمت في هذه الدراسة الأرانب البيضاء *Newzealand White Rabbits*، التي تم تربيتها لفترة قبل بدء الدراسة لغرض التأقلم على الظروف البيئية الجديدة وضمان خلوها من أي أمراض.

العقار المستخدم: هيدروكورتيزون سكسينات الصوديوم *Hydrocortisone sodium succinate* هي مادة صلبة متجانسة بيضاء اللون عديمة الرائحة وشديدة الذوبان في الماء والكحول، ويوجد في أمبولات 100 ملليجرام، 250 ملليجرام، 500 ملليجرام، 1000 ملليجرام (Ali وآخرون، 2000) وذلك عن طريق شركة سيجما للكيماويات *Sigma Chemical Company*.

تحديد الجرعة المستخدمة: تم حقن الأرانب بعد تحديد أوزانها بجرعة 10مجم/كجم (Walker and Schnitzer 1980)، عن طريق الحقن العضلي ولفترات زمنية مختلفة؛ وهي جرعة تعادل الجرعة التي يتعاطاها انسان وزنه 70 كجم، وتم ذبح الحيوانات بعد كل فترة زمنية.

تصميم التجربة: أدخلت الأرانب التجربة بوزن يتراوح ما بين 1500-2500 جرام، وشملت هذه التجربة عدد 30 أرنباً، تم تقسيمها إلى مجاميع ضابطة وأخرى معاملة بالدواء لفتترات زمنية مختلفة؛ وذلك على حسب مدة الحقن:

- **المجموعة الأولى:** تم استخدام 10 أرانب وقسمت إلى مجموعة ضابطة *Control* 5 أرانب وحقنت مرة واحدة يومياً بماء مخصص للحقن (ماء مقطر) *Water for injection*، ومجموعة معاملة 5 أرانب تم حقنها يومياً بالهيدروكورتيزون سكسينات الصوديوم حسب الوزن 10مجم / كجم وذبحت بعد 7 أيام من بداية المعاملة.

- **المجموعة الثانية:** تم استخدام 10 أرانب وقسمت إلى مجموعة ضابطة *Control* 5 أرانب وحقنت يومياً بماء مخصص للحقن ، ومجموعة معاملة 5 أرانب حقنت يومياً

للجلوكوز من مصادر غير سكرية مثل الأحماض الأمينية والأحماض الدهنية، والمساعدة في أيض البروتينات والكاربوهيدرات (Lipworth 1999) ، كما تساعد هذه الهرمونات في تمكين الفرد من مقاومة الأنواع المختلفة من الضغوط *Stresses* والصدمات التي يتعرض لها (خليل، 2012). ويتم هدم الهرمونات الإسترويدية أساساً في الكبد ويحدث الهدم في الكلية وتفرز معظم النواتج في البول (خليل، 1997). تمكن الباحثون من تصنيع الاستيرويدات التي تتميز بفعاليتها العالية بالمقابلة مع الاستيرويدات الطبيعية. حيث إن لها ألفة كبيرة للمستقبلات الخاصة بالقشرانيات السكرية الموجودة في خلايا الجسم، وتبقى فترة أطول في الدم. ومن الهرمونات الاستيرويدية المصنعة الدكساميثازون والبريدونيسولون (محيي الدين وآخرون، 1990). والهيدروكورتيزون هو جلوكوكورتيكويد صناعي يستخدم على نطاق واسع لعلاج العديد من الأمراض (Elshennawy and Elwafa 2011). وقد أجريت بعض الدراسات للتحقق من شدة التأثيرات السلبية للهيدروكورتيزون؛ كمثال لعقار الجلوكوكورتيكويد الصناعي، على بعض أعضاء الجسم مثل البنكرياس (Gloor وآخرون، 2001)، الجوانب التاسلية لإنبات الفئران (Piffer and Pereira 2004)، الغدة التيموسية (Rodrigues-Mascarenhas وآخرون، 2006)، الكبد (Gevorgyan وآخرون، 2008)، جهاز تحت المهاد - النخامي - قشرة الغدة الكظرية (Yarushkina 2008)، والحصين (Tata and Anderson 2010). يستخدم الجلوكوكورتيكويد على نطاق واسع في علاج أمراض الكلى، ومع ذلك فإن الأطباء أقل دراية بالتأثيرات الفسيولوجية لهرمون الكورتيزول على الكلى (Mangos وآخرون، 2003)، ونظراً لأن المراجع المتاحة والدراسات السابقة على تأثير الهيدروكورتيزون على التركيب النسيجي للكلى قليلة جداً، لذلك فإن الدراسة الحالية تهدف إلى إلقاء الضوء على مثل هذه التأثيرات على أنسجة هذا العضو في ذكور الأرانب البالغة. تهدف هذه الدراسة إلى اختبار تأثير عقار هيدروكورتيزون سكسينات الصوديوم على وظائف الكلى، ودراسة التأثيرات النسيجية المرضية التي قد تنتج من

pH>12
37°C

Creatinine + Picric acid → Red addition complex

- مستوى أيونات الصوديوم والبوتاسيوم: باستخدام جهاز Beckman- Na+ & K+ - Analyzer 2 ومجموعة كواشف مجهزة من قبل شركة بيكمان الأيرلندية Beckman, Ireland، وقد تمت عملية القياس عند طول موجي قدره 545 نانوميتر وأخذت القراءة مباشرة من لوح العداد الرقمي بالملي مول لكل لتر.

الفحص النسيجي: وفيه تم أخذ قطع من الكلى ووضعت فوراً في المثبتات النسيجية التالية: مثبت فورمالين 10% Formalin محلول بوان - Bouin's fluid محلول زنكر - Zenker's fluid محلول سوزا Susa fluid. تم تمرير العينات في المحاليل الكحولية التصاعديّة ثم الترويق و التشفيف بالزايلين ثم طمرت العينات في شمع البرافين المنصهر وصبت في قوالب الشمع وتركت حتى تصلبت ثم قطعت بجهاز التقطيع الشمعي Microtome إلى شرائح رقيقة بسمك 4-6 ميكرون وثبتت على شرائح زجاجية ، وصبغت الشرائح بصبغة الهيماتو كسليين والايوسين Harries haematoxyline and eosin (H&E)، وقد تم حفظ وتمرير العينات وصبغها استناداً إلى (Bancroft and Gamble 2008). بعد الصبغ تمت تغطية الشرائح بغطاء زجاجي Cover slide بعد وضع قطرات من مادة كندا بلسم Canada balsam ثم تم فحص وتصوير الشرائح النسيجية المصبوغة بواسطة مجهر ضوئي (Olympus) مزودة بآلة تصوير نوع Olympus Camedia C-(7070).

التحليل الإحصائي: حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Minitab 13 وذلك عن طريق تحليل التباين الأحادي One way Analysis of Variance (ANOVA) عند مستوى احتمالية (0.05) وفقاً لما ذكره (Ott, 1984).

النتائج

أولاً: الفحص الظاهري: بعد معاملة الأرناب بعقار الهيدروكورتيزون بجرعة 10 مجم/كجم بشكل يومي لمدة

باليهيدروكورتيزون سكسينات الصوديوم 10مجم/كجم وذبحت بعد 14 يوماً من بداية المعاملة.

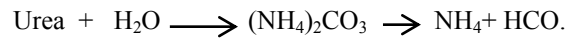
- **المجموعة الثالثة:** تم استخدام 5 أرناب وتم حقنها يومياً بـ 10مجم/كجم لمدة 14 يوماً من بداية المعاملة ثم تركت 6 أيام بدون حقن ثم ذبحت.

- **المجموعة الرابعة:** تم استخدام 5 أرناب وتم حقنها يومياً بـ 10مجم/كجم لمدة 14 يوماً من بداية المعاملة ثم حقنت تدريجياً بجرعات تنازلية وهي 7½ مجم لمدة يومين ، ثم 5 مجم لمدة يومين ثم 2½ مجم لمدة يومين ثم الذبح.

الفحص الظاهري: بعد تحديد وزن الأرناب قبل وبعد عملية الحقن وملاحظة أي أعراض سريرية قد تظهر عليها طوال فترة التجربة تم ذبحها وتجميع الدم في أنابيب خاصة كما تم استخراج الكلى.

الفحص الفسيولوجي:

- **فحص اليوريا في الدم:** تم تقدير اليوريا باستخدام جهاز Beckman-BUN-Analyzer 2 وباستخدام مجموعة كواشف من شركة بيكمان الأيرلندية Beckman, Ireland ، حيث تمر اليوريا الموجودة في الم Urease التالي :-



ونتيجة هذا التفاعل هو تحول اليوريا من صورة غير أيونية إلى صورة أيونية (كربونات الأمونيوم) ، وقد أخذت القراءة بالميليجرام لكل 100 مل من الدم .

- **الكرياتينين:** يتفاعل الكرياتينين في الظروف القاعدية مع Picric acid مكوناً معقداً أحمر، باستخدام جهاز Linear المصنوع من قبل شركة Biosystems الإسبانية ومجموعة من الكواشف المجهزة من نفس الشركة، ويمكن قياس معدل تكوين هذا المعقد بزيادة شدة الامتصاص الضوئي عند طول موجي 405 نانوميتر ويتناسب طردياً مع تركيز الكرياتينين الموجود في العينة باستخدام ضابط Standard يحتوي على كرياتينين معلوم التركيز. يمكن قياس تركيز الكرياتينين في العينة بوحدة قياس ملليجرام لكل 100 مل من الدم.

مقارنة بوزنها قبل الحقن (0.71 ± 1.64) وذلك عند مستوى احتمالية (0.05)، كما سجلت نتائج المعاملة الفجائية (جدول 2) انخفاضاً في الوزن إلا أنها كانت غير معنوية (0.37 ± 1.63) مقارنة بوزنها قبل الحقن (0.83 ± 1.99)، وكذلك لوحظ زيادة في الأوزان ليست بالزيادة المعنوية في الأرناب المعاملة بالتدرج (0.289 ± 2.11) مقارنة بوزنها قبل الحقن (0.53 ± 1.77) عند مستوى احتمالية (0.05).

جدول (1) : تأثير عقار الهيدروكورتيزون على وزن الجسم في الأرناب لمدة أسبوعين وأسبوعين مقيساً بالجرام.

الفروق المعنوية عند	المتوسط \pm الانحراف القياسي S.D \pm X	عدد المعاملات (N)	العينة
0.05			
a	0.19 ± 1.74	5	المجموعة الضابطة
a	0.179 ± 1.72	5	معاملة لمدة أسبوع
a	0.719 ± 1.64	5	المجموعة الضابطة
a	0.63 ± 2.14	5	معاملة لمدة أسبوعين

■ الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

جدول (2) : تأثير عقار الهيدروكورتيزون على وزن الجسم بعد الإيقاف التدريجي والفجائي في الأرناب مقيساً بالجرام.

الفروق المعنوية عند	المتوسط \pm الانحراف القياسي S.D \pm X	عدد المعاملات (N)	العينة
0.05			
a	0.531 ± 1.77	5	المجموعة قبل الحقن
a	0.289 ± 2.11	5	المعاملة التدريجية
a	0.838 ± 1.99	5	المجموعة قبل الحقن
a	0.372 ± 1.63	5	المعاملة الفجائية

■ الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

ثانياً: الفحص الفسيولوجي

مستوى اليوريا في المصل: من خلال الجدول (3) أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية (0.05) في مستوى اليوريا بالدم لدى الأرناب المعاملة بالهيدروكورتيزون المقاسة بالمليجرام لكل 100 مل من الدم، كما سجل ارتفاع معنوي في تركيز اليوريا بعد

أسبوعين وأسبوعين، لوحظ على الأرناب كثرة التبول، كما لوحظ بالعين المجردة بعد ذبح الحيوان انتفاخ في المثانة البولية واحتقان بالكبد (شكل 1) مقارنة بالمجموعة الضابطة (شكل 2).



شكل (1) صورة ضوئية لأرناب معاملة لمدة أسبوعين يوضح احتقان الكبد (*) وانتفاخ المثانة البولية (**)



شكل (2) صورة ضوئية لأرناب بالمجموعة الضابطة يوضح اللون الطبيعي للكبد (*) وعدم انتفاخ المثانة (**)

عدم التغير في أوزان الأرناب المعاملة لمدة أسبوع (0.17 ± 1.72) مقارنة بوزنها قبل الحقن (0.19 ± 1.74)، كما حدث زيادة في أوزان الأرناب ولكن لم تصل الي مستوى المعنوية في الأرناب المعاملة لمدة أسبوعين (0.63 ± 2.13)

مستوى تركيز أيونات الصوديوم: يوضح التحليل الإحصائي في الجدول (5) مدى تأثير الهيدروكورتيزون على مستوى تركيز أيونات الصوديوم (Na^+) في الأرناب مقيساً بالمللي مول، حيث أوضحت النتائج وجود ارتفاع معنوي لأيونات الصوديوم بعد المعاملة لمدة أسبوع (0.89 ± 138.6) مقارنة بالمجموعة الضابطة (2.3 ± 135.5)، إلا أن المعاملة لمدة أسبوعين أدت إلى ارتفاع في مستوى تركيز أيونات الصوديوم ولكن هذا الارتفاع لم يصل إلى مستوى المعنوية مقارنة بالمجموعة الضابطة (2.5 ± 136.6) إلا أن المعاملة التدريجية والفجائية رجعت إلى معدلها الطبيعي وذلك عند مستوى احتمالية (0.05).

جدول (5): تأثير عقار الهيدروكورتيزون على مستوى تركيز أيونات الصوديوم في مصل الأرناب لمدة أسبوع وأسبوعين مقيساً بالمللي مول / 100 مل من الدم.

العينة	عدد المعاملات (N)	المتوسط \pm الانحراف القياسي	الفروق المعنوية عند
المجموعة الضابطة	5	2.26 ± 135.5	0.05
معاملة لمدة أسبوع	5	0.89 ± 138.6	
المجموعة الضابطة	5	1.52 ± 134.2	
معاملة لمدة أسبوعين	5	2.53 ± 136.6	

■ الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

مستوى تركيز أيونات البوتاسيوم: جدول (6) يبين تأثير الهيدروكورتيزون على مستوى تركيز أيونات البوتاسيوم (K^+) مقيساً بالمللي مول، حيث سجل ارتفاع معنوي في تركيز أيونات البوتاسيوم في الأرناب المعاملة لمدة أسبوع (0.5 ± 6.9) مقارنة بالمجموعة الضابطة (0.9 ± 5.5)، إلا أن المعاملة لمدة أسبوعين أدت إلى عدم وجود فرق معنوي مقارنة بالمجموعة الضابطة (0.9 ± 6.3) في حين إن المعاملة التدريجية والفجائية عادت إلى معدلها الطبيعي وذلك عند مستوى احتمالية (0.05).

المعاملة لمدة أسبوع (22.8 ± 54.9) مقارنة بالمجموعة الضابطة (14.8 ± 39.8)، كما لوحظ انخفاض معنوي بسيط بعد المعاملة لمدة أسبوعين (7.1 ± 34.9) مقارنة بالمجموعة الضابطة (11.4 ± 40). إلا أن المعاملة التدريجية والفجائية رجعت إلى معدلها الطبيعي.

جدول (3): تأثير عقار الهيدروكورتيزون على مستوى اليوريا في مصل الأرناب لمدة أسبوع وأسبوعين مقيساً بالملليجرام / 100 مل من الدم.

العينة	عدد المعاملات (N)	المتوسط \pm الانحراف القياسي	الفروق المعنوية عند
المجموعة الضابطة	5	14.809 ± 39.80	0.05
معاملة لمدة أسبوع	5	22.760 ± 54.9	
المجموعة الضابطة	5	11.379 ± 40.00	
معاملة لمدة أسبوعين	5	7.109 ± 34.86	

■ الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

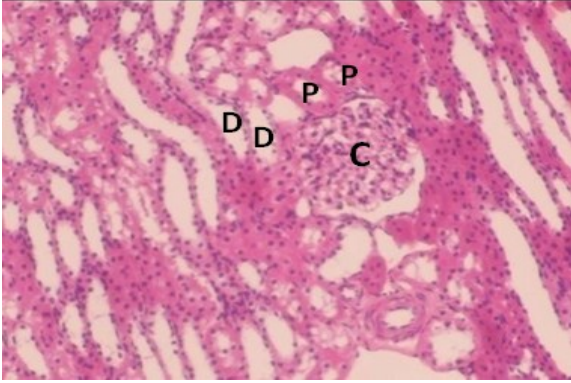
مستوى الكرياتينين في المصل: يوضح الجدول (4) نتائج التحليل الإحصائي لمستوى الكرياتينين في مصل الأرناب المعاملة بالهيدروكورتيزون مقيساً بالملليجرام لكل 100 مل من الدم، ولوحظ وجود فروق معنوية بين الأرناب المعاملة لمدة أسبوع والأرناب الضابطة، وسجل ارتفاع معنوي في تركيز الكرياتينين بعد المعاملة لمدة أسبوع (0.3 ± 1.7) مقارنة بالمجموعة الضابطة (0.2 ± 0.56)، كما لوحظ عدم وجود فرق معنوي في تركيز الكرياتينين بعد المعاملة لمدة أسبوعين (0.3 ± 0.8) مقارنة بالمجموعة الضابطة (0.3 ± 0.6)، في حين إن المعاملة التدريجية والفجائية عادت إلى معدلها الطبيعي وذلك عند مستوى احتمالية (0.05).

جدول (4): تأثير عقار الهيدروكورتيزون على مستوى الكرياتينين في مصل الأرناب لمدة أسبوع وأسبوعين مقيساً بالملليجرام/100 مل من الدم.

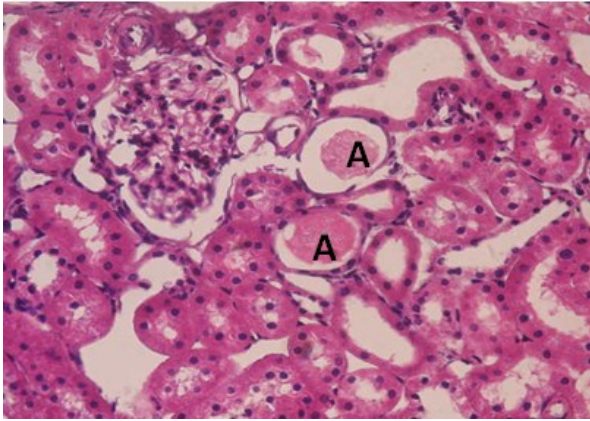
العينة	عدد المعاملات (N)	المتوسط \pm الانحراف القياسي	الفروق المعنوية عند
المجموعة الضابطة	5	0.2302 ± 0.56	0.05
معاملة لمدة أسبوع	5	0.2612 ± 1.67	
المجموعة الضابطة	5	0.3000 ± 0.60	
معاملة لمدة أسبوعين	5	0.3416 ± 0.76	

■ الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

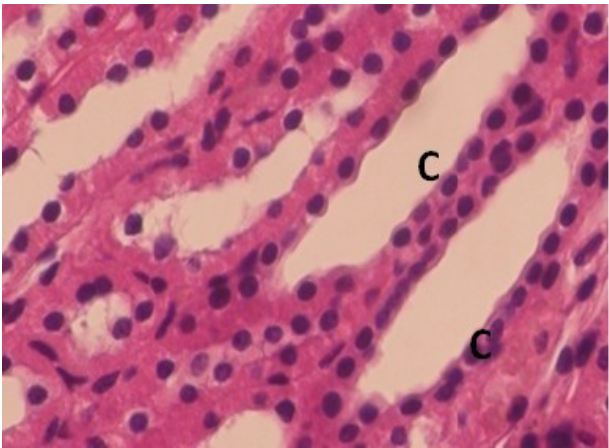
قل انتشار المادة الحامضية داخل تجايف هذه الأنبيبات مقارنة بالمجموعة المحقونة لمدة أسبوعين.



شكل (3) قطاع في القشرة الكلوية لأرنب بالمجموعة الضابطة يوضح الكرية الكلوية (C) ، الأنبيبات الدائنية الملفوفة (P) والأنبيبات القاصية الملفوفة (D) . صبغة (H&E)×400.



شكل (4) قطاع في القشرة الكلوية لأرنب معاملة لمدة أسبوعين يظهر مادة حامضية الاصطباغ (A) داخل تجايف بعض الأنبيبات القاصية الملفوفة . صبغة (H&E)×400.



شكل (5) قطاع في النخاع الكلوي لأرنب بالمجموعة الضابطة يبين الأنبيبات الجامعة (C) . صبغة (H&E)×400.

جدول (6) : تأثير عقار الهيدروكورتيزون على مستوى تركيز أيونات البوتاسيوم في مصل الأرناب لمدة أسبوعين ومقيساً بالملي مول/100مل من الدم.

العينة	عدد المعاملات	المتوسط \pm الانحراف المعياري	الفروق المعنوية عند
	(N)	S.D \pm X	0.05
المجموعة الضابطة	5	0.957 \pm 5.48	a
معاملة لمدة أسبوع	5	0.517 \pm 6.91	b
المجموعة الضابطة	5	0.665 \pm 5.20	a
معاملة لمدة أسبوعين	5	0.945 \pm 6.27	a

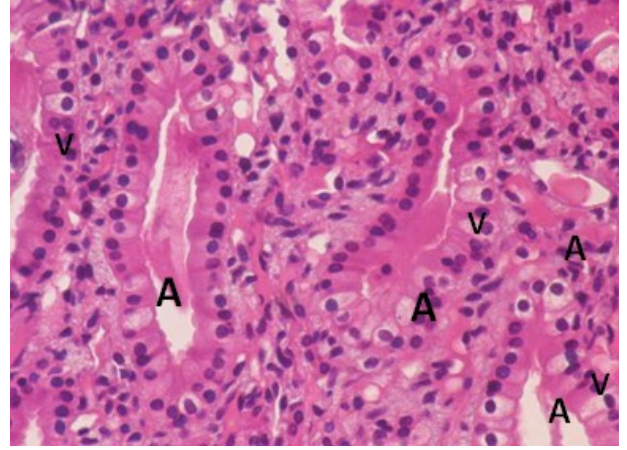
■ الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

ثالثاً: الفحص النسيجي أظهر الفحص النسيجي للقشرة الكلوية Renal cortex لكلى أرناب المجموعة الضابطة التركيب الطبيعي للكريات الكلوية Renal cortex الأنبيبات الدائنية الملفوفة Proximal convoluted tubules والأنبيبات القاصية الملفوفة Distal convoluted tubules وفي المجموعة المعاملة لمدة أسبوع لم تظهر تغيرات واضحة في قشرة الكلية بينما ظهرت مادة حامضية (ايوسينية) الاصطباغ داخل تجايف بعض الأنبيبات القاصية الملفوفة في المجموعة المعاملة لمدة أسبوعين (شكل 4). يوضح (شكل 5) التركيب الطبيعي لنخاع الكلية Renal medulla المأخوذ من أرناب المجموعة الضابطة، حيث ظهرت الأنبيبات الجامعة Collecting tubules مبطنه بخلايا مكعبة ذات أنوية كروية، فى حين أظهرت كلى الأرناب في المجموعتين المعاملتين بالهيدروكورتيزون ظهور مادة حامضية الاصطباغ داخل تجايف بعض الأنبيبات الجامعة، وزيادة مدة المعاملة ازداد انتشار هذه المادة في كلى المجموعة المعاملة بالهيدروكورتيزون لمدة أسبوعين علاوة على ظهور فجوات في سيتوبلازم العديد من الخلايا المبطنه للأنبيبات الجامعة (شكل 6). وتم مشاهدة نفس التغيرات النسيجية المرضية في كلى الأرناب التي تم إيقاف المعاملة فيها بالهيدروكورتيزون فجأة، وكذلك المجموعة التي تم إيقاف معاملة تدريجياً ولكن ظهرت هذه التغيرات بصورة أخف في المجموعة الأخيرة، كما قلت الفجوات داخل الخلايا المبطنه للأنبيبات الجامعة كما

هرمونات القشرانيات السكرية تسبب حجز الماء، وأضاف (Boykin وآخرون، 1978) أن الكورتيزول يعمل كهرمون مضاد لإدرار البول Antidiuretic hormone. أشارت نتائج هذه الدراسة إلى زيادة في وزن الأرناب ولكنه غير معنوي مقارنة بالمجموعة الضابطة. من المعروف أن الهرمونات الاستيرويدية تسبب احتباس السوائل في الجسم.

إن الإفراز المفرط للقشرانيات السكرية يسبب مرض كوشنج (Cushing's disease) ويسبب هذا المرض التعب وفقدان كتلة العضلة نتيجة للتحويل المفرط للأحماض الأمينية إلى الجلوكوز وإعادة توزيع دهون الجسم مسبباً ما يسمى بالوجه القمري أو الوجه الذي يشبه القمر Moon Face. بالرغم من أن السبب غير معروف إلا أنه تم اقتراح أن هذه السمنة ناتجة من التحفيز المفرط لاستهلاك الغذاء بحيث يصبح إنتاج الدهون في بعض الأنسجة أسرع من تحللها في تلك الأنسجة (Negi, 2009). كما أن للاستيرويدات تأثيراً على تراكم الدهون خصوصاً في الخلايا العظمية (Kawai وآخرون، 1985)، وقد لوحظ بالعين المجردة بعد ذبح الحيوان ازدياد كمية النسيج الدهني حول الكبد والكلى في المجموعة المعاملة بالتدرج، وأفاد (Kawai وآخرون، 1985) أن الهرمونات الاستيرويدية تؤدي إلى الكبد الدهني Fatty liver في أربعة أسابيع.

أوضحت نتائج هذه الدراسة ارتفاعاً في مستوى اليوريا في مصل دم الأرناب المعاملة لمدة أسبوع، وأدت في الأرناب المعاملة لمدة أسبوعين إلى انخفاض معنوي. وعلى العكس من ذلك فإن مستوى اليوريا، كان ضمن النطاق الفسيولوجي الطبيعي، ولم يتأثر بالمعالجة بالجلوكورتيكويد في أي من الحيوانات المعالجة (Abraham وآخرون، 2005)، وربما تعود الزيادة في مستوى اليوريا في دم الأرناب المعاملة بالهيدروكورتيزون إلى التأثيرات الجانبية للدواء على نسيج الكلى. وتعضد دراستنا الحالية هذا التعليل وأظهر الفحص النسيجي لكلية الأرناب المعاملة حدوث انسداد لتجاويف بعض الأنبيبات الكلوية في أماكن متفرقة من القشرة والنخاع بواسطة مادة حامضية الاصطباغ، علاوة على ظهور فجوات في سيتوبلازم العديد من الخلايا المبطنة للأنبيبات الجامعة،



شكل (6) قطاع في النخاع الكلوي لأرناب معاملة لمدة أسبوعين يوضح ظهور مادة حامضية الاصطباغ (A) داخل تجاويف بعض الأنبيبات الجامعة وظهور فجوات (V) في سيتوبلازم الخلايا المبطنة لهذه الأنبيبات صبغة (H&E) 400×.

المناقشة

لقد أدى حقن الأرناب بعقار الهيدروكورتيزون إلى كثرة التبول كما لوحظ بالعين المجردة بعد ذبح الحيوان انتفاخ في المثانة البولية ولكن في هذا البحث لم نلاحظ العطش الشديد. تتفق هذه المشاهدات مع (Baas وآخرون، 1984)، الذين لاحظوا أن الآثار المترتبة على زيادة الكورتيزول في وظائف الكلى في الكلاب هي زيادة كمية البول بنسبة 23% وزيادة معدل الترشيح الكبيبي. وأفاد زايد وتوني (1998) أن لهذه الهرمونات تأثيراً مدرراً للبول في حالة احتفاظ الجسم بالماء لأن لها فعلاً مضاداً للهرمون المضاد لإدرار البول على الكلية، وتعمل على سحب السوائل من الخلايا إلى خارج الخلايا والدم. ومن المثير للاهتمام أن بعد إعطاء الجرعة العلاجية من ديكساميثازون لمدة 3 أسابيع لاحظ الباحثون كثرة التبول Polyuria وعطشاً شديداً Polydipsia خلال فترة العلاج بأكملها (Abraham وآخرون، 2005)، ومع ذلك فإنه بعد إيقاف العلاج بالديكساميثازون فقد توقفت حالة كثرة التبول والعطش بعد 7 أيام واعتبر الباحثون أن هذه الملاحظات علامة من علامات الشفاء بعد التوقف عن العلاج (Abraham وآخرون، 2005). في حين لاحظ (Parker وآخرون، 2003) أن إعطاء الكورتيزول يؤدي إلى زيادة التبول، ولكن ليس له تأثير على شرب الماء، وعلى النقيض من ذلك فقد قرر زايد وتوني (1998) أن

في تركيز أيونات البوتاسيوم بعد المعاملة لمدة أسبوع، وعادت هذه الأيونات إلى معدلها الطبيعي بعد أسبوعين من المعاملة. تعمل الجرعة المتزايدة من الكورتيزول على حجز وإبقاء الصوديوم داخل الجسم وطرح البوتاسيوم. يؤدي استمرار إعطاء هذه الجرعة العالية إلى الخبز Edema وزيادة الصوديوم ونقص البوتاسيوم في الدم والقلع الأيضي Metabolic alkalosis (محيي الدين وآخرون، 1990). ويتجلى الضعف في وظائف الأنبيبات الكلوية في اضطراب التفاعل مع الإلكتروليتات والذي يمكن أن يؤدي إلى زيادة امتصاص الصوديوم (Smets وآخرون، 2010)، وعلى النقيض من ذلك فقد أشار (Baas وآخرون، 1984) إلى أن تركيزات الصوديوم والبوتاسيوم في البلازما قد انخفضت نتيجة لزيادة الكورتيزول في الكلاب.

وجد (Parker وآخرون، 2003) أن إعطاء الكورتيزول يقلل من إخراج الصوديوم؛ ولكنه ليس له تأثير على مستوى الإلكتروليتات في البلازما. وأفاد نفس الباحثين أن فقد الماء يؤدي إلى زيادة تركيز الصوديوم في البلازما. وأكد (Müller and O'Connor 1958) أن الكورتيزول يساعد على إخراج البوتاسيوم بواسطة الكلية. ومن جهة أخرى فقد وجد (Abraham وآخرون، 2005) أن نسبة الشوارد (الألكتروليتات) كانت ضمن النطاق الفسيولوجي الطبيعي، ولم تتأثر بالمعالجة بالجلوكورتيكويد في أي من الحيوانات المعالجة. وعلى مستوى الفحص النسيجي للكلية فقد أدت المعاملة بالعقار إلى ظهور مادة حامضية (إيوسينية) الاصبغ Acidophilic (eosinophilic) material داخل تجاويف بعض الأنبيبات الكلوية في كل من القشرة والنخاع الكلوي. وتم وصف هذه المادة بواسطة شيفيل (1982) على أنها قوالب زجاجية Hyaline casts .

كما تم تفسير وجود هذه المادة على أنها بروتين مخاطي Mucoprotein نتيجة لنخر الأنبيبات الكلوية وزيادة نفاذية الشعيرات الدموية المكونة للكبيبة (Jubb 1985). في حين تم تفسيره بواسطة (Levenson وآخرون، 1982) على أنها مادة بروتينية Proteinaceous material نتيجة لزيادة تدفق البروتين إلى الراشح الكبيبي ثم تجميعه خارج الكبيبة،

وهذا مع العلم بأن القصور في وظائف الكلى يسبب احتجاز مكونات البلازما التي تخرج بواسطة الكلية مثل اليوريا (Carlton وآخرون، 1995). وللکورتيزول تأثير مباشر على إخراج أيونات الهيدروجين عن طريق الكلى؛ وهذا لتحفيز إخراج أيونات الأمونيا من خلال تثبيط إنزيم جلوتامينيز الكلوي (Tai Renal glutaminase enzyme) وآخرون، 1981). ولهذه الهرمونات تأثير مدر للبول لأن لها فعلاً مضاداً للهرمون المضاد لإدرار البول Antiduretic hormone (ADH) على القنوات الجامعة Collecting ducts، مما أدى إلى تناقص إعادة امتصاص الماء واليوريا، وربما أدى هذا التناقص في إعادة امتصاص اليوريا إلى قلة دوران اليوريا في النخاع الكلوي، وبناء عليه انخفاض تركيز اليوريا في الدم بعد أسبوعين (Baas وآخرون، 1984)، إن الزيادة في تركيز الأحماض الأمينية في البلازما وزيادة نقل الأحماض الأمينية إلى خلايا الكبد بواسطة الكورتيزول قد تجعل خلايا الكبد تزيد من عملية إزالة المجموعة الأمينية Deamination من الأحماض الأمينية وبالتالي زيادة الأمونيا واليوريا (Negi, 2009). تبين الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي في الكرياتينين في مصل الأرناب المعاملة لمدة أسبوع ثم رجوعها إلى معدلها الطبيعي في الأسبوع الثاني.

يتم إنتاج الكرياتينين في الكبد من Methionine و Glycine و Arginine. في العضلات الهيكلية تتم فسفرة إلى Creatinephosphate، الذي هو عبارة عن مخزون مهم للطاقة لإنتاج ATP. وبما أن للقشرانيات السكرية تأثيراً على هدم البروتينات في خلايا الجسم وخصوصاً خلايا العضلات وطرحها في البلازما فمن المتوقع ملاحظة زيادة في معدل الكرياتينين في الدم. وهذا يتفق مع (Mandal 2007) الذي لاحظ أن للقشرانيات السكرية تأثيراً على تقليل محتوى البروتين والكرياتينين في عضلات الجرذان وبالتالي انطلاقها إلى الدم. سجل في هذه الدراسة ارتفاع معنوي في تركيز أيونات الصوديوم بعد أسبوع من المعاملة، إلا أن المعاملة لمدة أسبوعين أدت إلى ارتفاع تركيز هذه الأيونات لكن هذا الارتفاع لم يصل إلى المعنوية عند المقارنة بالمجموعة الضابطة. كما أشارت النتائج إلى وجود ارتفاع

ونخرية Necrotic changes في العديد من الخلايا المكونة لهذه الأعضاء. وقد تنعكس هذه التغيرات على وظائف هذه الخلايا؛ مما قد يؤدي إلى نقص وعوز في أدائها وكفاءتها. وبناء عليه لا بد أن يوضع في الاعتبار المضاعفات التي ربما قد تنتج في وظائف بعض الأعضاء أثناء العلاج بواسطة الجلوكوكورتيكويد والتي يجب أن ينظر إليها خلال عمليات المعالجة لحماية صحة الإنسان من آثارها، بالرغم من أن إفراز الكورتيكوزون كاستجابة للضغط هو وظيفة طبيعية، إلا أن إفراز الكورتيكوزون لفترات طويلة بسبب التوتر المزمن ربما يؤدي إلى تغيرات فسيولوجية معنوية. وهذا ما قد تسببه الجلوكوكورتيكويدات والتي تعتبر إحدى هذه الضغوط ولها آثار جانبية واسعة.

المراجع

- زايد. عبد الله عبد الرحمن محمد و توني محمد خلف. (1998). علم وظائف الأعضاء الغدد الصماء والهرمونات، الطبعة الأولى، منشورات جامعة عمر المختار، ليبيا، 51-63.
- خليل، محمد مدحت حسين. (1997). علم الغدد الصماء، مكتبة المدينة- العين -الإمارات العربية المتحدة، جامعة الازهر، 177-233.
- خليل، محمد مدحت حسين. (2005). فسيولوجيا الحيوان، الطبعة الثانية، دار الكتاب الجامعي، العين، الإمارات العربية المتحدة، 429-463.
- خليل، محمد مدحت حسين. (2012). فسيولوجيا الإنسان، الطبعة الأولى، دار الكتاب الجامعي، العين، الإمارات العربية المتحدة، 379-446.
- شيفيل نورمان. (1982). أمراض الخلية . ترجمة . غياث صالح محمود . (1997). الطبعة الأولى . مطبوعات جامعة الموصل . العراق .
- محيي الدين . خير الدين؛ وليد حميد يوسف و سعد حسين توحلة. (1990). فسلجة الغدد الصم والتكاثر في

وهذا ربما يسبب ضيق أو انسداد الحيز المحفظي. وقد أكد Carlton) وآخرون، 1995) أن كمية كبيرة من بروتين البلازما ترشح خلال حاجز الترشيح الكبيبي المتضرر وبفوق ذلك كمية البروتين الممتصة. وفي الجهة الأخرى اعتبر (DiScala وآخرون، 1967) أن هذه المادة عبارة عن وذمة، وفي الجرذان والكلاب والأغنام يزداد كل من معدل الترشيح الكبيبي وتدفق الدم الكلوي Renal blood flow بواسطة الجلوكوكورتيكويدات (McDougall وآخرون، 2000)، وأكد (Smets وآخرون، 2010) أن الجلوكوكورتيكويدات تؤثر على وظيفة الكلى بشكل غير مباشر من خلال التأثير على الجهاز القلبي الوعائي، ومباشرة عن طريق تأثيرها على وظائف الكبيبات والأنبيبات الكلوية؛ وإنها تسبب زيادة معدل الترشيح الكبيبي في الإنسان والأغنام والجرذان والكلاب. وعلى النقيض من كل ذلك فقد أقر (Cassano وآخرون، 1964، Katz وآخرون، 1975) أن هذه المادة تتواجد نتيجة ترسيب عديدة السكريات المخاطية Mucopolysaccharides كما أنها تعتبر مسؤولة عن نقص الراشح الكبيبي والتغيرات الأخرى في وظائف الكلى.

الخلاصة

من خلال هذه الدراسة التي تضمنت اختبار تأثير عقار الهيدروكورتيزون سكينات الصوديوم على كل من وظائف الكلى وكذلك على التركيب النسيجي للكلى في الأرانب البيضاء نجد أنه من الضروري الإشارة إلى أهم الاستنتاجات والتوصيات وهي: أن المعاملة بالهيدروكورتيزون سكينات الصوديوم في الأرانب قد أدت إلى ارتفاع معنوي في تركيز كل من اليوريا، الكرياتينين، البروتين الكلي، الألبومين، أيونات الصوديوم و البوتاسيوم، وهذا قد يشير إلى احتمال عواقب سلبية للجلوكوكورتيكويدات. ؛ لذا ينبغي أن يستخدم الهيدروكورتيزون في المجالات الطبية بحذر وتحت احتياطات وقيود. ويجب موازنة الفوائد والضرر الذي يمكن أن ينتج عن ذلك في عملية الاتزان والثبات الداخلي Homeostasis في الجسم، في الوقت ذاته فإن الهيدروكورتيزون قد أدى إلى تأثير واضح على التركيب النسيجي للكلى، اشتملت هذه التغيرات على تغيرات تنكسية Degenrative changes

changes in mammalian testis under the effect of hydrocortisone. *Journal of American Science* 7(9):38-48.

- Gevorgyan, E., Yavroyan, Z. V., Galstyan, A., and Demirkhanyan, L. (2008). Content Of Some Phospholipid Fractions In Rat Liver Nuclei After The In Vivo Action Of Hydrocortisone AND INSULIN. *Electronic Journal of Natural Sciences* 10(1).
- Gloor, B., Uhl, W., Tcholakov, O., Roggo, A., Müller, C., Worni, M., and Būchler, M. (2001). Hydrocortisone treatment of early SIRS in acute experimental pancreatitis. *Digestive diseases and sciences* 46(10):2154-2161.
- Jubb, K. V. F. (1985). *PATHOLOGY OF DOMESTIC ANIMALS 3E*. Academic press.
- Katz, A. I., Emmanouel, D. S., and Lindheimer, M. D. (1975). Thyroid hormone and the kidney. *Nephron* 15(3-5):223-249.
- Kawai, K., Tamaki, A., and Hirohata, K. (1985). Steroid-induced accumulation of lipid in the osteocytes of the rabbit femoral head. A histochemical and electron microscopic study. *JBS* 67(5):755-763.
- Levenson, D. J., Simmons, C. E., and Brenner, B. M. (1982). Arachidonic acid metabolism, prostaglandins and the kidney. *The American journal of medicine* 72(2):354-374.
- Lipworth, B. J. (1999). Systemic adverse effects of inhaled corticosteroid therapy: a systematic review and meta-analysis. *Archives of Internal Medicine* 159(9):941-955.
- Mandal, S. K. (2007). Effect of glucocorticoid on protein and creatine content of inactivated muscle of rats.
- Mangos, G. J., Whitworth, J. A., Williamson, P. M., and Kelly, J. J. (2003). الشدييات والطيور، دار الحكمة للطباعة والنشر، الموصل، العراق.
- Abraham, G., Gottschalk, J., and Ungemach, F. R. (2005). Evidence for ototopical glucocorticoid-induced decrease in hypothalamic-pituitary-adrenal axis response and liver function. *Endocrinology* 146(7):3163-3171.
- Ali, R., Amlal, H., Burnham, C. E., and Soleimani, M. (2000). Glucocorticoids enhance the expression of the basolateral Na⁺: HCO³⁻ cotransporter in renal proximal tubules. *Kidney international* 57(3):1063-1071.
- Baas, J., Schaeffer, F., and Joles, J. (1984). The influence of cortisol excess on kidney function in the dog. *Veterinary Quarterly* 6(1):17-21.
- Bancroft, J. D., and Gamble, M. (2008). *Theory and practice of histological techniques*. Elsevier Health Sciences.
- Boykin, J., Detorrenté, A., Erickson, A., Robertson, G., and Schrier, R. W. (1978). Role of plasma vasopressin in impaired water excretion of glucocorticoid deficiency. *Journal of Clinical Investigation* 62(4):738.
- Carlton, W., McGavin, M. D., Thomson, R., and William, W. C. (1995). *Thomson's special veterinary pathology/Special veterinary pathology*.
- Cassano, C., Fabbrini, A., Andres, G., Cinotti, G., DeMartino, C., and Minio, F. (1964). Functional, light and electron microscopic studies of the kidney in myxoedema. *Eur Rev Endocrinol* 1(1-10).
- DiScala, V., Salomon, M., Grishman, E., and Churg, J. (1967). Renal structure in myxedema. *Archives of pathology* 84(5):474-485.
- Elshennawy, W. W., and Elwafa, H. R. A. (2011). *Histological and ultrastructural*

- cyclophosphamide or hydrocortisone sodium succinate. *Arthritis & Rheumatology* 23(5):539-544.
- Yarushkina, N. (2008). The role of hypothalamo-hypophyseal-adrenocortical system hormones in controlling pain sensitivity. *Neur. and Behavioral Physiology* 38(8):759-766.
- Glucocorticoids and the kidney. *Nephrology* 8(6):267-273.
- Müller, A. F., and O'Connor, C. M. (1958). An international symposium on aldosterone. Little, Brown.
- Parker, A., Hamlin, G., Coleman, C., and Fitzpatrick, L. (2003). Dehydration in stressed ruminants may be the result of acortisol-induced diuresis. *Journal of Animal Science* 81(2):512-519.
- Piffer, R., and Pereira, O. (2004). Reproductive aspects in female rats exposed prenatally to hydrocortisone. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 139(1):11-16.
- Rodrigues-Mascarenhas, S., Dos Santos, N. F., and Rumjanek, V. M. (2006). Synergistic effect between ouabain and glucocorticoids for the induction of thymic atrophy. *Bioscience Reports* 26(2):159-169.
- Smets, P., Meyer, E., Maddens, B., and Daminet, S. (2010). Cushing's syndrome, glucocorticoids and the kidney. *General and Comparative Endocrinology* 169(1):1-10.
- Tai, Y.-H., Decker, R. A., Marnane, W. G., Charney, A. N., and Donowitz, M. (1981). Effects of methylprednisolone on electrolyte transport by in vitro rat ileum. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 240(5):G365-G370.
- Tata, D. A., and Anderson, B. J. (2010). The effects of chronic glucocorticoid exposure on dendritic length, synapse numbers and glial volume in animal models: implications for hippocampal volume reductions in depression. *Physiology & behavior* 99(2):186-193.
- Walker, S. E., and Schnitzer, B. (1980). Resistance to therapy in mature Palmerston North mice treated with

Physiological and Histological Studies on the Effect of Hydrocortisone on Kidneys of Rabbits

Nura I. Al-Zail* , Abdusalam M. Aboalhaj and Zainab A. Shuaib

Zoology Department, Faculty of Science, Omar Al-Mukhtar University, Libya.

Received: 9 February 2017 / Accepted: 25 April 2017

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v32i1.126>

Abstract: This study aimed to test the effect of hydrocortisone sodium succinate drug on blood serum components and kidneys tissues in white rabbits. The experiment included 30 male rabbits weighing between 1500-2500g. They were divided into 4 control and treated groups, for different periods of time, depending on the duration of injection. Treatment of the rabbits with hydrocortisone dose of 10 mg/kg daily did not lead to change in the weights of rabbits treated for a week. Non significant increase occurred in the weights of rabbits treated for two weeks and treated gradually, but in sudden treated group a non significant decrease in rabbits weights was recorded in comparison with their weights before injection. A significant increase in the concentration of urea, creatinine, total serum protein, albumin, sodium and potassium ions after treatment for a week, but a significant reduction was noted in the concentration of urea and no significant difference was noted in the concentration of creatinine, sodium and potassium ions after treatment for two weeks. While there were a significant increase in the total serum protein and albumin after two weeks of treatment. Noting that, in the suddeny treated group, the biochemical parameters did not change compared to that present in the two weeks treated rabbits. While, in the gradually treated group, most of the biochemical parameters returned to their normal values. Histological examination of the renal cortex showed acidophilic material accumulated in the lumina of some distal convoluted tubules in the group treated for two weeks. The renal medulla also showed the presence of the same material inside the collecting tubules in the both treated groups. With the increase of the duration of treatment; the intracytoplasmic vacuoles appeared in many of the cells lining the collecting tubules. The same histopathological changes were observed in the kidneys of rabbits that their treatment was suddenly stopped, as well as the group that their treatment was gradually stopped, but these changes became low in the last group.

Keywords: hydrocortisone, kidney, physiological, histological, rabbits.