جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

التأثيرات النسجية والكيموحيوية للمركب الأبتنائي الستيرويدي الستانوزولول على ذكور الجرذان البالغه

محمد يونس أحمد حسين آل فتحي

أطروحة دكتوراه
علوم الحياة / علم الحيوان

بإشراف

الأستاذ
الدكتورة انتصار رحيم الكناني

الأستاذ المساعد
الدكتورعمارغانم الحائك

1440هـ

2019 م

الخلاصة

صممت الدراسة الحالية لمعرفة التأثيرات العيانية والمرضية النسجية والكيموحيوية لأحد أنواع مركبات الاندروجين البنائية المتمثلة بالستانوزولول وبتراكيز وفترات مختلفة في الكبد والقلب والأبهر والعضلات لذكور الجرذان البيض من نوع Rattus norvegicus فضلا عن قياس معدل الزيادة الوزنية.

تضمنت الدراسة 144 من ذكور الجرذان البيض المختبرية قسمت عشوائياً إلى ستة رئيسية مجاميع وبواقع 24 جرذاً لكل مجموعة ، المجموعة الأولى مجموعة السيطرة حيث غذيت على الماء والعلف فقط والثانية حقنت بالستانوزولول بجرعة 10 ملغم/ كغم من وزن الجسم والثالثة فقد حقنت بالستانوزولول بجرعة 10ملغم/ كغم من وزن الجسم مع Vit. E 600 ملغم/ كغم من وزن الجسم جرعت فمويا ،والرابعة حقنت بالستانوزولول25 ملغم/ كغم من وزن الجسم والخامسة بالستانوزولول بجرعة 25ملغم/ كغم من وزن الجسم مع Vit E 600 ملغم/ كغم من وزن الجسم اما المجموعة السادسة جرعت بفيتامين E 600 ملغم/ كغم من وزن الجسم فمويا وحقنت جميع المجاميع بالعضلة لمدة اربعة وثمانية اسابيع وتركت اربعة اسابيع بدون معاملة، تم القتل الرحيم من الاسبوع الرابع والثامن والثاني عشر (اربعة اسابيع بعد توقف المعاملة)

أظهرت النتائج اعراض سريرية على الجرذان تمثلت بالخمول وعدم الشهية بمرور الوقت مع الجرعة المعطاة والانزواء بشكل مفرد او جماعي وحدوث انتصاب في شعر الحيوان وبطئ حركة الاقدام وتصلبها وتقارب الاطراف الأمامية مع الأطراف الخلفية. واتضحت شدتها عند الجرعة 25ملغم/كغم من وزن الجسم عند الاسبوع الثامن من المعاملة

في حين اختلفت التغيرات السريرية عند المعاملة بالستانوزولول بتركيز 10 و25 مع فيتأمين E 600 ملغم/ كغم كانت اكثر نشاطا من المجموعة المعاملة بالستانوزولول فقط وظهرت الحيوانات اكثر نشاطاً بزيادة الجرعة المعطاة إذ تناسب اعطاء فيتامين E تناسباً طردياً مع نشاط الحيوان .. ولوحظ ايضاً أن الحيوانات التي تركت مدة أربعة اسابيع بعد آخر معاملة استعادت نشاطها تدريجياً. وأظهرت نتائج المجموعة المعاملة بالستانوزولول بالجرع 10و25 ملغم /كغم من وزن الجسم حدوث انخفاض في وزن الجسم عند مستوى معنوي $p<0.05$ وفي جميع الفترات مقارنة مع مجموعة السيطرة. اما المجموعة المعاملة بالستانوزولول بالجرع 10 و25 ملغم /كغم من وزن الجسم مع فيتامين E بجرعة 600 ملغم /كغم من وزن الجسم لوحظ ارتفاع عند مستوى معنوي $p<0.05$ مقارنة مع مجموعة السيطرة وفي المجموعة السادسة المعاملة بفيتامين E فقط كان الارتفاع معنوياً عند مستوى معنوية $p<0.05$ عند الاسبوع الرابع بينما لوحظ انخفاض معنوي عند الاسبوع الثاني عشر مقارنة مع مجموعة السيطرة.

كشفت نتائج التحليل الأحصائي للأختبارات الكيموحيوية ارتفاعا معنويا لمستويات الدهون في المصل لكل من الكوليسترول الكلي والدهون الثلاثية والبروتين الدهني واطئ الكثافة والبروتين الدهني واطئ الكثافة جداً وعامل التعصد، وانخفاضاً معنوياً لمستوى البروتين الدهني عالي الكثافة في المجموعة المعاملة بالستانوزولول بالجرعتين10و25 ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجاميع الأخرى المعاملةلمدة اربعة وثمانية واثنا عشر اسبوعاً اما عند المجموعة المعاملة بالستانوزولول بجرعة 10و25 ملغم /كغم من وزن الجسم مع فيتامين E بجرعة 600 ملغم /كغم من وزن الجسم فقد اظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً لمستويات الدهون في المصل لكل من الكوليسترول الكلي والدهون الثلاثية والبروتين الدهني واطئ الكثافة والبروتين الدهني واطئ الكثافة جداً وعامل التعصد عند الفترات كافة وبمستوى معنوي $p\leq$ 0.05 مقارنة مع مجموعة السيطرة ، وانخفاضاً مقارنة المجاميع المحقونة بالستانوزولول بالجرعة10و 25 ملغم/كغم من وزن الجسم.

في حين سجلت المجموعة المعاملة بفيتامين E فقط بتركيز 600 ملغم /كغم من وزن الجسم انخفاضاً في مستوى الدهون في المصل لكل من الكوليسترول الكلي والدهون الثلاثية والبروتين الدهني واطئ الكثافة والبروتين الدهني واطئ الكثافة جدا وعامل التعصد وارتفاعاً لمستوى البروتين الدهني عالي الكثافة عند مستوى معنوي $p\leq$ 0.05 وعند اغلب الفترات مقارنة مع مجموعة السيطرة.

أظهرت نتائج الفحص النسجي للمجاميع المعاملة بالستانوزولول تغيرات عيانية ونسجية في مختلف الأنسجة، ففي الكبد تمثلت عيانياً بالتضخم والتورم الشديدين، ونسجيا للمجاميع المعاملة بالستانوزولول 10 و 25ملغم /كغم من وزن الجسم تمثلت بالتنكس الفجوي الدهني في سايتوبلازم الخلايا الكبدية مع توسع الجيبانيات واحتقانها وفقدان الشكل السوي للخلايا الكبدية لجميع المجاميع المعاملة

في حين لوحظ عند المجموعة المعاملة بالستانوزولول بجرعة 10و25 ملغم /كغم من وزن الجسم مع فيتامين E بجرعة 600 ملغم /كغم من وزن الجسم فقد ظهرت التغيرات اقل شدة التي تمثلت بتغير دهني منتشر و توسع الجيبانيات وتنكس فجوي دهني وتغلظ أنوية الخلايا الكبدية مع فقدان التركيب النسجي السوي للكبد و النخر التجلطي لبعض الخلايا الكبدية و تثخن في جدار الوريد المركزي و توسع الجيبانيات واختزال قطرات الدهن وتحولها الى الألياف.

و في القلب ظهرت تغيرات عيانية تمثلت بالتضخم والاحتقان ، ونسجيا عند المعاملة بالستانوزولول 10 و 25ملغم /كغم من وزن الجسم و التغير الدهني الشديد severe fatty changes مع احتقان الاوعية الدموية فضلاً عن وجود الوذمة بين الالياف العضلية و الخثرة في

الشريان التاجي وارتشاح الخلايا الالتهابية وحيدة النواة و التنكس الزجاجي في بعض الالياف العضلية .

وفي الأبهر اظهر الفحص النسجي في المجموعة المعاملة بالستانوزولول بجرعة 10 و 25ملغم /كغم من وزن الجسم تموضع قطرات الدهن تحت البطانة وعند الطبقة المتوسطة وتكاثر الالياف العضلية الملساء الوعائية عند الطبقة المتوسطة باتجاه البطانة و تموضع الخثرة والتصاقها مع جدار البطانة وتكاثر كل من انوية الخلايا العضلية الملساء الوعائية في الطبقة المتوسطة والالياف الكولا جينية عند الاسبوعين الرابع والثامن واستمرت هذه التغيرات حتى بعد اربعة اسابيع من توقف المعاملة وبقائها على العلف والماء.

اما عند المجموعة المعاملة بالستانوزولول 10و25 ملغم /كغم من وزن الجسم مع فيتامين E بجرعة 600 ملغم /كغم من وزن الجسم لوحظ تموضع قطرات الدهن في الطبقة الوسطانية والبرانية مع تثخن الالياف العضلية الملساء الوعائية و تكاثر الالياف الكولاجينية بين حزم الياف العضلة الملساء الوعائية وعند فجوات الدهن و تموضع للفجوة الدهنية في البطانة مع فرط تنسج وتضخم خلايا البطانة.

وفي العضلات تمثلت الأفات النسجية المرضية عند المجاميع المعاملة بالستانوزولول بالجرع 10و25ملغم /كغم من وزن الجسم بالوذمة بين الالياف العضلية مع احتقان الاوعية الدموية و النخر الزجاجي , والتجلطي في الالياف العضلية لجميع الفترات الزمنية وكانت اقل شدة عند الاسبوع الثاني عشر(بعد اربعة اسابيع من توقف المعاملة). وعند الجرع 10و 25 ملغم /كغم من وزن الجسم مع فيتامين E بجرعة 600 ملغم /كغم من وزن الجسم لوحظ ظهور الوذمة بين الالياف العضلية وتناقصت شدة التغيرات بعد ثمانية اسابيع من المعاملة وبعد اربعة اسابيع من توقف المعاملة .

أظهرت القياسات الشكلية للابهر والتي تمثلت بالغلالات الثلاثة وسمك الجدار والقطر الداخلي لابهر ذكور الجرذان المعاملة بالستانوزولول عند الجرعتين 10و25 ملغم/كغم من وزن الجسم وكذلك المجموعة المعاملة بفيتامين E بجرعة 600ملغم/كغم وجود ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية $p\leq 0.05$ وللفترات جميعها مقارنة مع مجموعة السيطرة في حين اظهرت المجموعة المعاملة بالستانوزولول 10و 25 ملغم/ كغم من وزن الجسم مع فيتامين E بتركيز 600ملغم/كغم من وزن الجسم ارتفاعاً في سمك الغلالة الداخلية والوسطى والبرانية وسمك الجدار والقطر الداخلي للأبهر في اغلب الفترات .

في حين سجلت القياسات المجهرية المعاملة بالستانوزولول بالجرعتين10و25 ملغم/كغم من وزن الجسم لقياس اقطار جيبانيات الكبد ظهور ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية

$p \leq 0.05$ وللفترات جميها مقارنة مع مجموعة السيطرة .اما عند المجموعة المعاملة بالستانوزولول 10 و25ملغم /كغم من وزن الجسم مع فيتامين E بجرعة 600 ملغم /كغم من وزن الجسم وجود ارتفاع معنوي في اقطار الجيبانيات عند اغلب الفترات مقارنة مع جرذان مجموعة السيطرة في حين كان الانخفاض معنوياً عند كافة الفترات وبمستوى معنوي $p \leq 0.05$ مقارنة مع جرذان المجموعة المعاملة بالستانوزولول بالجرعة10و 25 ملغم/كغم من وزن الجسم.

كما سجلت نتائج القياسات المجهرية عند المعاملة بالستانوزولول بالجرعتين10و25 لوحده و10و25 ملغم /كغم من وزن الجسم مع فيتامين E بجرعة 600 ملغم /كغم من وزن الجسم لأقطار أنوية الخلايا الكبدية وجود انخفاض معنوي فيها عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$ وللفترات كلها عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة ، وأظهرت نتائج المجموعة المعاملة بالستانوزولول 10و25 ملغم/ كغم من وزن الجسم مع فيتامين E بتركيز 600ملغم/كغم من وزن الجسم وكذلك المجموعة المعاملة بفيتامين E بتركيز 600ملغم/كغم ارتفاعاً في اقطار انوية الخلايا الكبدية للفترات جميعها وبمستوى معنوي $p \leq 0.05$ مقارنة مع المجاميع المعاملة بالستانوزولول بالجرعة10و25 ملغم/كغم من وزن الجسم.

Abstract

This study was designed to investigate the histopathological and biochemical effects anabolic androgenic steroids(stanozolol)at different concentrations and intervals in male rats.

The study included 144 male white rats randomly divided into six groups of 24 rats per group. The control group was left on water and feed only, the 2nd group treated with stanozolol 10 mg / kg body weight. 3rd group treated with stanozolol 10 mg / kg body and E 600 mg / kg body weight and the 4th group treated with stanozolol 25 mg / kg body weight .The 5th group treated with stanozolol 25 mg / kg body weight with Vit E 600 mg / kg body weight and the 6th group treated with vitamin E 600 mg / kg body weight, all groups were treated for 8 weeks. Euthanasia was performed at 4, 8, and 12 weeks (4 weeks after cessation of treatment). The injection was given by intramuscular injection, clinical signs were observed on the treated rats and the mean of weight increase was measured. Blood samples were collected to achieve the biochemical analysis. Eight samples of each of liver, heart, aorta and muscle were collected from all groups.

The appeared clinical signs represented by depression and anorexia in male rats were shown with the dose given and time progress , single or collective faintness, fluffy hair, slow motion, stiffness, and the front limbs were close to the posterior limbs. The intensity was determined at the concentration of 25 mg / kg body weight at week 8 of the treatment and then complete obedience by the animal. It was also observed that the rats treated with stanozolol at a concentration of 10 and 25 with vitamin E 600 mg / kg were less indolence than the previous treated groups with stanozolol only and decreased the rate of inactivity by increasing the dose given

where there was a direct proportion between vitamin and the activity of the animal .. The animals left for 4 weeks After the last treatment were gradually recovered.

The treated group with 10 and 25 mg / kg body weight showed a decrease in body weight at a significant level at $p < 0.05$ and in all periods compared to control group. The group treated with 10 mg and 25 mg / kg body weight with vitamin E at a dose of 600 mg / kg body weight was found to be significantly higher at $p < 0.05$ compared with control group and in group 6 which treated with vitamin E only the increase was significant at $p < 0.05$ At the fourth week while significant decrease was observed at week 12 compared with control group.

The results of the biochemical tests showed a significant increase in serum lipid profile levels for total cholesterol, triglycerides, lipoproteins, low density lipoprotein, very low density and reagent factor, and significant decrease in high-density lipoprotein in the group treated with stanozolol with concentrations 10 and 25 mg / kg bw in comparison with control and other groups in periods 4, 8 and 12 weeks of treatment. The group of rats treated with 10 mg and 25 mg / kg body weight with vitamin E at a dose of 600 mg / kg body weight showed a significant increase in serum lipid levels for total cholesterol, triglycerides, , low density lipoproteins, very low density lipoproteins and atherogenic index at all Periods and at a significant level at $p < 0.05$ compared with control group rats, while showed significant decrease when compared with the treated group with 10 mg and 25 mg / kg bw. The group of rats treated with vitamin E at a concentration of 600 mg / kg body weight showed a decrease in serum lipid level for total cholesterol, triglyceride, low fat lipoprotein, low fat density, high density lipoprotein and atherogenic index while it showed increase in high HDL level at p 0.05 0.05 at most periods when compared to control group.

Histopathologically, all groups treated with stanozolol showed gross and histopathological changes in different tissues, i n the liver, the results showed an obvious swelling. The histological sections of the group of rats treated with stanozolol 10 and 25 mg / kg body weight showed fatty vascular degeneration in the cytoplasm of hepatocytes with the expansion and congestion of the hepatic sinusoids and loss of normal shape of hepatocytes in all treated groups and periods . The group of rats treated with stanozolol 10 and 25 mg / kg body weight with vitamin E at a dose of 600 mg / kg body weight showed mild changes, which was characterized by the presence of diffuse fatty change and expansion of sinusoids and vacuolar degeneration of hepatocytes and karyopicnosis with the loss of normal tissue structure of the liver And the coagulative necrosis of some hepatic cells, thickening of the central vein wall, expand ed sinusoides and reduce lipid droplets and replace them with fibers.

The gross pathological changes in the heart represented by hyperatrophy and congestion,. the histological sections of the groups of rats treated with stanozolol 10 and 25 mg / kg body weight and showed sever fatty change with congestion of blood vessels as well as the accumulation of edema between muscle fiber and presence thrombosis in the coronary artery and infiltration of inflammatory Mononuclear cells and hyaline degeneration in some muscle fibers .

In the aorta, the histological sections of the group of rats treated with stanozolol 10 and 25 mg / kg body weight showed histological changes, such as the placement of lipid droplets under the endothelium and at the middle layer of aorta, the proliferation of the smooth muscle fibers in the middle layer towards the endothelium and the placement of the thrombus and adhesion with the endothelium and increase number of nuclei of the vascular smooth muscle cells in the middle layer

and nuclei of collagen fiber at week 4 and 8. These changes continued even after leaving the animals for 4 weeks on feed and water only after the last dose and all the doses used. The group of rats treated with stanozolol 10 and 25 mg / kg body weight with vitamin E at a dose of 600 mg / kg body weight was observed to place lipid droplets in the middle and outer layer with thickened vascular smooth muscle fibers and the proliferation of collagen fibers between vascular smooth muscle bundles and lipid gaps and placement of the fatty gap in the endothelium with hyperplasia and enlargement of endothelial cells.

In muscle, the histological sections of the group of rats treated with stanozolol 10 and 25 mg / kg bw showed an edema between muscle fiber with vascular congestion and hyaline necrosis, coagulative necrosis of muscle fiber at all periods and less intensity at week 12 (after 4 weeks of cessation of Treatment). The histological sections of rats treated with stanozolol 10 and 25 mg / kg body weight with vitamin E at a dose of 600 mg / kg body weight showed clear edema between muscle fiber and after 8 weeks of treatment the edema was observed less between muscle fiber and four weeks after treatment stopped (At the twelfth week), lesions were less severe by the appearance of edema between muscle fibers.

The micromorphometrical measurements of the aorta which were the thickness of the wall and the internal diameter of aorta of male rats treated with stanozolol with concentrations 10 and 25 mg / kg bw and the group treated with vitamin E at a concentration of 600 mg / kg showed a significant increase and for all periods when compared with control group, The group treated with 10 and 25 mg / kg body weight with vitamin E at a concentration of 600 mg / kg body weight showed increased the thickness of the inner, middle and outer layers, and wall thickness and the inner diameter of the aorta in most periods.

The results of microscopic measurements of male rats treated with stanozolol with concentrations of 10 and 25 mg / kg bw showed a significant increase in the diatoms of the liver sinusoids and for all periods when compared with the control group. The group of rats treated with stanozolol 10 and 25 mg / Body weight with vitamin E at a dose of 600 mg / kg body weight showed significant increase in the diameters of the liver sinusoids during most periods compared to control group rats. The decrease was significant at all periods and at a significant compared to the rats treated with 10 and 25 mg / kg body weight.

Results of microscopic measurements of male rats treated with stanozolol with concentrations 10 and 25 mg / kg body and 10 and 25 mg / kg body weight with vitamin E at a dose of 600 mg / kg body weight on hepatic cell nuclei showed a significant reduction in nuclei diameters and for all periods when compared with control group The group treatment with 10 mg and 25 mg / kg body weight stanozolol with vitamin E at a concentration of 600 mg / kg bw and the group treated with vitamin E at a concentration of 600 mg / kg showed increase in hepatic nuclei diameters at all periods compared to the rat treated with stanozolol with a concentration of 10 and 25 mg / kg body weight.

This study concluded that stanozolol at doses of 10 and 25 mg / kg body weight during periods 4, 8 and 12 days had a direct effect on the tissues of the male rats body and continued even after the interruption of treatment for 4 weeks which fed on water and feed only accompanied by changes in the level of liver functions and aorta These changes were progressive.

University of Mosul
College of Education
For Pure Sciences

The Histopathological and Biochemical effects of Anabolic Steroid Stanozolol on adult Male Rats

Mohammed Younis Ahmed Al- Fathe

PH.D Thesis

Biology / Zoology

Supervised by

Prof.
Dr. Entisar Raheem Al-Kennany

Assist. Prof.
Dr.Ammar Ghanim Al-Haaik

2019 (A.D.)

1440 (A.H)