

The Cytogenetic Effects of Dexamethazone Drug Sperm on Musmusculus

Safa S. Salman

College of Biotechnology, University of Sammara/ Iraq.

Amer H. Abbas

Applied of Science Department, University of Technology\Bagdad

Dr. Abbas A. Mohammad

Applied of Science Department, University of Technology\Bagdad

Received on:14/9/2015 & Accepted on:22/6/2016

ABSTRACT

The aim of this study was to detect the cytogenetic effects of Dexamethazone drug by using head sperm abnormalities test on white mice (*Musmusculus*) fifty five male mice were used in this study, these animals were divided into five groups. The first was the negative control group while the second was treated with MMC as positive control, and the three groups (45 mice) treated with three doses (0.02, 0.04, 0.08mg/kg.bw) from dexamethasone drug. The result refer that the dexamethasone cause increasing in many kind of head sperm abnormality ($p < 0.01$). Which indicate the high side effect of this drug on germ cells so we can conclude that this drug may permanently sterilize in the mice.

Keywords: Dexamethazone, head sperm abnormalities, mice.

التأثيرات الوراثية الخلوية للعقار Dexamethazone على نطف الفئران المختبرية

الخلاصة

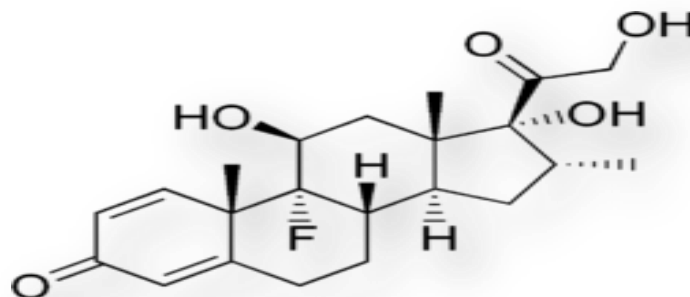
هدفت هذه الدراسة للكشف عن التأثيرات الوراثية الخلوية للعقار Dexamethazone من خلال اختبار التشوهات في رؤوس النطف للفئران البيض (*Musmusculus*) استخدمت (55) فأراً ذكراً قسمت الى خمس مجاميع المجموعة الاولى (5) فئران أعتبرت كسيطرة سالبة (أعطيت الماء المقطر) والمجموعة الثانية (5) فئران أعتبرت كسيطرة موجبة عوملت بالماده المسرطنة المايتومايسين سي في حين قسمت الباقية الى ثلاث مجاميع عوملت كل مجموعة (15) فأراً بالتراكيز التالية (0.02، 0.04، 0.08) ملغم/كغم من وزن الجسم وجرى اختبار التشوهات في رؤوس النطف للفئران (7، 21، 35) يوم بعد التجريع وقد أظهرت النتائج زيادة حصول التشوهات في رؤوس النطف بأنواعها المختلفه مقارنة بالعينة القياسية. (الاحتمالية $p < 0.01$) مما يشير الى التأثير الجانبي السلبي للعقار على الخلايا الجنسية، والتي يمكن أن تؤدي الى حالات عقم في الفئران.

المقدمة:

ينتمي عقار الدكساميثازون الى فئة العقاقير الهرمونية والمثبطة للهرمونات (Hormone antiagonists) وهو هرمون سترويديم القشريات السكرية (Glucocorticoid steroids) ومثيل للهرمونات الستيرويدية التي تنتجها قشرة الغدد الكظرية بالجسم، وله اسماء تجارية عديدة اهمها ديكادرون Decadron، ديكسازون Dexasone و هيكسادرول Hexadrol [1].

الصيغة الكيميائية الجزيئية $C_{22}H_{29}FO_5$ ، الكتلة الجزيئية النسبية (غم/مول) 392.461g/m

الصيغة التركيبية



يستخدم عقار الدكساميثازون في مجال الطب بشكل واسع أهمها حالات التحسس الشديد، الأمراض الجلدية، الصدف، الحزاز، أمراض الجهاز التنفسي، الروماتيزم، أمراض الغدد والكلى حيث ثبت تأثير الفعل التنشيطي للدكساميثازون في فعالية الخلايا الظهارية Epithelial cell في النبيت الكلوية [2] Renal tubular يستخدم بشكل شائع لزيادة الوزن.

اثبتت الدراسات ان الجرعة العلاجية العالية تؤدي الى اصابة الحيوانات بارتفاع سكر الدم ونقص الكوليستيرول والكاربوهيدرات وكذلك الدهون [3,4] وتسبب القشريات السكرية اضطراباً في ايض فيتامين D وأيون الكالسيوم من خلال تثبيط امتصاصهما في الأمعاء وزيادة الافراز عن طريق الكلى وله تأثيرات جانبية عديدة أهمها احتباس الماء وارتفاع ضغط الدم وتخلخل العظام واضطرابات عصبية وظهور طفح جلدي تحسسي وعدم انتظام الدورة الشهرية وزيادة الشهية وزيادة الوزن كذلك كثرة الاستعمال يسبب ضعف المبايض وقلة النطف [5].

هناك العديد من الأدوية والعقاقير الطبية لها تأثيرات جانبية فعلى سبيل المثال لا الحصر يؤثر عقار Cyclophosphamide المستخدم في علاج بعض السرطانات على الدنا DNA ويعمل على حصول كسور في أشرطة الدنا DNA وبالتالي تعيق عمليات الانقسامات الخلوية [6,5]، كما وجد محمد وجماعتها العقار ميثوتريكسات Methotrexate الذي يستخدم بشكل واسع لمرضى سرطان المثانة يؤثر على نطف الفئران المخبرية [7]، كما وجد الجنابي [8] تأثير سمي خلوي ووراثي للعقار "Sustanon" 100 في النطف للفأر المختبري *Mus musculus*.

المواد وطرائق العمل:

تم الحصول على عقار Dexamethasone من الصيدليات ببغداد أنتاج Douglas pharmaceuticals Ltd الكندي يعطى العقار عن طريق الحقن تحت الغشاء البريتوني ويتم حقن كل فأر بـ 0.1ml يومياً. حضر المحلول بتركيز ثلاث وهي (0.02، 0.04، 0.08) ملغم / كغم من وزن الجسم.

الحيوانات:

تم الحصول على 55 ذكراً من الفئران المخبرية *Mus musculus* ضرب Balb/c من البيت الحيواني/فرع التقنيات الأحيائية/قسم العلوم التطبيقية الجامعة التكنولوجية بمعدل وزن 27±2 غم وبعمر (8-12) أسبوع، وجرى تربيتها واعطيت الماء والعليقة المتكاملة طيلة فترة اجراء التجربة.

قسمت الفئران الى خمسة مجاميع وهي: المجموعة الأولى ضمت (5) فئران أعدت كسيطرة سالبة، والمجموعة الثانية ضمت (5) فئران عوملت بـ (MMC Mitomycin-C) (بتركيز 2 ملغم/كغم شربت بعد اليوم الثاني في حين قسم (45) فأراً الى ثلاث مجاميع، كل مجموعة (15) فأراً، المجموعة الأولى جرعت بـ 0.02 ملغم/كغم من وزن الجسم والمجموعة الثانية جرعت بـ 0.04 ملغم/كغم من وزن الجسم، والمجموعة الثالثة جرعت بالتركيز 0.08 ملغم/كغم من وزن الجسم من العقار المستعمل، تم الحصول على النطف بعد الأيام (7، 21، 35) يوم من اعطاء العقار. اعتمدت طريقة Wyrobek و [9] Bruce للحصول على النطف، كما جرى التحليل الأحصائي ومقارنة البيانات الحاصل عليها بإيجاد المتوسط والخطأ القياسي للمجاميع الخمسة وباستخدام t-test ثم إيجاد قيمة أقل فرق معنوي وعلى مستوى 5%.

النتائج والمناقشة :

درس تأثير عقار Dexamethasone المستخدم بشكل واسع من قبل الشباب لزيادة السمنة للكشف عن التأثيرات الوراثية الخلوية من خلال قياس معدل التشوهات في رؤوس النطف في الفئران المختبرية بتركيز الثلاث (0.02، 0.04، 0.08) ملغم/كغم من وزن الجسم للمدد 7، 21، 35 يوم من المعاملة ، والممثلة بالتشوهات وهي أنتفاخ الرأس Swollen head وانحراف قمة كلاب الرأس Apical hook defective ومعيوب الجسم الطرفي A cromosome defective ونطف فاقدة كلاب الرأس Blunt hook وتشوهات أخرى متباينة شكل (1) يظهر بعض تلك التشوهات ، أد بينت النتائج وجود تغير غير طبيعي في أشكال رؤوس النطف للفئران المعاملة بالعقار حيث يتضح من جدول (1) وجود زيادة في معدل التشوهات المستحثة من قبل العقار في نطف الفئران المعاملة بالعقار مقارنة بالعينة القياسية السالبة والموجبة ، وذلك بعد أسبوع من الحقن بالعقار مما يعني تأثير العقار على النطف في مرحلة طلائع النطف Spermatids .

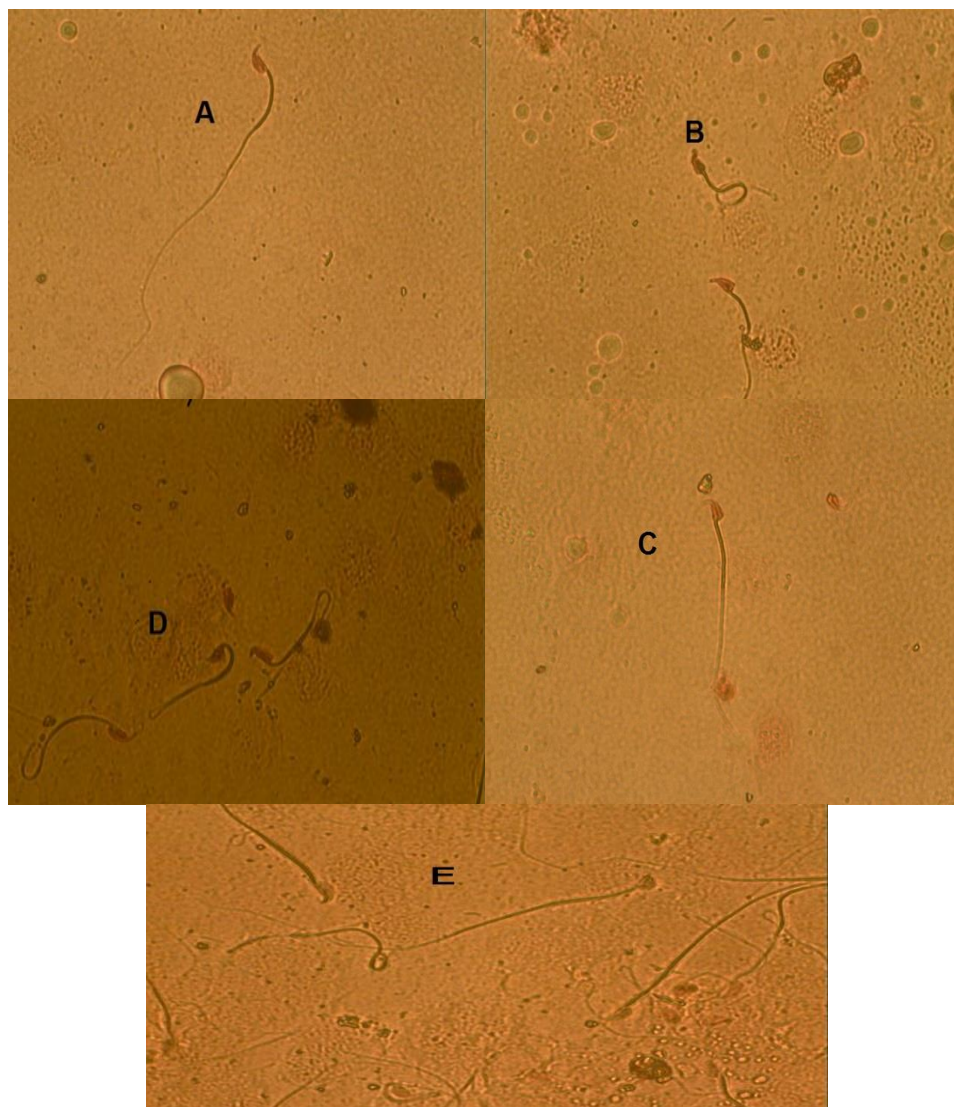
أما جدول (2) يظهر تأثير العقار بعد ثلاث أسابيع من المعاملة والتي تشير الى تأثير العقار على الخلايا الأمية Spermatocytes ، وكان أعلى تأثير بشكل رأس منتفخ وانحراف قمة كلاب الرأس ، مما يعني أن العقار او نواتجة الوسيطة قد أثرت بشكل كبير على الخلايا الأمية للنطف والتي تتميز بدرجة أساسية الخلايا النطفية الأولية Primary spermatocytes والخلايا النطفية الثانوية Scondary spermatocytes والتي كانت أكثر حساسية وتأثراً بالعقار، أن هذه النتائج تتفق مع دراسة أحمد وجماعته [10] والجناي وجماعته [8] عند تعريض الفئران للعقار " 100 Sustanon وللمادة المسرطنة سايكلوفوسفوامايد Cyclophosphamide والمستخلص الكحولي لنبات الشبنت Dill [11] .

جدول (3) يظهر مدى تأثير العقار على الخلايا سلف الخلايا النطفية Spermatogonia وذلك بعد (35) يوم من المعاملة . أن هذه الخلايا تعتبر مصدر الخلايا الجنسية وهي حساسة جداً للعقار المستخدم في الدراسة الحالية ، وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه من تأثير للمادة المسرطنة المايتوماسين سي والمعتمدة في علاج بعض السرطانات [12] . لقد وجد أن الدوائين Diazepam و Nitrazepam لهما تأثير سلبي من خلال زيادة معدل التشوهات لرؤوس النطف في الفئران بعد الأسبوع السادس من المعاملة [13]

أن عملية تكوين النطف وتحديد الشكل العام يخضع لسيطرة وتنظيم وراثي ناتج من تأثير لعدد من الجينات ، لقد وجد الجناي وجماعته أن حصول تغيرات كروموسومية للهيئة Karyotype يقترن مع زيادة معدل التشوهات لرؤوس النطف للفئران ضرب Balb\c عند تعرضها لبعض المواد الكيميائية [11] .

لقد أكد تحليل التباين وجود فرق معنوي بمستوى ($P < 0.05$) لجميع حالات التشوهات للمعاملات الثلاث ، كما أظهر التداخل ما بين التركيز وفترة المعاملة وجود فرق معنوي بمستوى ($P < 0.01$) .

أنتائج الدراسة الحالية تشير الى وجود علاقة بين زيادة التركيز وزيادة معدل التشوهات المدروسة ، كما أظهرت فترة (21، 35) يوم من المعاملة أعلى معدل للتشوهات لجميع الحالات المدروسة ، مما يعني أن العقار يؤثر على مرحلة الخلايا Spermatogonia وهي المرحلة التي تحتوي على الخلايا النطفية الأولية والثانوية Primary & secondary spermatocytes ، وهذه النتائج تتفق مع دراسة [12] ، كما أظهرت النتائج أن التركيزين (0.04 و 0.08) ملغم/كغم من وزن الجسم أعلى نسبة من التشوهات في رؤوس النطف ، مما يعني أن هذه المقادير تسبب تأثيرات جانبية سلبية خطيرة على الخلايا المولدة للنطف ، هناك العديد من الأدوية والعقاقير الطبية لها تأثيرات جانبية فعلى سبيل المثال لا الحصر يؤثر عقار سايكلوفوسفوامايد المعتمد في علاج بعض السرطانات في الإنسان على الدنا DNA يؤدي الى حصول كسور في أشرطةه الدنا DNA وبالتالي يعيق عمليات الأنقسامات الخلوية [6] لذا أصبح من الضروري إجراء دراسة لتحديد التأثيرات الجانبية المصاحبة لأستخدام هذا العقار وبالتالي توصي هذه الدراسة على التنقيف من مخاطر الأفراط في تناول هذه الأدوية بين الشباب والتي قد تؤدي الى العمق .



شكل (1) يبين أهم التشوهات الملاحظة في نطف الفئران المعاملة (A-نطفة طبيعية, B- انحراف قمة كلاب الرأس C, - معيوب الجسم الطرفي , D - فقدان كلاب الرأس, E- تشوهات أخرى)

جدول (1) تأثير Dexamethasone على النطف في مرحلة الخلايا النطفية بعد أسبوع من المعاملة .

| الحالة | رأس منتفخ | رأس يشبه المطرقة | رأس فأقد الكلاب | معيوب الجسم الطرفي | انحراف قمة كلاب الرأس |
|---------------------|------------|------------------|-----------------|--------------------|-----------------------|
| السيطرة السالبة | SE± mean | SE± mean | SE± mean | SE± mean | SE± mean |
| السيطرة الموجبة MMC | 0.05±0.26 | 0.04±0.22 | 0.12±0.66 | 0.22±1.12 | 0.05±0.10 |
| الجرعة 0.02mg/Kg | 1.12±3.34 | 1.03±2.65 | 0.82±2.66 | 0.55±3.42 | 0.45±2.61 |
| الجرعة 0.04mg/Kg | 3.04±15.25 | 1.44±13.75 | 1.91±19.00 | 3.22±10.25 | 1.23±15.00 |
| الجرعة 0.08mg/Kg | 2.85±7.33 | 1.45±2.33 | 5.76±9.33 | 1.45±3.67 | 1.77±6.67 |
| | 1.44±7.67 | 1.67±5.42 | 6.81±30.67 | 0.23±5.01 | 1.66±7.67 |

SE=الخطأ القياسي

Mean=المتوسط

جدول (2) تأثير Dexamethasone على النطف في مرحلة الخلايا النطفية بعد الأسبوع الثالث من المعاملة .

| الحالة | رأس منتفخ | رأس يشبه المطرقة | رأس فاقد الكلاب | معيوب الجسم الطرفي | أنحرف قمة كلاب الرأس |
|---------------------|------------|------------------|-----------------|--------------------|----------------------|
| | SE± mean | SE± mean | SE± mean | SE± mean | SE± mean |
| السيطرة السالبة | 0.05±0.26 | 0.04±0.22 | 0.12±0.66 | 0.22±1.12 | 0.05±0.10 |
| السيطرة الموجبة MMC | 1.12±3.34 | 1.03±2.65 | 0.82±2.66 | 0.55±3.42 | 0.45±2.61 |
| الجرعة 0.02mg\Kg | 1.08±20.25 | 1.09±10.00 | 6.05±12.60 | 1.96±10.60 | 1.21±15.00 |
| الجرعة 0.04mg\Kg | 1.19±7.50 | 1.32±7.50 | 3.12±15.50 | 1.19±10.50 | 1.26±11.50 |
| الجرعة 0.08mg\Kg | 5.22±9.44 | 5.33±11.34 | 7.55±18.12 | 3.66±12.52 | 2.32±7.76 |

SE=الخطأ القياسي

Mean=المتوسط

جدول (3) تأثير Dexamethasone على النطف في مرحلة الخلايا النطفية بعد الأسبوع الخامس من المعاملة .

| الحالة | رأس منتفخ | رأس يشبه المطرقة | رأس فاقد الكلاب | معيوب الجسم الطرفي | أنحرف قمة كلاب الرأس |
|---------------------|------------|------------------|-----------------|--------------------|----------------------|
| | SE± mean | SE± mean | SE± mean | SE± mean | SE± mean |
| السيطرة السالبة | 0.05±0.26 | 0.04±0.22 | 0.12±0.66 | 0.22±1.12 | 0.05±0.10 |
| السيطرة الموجبة MMC | 1.12±3.34 | 1.03±2.65 | 0.82±2.66 | 0.55±3.42 | 0.45±2.61 |
| الجرعة 0.02mg\Kg | 1.08±8.25 | 5.39 ±12.00 | 6.05±8.60 | 4.96 ±7.62 | 6.21±12.00 |
| الجرعة 0.04mg\Kg | 3.11±8.50 | 4.32±10.50 | 6.42±15.50 | 4.18±11.50 | 5.27 ±10.50 |
| الجرعة 0.08mg\Kg | 5.42±11.44 | 6.33±12.32 | 8.55±19.12 | 6.62±14.52 | 7.35±11.76 |

SE=الخطأ القياسي

Mean=المتوسط

المصادر :

- [1] Simon,de.H.;Astrid,C.;Mohamed,R. and Cees,V. (2002) Production of inflammatory mediators by renal epithelial Cells is insensitive to glncorticoids.BritishJ.of Pharmacology.137:197-204.
- [2] Christian,S.;Jan,F.;Thorbjorn,G.;Allan,F.;Moira,S.;Robert,C. and Hans,O.(1999) Serum free insulin-like growth factor-1 is dosedepentlydecreased by methyl prednisolone and related to body weight changes in rats . Growth hormone and IGF Research. 9:74-80.
- [3] Karmaker,R.; Chatak,S.; Haider,A.; Bhaltacharya,S. and Kundu,S.(1998)Predenisolone-induced alteration in hepatic and muscular protein and glycogen level .Its correlation with blood glucose level in mice.Folia.Biol.Prague.44(6)217-225.
- [4] Shrivastava ,A.;Lyon,A. and Menintosh,N. (2002) The effect of dexamethasone on growth ,mineral balance bone mineralization preterm infants with chronic lung disease.Eur.J.Pediat.159:380-384.
- [5] Pillans, P.; Ponz , S. and Parker, M. (1989) Cyclophosphamide induced DNA strand breaker in mouse embryo cephalic tissue *in vivo* . Carinogenesis. 10(1): 83-85.
- [6]Crook , R. and Mlean, A.(1986) Cytotoxicity DNA cross linking and single strand break induce by activated cyclophosphamide and acrolein in human leukemia cells. Cancer Res. 46(10):5029-5034.
- [7]Mohammed ,A. A.; Al-Temimi,A.A.and Al-Amiery, A. A.(2011).The Side Effects (Cytogenetics) of Methotrexate Drug on Male Germ Cells of *Musmusculus* . J. of Biotchnology Research Center.Vol.5(1):59-68.

- [8] Al-Janabi,A.A. (2009) The Cytotoxicity and Genotoxicity Effect of Drug Sustanon”100” on Male Germ Cells of *Musmusculus* . Iraqi J. of Biotechnology .Vol.8(1)342-351.
- [9]Wyrobek, A. and Bruce, W.(1975) Chemical induction of sperm abnormalities in mice . Proc. Nat. Acad. Sci.72:4425-4429.
- [10]Ahmed,S.;Abood,N. and Al-janabi,A.(2013) Antimicrobial Effect of Pomegranate Peel Extract on Some Pathogenic. Eng. and Technology Journal.Vol.31(3):316-324.
- [11] Al-Janabi,A.A.;Ahmed,A.S.;Amin,K.M.andBedan,S.D.(2013) Induction of Sperm Head Abnormalities in Male Mice By Useing Dill Extracts .Eng. and Technology Journal.Vol.31(3):40-48.
- [12]Mohammad,A.A.;Al-Gebori,A.and Amin,K.M.(2014).Test of Soybean Extract to Recovering the Effects of MMC sing Head Sperm Abnormalities Test in Albino Mice (*Musmusculus*).Eng. and Technology Journal.Vol.32(5):17-23.
- [13]Kar, R. and Das,R.(1983)Induction of Sperm Head Abnormalities In mice by Three Tranquilizers.Cytobios.36(141):45-51.