

## The Effect of Testosterone on Specific Activity of Adenosine Deaminase Enzyme in Serum, Thymus and Thymocytes Homogenates in Albino Male Mice

**Dr.Ghasan M.Sleman**

Applied Sciences Department, University of Technological /Baghdad

Email: [gmsbiotech@yahoo.com](mailto:gmsbiotech@yahoo.com)

**Dr.Linda SalahAldene Fawwzi**

University of jehan, Science College/Arbil

**Dr.Kawakib A. Almugtar**

Education Colleg AbanAlhaitham, Science College/Baghdad

Received on: 4/10/2012 & Accepted on: 10/1/2013

### ABSTRACT

In order to investigate the effect of testosterone on the immunological activity of thymus gland, the specific activity of adenosine deaminase enzyme (ADA) in albino male mice was evaluated. The mice were divided into two age groups (4 and 5 weeks of age). Each age group was sub-divided into three subgroups: hypersecretion group, normal group and control group. The group of hyper – testosterone secretion was injected with 0.1 mL of the hormone with the concentrations of 5,25,50,75,150 and 200 mg for 14 days and then compared with the normal group (untreated animals) and control group (animals treated with 0.1 mL of sunflower oil for the same periods of time). The results demonstrated the testosterone had a direct effect on the activity of ADA in serum, thymus and thymocytes homogenates in both groups and the most significant decrease ( $P \leq 0.0001$ ) was observed at the concentration 200  $\mu\text{g}/0.1 \text{ mL}$ .

**Keywords:** ADA, Testosterone, Serum, Thymus and Thymocytes

تأثير هرمون التستوستيرون في الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز في كل من مصل الدم ومجانس غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية لذكور الفأر الابيض

### الخلاصة

لغرض التعرف على مدى تأثير هرمون التستوستيرون في الفعالية المناعية للتوتة تمت دراسة تأثيره في فعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز (ADA) في ذكور الفأر الابيض السويسرية. حيث قسمت الى فئتين عمريتين (4 و 5 اسابيع) ثم قسمت كل فئة الى ثلاث مجاميع ثانوية: مجموعة فرط الافراز والمجموعة السوية ومجموعة السيطرة. حقنت مجموعة فرط افراز الهرمون بـ 0.1 مل من هرمون التستوستيرون بالتركيز 5, 25, 50, 75, 150, 200 مايكروغرام ولمدة 14 يوما وتم مقارنتها بمجموعة الفأر السوية التي تركت دون معاملة ومجموعة فئران السيطرة التي حقنت لنفس المدة بـ 0.1 مل من زيت زهرة الشمس. اظهرت النتائج حصول انخفاض في الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز حيث بلغ اعلى انخفاض معنوي

(P≤0.0001) عند تركيز 200 مايكروغرام/0.1 مل وفي كل من الفئتين العمريتين الاولى (4) أسابيع) والثانية (5 أسابيع) لكل من مصل الدم ومجانس غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية.

**الكلمات المرشدة:** لانزيم الادينوسين دي امينيز، التستوستيرون، مصل الدم وغدة التوتة و الخلايا التوتية.

#### المقدمة

منذ اكثر من مائة عام ظهرت الاشارة الاولى للعلاقة بين الجهاز التكاثري والجهاز المناعي والتي يتم تنظيمها بواسطة السيترويدات القندية Gonadal steroids اذ توجه اهتمام الباحثين لدراسة هذه التداخلات بين هذه الهرمونات والجهاز المناعي (1) ومنها هرمون التستوستيرون (T) Testosterone الذي يفرز من الخصى والمبايض وغدة الكظر (2) وتسيطر على افرازه عوامل مختلفة تفرز من النخامى (3) والتوتة (4).

يعد التستوستيرون (T) من الهرمونات متعددة الوظائف التي تتعلق بالفعالية الايضية والفعالية المحفزة للنمو (5) كما يعد السبب الرئيس المسؤول عن كبت الجهاز المناعي بصورة عامة والتوتة بصورة خاصة (6).

ان الدراسات التي اجريت حول اهمية وطبيعة غدة التوتة Thymus gland بينت أن هذه الغدة تعد من الغدد الصم المهمة في الجسم لما لها من وظائف مناعية وصمية لافرازها عددا من الهرمونات والعوامل المناعية التي لها علاقة في تكاثر الخلايا اللمفية نوع T ونضجها وتمايزها (7) ومن هذه الهرمونات هرمون الثايميولين الذي يفرز من الخلايا الظهارية التوتية (TECs) Thymic epithelial cells وتتركز فعاليته الحيوية خلال تأثيره في تمايز الخلايا اللمفية نوع T داخل وخارج التوتة فضلا عن دوره في تعزيز الاستجابة المناعية في عدد من امراض العوز المناعي (8).

ان من اهم الانظمة الاختبارية المتاحة للكشف عن مدى الاستجابة المناعية هو انزيم الادينوسين دي امينيز Adenosine deaminase enzyme (ADA, EC 3,5,4,4) لكونه موجوداً في مختلف الخلايا والنسج والاعضاء بما فيها الاعضاء اللمفية ومنها التوتة (9) ونظراً للدور المهم الذي يبديه في الكثير من الفعاليات الحيوية في الجسم فقد اعتمد هذا الانزيم للكشف عن مدى الاستجابة المناعية عند الاخماج البكتيرية والحموية Viral (10) اذ يتوافق مع عوزه انخفاض شديد في الخلايا اللمفية نوع T (11).

ان اهمية هذا الانزيم تعززت باكتشاف مرض العوز المناعي المركب الحاد Severe combined immunodeficiency (SCID) وان عوز الانزيم يتوافق معه انخفاض شديد في الخلايا اللمفية نوع T و B والقاتلات الطبيعية (NK) (12). اذ بين كل من Kredich و Hershfield (13) ان 30% من المرضى المصابين بال SCID يعانون عوزا في هذا الانزيم وان الاطفال المصابين بعوز في انزيم الادينوسين دي امينيز (ADA) لوحظ لديهم حدوث اضطرابات في الكبد والرئتين والكليتين وان ترك المريض دون علاج يؤدي إلى الوفاة بعد مرور 6 اشهر من الولادة (11).

وعند دراسة تأثير الفئران بنقص هذا الانزيم وجد انها تعاني من ضرر والتهاب الرئتين مؤدياً إلى الموت بعمر 3 اسابيع و توصل الباحثون ايضا إلى ان هذه الفئران تظهر عدداً من الحالات المرضية والمشابهة لما موجود في الانسان (14). بناءً على ما تقدم فقد صممت هذه الدراسة لايجاد العلاقة في تأثير هرمون التستوستيرون في الفعالية المناعية لغدة التوتة من خلال قياس الفعالية النوعية لانزيم الـ ADA في كل من مصل الدم ومجانس غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية.

**الحيوانات المختبرية****تجهيز الحيوانات وتربيتها**

استخدمت في هذه الدراسة ذكور الفأر المختبري الابيض ذات الاصل السويسري Albino Swiss mice ، حيث وضعت هذه الفئران وقسمت في اقصاف لادائية الى فئتين عمريتين: الفئة العمرية الاولى بعمر 4 اسابيع بينما كانت الفئة العمرية الثانية بعمر 5 اسابيع وتم تقسيم كل فئة الى مجاميع ثنوية بواقع 20 فأر لكل مجموعة - وهي كما يلي : سوية و سيطرة ومجاميع فرط الافراز. هيات لها درجة حرارة تتراوح بين 22-28 مئوية واضاءة على وفق نظام الاضاءة المتعارف عليه 12 ساعة اضاءة و 12 ساعة ظلام واعطيت العليقة الجاهزة وكذلك الماء بصورة مستمرة وحسب الحاجة *ad libitum* (15).

**المجموعة السوية**

اخذت فئتان عمريتان، الفئة العمرية الاولى بعمر 4 اسابيع اما الفئة العمرية الثانية فكانت بعمر 5 اسابيع حيث تركت حيوانات الفئتين -الاولى والثانية- دون أية معاملة وضحي بها بعد مرور 14 يوماً .

**مجموعة السيطرة**

حقنت فئران الفئتين العمرية الاولى والثانية بـ 0.1 مل من زيت زهرة الشمس Sunflower oil - المعقم بالموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 مئوية لمدة ربع ساعة - لكل فأر يومياً داخل الصفاق (i.p) ولمدة 14 يوماً متتالية.

**مجموعة فرط الافراز**

تم تحضير التراكيز الاتية (5, 25, 50, 75, 150, 200) مايكروغرام لكل 0.1 مل من هرمون التستوستيرون (T) المصنع (Sustanon, 250 mg mL<sup>-1</sup>) والمخفف بالزيت أنف الذكر ثم حقنت حيوانات الفئة العمرية الاولى بالتراكيز اعلاه لكل فأر داخل الصفاق (i.p) لمدة 14 يوماً متتالية وكذلك تم حقن فئران الفئة العمرية الثانية بالطريقة نفسها.

**وزن وتضحية الحيوانات التجريبية**

بعد تخدير الحيوانات التجريبية بالكلورفورم Chloroform استئصلت التوتة (16) وجمع الدم بطريقة ثقب القلب Cardiac puncture وفصل المصل كما ورد في (17).

**تحضير مجانس غدة التوتة**

تم تحضير مجانس غدة التوتة كما ورد في (18) مع مراعاة اجراء جميع الخطوات في حمام ثلجي Ice bath .

**عزل ومجانسة الخلايا التوتية.**

عزلت الخلايا التوتية من غدد فئران المجاميع التجريبية والتي تم اجراؤها في حمام ثلجي وكما ورد في (19) و(20).

**قياس المنحنى المعياري ومقدار البروتين الكلي للعينات التجريبية**

اعتمدت طريقة لاوري وجماعته (21) في قياس مقدار البروتين الكلي في العينات المدروسة وتم حساب المنحنى المعياري باستعمال بروتين البومين المصل البقري Bovine Serum Albumin (BSA) المذاب في الداريء الفوسفاتي (PBS) Phosphate Buffer Saline (25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200) مايكروغرام لكل مل. تم حساب الامتصاصية عند الطول الموجي 560 نانوميتر.

**فعالية انزيم الادينوسين دي امينيز**

تم قياس فعالية انزيم الادينوسين دي امينيز في مصل الدم ومجانس غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية للفأر التجريبية طبقاً لطريقة (22) حيث تعتمد على كمية الامونيا المتحررة نتيجة حلمة Hydrolysis الادينوسين Adenosine الى ايونوسين Inosine.

## طريقة القياس

لقد تم اعداد ثلاثة انابيب متسلسلة لكل من كفاء الادينوسين Adenosine blank وكفاء الكاشف Reagent blank والقياسي Standard، كما واعدت انبوبة لكل عينة وانبوب مماثل لكفاء العينة Sample blank وكما موضح بالجدول (1-2).

جدول ( 2 - 1 ) طريقة قياس انزيم الـ ADA.

العينة/ مل	كفاء العينة/مل	كفاء الادينوسين/ مل	القياسي/مل	كفاء الكاشف/مل	انابيب الكواشف
-	1.0	-	-	1.0	محلول داريء الفوسفات
1.0	-	1.0	-	-	محلول داريء الادينوسين
-	-	-	1.0	-	المحلول القياسي لكبريتات الامونيوم
0.05	0.05	-	-	-	العينة
-	-	0.05	0.05	0.05	الماء المقطر غير الايوني

رجت المحتويات وغطت الانابيب وحضنت لمدة 60 دقيقة في حمام مائي في درجة حرارة 37 مئوية تم بعدها اضافة 3 مل من محلولي نيتروبروسيد الفينول والهايبوكلورايت القلوي لغرض تكوين اللون ورجت مكونات الانابيب وحضنت بدرجة حرارة 37 مئوية لمدة 30 دقيقة بعدها قرأت الامتصاصية باستخدام المقياس الضوئي الطيفي عند طول موجي 623 نانوميتر وتم تصفير الجهاز باستخدام الماء المقطر غير الايوني وباستخدام المعادلة الآتية تم حساب الفعالية الحجمية لانزيم ADA وكما يلي :-

A = العينة - كفاء العينة

B = كفاء الادينوسين - كفاء الكاشف

C = القياسي - كفاء الكاشف

$$\text{الفعالية الحجمية} = \frac{B - A}{C} \times 50 \text{ وحدة/ لتر ; } 37 \text{ مئوية.}$$

تعيين الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز

حددت الفعالية النوعية لانزيم ADA وفقاً للمعادلة الآتية:-

$$\text{الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز (ADA)} = \frac{\text{الفعالية}}{\text{محتوى البروتين}} = \text{وحدة/ ملغ} \text{ بروتين}$$

حسبت الفعالية الحجمية ومحتوى البروتين الكلي علماً ان الوحدة هي كمية الانزيم الذي يحرر واحد مايكرومول من الامونيا في دقيقة واحدة (22).

]

**التحليل الاحصائي Statistical Analysis**

تم استخدام تحليل التباين (ANOVA) Analysis of variance بالاعتماد على نظام SPSS وعند وجود فروق معنوية استخدمت المقارنات المتعددة Multiple comparisons بطريقة الفرق المعنوي الأصغر Least significant difference (LSD) وثبتت النتائج على هيئة المعدل (M) Mean  $\pm$  الخطأ القياسي (SE) Standard error.

**النتائج****1. قياس الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز للحالة السوية:**

تم تعيين الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز (ADA) في كل من مصل الدم ومجانس غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية للحالة السوية اذ توصلت الدراسة الحالية إلى ان مستواه في مصل الدم فئران الفئتين العمريتين بلغ (0.016 $\pm$ 0.85) و (0.028 $\pm$ 1.19) وحدة/ملغرام بروتين على التوالي بينما بلغت في مجانس غدة التوتة لكل من الفئتين العمريتين (3.33 $\pm$ 1909.87) و (4.74 $\pm$ 1849.71) وحدة/ملغرام بروتين على التوالي وكما مبين في الجدول (1-3).

وتشير النتائج في مصل الدم ولكل من الفئتين العمريتين (الأولى والثانية) الى عدم ظهور أي تغيير معنوي (P>0.05) بينها، بينما يظهر هناك اختلاف معنوي (P>0.05) في مجانس غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية لكل من الحالتين السوية والسيطرة.

**جدول (1) الفعالية النوعية لانزيم الـ ADA (وحدة/ملغرام بروتين) للحالة السوية في كل من مصل الدم ومجانس غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية والفئتين العمريتين اربعة وخمسة اسابيع (المعدل (M)  $\pm$  الخطأ القياسي (SE)).**

مجانس الخلايا التوتية	مجانس غدة التوتة	مصل الدم	الفئة العمرية (اسبوع)
3.15 $\pm$ 945.60	3.33 $\pm$ 1909.87	0.016 $\pm$ 0.85	4 •
2.33 $\pm$ 728.56	4.74 $\pm$ 1849.71	0.028 $\pm$ 1.19	5 •

• لا توجد فروقات معنوية (P > 0.05)

**2. قياس الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز في مصل دم الفئران المعاملة بهرمون التستوستيرون.**

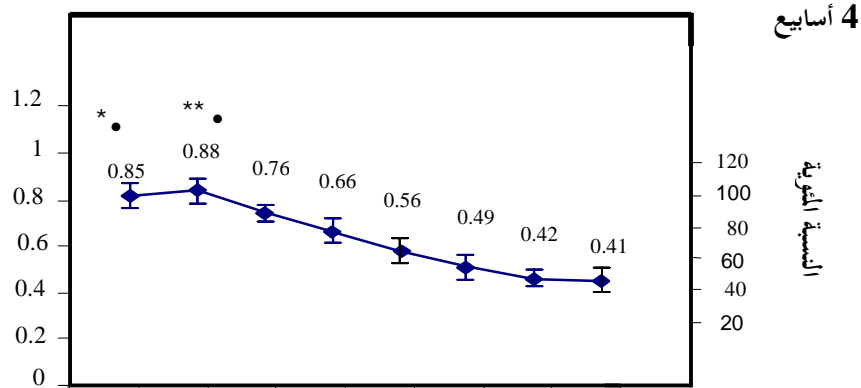
تشير النتائج الموضحة في الشكل (1) الى ان فعالية النوعية لانزيم ADA في مصل دم فأر الفئتين العمريتين الاولى ولثانية تنخفض معنوياً (P>0.05) بدءاً بتركيز 5 مايكروغرام/ 0.1 مل حيث كانت (0.034  $\pm$  0.76 ; 0.029  $\pm$  0.92) وحدة/ملغرام بروتين على التوالي عند مقارنتها بالحالة السوية أو / والسيطرة المناظرة لهما ليستمر هذا الانخفاض عند التراكيز 25 ، 50 ، 75 ، 150 ، 200 مايكروغرام/ 0.1 مل إلى ان يصل لاقصى انخفاض (P>0.0001) عند التركيز الأخير ولكل من الفئتين العمريتين حيث انخفضت الفعالية النوعية لانزيم الـ ADA من قيمة الحالة السوية شكل (1) ومن ملاحظة النتائج كان هناك توافق في انخفاض فعالية انزيم ADA في الفئران المعاملة بهرمون التستوستيرون لكل من الفئتين العمريتين والتي لم تظهر أية فروقات معنوية (P > 0.05) بينهما.

### 3. قياس الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز في مجانس غدة التوتة للفئران المعاملة بهرمون التستوستيرون.

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي ( $P>0.05$ ) في فعالية انزيم ADA في مجانس غدة التوتة لفأر الفئة العمرية الاولى المعاملة بهرمون التستوستيرون تركيز 5 مايكروغرام/ 0.1 مل حيث كانت ( $4.168 \pm 1866.39$ ) وحدة/ ملغرام بروتين عند مقارنتها بالحالة السوية او/ و السيطرة للفئة المناظرة لها شكل (2) بينما لم يؤثر تركيز 5 مايكروغرام/ 0.1 مل على الفعالية النوعية للانزيم في فأر الفئة العمرية الثانية عند مقارنتها بالحالة السوية او/ و السيطرة المناظرة لها شكل (2) وعند استعمال الاختبار الاحصائي اقل فرق معنوي لوحظ انخفاض تدريجي عالٍ ( $P>0.0001$ ) للفعالية النوعية للانزيم بزيادة التراكيز المعطاة وعند تركيز 200 مايكروغرام/ 0.1 مل كانت اعلى قيمة للانخفاض لكل من الفئتين العمريتين والتي بلغت نسبتها المئوية 77.39% و 63.47% على التوالي من قيمة الحالة السوية الشكل (2) فضلا عن ملاحظة وجود توافق ما بين زيادة التراكيز الهرمونية وانخفاض فعالية انزيم الـ ADA ليصل الى اعلى انخفاض له في مجانس غدة التوتة عند اعلى تركيز لكل من الفئتين العمريتين رغم وجود فرق معنوي ( $P>0.05$ ) بينهما.

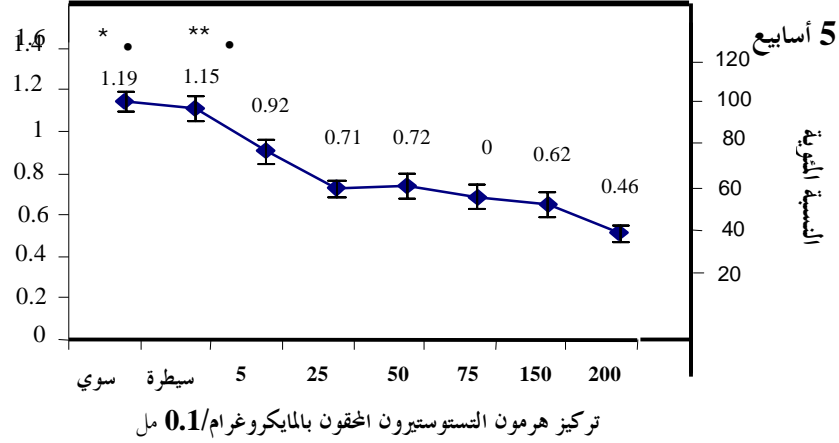
### 4. قياس الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز في مجانس الخلايا التوتية للفئران المعاملة بهرمون التستوستيرون.

يوضح الشكل (3) ان تركيز 5 مايكروغرام/ 0.1 مل لم يؤثر في الفعالية النوعية لانزيم الـ ADA في مجانس الخلايا التوتية لكل من الفئتين العمريتين الاولى والثانية والتي بلغت ( $943.26 \pm 3.431$ ) و ( $2.945 \pm 751.78$ ) وحدة/ ملغرام بروتين على التوالي عند مقارنتها بالحالة السوية او/ و السيطرة المناظرة لهما وبزيادة التراكيز المعطاة يحصل انخفاض تدريجي ليصل الى اعلى انخفاض معنوي ( $P>0.0001$ ) عند الجرعة الكبرى لكل من الفئتين العمريتين (الاولى والثانية) وكما حصل لمستواه في مصل الدم ومجانس غدة التوتة حيث بلغت فعاليته في مجانس الخلايا التوتية في الفأر المعاملة بتركيز 200 مايكروغرام/ 0.1 مل ( $3.226 \pm 474.91$ ) و ( $4.162 \pm 178.37$ ) وحدة/ ملغرام بروتين على التوالي عند مقارنتها بالحالة السوية او/ و السيطرة وبنسبة انخفاض مقدارها 50.22% و 24.48% على التوالي من قيمة الحالة السوية كما مبين في الشكل (3) واطهرت النتائج ايضا وجود انخفاض معنوي ( $P>0.05$ ) بين الفئتين العمريتين الاولى والثانية.



تأثير هرمون التستوستيرون في الفعالية النوعية لانزيم  
الادينوسين دي امينيز في كل من مصل الدم ومجانس  
غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية لذكور الفأر الابيض

### الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز (وحدة / ملغرام بروتين )



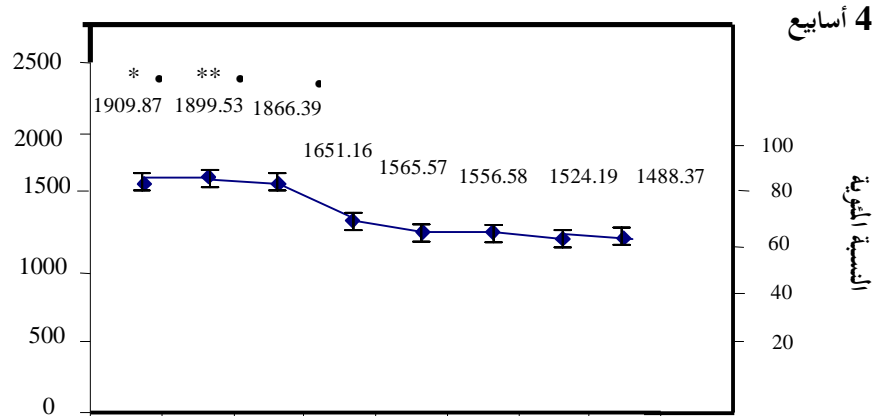
### الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز (وحدة / ملغرام بروتين )

\* ذكور فئران غير معاملة

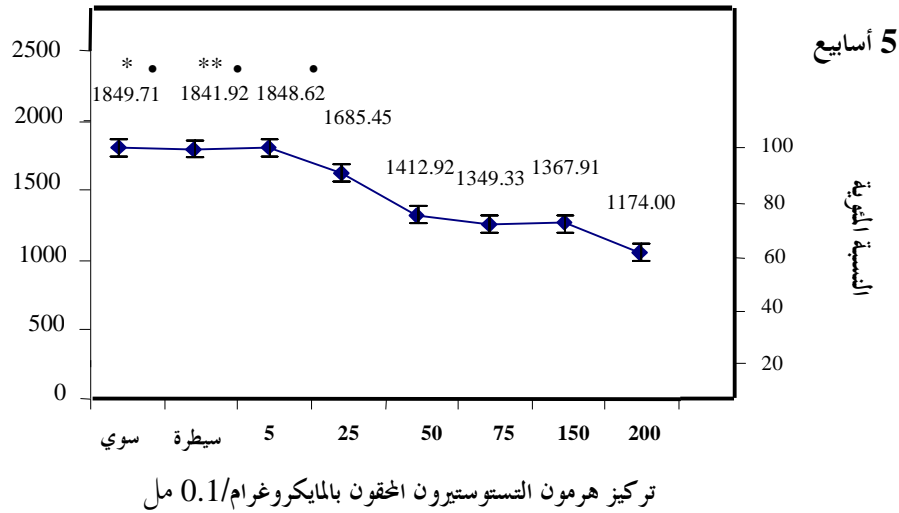
\*\* ذكور فئران محقونة بـ 0.1 مل من زيت زهرة الشمس

• لا توجد فروقات معنوية (P > 0.05)

شكل (1) تأثير هرمون التستوستيرون في الفعالية النوعية لانزيم الـ ADA في مصل دم مجاميع الفئران التجريبية المحقونة بـ 0.1 مل من هرمون التستوستيرون ولمدة 14 يوماً متتالية لكل من الفئتين العمريتين أربعة وخمسة أسابيع.



تأثير هرمون التستوستيرون في الفعالية النوعية لانزيم  
الادينوسين دي امينيز في كل من مصل الدم ومجانس  
غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية لذكور الفأر الابيض



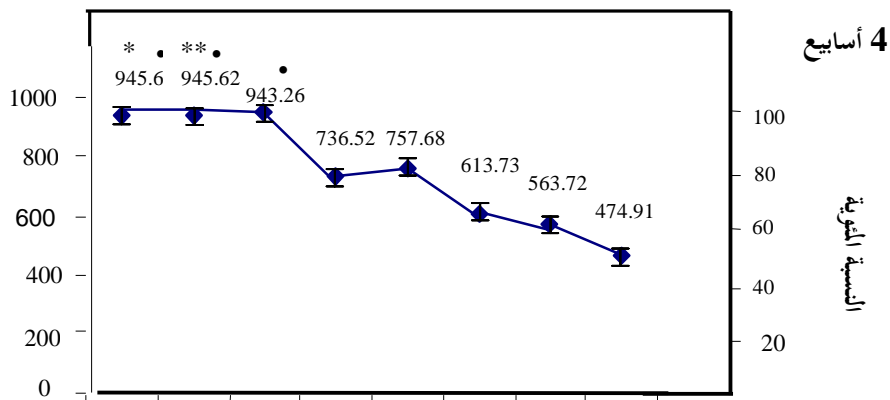
الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي امينيز (وحدة / ملغرام بروتين)

\* ذكور فئران غير معاملة

\*\* ذكور فئران محقونة بـ 0.1 مل من زيت زهرة الشمس

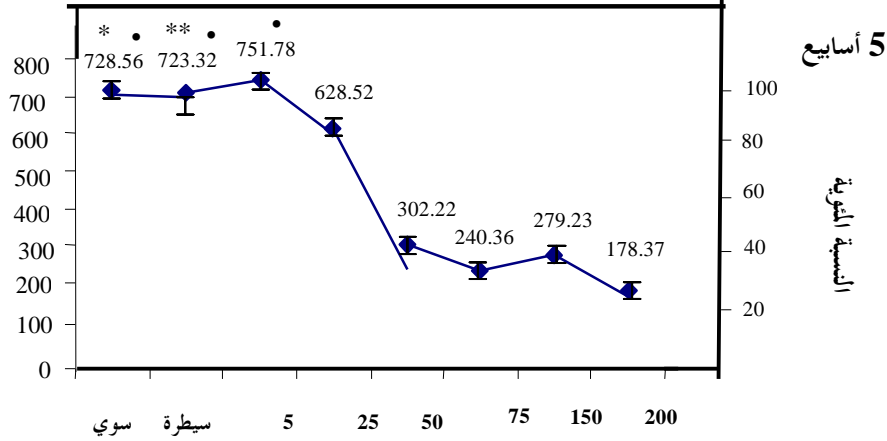
• لا توجد فروقات معنوية ( $P > 0.05$ )

شكل (2) تأثير هرمون التستوستيرون في الفعالية النوعية لانزيم الـ ADA في مجانس  
غدة التوتة لمجاميع الفئران التجريبية المحقونة بـ 0.1 مل من هرمون التستوستيرون ولمدة  
14 يوماً متتالية لكل من الفئتين العمريتين اربعة و خمسة اسابيع.





تأثير هرمون التستوستيرون في الفعالية النوعية لانزيم  
الادينوسين دي امينيز في كل من مصل الدم ومجانس  
غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية لذكور الفأر الابيض



تركيز هرمون التستوستيرون المحقون بالميكروغرام/0.1 مل

### الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي أمينيز (وحدة / ملغرام بروتين)

\* ذكور فئران غير معاملة

\*\* ذكور فئران محقونة بـ 0.1 مل من زيت زهرة الشمس

• لا توجد فروقات معنوية (P > 0.05)

شكل (3) تأثير هرمون التستوستيرون في الفعالية النوعية لانزيم الـ ADA في مجانس الخلايا التوتية لمجاميع الفئران التجريبية المحقونة بـ 0.1 مل من هرمون التستوستيرون ولمدة 14 يوماً متتالية لكل من الفئتين العمريتين اربعة و خمسة اسابيع.

### المناقشة

تتغير عملية أيض البيورين خلال نضج وتمايز الخلايا اللمفية نوع T ويكون نشاط انزيم الـ ADA خلال هذه المرحلة مرتفعاً بشكل استثنائي وغير اعتيادي وبخاصة في الخلايا التوتية القشرية بينما يكون منخفضاً في المنطقة اللمبية (23) وان اهمية هذا الانزيم تراكمت مع اكتشاف SCID والذي صاحبه اضطرابات واضحة في أيض البيورين كالزيادة في مستوى الادينوسين (Ado) والادينوسين منقوص الاوكسجين (dAdo) في كل من البلازما والطحال والتوتة ومظاهر مرضية في العظام والكبد والكلية (11 و 14) وان تسمم اللمفاويات وحدوث الموت الخلوي الذي رافق نتائجنا (24) ربما يعود بدرجة كبيرة الى تراكم هاتين المادتين، لذلك فقد هدفت الدراسة الحالية الى قياس الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي أمينيز في كل من مصل الدم ومجانس غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية وخلال هذه الفحوصات يمكن الاشارة الى تأثير تمايز خلايا T في التوتة اذ ان انخفاض وزن التوتة الناتج عن قلة الخلايا اللمفية يشير الى حصول عوز مناعي سببه المعاملة بهرمون التستوستيرون وهذا ما اشارت اليه الدراسات المسبقة بأن هرمون التستوستيرون هو أحد المثبطات المناعية (25) بالاضافة الى ان الستيرويدات القشرية Corticosteroids تبين أنها السبب في حصول العوز المناعي لدى الفأر وظهور تشوهات الارتباط الضلعي الغضروفي Costochondrial junction abnormalities وفقدان الكفاية

الرئوية وفشل الكبد (26) لذلك فإن تضرر الكبد يمكن ان يكون هو سبب انخفاض للمفاويات في مجرى الدم وبالتالي انخفاض فعالية انزيم ADA فقد اشارت الدراسات الحديثة الى وجود مسلك خارج توتي لتمايز الخلايا اللمفية نوع T كالكبد، أذ أظهرت الفئران العارية والافراد المسنون الذين يمتلكون غدة ضامرة وجود خلايا T في مجرى الدم و تبين بأن التستوستيرون يؤثر سلبياً على تمايز هذه الخلايا في هذا المسلك، ومن هذا فان الهرمون لا يؤثر فقط على تكاثر خلايا T داخل التوتة ولكن خارج التوتة ايضاً، ان هذا الانخفاض يمكن ان يسهم في امراض المناعة الذاتية و بدء هجوم الامراض الخبيثة و تقدمها (27).

كما تبين نتائج الدراسة الحالية حصول انخفاض في فعالية انزيم الادينوسين دي أمينيز في كل من مجانس غدة التوتة ومجانس الخلايا التوتية في الفأر المعاملة بهرمون التستوستيرون اذ ان الانخفاض في فعالية الانزيم والانخفاض الشديد في عدد الخلايا اللمفية في التوتة يشير الى وجود حالة تسمم لمفاوي عام اذ تكون الخلايا التوتية النامية حساسة للنتائج الايضية بسبب عوز انزيم ADA عند المرحلة الانتقالية من مرحلة الخلايا ثنائية السالبة CD-8 CD-4 الى مرحلة ثنائية الايجابية CD+8 CD+4 وان هذه الملاحظة تنسجم مع تلك الملاحظات المشاهدة في الفأر المعاملة بمادة الفورمايسين منقوص الاوكسجين 2- deoxyformycin وهي مادة مثبطة لانزيم ADA (28) والتي بينت ان توتة هذه الفأر ازدادت فيها النسبة المئوية للخلايا التوتية غير الناضجة ثنائية السالبة CD-8 CD-4 بينما انخفضت النسبة المئوية للخلايا التوتية ثنائية الايجابية CD+8 CD+4 وأحادية الايجابية CD+8 CD+4 و CD-4 CD+8.

مما تجدر الاشارة اليه ان تركيز 5 مايكروغرام/ 0.1 مل من هرمون التستوستيرون لم يؤثر في دليل الانقسام الخلوي للتوتة (24) ولا في الفعالية النوعية لانزيم الادينوسين دي أمينيز في مجانس الخلايا التوتية في كل من الفئتين العمريتين والتي تنخفض في كل منهما بزيادة التركيز حيث ان هذه الدراسة توفر دعماً إضافياً الى علاقة هذا الانزيم بتكاثر الخلايا التوتية بخاصة ان عوزه يؤدي الى انخفاض الخلايا اللمفية بشكل كبير ومنها التوتية وقد تعزى حالات تسمم الخلايا التوتية الى المواد الاساس للانزيم والنتيجة عن الخلايا الميتة نفسها وهذا ما توصلت اليه الباحثة ثومسون وجماعتها (29) التي اشارت الى ان الفئران التي تعاني من عوز انزيم الادينوسين دي أمينيز تكون الخلايا التوتية هي مصدر المواد الاساس والتي تكون مسؤولة عن حالات التسمم للمفاوي واستناداً الى الابحاث المسبقة (14 و 30) فانه من المحتمل ان البلاعم التي تقوم ببلعمة الخلايا الميتة هي مصدر البيورينات والنتيجة عن تحطم الدنا DNA للخلايا الميتة فبالرغم من ان هذا الباحث قد توقع أن البلاعم الرئوية كانت مسؤولة بدرجة كبيرة عن الادينوسين منقوص الاوكسجين الملاحظة في فئران عوز انزيم ADA، الا ان نتائجها تُظهر ان البلاعم التوتية لها دور في تكوين كميات مرتفعة من المواد الاساس لهذا الانزيم والتي يعزو اليها حالات تثبيط نمو الخلايا التوتية بخاصة بعد ارتفاع عدد البلاعم في التوتة (31) والتي اشارت الى زيادة مفرطة للبلاعم في توتة الفئران المعاملة بهرمون التستوستيرون.

كما يمكن ان تتأثر المراحل المتأخرة من الخلايا التوتية بعوز انزيم ADA وذلك بسبب كون احتمال وجود كميات من المواد الاساس لهذا الانزيم قد تولدت عن الخلايا التوتية ثنائية الايجابية التي يتم اختيارها سلبياً أو أنها تفشل في الاختيار الايجابي بخاصة بعد تقدير ان 4 خلايا من بين 9 خلايا توتية تموت بسبب فشلها في التعبير عن مستلم خلية T (TCR) (32).

ومازالت الدراسات تروم معرفة ما المادة الاساس لانزيم ADA المسؤولة عن حالات التسمم الخلوي وتثبيط نمو الخلايا التوتية هل هو الادينوسين أم الادينوسين منقوص الاوكسجين، اذ ان هناك دراسات عديدة اقترحت أن الادينوسين هو المسؤول عن حالات الموت الخلوي بعد ان لوحظ وجود كميات مرتفعة منه في التوتة والطحال والتي تم الاستناد على انه المسبب في حالات التسمم الخلوي من خلال التجارب التي اجريت على الخلايا التوتية عن طريق اضافته أو اضافة شادته Adenosine agonist لمزرعها الخلوي (33) بينما تشير الدراسات الاكثر حداثة الى ان الادينوسين منقوص الاوكسجين (dAdo) هو المسبب الرئيس لحالات الموت الخلوي التي تحدث للخلايا التوتية (26 و 32) وبذلك يكون الادينوسين قد فقد أفضليته كنتاج ايضي سام.

كما ان الاختلاف في الفعالية النوعية لانزيم ADA في كل من مصل الدم ومجانس غدة التوتة والخلايا التوتية قد يعود الى ان فعاليته ودوره في ازالة التأثير السمي للادينوسين والادينوسين منقوص الاوكسجين تختلف بين الاعضاء والنسج المختلفة .

#### المصادر

- [1].Kovacs, W.J. and Olsen, N.J. (1999). Sex Hormones and Immune Responses. In: Volpe, R. (Ed.) Contemporary Endocrinology: Autoimmune Endocrinopathies. *Humana Press Inc., Totowa*. PP. 163- 181.
- [2].Wilson, J. D., Foster, D. W., Kronenberg, H. M. and Larsen,P. R. (1998). Willams Text Book of Endocrinology, 9 th ed., *W. B. Saunders Co., Philadelphia*. PP.1819.
- [3].Seely, R. R., Stephens, T. D. and Tate, T. (1996). Essential of Anatomy- Physiology. 2 nd ed., Mobsy Year Book, Inc., Missouri. PP. 262- 283.
- [4].Bodey, B., Bodey, B. Jr., Siegel, S.E. and Kaiser, H.E. (2000). The Role of the Reticulo- Epithelial (RE) Cell Network in the Immuno-Neuroendocrine Regulation of Intrathymic Lymphopoiesis. *Anticancer Res.*, 20: 1871- 1888.
- [5].Saladin, K. S. (2001). Anatomy and Physiology. 2 nd ed., *Mc Graw- Hill Co., Inc., New York*. pp. 99-100.
- [6].Savino, W. and Dardenne, M. (2000). Neuroendocrine Control of Thymus Physiology. *Endocr, Rev.*, 21: 412- 443.
- [7].Walford, R. L. (2000). The Use of Thymus Supplementation as an Anti-Aging Supplement. *Biopathics*, 1-5.
- [8].Dardenne, M., Safieh- Garabedian, B. and Pleau, J. M. (2000). Thymic Peptides: Transmitters between the Neuroendocrine and the Immune System. In: Nayef, E.S. (Ed.). Pain and Neuroimmune Interactions. *Kluwer Acad.Plenum Publ.* pp.127-137.
- [9].Moriwaki, Y., Yamamoto, T. and Higashino, K. (1999). Enzymes Involved in Purine Metabolism- A Review of Histochemical Localization and Functional Implications. *Histol. Histopathol.*, 14: 1321- 1340.
- [10].Cordero, O.J., Salgado, F.J. and Nogueira, M. (1997). Adenosine Deaminase (ADA) Isoenzyme ADA1 and ADA2 in Biological Fluids. *Eur. Respir. J.*910: 2186- 2187.
- [11].Aldrich, M.B., Blackburn, M.R. and Kellems, R.E. (2000).The Importance of Adenosine Deaminase for Lymphocyte Development and Function. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 272: 311- 315.
- [12].Giblett, E.R., Anderson, J.E., Cohen, F., Pollara, B. and Meuwissen, H.J. (1972). Adenosine Deaminase Deficiency in Two Patients with Severely Impaired Cellular Immunity. *Lancet*, 2: 1067- 1972.
- [13].Kredich, N.M.and Hershfield, M.S. (1983). Disease Caused by Adenosine Deaminase Deficiency and Purine Nucleoside Phosphorylase. In: Stanburg, J. B.; Wyngaarden, J.B.; Fredrickson, D. S.; Goldstein, J. L. and Brown, M.S. (Eds.). The Metabolic Basis of Inherited Disease. *Mc Graw- Hill Book Co., New York*. PP. 1157- 1183.
- [14].Blackburn, M.R., Volmer, J.B., Thrasher, J.L., Zhong, H., Crosby, J.R., Lee, J.J. and Kellems, RE. (2000). Matabolic Consequences of Adenosine Deaminase

- Deficiency in Mice are Associated with Defects in Alveogenesis, Pulmonary Inflammation, and Airway Obstruction. *J. Exp. Med.*, 192: 159 - 170.
- [15]. Lane- Petter, W. (1961). Provision of Laboratory Animals for Research: A Practical Guide. *Elsevier Publ. Co., New York*. PP. 136.
- [16]. Campbell, D., Garvey, J. and Sussdorf, D. (1964). Methods in Immunology. *W.A. Benjamin, Inc., Massachusetts*. Pp. 445- 446.
- [17]. Garvey, J. S., Cremer, N.E. and Sussdorf, D.H. (1977). Methods in Immunology. 3rd ed., *W. A. Benjamin, Inc., Massachusetts*. PP. 545.
- [18]. Small, M. and Trainin, N. (1971). Contribution of a Thymic Humoral Factor to the Development of an Immunological Competent Population from Cells of Mouse Bone Marrow. *J. Exp. Med.*, 134: 786- 799.
- [19]. Karapetrovic, B., Kosec, D. and Leposavic, G. (1996). Differential Effects of Castration in Sexually Immature and Mature Rats on the Phenotypic Profile of Thymocytes. *Acta Vet.*, 46: 271- 276.
- [20]. Muralidhara, Matsumura, F. and Blankenship, A. (1994). 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo- P-dioxin (TCDD)-Induced Reduction of Adenosine Deaminase Activity *in vivo* and *in vitro*. *J. Biochem. Toxicol.*, 9: 249- 258.
- [21]. Lowry, O. H., Rosenbrough N. J., Farr, A. L. and Randall R.j. (1951). Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265- 275.
- [22]. Giusti, G. (1981). Adenosine Deaminase. In: Bergmeyer, H. U. (Ed.). Methods of Enzymatic Analysis, Vol. 2, nd ed., *Acad. Press, New York*. PP. 1092- 1099.
- [23]. Barja, P. and Freire, M. (1995). Markers of T- Cell Differentiation and Maturation in C 57 bl/ 6 and Balb/c and in the Calf: A Comparative Study. *Comp. Biochem. Physiol.*, 110 B: 349- 355.
- [24]. Sulaiman, G.M., Saladin, L.F. AL-Mukhtar K.A. (2012). Effect of Testosterone on mitotic index and thymuline activity in male albino mice. In Press
- [25]. Kanda, N., Tsuchida, T. and Tamaki, K. (1997). Testosterone Suppresses Anti- DNA Antibody Production in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 40: 1703- 1711.
- [26]. XU, P. A. and Kellems, R. E. (2000). Function of Murine Adenosine Deaminase in the Gastrointestinal Tract. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 269: 749- 757.
- [27]. Kimura, M., Tomita, Y., Watanabe, H.; Sato, S. and Abo, T. (1995). Androgen Regulation of Intra and Extra- Thymic T Cells and its Effect on Sex Differences in the Immune System. *Int.J. Androl.*, 18: 127- 136.
- [28]. Thompson, L. F. and Blackburn, M. R. (1998). At Last- Experimental Models for Adenosine Deaminase Deficiency !. *Immunologist*, 6: 72- 74.
- [29]. Thompson, L. F., Van De Wiele, C. J., Laurent, A. B., Hooker, S. W., Vaughn, J. G., Jiang, H., Khare, K., Kellems, R. E., Blackburn, M. R., Hershfield, M. S. and Resta, R. (2000). Metabolites from Apoptotic Thymocytes Inhibit Thymopoiesis in Adenosine Deaminase- Deficient Fetal Thymic in Adenosine Deaminase- Deficient Fetal Thymic Organ Cultures. *J. Clin. Invest.*, 106: 1149- 1157.

- [30].Blackburn, M.R., Aldrich, M., Volmer, J.B., Chen, W., Zhong, H., Kelly, S., Hershfield, M.S., Datta, S.K. and Kellems, R.E. (2000 a). The Use of Enzyme Theraby to Regulate the Metabolic and Phenotypic Consequences of Adenosine Deaminase Deficiency in Mice: Differential Impact on Pulmonary and Immumologic Abnormalities. *J. Exp. Med.*, 275: 32114- 32121.
- [31].Sulaiman, G.M., Saladin, L.F. AL-Mukhtar K.A. (2004). The Effect of Testosterone on the Histological Structure of the Thymus in Albino Male Mice. *Ibn Al-Haitham J. Pure Appl. Sci.*, 17 (4):8-19.
- [32].Resta, R., Hooker, S. W., Laurent, A.B., Rahman, J., Franklin, M., Knudsen, T.B., Nadon, N.L. and Thompson, L. F. (1997). Insights into Thymic Purine Metabolism and Adenosine Deaminase Deficiency Revealed by Transgenic Mice Overexpressing Ecto- 5- nucleotidase (CD 73). *J. Clin. Invest.*, 99: 676-683.
- [33].Mc Conkey, D.J. ,Orrenius, S. and Jondal, M. (1990). Agents That Elevate cAMP Stimulate DNA Fragmentation in Thymocyte. *J. Immunol.*, 145: 1227-1230.