جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة

دراسة نسيجية ووظيفية لتأثير إزالة المبايض في الغدة النخامية، والرحم والغدة اللبنية في الارانب المحلية *Oryctolagus cuniculus*

إطروحة مقدمة الى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة كربلاء
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة
في علوم الحياة – علم الحيوان.

من قبل
أشواق كاظم عبيد الحجيري
بكلوريوس علوم الحياة / جامعة كربلاء 2001.
ماجستير علوم حياة-علم الحيوان / جامعة الكوفة 2005.

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتورة
سيناء جبوري البازي

الأستاذ الدكتورة
وفاق جبوري البازي

جمادي الاول 1440 هـ

كانون الثاني 2019 م

بسم الله الرحمن الرحيم

وَقَالَ رَبِّ أَوْزِعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ
الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَى وَالِدَيَّ وَأَنْ
أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ
فِي عِبَادِكَ الصَّالِحِينَ ﴿19﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة النمل/ الآية (19)

الاهداء

إلى موقد السراج في عقول الأجيال.. نبي البر والهدى...

الخالد في سفر الكون.. الرسول محمد بن عبد الله (صلى الله عليه وآله)..

إلى من ألهماني الصبر.. وزرعا في نفسي الأمل..

وأعاناني على الوصول إلى الهدف المنشود.. والديّ

إلى أعزائي.. ورفاق دربي.. أخوتي وأخواتي

إلى رمز الوفاء وسندي وعوني في الحياة .. زوجي الغالي

زهور حياتي التي تغمرني بأريج عطرها..أبنائي

إلى كل من سبقني في ميدان العلم.. ومن سيأتي بعدي

أهدي ثمرة جهدي المتواضع.. وأرجو قبوله

اشواق

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

شكر وعرفان

الحمد لله حمداً استتم به نعمته ..واستعجل به رحمته واستبعد به عذابه ونقمته..فهو الذي جعل الحمد مفتاحاً لذكره..وخلق الأشياء ناطقة بحمده وشكره.. والصلاة والسلام على رسوله محمد وعلى سائر أنبيائه ورسله وآله الطيبين وجمعه المخلصين ومن اتبع هداه إلى يوم الدين .

فمن حقيقة الشكر الثناء على المحسن بذكر إحسانه ولأن شكر الناس من شكر الله سبحانه فلا يسعني وانا أنهي مرحلة من عمري لأستهل أخرى إلا أن أتقدم بالشكر الجزيل وفائق التقدير إلى رئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة للجهود المبذولة في تذليل كثير من العقبات خلال مسيرة البحث كما اتقدم بجزيل الشكر والامتنان والعرفان والوفاء والاعتراف بالجميل والفضل الى الأستاذتين المشرفتين الاستاذ المساعد الدكتورة سيناء جبوري البازي والاستاذة الدكتورة وفاق جبوري البازي لما كان لهما من الفضل في اختيارموضوع البحث واشرافهما على متابعتها على اكمل وجه واسال الله العلي القدير أن يمن عليهما بكل خير وعافية ويمد خطاهما لكل خير.

واعترافا مني بالجميل اتقدم بالشكر إلى كل من ساعدني الاستاذ حسين علي عبد اللطيف والاستاذ المساعد الدكتور نصير مرزا حمزة والدكتور علاء حسين مهدي الصافي لما قدموه لي من عون وارشاد علمي سديد خلال مسيرة البحث .

كما أقدم شكري الجزيل الى الدكتور جاسم محمد خلف /كلية الطب البيطري جامعة كربلاء لما قدمه لي من مساعدة في إجراء العمليات الجراحية لإناث الارانب المستخدمة في دراستي .

يشرفني ويسعدني أن اتقدم بالشكر الجزيل إلى جميع أفراد عائلتي والى زوجي وأبنائي لمساعدتهم لي في تسهيل كثير من الصعوبات خلال أيام الدراسة والبحث . كما اتقدم بالشكر والعرفان الى طالب الدكتوراه جواد كاظم عبيد لما قدمة لي من مساعدة خلال مدة الدراسة .

وأتقدم بالشكر الجزيل إلى كل من أعانني وقد غاب اسمه وحضر فضله وفقهم الله لما فيه خير وعافية .

اشواق

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية لمعرفة تاثير إزالة المبايض الاحادي والثنائي على الغدد اللبنية والرحم والغدة النخامية لإناث الارانب ***Oryctolagus cuniculus***. إذ قسمت عشوائيا 48 من اناث الارانب الى مجموعتين (عذارى ومرضعات) ، كل مجموعة قسمت الى اربعة مجاميع (6/ مجموعة)، المجموعة الاولى تمثل مجموعة السيطرة Sham ، والثانية تمثل مجموعة الازالة ثنائية المبايض و الثالثة تمثل مجموعة ازالة المبيض الايمن والرابعة مجموعة ازالة المبيض الايسر. تمت التضحية بالحيوانات بعد مدة شهر من عملية الازالة ، وأخذت المقاطع النسجية من الغدد اللبنية والرحم والغدة النخامية لغرض دراسة التغيرات النسجية و الكيمو نسجية و الكيمو نسجية المناعية.

كما اخذت عينات الدم لقياس مستوى تركيز الاستروجين Estrogen والبروجستيرون Progesterone والبرولاكتين Prolactin وهرمون محفز للجريبات Follicle stimulating hormone والهرمون اللوتيني Luteinizing hormone ودراسة مستوى الهرمون اللوتيني LH في نسيج الغدة النخامية، وقياس تركيز مستوى الكلوتاثيون Glutathion GSH والمالونديالديهايد Malondialdehyde MDA في مصل الدم ،وقياس فعالية انزيمات الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase و 5′ النيوكلوتايدز 5 – Nucleotidase في أنسجة الغدد اللبنية والرحم . ومن خلال هذه المعايير اظهرت النتائج التالية :

- بينت المقاطع النسجية للغدد اللبنية المصبوغة بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين في مجموعة الازالة الثنائية للعذارى قلة عدد الفصيصات والبراعم الحويصلية وكثيراً من النسيج الدهني مقارنة مع مجموعة السيطرة ، اما بالنسبة للمرضعات فإن استئصال المبايض الكاملة يودي الى صغر حجم الفصيصات وكذلك كثرة الحويصلات غير الفعالة وكثرة السدى . أما في صبغة Trichrome للغدد اللبنية زيادة في كمية الالياف الكولاجينة لكل المجاميع المعاملة من العذارى والمرضعات مقارنة مع السيطرة . بينما في صبغة Periodic Acid Schiff's فكان الافراز موجبا للمجاميع الثلاث ومجموعة السيطرة في المرضعات ولم تظهر في مجموعة العذارى .اما فيما يخص معدل اقطار واعداد الحويصلات للغدد اللبنية فقد ظهر انخفاض معنوي ($p<0.05$) في المجاميع المعاملة الثلاث للعذارى والمرضعات مقارنة مع مجموعة السيطرة

- أما المقاطع النسجية للرحم بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين فقد أظهرت الدراسة الحالية ان ازالة المبيضين يؤدي الى قلة سمك طبقات الرحم وضمورها وقلة طياتها وانعدام الغدد الرحمية مع وجود ارتشاح خلوي مقارنة مع المجاميع الاخرى للعذارى و المرضعات. وعند استخدام صبغة Trichrome ظهرت هنالك زيادة في الالياف الكولاجينية (السدى) لجميع المجاميع مقارنة مع مجموعة السيطرة . أما فيما يخص

معدل سمك طبقات الرحم وبطانته فقد ظهر انخفاض معنوي ($p<0.05$) في المجاميع الثلاث مقارنة مع مجموعة السيطرة(sham) .

- لم تظهر تغيرات مرضية نسجية واضحه باستخدام صبغة الهيماتوكسلين والايوسين في نسيج الغدة النخامية وللمجاميع المعاملة الثلاثة للمرضعات والعذارى . فيما يخص الصبغة الخاصة بمستقبل البروجستيرون في خلايا المناسل لوحظ تضخمها في مجموعة الازالة الثنائية مع ظهور حويصلات كبيرة في السايتوبلازم مقارنة مع المجاميع الاخرى.

- أظهرت الدراسة الحالية لمستقبلات الاستروجين والبروجستيرون في نسجي الغدد اللبنية والرحم للعذارى والمرضعات ظهور تعبير ضعيف (+) و سالب (-) في نسجي الغدة اللبنية والرحم لمستقبلي الاستروجين والبروجستيرون في مجموعة الازالة الكاملة للعذارى ، وكان التعبير(+) في نسيج الغدد اللبنية لمستقبلي الاستروجين والبروجستيرون للمرضعات ، والتعبير(-) لمستقبل الاستروجين و (+) لمستقبل البروجستيرون في نسيج الرحم . أما في مجموعة ازالة المبيض الايمن فقد ظهر التعبير (+ + +) (+ +) للعذارى والمرضعات لمستقبلي الاستروجين والبروجستيرون لنسجي الغدد اللبنية والرحم على التوالي .أما عند ازالة المبيض الايسر فقد اظهرت تعبير (+ +) (+) لمستقبلي الاستروجين والبروجستيرون لنسجي الغدد اللبنية و الرحم للعذارى والمرضعات.

- واظهرت نتائج الدراسة الحالية زيادة معنوية ($p<0.05$) في مستوى تركيز هرموني FSH وLH في مصل مجموعة الازالة الكاملة مقارنة مع المجاميع الاخرى للعذارى والمرضعات .كما لوحظ عدم وجود فرق معنوي في مستوى تركيز هرمون البرولاكتين في مصل المجاميع الثلاثة للعذارى ، بينما لوحظ ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في مجموعة إزالة المبيض الايمن مقارنة مع المجاميع الاخرى للمرضعات. وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى تركيز هرموني الاستروجين والبروجستيرون في مصل مجموعة الإزالة الكاملة بالمقارنة مع المجاميع الاخرى للعذارى والمرضعات .

- بينت النتائج الحالية ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في مستوى الهرمون اللوتيني في نسيج الغدة النخامية في مجموعة إزالة المبايض الكاملة للعذارى . بينما لوحظ ارتفاع غير معنوي في هرمون االوتينيLH في مجموعة المرضعات .

- إما بالنسبة لتركيز أنزيم الفوسفاتيز القاعديALP فقد كان هناك انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مجموعة إزالة المبايض الكاملة بالمقارنة مع مجاميع المزالة المبيض الايمن والايسر ومجموعة السيطرة لنسجي الغدد اللبنية والرحم للعذارى والمرضعات .بينما لوحظ انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز أنزيم

5 ′ النيوكلوتايدز في مجموعة الإزالة الكاملة مقارنة مع المجاميع المعاملة ومجموعة السيطرة لنسجي الغدد اللبنية والرحم في العذارى والمرضعات .

- إظهرت الدراسة الحالية انخفاضا معنوياً ($p<0.05$) في مستوى تركيز GSH و ارتفاعا معنويا ($P<0.05$) في مستوى تركيز MDA في مصل مجموعة الازالة الكاملة ومجموعة إزالة المبيض الايمن و الايسر للعذارى والمرضعات مقارنة بمجموعة السيطرة.

- ولم يلاحظ زيادة معنوية في معدل وزن الجسم للمجاميع المزالة المبايض للعذارى بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ،بينما لوحظ ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في المجاميع المعاملة للمرضعات.

يستنتج من الدراسة الحالية ، ان عملية ازالة المبايض الثنائية للعذارى والمرضعات أدت الى تغيرات نسجية وكيمونسجية مناعية ووظيفية للغدد اللبنية والرحم والغدة النخامية في اناث الارانب .

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
	الخلاصة	I
	المحتويات	IV
	قائمة الجداول	IX
	قائمة الأشكال والصور	X
	قائمة المختصرات	XIV
	الفصل الأول المقدمة	
	المقدمـــــــــة	2 – 1
	الفصل الثاني استعراض المراجع	
1-2	المبيض	3
2-2	الهرمونات المبيضية	4
1-2-2	الاستروجين	4
2-2-2	البروجستيرون	5
2 -3	إزالة مبايض	5
2 -4	المستقبلات	7
2-5	الغدد اللبنية	10
2-6	الرحم	14
2 -7	الغدة النخامية	15
2-7-1	الهرمونات المحررة للغدد التناسلية	17
2-8	هرمون البرولاكتين	19
2-9	أنزيم الفوسفاتيز القاعدي	19
2-10	أنزيم نيوكلوتايديز	21
	الفصل الثالث المواد وطرائق العمل	
3-1	المواد والأجهزة المستعملة	23
3-1-1	المواد الكيميائية المستعملة	23
3-1-2	الأجهزة والأدوات المستعملة	25
3-2	طرائق العمل	26
3-2-1	حيوانات التجربة	26
3-2-2	تصميم التجربة	27
3-2-2-1	مخطط تصميم التجربة	28

3-2-3	عملية استئصال المبايض	29
4-2-3	وزن الجسم	30
5-2-3	جمع عينات الدم	30
6-2-3	جمع عينات الأنسجة	31
7-2-3	التحضيرات النسجية	32
1-7-2-3	تثبيت العينات	32
2-7-2-3	الأنكاز والترويق	32
3-7-2-3	التشريب	32
4-7-2-3	الطمر	33
5-7-2-3	التشذيب والتقطيع	33
6-7-2-3	التلوين	33
1 -6-7-2-3	صبغة هيماتوكسلين هارس	33
2-6-7-2-3	صبغة الايوسين الكحولي	34
3-6-7-2-3	صبغة كوموري ثلاثي الالوان	35
4-6-7-2-3	صبغة كاشف شف الدوري	36
7-7-2-3	الارساء	37
8-7-2-3	الفحص والتصوير المجهري	38
8-2-3	القياسات النسجية	38
9-2-3	الدراسة الكيميائية النسجية المناعية	38
1-9-2-3	مستقبلات الاستروجين والبروجسترون	38
10-2-3	القياسات الهرمونية	40
1-10-2-3	قياس تركيز هرمون الاستروجين	40
2 -10-2-3	قياس تركيز هرمون البروجستيرون	42
3-10-2-3	قياس تركيز هرمون البرولاكتين	44
4-10-2-3	قياس تركيز هرمون محفز الجريبات	45
5-10-2-3	قياس تركيز الهرمون اللوتيني	47
11-2-3	تحضير خليط نسيج الغدة النخامية	48
12-2-3	قياس فعالية الانزيمين الفوسفاتيز القاعدي وانزيم 5نيوكليوتايدز	48
1-12-2-3	قياس فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي	48
2-12-2-3	قياس فعالية أنزيم'5 نيوكليوتايدز	49
13-2-3	قياس المعايير الكيموحيوية	50

1-13-2-3	تقدير تركيز المالوندايالديهايد في مصل الدم	50
2-13-2-3	تقدير تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم	51
14-2-3	التحليل الاحصائي	53
	الفصل الرابع **النتائج والمناقشة**	
1-4	الدراسة النسجية	54
1-1-4	صبغة الهيماتوكسلين والايوسين	54
1-1-1-4	مجموعة العذارى	54
2-1-1-4	مجموعة المرضعات	54
2-4	الدراسة الكيمونسجية	60
1-2-4	صبغة كاشف شف الدوري	60
1-1-2-4	مجموعة العذارى	60
2-1-2-4	مجموعة المرضعات	60
2-2-4	صبغة كوموري ثلاثي الألوان	66
1-2-2-4	مجموعة العذارى	66
2-2-2-4	مجموعة المرضعات	66
3-4	تأثير إزالة المبايض الثنائية والأحادية على نسيج الرحم للعذارى والمرضعات في الأرانب المحلية	72
1-3-4	صبغة الهيماتوكسلين والايوسين	72
1-1-3-4	مجموعة العذارى	72
2-1-3-4	مجموعة المرضعات	73
4-4	الدراسة الكيمو نسجية	84
1-4-4	صبغة كوموري ثلاثي الألوان لنسيج الرحم	84
1-1-4-4	مجموعة العذارى	84
2-1-4-4	مجموعة المرضعات	84
5-4	القياسات النسجية	90
1-5-4	أقطار حويصلات الغدد اللبنية (مايكرون)	90
2-5-4	أعداد حويصلات الغدد اللبنية	91
3-5-4	قياس سمك طبقات الرحم وبطانته للعذارى والمرضعات	92

6 -4	تأثير إزالة المبايض الثنائية والأحادية على نسيج الغده النخامية للعذارى والمرضعات	95
1- 6-4	صبغة الهيماتوكسلين والايوسين	95
7-4	الدراسة الكيميائية النسجية المناعية	97
1-7-4	مستقبلات الاستروجين والبروجستيرون في الغدد اللبنية والرحم لمجاميع العذارى والمرضعات	97
2-7-4	التعبير الكيميائي النسجي المناعي لمستقبلات البروجستيرون في الغدة النخامية لمجاميع العذارى والمرضعات	103
8-4	الدراسه الوظيفية و الكيموحيوية	105
1-8-4	الدراسة الهرمونية	105
1-1-8-4	تاثير إزالة المبايض على معدل تركيز الهرمونات في مصل الدم لإناث العذارى	105
1-1-1-8-4	التغيرات في معدل تركيز هرمون المحفز للجريبات	105
2-1-1-8-4	التغيرات في معدل تركيز الهرمون اللوتيني	106
3-1-1-8-4	التغيرات في معدل تركيز هرمون البرولاكتين	106
4-1-1-8-4	التغيرات في معدل تركيز هرموني البروجستيرون Progesteroneوهرمون الاستروجين Estrogen	106
2-1-8-4	تاثير ازالة المبايض على معدل تركيز الهرمونات في مصل الدم لاناث الارانب المرضعات	108
1-2-1-8-4	التغيرات في معدل تركيز هرمون المحفز للجريبات FSH والهرمون اللوتيني LH	108
2-2-1-8-4	التغيرات في معدل تركيز هرمون البرولاكتين	109
3-2-1-8-4	التغيرات في معدل تركيز هرموني البروجستيرون Progesterone وهرمون الاستروجين Estrogen في مصل المرضعات	109
2-8-4	قياس تركيز الهرمون اللوتيني في الغدة النخامية	112
3-8-4	تأثير إزالة المبايض على معدل تركيز إنزيم الفوسفاتيز	114

	القاعدي وإنزيم 5′ النيوكلوتايدز لنسجي الغدد اللبنية والرحم للعذارى و المرضعات في الارانب المحليه	
4-8-4	تأثير ازالة المبايض على مستوى تركيز GSH و MDA في مصل دم الارانب المحلية	118
1 -4-8-4	التغيرات في معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل (GSH) والمالوندايالديهايد MDA في مصل دم مجموعة العذارى للارانب المحلية	118
2-4-8-4	التغيرات في معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل (GSH) والمالوندايالديهايد MDA في مصل دم مجموعة المرضعات للارانب المحلية	119
9-4	وزن الجسم	121
الاستنتاجات والتوصيات		
	الاستنتاجات	123
	التوصيات	124
المصادر		
	المصادر العربية	125
	المصادر الأجنبية	162 - 127
	الخلاصة باللغة الانكليزية	A - D

قائمة الجداول

التسلسل	العنوان	الصفحة
1-3	المواد الكيميائية المستخدمة بحسب أسم الشركة والمنشأ	23
2-3	الأجهزة المستعملة و الأدوات والشركة المصنعة والمنشأ	25
1-4	تأثير إزالة المبايض على قطر الحويصلات لإناث الأرانب للعذارى والمرضعات	90
2-4	تأثير إزالة المبايض على أعداد الحويصلات لإناث الأرانب للعذارى والمرضعات	91
3-4	تأثير إزالة المبايض على سمك طبقات الرحم لإناث الأرانب للعذارى والمرضعات	93
4-4	تأثير إزالة المبايض على سمك بطانة الرحم لإناث الأرانب للعذارى والمرضعات	93
5-4	تأثير ازالة المبايض على مستوى التعبير عن مستقبلات الاستروجين والبروجستيرون في الغدة اللبنية والرحم لإناث الارانب العذارى والمرضعات	98
6-4	تأثير إزالة المبايض على مستوى الهرمونات في مصل إناث الأرانب العذارى	107
7-4	تأثير إزالة المبايض على مستوى الهرمونات في مصل إناث الأرانب المرضعات	108
8-4	تأثير إزالة المبايض على مستوى هرمون اللوتيني في الغدة النخامية لإناث الأرانب العذارى والمرضعات	112
9-4	مستوى انزيمي الفوسفاتيز القاعدي وال5' نيوكلوتايدز في نسيج الغدد اللبنية في اناث الارانب (U/g)	114
10-4	مستوى انزيمي فوسفاتيز القاعدي وال5' نيوكلوتايديز في نسيج الرحم في اناث الارانب (U/g)	115
11-4	تاثير إزالة المبايض على مستوى تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH والمالونداياالديهايد MDA في مصل إناث الأرانب العذارى	118
12-4	تاثير إزالة المبايض على مستوى تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH والمالونداياالديهايد MDA في مصل إناث الأرانب المرضعات	119
13-4	تأثير إزالة المبايض على معدل وزن الجسم في إناث الأرانب للعذارى والمرضعات	121

قائمة الصور والأشكال

التسلسل	العنوان	الصفحة
1-2	شكل يوضح المناطق الوظيفية في مستقبل هرمون الاستروجين	8
1-3	شكل تصميم التجربة	28
2-3	صور (a,b,c) توضح عملية إزالة المبايض في إناث الإرانب	30
1-4	مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة سيطرة العذارى يلاحظ الفصيصات	56
2-4	مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة الازالة الكاملة العذارى حيث يلاحظ قلة عدد الفصيصات	56
3-4	مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة إزالة المبيض الأيمن العذارى	57
4-4	مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة إزالة المبيض الايسر العذارى	57
5- 4	مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة سيطرة للمرضعات تبين الحويصلات المتفرعة	58
6-4	مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة الازالة الكاملة للمرضعات حيث يلاحظ كثرة الحويصلات غير الفعالة	58
7-4	مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة إزالة المبيض الايمن للمرضعات حيث يلاحظ الحويصلات المتفرعة	59
8-4	مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة إزالة المبيض الإيسر للمرضعات حيث يلاحظ الحويصلات المتفرعة	59
9-4	مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة السيطرة للعذارى ، تظهر تفاعل سالب لصبغةPAS	62
10-4	مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة الإزالة الكاملة للعذارى ، تظهر تفاعل سالب لصبغةPAS	62
11-4	مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة الإزالة الإيمن للعذارى ، تظهر تفاعل سالب لصبغة PAS	63
12-4	مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة إزالة الإيسر للعذارى ، تظهر تفاعل سالب لصبغة PAS	63
13-4	مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة السيطرة للمرضعات ، تظهر تفاعل ايجابي لصبغة PAS	64
14-4	مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة الإزالة الكاملة للمرضعات ، ايجابي لصبغة PAS	64
15-4	مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة إزالة المبيض الإيمن للمرضعات ، تظهر تفاعل ايجابي لصبغة PAS	65

16-4	مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة إزالة المبيض الايسر للمرضعات ، تظهر تفاعل ايجابي لصبغة PAS	65
17-4	مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة سيطرة العذارى يلاحظ فيها قلة في الياف كولاجين السدى	68
18-4	مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة الازالة الكاملة للعذارى يلاحظ فيها كثافة الياف كولاجين	68
19-4	مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة ازالة المبيض الايمن للعذارى يلاحظ فيها كثافة الياف كولاجين السدى	69
20-4	مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة ازالة المبيض الايسر للعذارى يلاحظ فيها كثافة الياف كولاجين السدى	69
21-4	مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة سيطرة المرضعات يلاحظ فيها قلة الياف كولاجين السدى	70
22-4	مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة ازالة الكاملة للمرضعات يلاحظ فيها كثافة الياف كولاجين	70
23-4	مقطع للغدد لبنية لمجموعة إزالة المبيض الإيمن المرضعات يلاحظ فيها قلة الياف كولاجين السدى	71
24-4	مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة ازالة المبيض الايسر المرضعات يلاحظ فيها قلة الياف كولاجين	71
25-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة السيطرة العذارى يلاحظ فيها الطبقات الثلاث للرحم (البطانية (E) ، العضلية (M) والمحيطية (P))	76
26-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة السيطرة العذارى ، حيث يلاحظ الطية الرحمية الطبقة الظهارية	76
27-4	مقطع من رحم مجموعة الازالة الكاملة للمبايض العذارى يوضح فيها تأثر طبقات الرحم	77
28-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة الازالة الكاملة للمبايض العذارى يوضح عدم وجود الغدد الرحمية	77
29-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة الازالة المبيض الايمن للعذارى يلاحظ فيها الطبقات الثلاثة للرحم	78
30-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايمن العذارى وجود الغدد الرحمية	78
31-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة الازالة المبيض الايسر للعذارى يلاحظ فيها الطبقات الثلاثة للرحم	79
32-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايسر العذارى وجود ارتشاح خلوي	79
33-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة السيطرة المرضعات يلاحظ فيها الطبقات الثلاث للرحم	80

34-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة السيطرة للمرضعات حيث يلاحظ الطية الرحمية	80
35-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة الازالة الكاملة للمبايض المرضعات يوضح فيها تأثر طبقات الرحم الثلاث	81
36-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة الازالة الكاملة للمبايض للمرضعات يوضح عدم وجود الغدد الرحمية	81
37-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايمن للمرضعات يلاحظ فيها الطبقات الثلاثة للرحم	82
38-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايمن للمرضعات تبين وجود الغدد الرحمية	82
39-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايسر للمرضعات يلاحظ فيها الطبقات الثلاثة للرحم	83
40-4	مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايسر للمرضعات وجود الغدد الرحمية	83
41-4	مقطع نسجي لمجموعة السيطرة للعذارى يلاحظ فيها الالياف الكولاجين	86
42-4	مقطع نسجي لمجموعة الازالة الكاملة للعذارى يلاحظ فيها قلة في كثافة الياف الكولاجين	86
43-4	مقطع نسجي لمجموعة إزالة المبيض الايمن للعذارى يلاحظ فيها كثافة في الياف الكولاجين	87
44-4	مقطع نسجي لمجموعة إزالة المبيض االايسر للعذارى يلاحظ فيها كمية كبيرة من الالياف الكولاجين	87
45-4	مقطع نسجي لمجموعة السيطرة للمرضعات يلاحظ فيها كمية كبيرة من الالياف الكولاجين	88
46-4	مقطع نسجي لمجموعة الازالة الكاملة للمرضعات يلاحظ فيها قلة في الالياف الكولاجين	88
47-4	مقطع نسجي لمجموعة ازالة المبيض الايمن للمرضعات يلاحظ فيها كثافة في الياف الكولاجين	89
48-4	مقطع نسجي لمجموعة ازالة المبيض الايسر للمرضعات يلاحظ فيها كثافة في الياف الكولاجين	89
49-4	مقطع من نسيج الفص الامامي للغدة النخامية لمجموعة السيطرة (Sham)	95
50-4	مقطع من نسيج الفص الامامي للغدة النخامية لأحدى المجاميع المعاملة	96
51-4	مقطع نسجي لغدة لبنية لأنثى أرنب يوضح التعبير الموجب لمستقبل البروجستيرون	99
52-4	مقطع نسجي لغدة لبينية لأنثى أرنب يوضح التعبير الموجب لمستقبل الاستروجين	99
53-4	مقطع نسجي لرحم انثى ارنب يوضح التعبير الموجب لمستقبل البروجستيرون	100
54-4	صورة مقطع نسجي لرحم انثى ارنب يوضح التعبير الموجب لمستقبل الاستروجين	100

55-4	صورة مقطع نسجي لرحم انثى ارنب يوضح التعبير السالب لمستقبل البروجستيرون	100
56-4	مقطع نسجي لرحم انثى ارنب يوضح التعبير السالب لمستقبل الاستروجين	100
57-4	مقطع نسجي من الفص الامامي لغدة نخامية تبين فيها عدم وجود حويصلات	104
58-4	مقطع نسجي من الفص الامامي لغدة نخامية لمجموعتي الازالة الكاملة	105

قائمة المختصرات

المصطلح	المختصر
Alkaline phosphatase	ALP
Adrenocorticotropic hormone	ACTH
Dextrin plasticizer xylene	DPX
Estrogen	E
Estrone	E1
Estradiol	E2
Estriol	E3
Estrogen receptor	ER
Estrogen receptor alpha	ER-β
Estrogen receptor Beta	ER-α
Endometrium	E
Follicle stimulating hormone	FSH
Growth hormone	GH
Gonadotropin – relasing Hormone	GnRH
Hematoxylin & Eosin	H&E
Immunohistochemical	IHC
Luteinzing hormone	LH
Myometrium	M
Melanocyte – stimulating hormone	MSH
Malondialdehyde	MDA
5 – Nucleotidase	NTD
Ovariectomized	OVX
Ocular micrometer	OM
Progesterone receptor	PR
Progesterone	Pr
Prolactin	PRL
Perimetrium	p
Periodic Acid Schiff's stain	PAS
Reduced Glutathione	GSH
Trichrome Stain	Tri
Tris-bufferd salin	TBS
Thiobarbituric acid	TBA

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

المقدمة Introduction

المبيض هو تركيب بيضوي الشكل يقع على جانبي الرحم ويرتبط به بوساطة مسراق المبيض Mesovarium ، يغطي سطحه طبقة من خلايا النسيج الطلائي المكعب البسيط Simple cuboidal epithelial tissue يدعى بالنسيج الظهاري السطحي Surface Epithelial Tissue ويليه نسيج ضام يدعى بالغلاف الابيض Tunica Albginea (غالي وخالد , 2014). فالمبيض غده مختلطة Mixed gland تقوم بانتاج البيوض لذا فهي غدة خارجية الافراز Exocrine gland ومن جهة اخرى تقوم بانتاج هرمون الاستروجين وهرمون البروجستيرون فيعد غدة صماء داخلية الافراز Endocrine gland (Brijesh, 2013).

يتكون المبيض من القشرة Cortex واللب Medulla ، و تتالف القشرة من شبكة من نسيج ضام تدعى السدى Stroma كما تحتوي على الجريبات المبيضية Ovarian Follicles وتكون هذه الجريبات في مراحل مختلفة من التكوين (Young and MC Neilly ., 2010). اما اللب فيطلق على المنطقة المركزية للمبيض ، وتتالف من الارومات الليفية Fibroblasts المطمورة في شبكة غنية بالالياف الغراوية Collagen fibers كما يحوي اللب على أوعية دموية كبيرة و أوعية لمفاوية Lymph vessels والياف عصبية Nerve fibers (Gartner and Hiatt , 2014).

يقوم المبيض بافراز الهرمونات الجنسية الانثوية الاستروجين Estrogen والبروجستيرون Progesteron لذلك يعد ضرورياً لوظائف الرحم والغدد اللبنية والحفاظ عليهما (العلوجي ، 2014). فللاستروجين دور مهم في نمو الغدد اللبنية Mammary gland واستطالة القنوات الناقلة بين الحويصلات ، ونمو سدى بطانة الرحم (Preston and Wilson, 2017). وللبروجستيرون عدة وظائف منها يقوم بالتآزر مع هرمون البرولاكتين في نمو النظام الحويصلي-الفصيصي في الغدد اللبنية (Conneely and Otto,2007) ويعمل مع هرمون الاستروجين على نمو الرحم وبطانتة وعلى زيادة النشاط الافرازي للغدد الرحمية في الرحم (Brijesh, 2013) . تودي عملية استئصال المبايض Ovarectomized الى انخفاض في تركيز هذين الهرمونين وفقدان الدورة الحيضية ، وهذا يودي الى زيادة في مستويات الهرمونات المغذية للمناسل في الدم نتيجة للتغذية الاسترجاعية السالبة بين هرمونات الغدة النخامية والمبيض لإنتاج الهرمونات السيترويدية Negative feedback mechanism (Christian and Moenter, 2010) .

ان عمليات استئصال المبايض تودي الى حصول حالة تدعى بسن الياس الجراحي (الأصطناعي) نتيجة للاخلال في مستوى تركيز هرموني الاستروجين و البروجستيرون (Sharman , 2011;Cox and Liu ,2014) ، حيث تتعرض أغلب السيدات لعدد من التداخلات

الطبية تودي إزالة المبايض جراحيا قبل بلوغ المرأة سن الياس مما يؤدي إلى اصابتها بأعراض اليأس المبكر ويحدث الامر نفسهَ اذا تعرض المبيضان للتلف نتيجة التعرض للإشعاع او المعالجة بالأدوية المضادة للسرطان ، او بعض العلاجات الكيميائية (Ross *et al.*, 2004 ; Parrker,2010) .

ان ازالة المبايض جراحيا وانخفاض مستوى هرمون الاستروجين ما قبل سن الياس وما بعد سن الياس قد يكون سببا في تطور امراض سرطان الثدي Breast cancer (Sharman, 2011) .

تحدث عمليات ازالة المبايض لاسباب متعددة قد تكون بسبب امراض سرطانات المبيض Ovarian cancer (Schwatz, 1992 ; Worley & Welch, 2013) او بسبب تكيس المبايض او وجود كيس على المبيض او امراض سرطان الثدي (Parker *et al*, 2009; Shelling,2010) .

الهدف من الدراسة Aim of this study

نظرا لأهمية مرحلة سن اليأس عند المرأة وتعرضها الى سن اليأس المبكر نتيجة للعمليات الجراحية ولما لها من تأثير من الناحية الصحية والنفسية لذا جاءت أهداف الدراسة الحالية كما يلي:

- استحداث سن الياس جراحيا من خلال ازالة المبايض أحاديا وثنائيا في إناث الأرانب المحلية لمراحل العذارى والمرضعات وأجراء الدراسات التالية:-

- دراسة التغيرات النسجية لنسيج الغدد اللبنية والرحم والغدة النخامية .

- دراسة كيمو نسجية للغدد اللبنية و الرحم.

- دراسة كيمو نسجية مناعية للغدد اللبنية والرحم والغدة النخامية .

- دراسة بعض القياسات النسجية للرحم والغدد اللبنية وتشمل قياس اقطار الحويصلات وعددها، وقياس سمك طبقات الرحم وبطانتها .

- قياس تركيز هرمونات الاستروجينEstrogen والبروجستيرون Progesterone و البرولاكتين Prolactin والهرمون المحفز للجريبات Follicle stimulating hormone (FSH) في مصل الدم وقياس تركيزهرمون اللوتيني Luteinizing hormone (LH) في مصل الدم ونسيج الغدة النخامية .

- قياس تركيز الكلوتاثيون Glutathion (GSH) وتركيز المالونديالديهايد Malondialdehyde (MDA) في مصل الدم وقياس مستوى تركيز انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP) وانزيم 5 – Nucleotidase (NTD) في نسيجي الغدد اللبنية والرحم .

2- أستعراض المراجع Literature Review

2-1 المبيض Ovary

عضو التناسل في الاناث هو تركيب بيضوي الشكل يوجد في اسفل التجويف البطني في الناحية الظهرية ويقع على جانبي الرحم ويرتبط به بوساطة المسراق المبيضي Mesovarium , يلعب المبيض دورا مهما في التكاثر والنضج والاباضة . ويغطى سطح المبيض بطبقة من خلايا النسيج الطلائي المكعب البسيط Simple cuboidal epithelial tissue تدعى بالنسيج الظهاري السطحي Surface Epithelial Tissue ويليه نسيج ضام كثيف يدعى بالغلالة البيضاء Tunica Albuginea (Mescher , 2016).

اما في اناث الارانب يقع المبيض في نهاية الرحم ويكون بيضوي الشكل يرتبط بالجدار الظهري للحوض يبلغ طوله 3سم وعرضه 1.5 سم ، ويتالف المبيض من منطقة القشرة التي تتضمن الحويصلات في مراحل مختلفة والجسم الاصفر ومنطقة اللب التي تحتوي على العديد من الاوعية الدموية الشرايين والاوردة والاوعية اللمفاوية والاعصاب (Green *et al* ., 2008)

المبيض غده مختلطة Mixed gland حيث يقوم بانتاج البيوض فيعد غدة خارجية الافراز Exocrine gland كما يقوم المبيض بانتاج هرمون الاستروجين وهرمون البروجستيرون فيعد غدة صماء داخلية الافراز Endocrine gland) (Crop *et al.*, 2014) .

تتصل المبايض بالرحم Uterus وجدار الحوضPelvic wall بوساطة الاربطة الساندة Supportive ligaments (Sokol , 2011) . يكون سطح المبيض قبل البلوغ املساً ناعما ولكن بعد البلوغ وتكرار الاباضة يصبح المبيض مجعدا بسبب الندب التي تخلفها الحويصلات بعد انفجارها وبعد سن الياس ينكمش المبيض ويصغر حجمه (العلوجي , 2014 ; Findly *et. al.*, 2009).

يتكون المبيض من منطقتين رئيستين هما منطقة القشرة Cortex واللب Medulla ،إذ تشغل القشرة الجزء المحيطي للمبيض وتتالف من السدى Stroma التي تنتشر فيها الاوعية الدموية والالياف والجريبات المبيضية في مراحل مختلفة من نموها وكذلك وجودالاجسام الصفر Corpora Lutea (Young and MC Neilly ., 2010). اما اللب فيمثل الجزء المركزي للمبيض ويتكون من نسيج ضام مفك يتخلله العديد من الاوعية الدموية Blood vessels والاوعية اللمفاوية Lymph vessels والاعصاب (Kleeman and Silva , 2007; Samuelson, 2007).

يعد المبيض احد الغدد الصماء العابرة Transient endocrine الذي له القابلية على انتاج هرمونات ستيرويدية Steroids hormone في الاناث ، لذلك يعد المبيض ضرورياً لوظائف الرحم والغدد اللبنية والحفاظ عليهما حيث كما أن له دور في اظهار الصفات الانثوية (Sokol , 2011) .

2-2 الهرمونات المبيضية Ovarian hormones

يقوم المبيض بافراز الهرمونات الجنسية الانثوية الاستروجين Estrogen والبروجستيرون Progesteron (العلوجي , 2014) .

2-2-1 الاستروجين Estrogen

الاستروجين Estrogen (E) من الهرمونات الجنسية الانثوية ، ويعد من مجموعة المركبات الستيرويدية ، يفرز في الاناث من انسجة المبايض بكميات كبيرة من خلال الخلايا الحبيبية Granulosa cells في الغمد الداخلي Theca interna للجريبات وكذلك من الجسم الاصفر Corpus luteum ، وبكميات ضئيلة من قشرة الكظرية Adrenal cortex في حالة الانثى غير الحامل ، اما عند حصول الحمل فالمشيمة Placenta تفرز كميات هائلة من هرمون الاستروجين (Norman and Henry , 2014) . ايضا يفرز هرمون الاستروجين من النسيج الدهني Adipose tissue والجلد Skin والكبد Liver (Gardner and Shoback , 2018) .

يكون نشاط هرمون الاستروجين تحت تأثير الهرمون اللوتيني (LH) Luteinizing hormone ويرتفع مستوى هرمون الاستروجين خلال عملية الاباضة Ovulation فاذا لم يتم الاخصاب للبيضة ينخفض مستواه في الدم (Guyton and Hall, 2016) . إذ يوجد في الانثى ثلاث انواع من الاستروجينات الطبيعية في بلازما الدم هي الاسترون(E1) Estrone , الاستراديول(E2) Estradiol , الاسترول(E3) Estriol ويعد الاستراديول هو الاستروجين النشط الرئيس والاقوى فعالية قياسا بالاستروجينات الاخرى (Tamm *et al.*, 2012) .

يكون هرمون الاستروجين مسؤولاً عن تطوير الجهاز التكاثري الانثوي واعادة بناء الاغشية المخاطية المبطنة بعد الدورة الحيضية واظهار الصفات الجنسية الثانوية وزيادة افراز قنوات فالوب ، كما يسبب هذا الهرمون نمو سدى بطانة الرحم وزيادة كمية الكلايكوجين في بطانة الرحم والمهبل ، وللاستروجين دور هام في نمو الغدد اللبنية من خلال تطور انسجة السدى في الثدي وتمدد واستطالة القنوات الناقلة بين الحويصلات عند البلوغ (Preston and Wilson, 2017). وايضا يزيد من انقسام الخلايا في النسيج الطلائي الجرثومي ، وكذلك يسبب الاستروجين زياده في حركة قناة المبيض Motility of the oviduct (Bustamant *et al* ., 2012).

2-2-2 البروجستيرون Progesterone

هرمون ستيرويد ي يفرز في الانثى البالغة من الجسم الاصفر Corpus luteum إذ ينتج من الخلايا الحبيبية الصفراء Granulosa lutein cells (Ganong,2005) . إذ يكون مستوى هرمون البروجستيرون واطئا في الدم في اثناء النصف الاول من الدورة الشهرية ، و يرتفع مستواه في خلال الاشهر الاولى من الحمل (Ozlu *et al.*,2012)، ويفرز بكميات متساوية من المبيضين ، كما يفرز ايضا من قشرة الغدة الكظرية ومن المشيمة بكميات كبيرة اثناء الحمل (العلوجي , 2014) . يعتمد تنشيط افراز هرمون البروجستيرون Progesterone (Pr) من الاعضاء المنتجة له على تأثير هرمون Luteinzing hormone (LH) الذي يفرز من الفص الامامي للغدة النخامية . (Al-Asmakh, 2007)

للبروجستيرون وظائف عديدة فيعمل على زيادة النشاط الافرازي للغدد الرحمية في الرحم ويزيد من تخزين الكلايكوجين بها كما يعمل على التقليل من تقلصات العضلات الرحمية ، اضافة الى ذلك يعمل مع هرمون الاستروجين على نمو الرحم وبطانته فضلا عن المساعدة في غرس الجنين فهو يعد هرموناً مهماً للحفاظ على ادامة الحمل ، و زيادة النشاط الأفرازي المخاطي للخلايا الظهارية المبطنة لقناتي البيض ، وهذه الافرازات ضرورية لتغذية البيضة المخصبة التي تبدأ بعملية الانقسامات عند عبورها البوق وقبل انغراسها في بطانة الرحم ، كما يعزز هرمون البروجستيرون نمو النظام الفصيصي –السنخي للغدد اللبنية ويعمل مع الهرمونات الاخرى على نمو الفصيصات وتبرعم الحويصلات فتصبح ذات طبيعة افرازية . (Henderson *et al.*,2015)

3-2 إزالة مبايض ovariectomy

ان عمليات ازالة المبايض(Ovarectomized (OVX تودي الى حصول حالة تدعى بسن الياس الجراحي (الأصطناعي) نتيجة للاختلال في مستوى تركيز هرموني الاستروجين و البروجستيرون نتيجة لعدد من التداخلات الطبية ، اذ فازالة المبايض جراحيا قبل بلوغ المرأة سن الياس يؤدي الى اصابتها بأعراض الياس المبكر ويحدث الامر نفسه اذا تعرض المبيضان للتلف نتيجة التعرض للإشعاع او المعالجة بالأدوية المضادة للسرطان او بعض العلاجات الكيميائية .(Ross *et al*., 2004 ; Parker,2010)

تودي عملية استئصال المبايض الى انخفاض في تركيز هرمون الاستروجين وفقدان الدورة الحيضية ، وهذا يودي بدوره الى زيادة في مستويات الهرمونات المغذية للمناسل في الدم نتيجة للتغذية الاسترجاعية السالبة بين هرمونات الغدة النخامية والمبيض لإنتاج الهرمونات السيترويدية Negative feedback mechanism (Christian & Moenter, 2010) .

انخفاض مستوى هرمون الاستروجين بعد سن اليأس الطبيعي او الجراحي في الانسان او المستحدث في الحيوانات المختبرية يعد عامل خطورة في تطور امراض سرطان الثدي Breast cancer (Sharman, 2011) ، وكذلك قد يكون احدى العوامل المسببة لأمراض الجهاز القلبي الوعائي واحتشاء العضلة القلبية Myocardial infraction (Rivera *et al*., 2009) وامراض اخرى كأمراض هشاشة العظام Osteoporosis ومرض الزهايمر (Rivera *et al*. , 2009 ; Haidong *et al*., 2011).

تحدث عمليات ازالة المبايض لاسباب متعددة قد تكون بسبب امراض سرطانات المبيض Ovarian cancer (Schwatz, 1992 ; Worley & Welch, 2013) او بسبب تكيس المبايض او وجود كيس على المبيض او امراض سرطان الثدي (Parker *et al*, 2009; Shelling,2010) وقد اشارت العديد من الدراسات الى ان عمليات ازالة المبايض في الحيوانات تودي الى الاختلال في ايض المواد الغذائية في الجسم وحصول حالة زيادة الشهية ثم الزيادة في وزن كتلة الجسم والاعضاء الحيوية مثل الكبد ، مما يودي الى فرط نمو النسيج الدهني وخلل في ايض العظام وحصول حالة هشاشة العظام (Omara *et al*., 2009 ; Maclean *et al*., 2010 ; Hamed *et al* ., 2010).

تعد مرحلة سن الياس هي المرحلة الاكثر ضعفا وتاثيرا على الصحة (Hickey *et al*., 2005) وتتضمن هذه المرحلة اعراضا مثل الهبات الحرارية Hot Flashes التي تعتري المرآة خلال هذه المرحلة والتي يعتقد بأنها (صرع حركي وعائي) Vasomotor episodes والتعرق الليلي وقلة في الافرازات المهبلية (Nelson , 2008) ، والارق والقلق عند النوم وتقلب المزاج وارتفاع معدلات الكآبة النفسية Depression ومشاكل في الجهاز البولي التناسلي(Shuster *et al*., 2008) ، ذلك بسبب الاضطراب في مستويات هرمونات المبيض (Cox and Liu ,2014) .

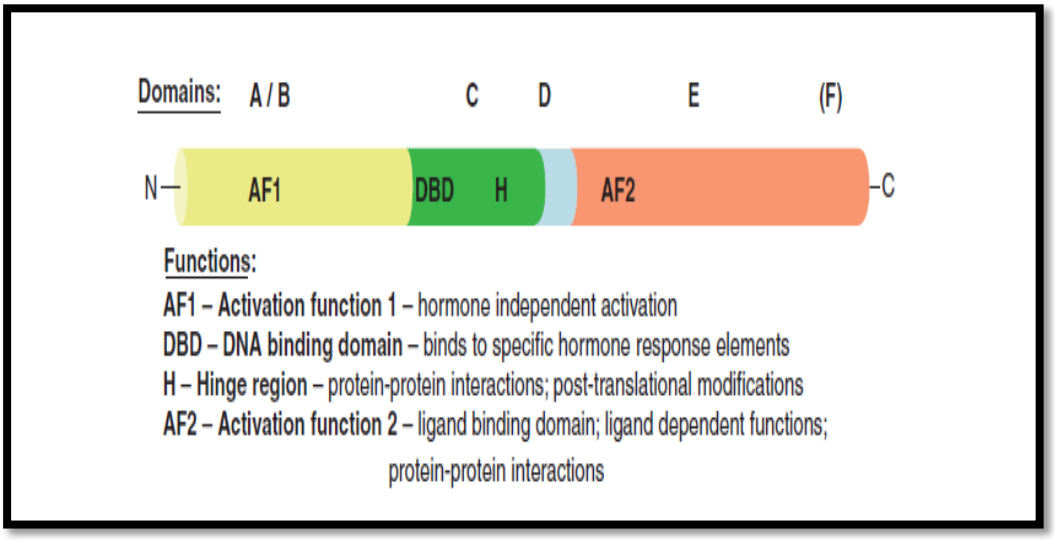
4-2 المستقبلات Receptors

تتطلب الانشطة الخلوية للهرمونات ارتباط الهرمون بمستقبله الخاص ، اذ تتميز هذه المستقبلات بامتلاكها ميل للأرتباط بتلك الهرمونات ، كما ان ارتباطها قابل للرجوع بسهولة وقابل للاشباع ويكون نوعياً (مختصاً) . تأخذ المستقبلات موقعا ضمن الخلية اما في داخل السايتوبلازم او ضمن النواة كما في مستقبلات عائلة (Thyroid Retinoid – steroid) (Kuiper *et al.*, 1997 ; Skafar and Zhao, 2008).

تتم الفعاليات الحيوية للاستروجين بوساطة نواتج اثنان من الجينات ضمن عائلة المستقبلات النووية هما (ER-α وER-β) Estrogen receptor α ،β . تعود مستقبلات الأستروجين الى مستقبلات العائلة النووية الاسترودية والتي تعمل على تنشيط عوامل الاستنساخ المجندة Ligand – transcription factors (Mangelsdorf *et al.*,1995; Ellmann *et al.*, 2009) . يتكون مستقبل الاستروجين الفا من 595 حامض اميني وله وزن جزيئي مساوي الى 66 KD (كيلو دالتون) ، ويتكون وظيفيا من ثلاث مناطق هي :

1- غير المعتمد وظيفيا على الهرمونات Hormones – independent activation function 1 (AF1 domain) .
2- المرتبط وظيفيا مع جزئية ال DNA DAN – binding function (DBD domain) .
3- المعتمد وظيفيا على الهرمونات Hormones – dependent activation function 2 (AF2 domain)

كما يتكون من ست مكونات فرعية متوافقة مع المناطق الوظيفية كما موضح في شكل (2-1) .



شكل (2-1) يوضح المناطق الوظيفية في مستقبل هرمون الاستروجين ; (Brisken and O'Malley, 2010 Skafar and Zhao , 2008)

يكون تاثير كلا نوعين من مستقبلات الاستروجين كمحفزات للتمايز للاعضاء التكاثرية كما لها الميل نفسه للارتباط مع الاستروجين (Drummond *et al* ., 1999) . وبالرغم من وجود بعض الاختلافات المعنوية للاحماض الامينية في بعض مواقع تلك المستقبلات ، الا ان لهما نفس التاثير على فعالية الاستنساخ (Hall and McDonnell, 1999). يتم التعبير عن مستقبلات الاستروجين في خلايا عدة منها خلايا الغدد اللبنية والرحم وعنق الرحم وقناة البيض والمهبل وكذلك في تحت المهاد والغدة النخامية في الانسان وللكثير من الحيوانات (Brodowska *et al* ., 2007 ; Sagsoz *et al* ., 2011 ; Knapczyk-Stwora *et al* ., 2011) .

لمستقبل الاستروجين ER-α دور مهم في تنظيم تطور الغدد اللبنية ، حيث يعبرعنه في كل من النسيج الظهاري والسدى للغدد اللبنية (Li *et al*., 2010) والذي له دور مهم في استطالة القنوات اللبنية كما أن له دور مباشر او غير مباشر في التفرع الجانبي لها وتكّون الحويصلات Alveologensis ، كما يلعب دوراً مهماً في عملية تطور الغدد اللبنية خلال مرحلتي الحمل والرضاعة (اي ان له دور في تكاثر و تمايز وحفظ خلايا النسيج الطلائي المبطنة لتجويف الحويصلة) (Mallepell *et al* ., 2006 ; Feng , 2007 ; Heldring *et al*., 2007)

من جهة اخرى فأن الدور الوظيفي لمستقبل ER-β في النسيج الطلائي والسدى في الغدد اللبنية مايزال غير معروف على الرغم من وجود نسبة عالية من التعبير .

(Ellmann *et al.*, 2009 ; Li *et al.*, 2010 ; Pelekanou and Leclercq , 2011)

حيث لوحظ في الانسجة اللبنية المزالة منها تعبير مستقبل الاستروجين بيتا ER-β / receptor deficient mammary tissue (ERBKO) – أن تطور الغدد اللبنية كان طبيعيا نسبيا مما يؤكد على الدور الرئيس و الفعال لمستقبل ER-α في تطور الغدد اللبنية . (Forster *et al.*, 2002 ; Nilsson and Gustafsson , 2010)

يحث هرمون الاستروجين ايضا تعبير مستقبل البروجستيرون (PR) من خلال مستقبل استروجين الفا ER-α وهذا يفسر دور ER-α في عملية تطور الحويصلات في الغدد اللبنية

. (Lamote *et al.*, 2004 ; Brisken and Rajaram , 2006 ; Feng, 2007)

كما ينظم هرمون البروجستيرون عدداً كبيراً من العمليات البايولوجية في انسجة الجسم من خلال عمل مستقبلات البروجستيرون Progesterone receptor (PR) ، التي تتم من خلال التفاعل بين الهرمون مع المستقبلات المتماثلة ، ويوجد مستقبل البروجستيرون بشكلين متماثلين هما PR-A وPR-B وهذان البروتينان متماثلان باستثناء امتلاك PR-A الاصغرفي التركيب على 164 حامضاً امينياً عند المحطة النهائية N مقارنة مع بروتين مستقبل PR-B الاكبر .(Richer *et al.*, 2002)

يميز هرمون البروجستيرون من خلال مستقبلات البروجستيرون الموجودة على الخلايا الظهارية للغدد اللبنية والتي تكون مهمة في عملية التكوين الفصيصي – السنخي للغدد اللبنية (Wiehel *et al.*, 2011) . في النساء يمكن الكشف عن مستقبلات PR في الخلايا الظهارية للغدة اللبنية في مراحل الدورة الشهرية كلها اما في مرحله ما قبل سن الياس Premenopausal يكون مستقبل البروجستيرون هو المستقبل المهيمن في 12- 29 % من الخلايا الظهارية مقارنة مع مستقبل الاستروجين الموجود في 3- 10 % من الخلايا (Conneely *et al.*, 2002) . اما بعد سن الياس فيزداد تعبير مستقبل الاستروجين في الثدي الطبيعي مع وجود بضع خلايا الموجبة لمستقبل البروجستيرون (Mulac-Jericevic and Conneely,2004) .

5-2 الغدد اللبنية mammary gland

الغدد اللبنية من الغدد الجلدية العرقية المتحورة ، توجد في الاناث والذكور على حد سواء (Watson and Khaled , 2008 ; Hassiotou and Geddes , 2013) . تتطور الغدد اللبنية في الاناث وتصبح وظيفية حيث تقوم بتزويد المولود بالحليب والذي يعد المادة الاساس في التغذية و المكون من بروتينات protein ودهن الحليب Lipid واللاكتوز Lactose والمعادن والفيتامينات وتوفير الاجسام المضادة antibodies (Hassiotou *et al.*, 2012 ; Skibiel *et al.*,2013 ; Mescher, 2016) .

تعد الغدد اللبنية تركيباً مميزاً في اللبائن تنجز مهمه فريده وهي افراز وتحرير الحليب بكميات كافية من الام الى الوليد خلال شبكه واسعه من القنوات المتفرعة (الحاج ,2013) . يختلف موقع الغدد اللبنية باختلاف الحيوانات ، بعضها صدرية Thoracic كما في الانسان والفيلة ، وبعضها بطنية Abdominal كما في الخنازير , وبعضها اربية Inguinal كما هو في الابقار والماعز والاغنام , اما في الجرذان والفئران والارانب فتتواجد الغدة اللبنية في المناطق الثلاث للجسم (الصدرية والبطنية و الاربية) (Hovey *et al* ,2002) . ان التركيب النسجي للغدد للبنية يختلف تبعا لاختلاف الجنس والعمر والحالة الفسلجية (Mescher , 2016).

الغدد اللبنية من الغدد الانبوبية الحويصلية المركبة Compound Tubulo alveolar تتالف من (15-25) فصا Lobe ويعد كل فص غده مستقلة تحتوي على قناة لبنية يبلغ طولها حوالي (2-4) سم ، وينفصل كل فص عن الاخر بنسيج ضام كثيف غير منتظم (السدى Stroma) مع الكثير من النسيج الدهنيAdipose Tissue و تختلف كثافة النسيج الدهني باختلاف الحالة الفسلجية للغدة اللبنية فكلما زادت فعالية الغدة اللبنية قل النسيج الدهني فيها وبالعكس (Martin *et al.*, 2017).

يحتوي النسيج الرابط الموجود في الغدد اللبنية على العديد من الخلايا الخاصة بهذا النسيج وخاصة البلاعم Macrophages (O'Brien *et al.*,2012) والارومات الليفية Fibroblasts والخلايا اللمفاوية Lymphocytes والخلايا البدينة Mast cell وخلايا Plasma cells التي تزداد بشكل ملحوظ عند نهاية الحمل وتكون مسوولة عن افراز الغلوبيولين المناعي (Guyton and Hall ,2016) .

يتألف كل فص من مجموعة فصيصات Lobules وكل فصيص مكون من مجموعة حويصلات Alveoli حيث تعد هذه الحويصلات الوحدة الاساسية والوظيفية للانسجة المفرزة في الغدد اللبنية. تبطن الحويصلات بطبقة واحدة من الخلايا الظهارية المكعبة البسيطة الفارزة للحليب المستندة على الغشاء القاعدي والتي تحيط بفجوة الحويصلة وتكون مسوولة عن افراز الحليب الى تجويف الحويصلات ،تحوي ايضا على الخلايا الظهارية العضلية Myoepithelial cell التي تكون ذات طبيعة تقلصية وتساعدها على التقلص وافراز الحليب اثناء الرضاعة تقع بين الخلايا الظهارية والغشاء القاعدي (Gartner and Hiatt,2014) . وتعد هذه الخلايا من العناصر التقلصية Contractile elements للغدد اللبنية فلابد للحليب من ان يقذف من الحويصلات الى القنوات اللبنية قبل ان يحصل علية الرضيع وتسمى هذه العملية بافراز الحليب Milk secretion (Oftedal , 2012 ; Magi *et al* ., 2002) . كما تحاط الحويصلات بطبقة من الانسجة الرابطة الحاوية على شبكة من الاوعية الدموية الدقيقة كالشرايين Arterioles والاوردة Venules التي توفر المواد الغذائية الاساسية اللازمة للخلايا الافرازية لتكوين الحليب وتقوم هذه الاوعية بازالة الفضلات المختلفة يمتلك كل فص القنوات اللبنية الافرازية Lactiferous duct والقنوات بين الفصيصات Intralobular duct . (Peaker , 2002 ; Hartmann, 2007) .

يفرز الحليب في الحويصلات بوساطة هرمون الاوكسيتوسين Oxytocin الذي يفرز من الفص الخلفي للغدة النخامية posterior Pituitary gland وذلك من خلال الاشارات العصبية والميكانيكية الناشئة عن طريق الرضاعة Lactation والتي تصل الى تحت المهاد Hypothalamus ،ينتقل الايعاز للغده النخامية الخلفية ليعزز افراز هرمون الاوكسيتوسين الذي يحمل بوساطة مجرى الدم الى مستقبلات الاوكسيتوسين في الغدد اللبنية ويحفز على تقلص الخلايا العضلية الظهارية Myoepithelial Cell الموجودة بين الحويصلات مسببا ادرار الحليب Milk ejection من الحويصلات الى القنوات ومن ثم يخرج من الحلمه Nipple (Marya , 2010; Guyton and Hall,2016).

الغدد اللبنية قبل البلوغ تكون غير متطورة وتتكون من العديد من التفرعات الأولية للأقنية اللبنية الإفرازية Lactiferous ducts في حين لايوجد اي تطور سنخي –فصيصي Lobulo -alveolar (Mescher,2016).

تمثل الغدد اللبنية في الاناث خلال مرحلة البلوغ Puberty احدى مميزات الجنس الثانوية , حيث يكبر الثدي بالحجم نتيجة لتراكم النسيج الدهني وزيادة في تكوين النسيج الضام مع الزيادة في نمو وتفرعات القنوات اللبنية Lactiferous ducts حيث تحاط كل القنوات بالنسيج الظهاري المكعب البسيط (McNally and Martin, 2011 ; Mescher , 2016) .

خلال مرحلة البلوغ تنمو الانسجة الظهارية اللبنية في الاناث وتتفرع في كل مكان في الوسادة الدهنية (Guyton and Hall,2016) . ان الغدد اللبنية في هذه المرحلة تكون خاضعة لانقسام الخلايا تحت تاثير الهرمونات الستيرويدية الجهازية وذلك من استطالة القناة وزيادة نموها ، وتفرع القنوات اللبنية نتيجة ارتفاع في هرمون الاستروجين المبيضي (Asselin- Labat *et al.*, 2010) .

يعد هرمون البروجيستيرون من الهرمونات التي لها دور رئيس في تطور الغدد اللبنية في سن البلوغ وذلك من خلال حثه على تكوين التفرعات الجانبية لقنوات الغدد اللبنية في الدورة المبيضية وفي المراحل المبكرة للحمل (Brisken and O'Malley, 2010) . اما خلال المراحل المتقدمة من الحمل يحدث التطور الاكبر للغدد اللبنية وتتحكم فيها العديد من الهرمونات ، حيث يكون بطئ في بداية الحمل ثم يزداد النمو خلال فترة الحمل المتقدم ، تخضع الغدة اللبنية الى تغيرات تركيبية بسبب عمل الكثير من الهرمونات ويتحول الثدي تدريجيا الى جهاز وظيفي ناضج تماما نتيجة لعمل الهرمونات وخاصة هرمون الاستروجين وهرمون البروجيستيرون (Tamm *et. al* ., 2012) ، و خلال النصف الاول من الحمل تخضع القنوات الطرفية بين الفصيصات للتكاثر وتشكل البراعم الطرفية التي تتميز الى الحويصلات alveole (Junqueira and Carneiro, 2005) .

ان هرمون الاستروجين من الهرمونات المهمة لنمو الغدد اللبنية يعمل على تحفيز استطالة قنوات الحليب وتطورانسجة السدى في الثدي , وتراكم الدهون في الثدي ، اما البروجيستيرون يحث على التفرعات القنوية والنمو الفصيصي السنخيLobulo alveolar للغدة اللبنية وتطور الخواص الافرازية للخلايا الحويصلية حيث يعمل البروجسترون بالتناسق بصوره خاصة مع الاستروجين و هرمون البرولاكتين وهرمون النمو لإكمال النمو الفصيصي السنخي الذي يصبح ناضجا عند بدايه الإرضاع وتبرعم الحويصلات (Henderson *et al.*,2015) . ويحفز تكوين التراكيب السنخية التي تنتج الحليب بعد الولادة تحت تاثير هرمون البروجيستيرون وهرمون البرولاكتين خلال مدة الحمل (Capecch , 2005) .

تخضع الغدة اللبنية للنمو والتمايز بسبب تاثير هرمون البرولاكتين الذي يفرز من الفص الامامي للغدة النخامية Anterior pituitary gland من خلايا Mammotrophs الذي يحفز تفرع القنوات بين الفصيصات ويعزز نمو النظام الفصيصي – السنخي ويبدا انتاج الحليب اثناء الحمل ، وبالتآزر مع هرمون البروجيسترون يشكل العديد من الحويصلات اللبنية التي تتضخم خلال مرحلة الرضاعة حيث يعمل على تحفيز ادرار الحليب من الغدة اللبنية والمحافظه على استمرار انتاج الحليب وادراره (Oakes *et al.*, 2006 ; Chen *et al.*,2012) .

خلال مرحلة الحمل يتحول النسيج الغدي الى نسيج افرازي، وتخصص الخلايا الظهارية وتقوم بوظيفة الافراز حيث يزداد التفرع للقنوات النهائية للجهاز القنوي وظهور الاسناخ في نهاياتها (Oakes *et. al.*, 2006) . في بداية الحمل يتكون اول فصيص مكون من عدة اسناخ دائريه تحوي تجويفا ضيقا ويبطن بخلايا ظهارية عمودية , اما في النصف الثاني من الحمل فتنمو الاسناخ ويتطور كذلك النظام القنوي استعدادا للرضاعة ،فالحويصلات اللبنية تصبح على شكل عناقيد Clusters تتمدد بسبب ضغط الخلايا الظهارية الفارزة للحليب (Brisken,2002; Junqueira and Carneiro, 2005 ; Katica *et al* ,2012) . و نظراً لتوسع الفصيصات يقل حجم النسيج الدهني تدريجيا الى ان يختفي في نهاية الحمل ، وتقل الانسجة الضامة الموجوده بين الفصيصات ويكون النمو الفصيصي –السنخي Lobulo alveolar development قد اكتمل في نهاية فترة الحمل ، بالإضافة إلى ذلك فإن الغدد اللبنية تخضع للنمو والتمايز بسبب هرمون البروجستيرون وهرمون الغدة النخامية البرولاكتين واللاكتوجين المشيمة Plcental Lactogen وقشرة الغدة الكظرية هذه الهرمونات تحفز تكاثر وتفرع القنوات بين الفصيصات Interlobular وتشكل العديد من الحويصلات اللبنية التي تخضع للتضخم أثناء فترة الرضاعة وتصبح موقعا فعالاً ونشطاً لإفراز الحليب (Neville *et al*,2002 ; Cadar *et al*, 2012) .

اما خلال فترة الرضاعة Lactation فيبدا تطور الغدد اللبنية مع بدء الرضاعة بسبب وجود عدد كبير من الحويصلات اللبنية التي تحوي انماطاً مختلفة من التفرعات غير النظامية تمتلك الخلية الافرازية المبطنة للحويصلات شبكة أندوبلازمية خشنة ومايتوكوندريا والعديد من مجاميع كولجي وقطرات الدهون والكثير من الحويصلات التي تحتوي على اللاكتوز و الكازين (Akers and Dendow , 2013; Martin *et al*., 2017). حيث يقل النسيج الضام ويصبح مختزلا ويزداد اعداد الحويصلات المتوسعة التي تظهر تفرعاتها غير المنتظمه الشكل ، والحويصلات تكون مملؤة بالافرازات وتبطن بالنسيج المكعبي ذي الخلايا الافرازية النشطه تتضمن قطيرات الدهن وحبيبات البروتين ، كما يحدث توسع في الاوعية الدموية داخل السدى لتوفير كميات كبيره من الطاقة والاحماض الامينية والسكريات اللازمه لانتاج الحليب ، ان هذا التغير في الحجم وفي إعداد الحويصلات يساهم في زيادة الافرازات الحويصلية ، بسبب الزياده في حجم النسيج الظهاري الغدي تنخفض كميات الانسجة الرابطة

(Pang and Hartmann, 2007; Capuco & Akers,2009 ; Oftedal , 2012) .

6-2 الرحم Uterus

يعد الرحم جزءاً مهماً من الجهاز التناسلي الأنثوي وهو يمثل المكان المناسب لاستقبال البيضة المخصبة وتغذيتها وحماية الجنين حتى الولادة (Sokol,2010) . وهو عضو عضلي كمثري الشكل مسطح قليلا يقع داخل التجويف البطني وطوله 7.5 سم وعرضه 5 سم . و يمكن تمييز جزأين كبيرين ،الجزء العلوي المتوسع ويدعى جسم الرحم Corpus Uteri والذي يتصل بقناتي فالوب، والجزء السفلي الاسطواني الشكل يدعى بعنق الرحم Cerivx والذي يتصل بالمهبل ، يكون الرحم مسوؤل عن مجموعة من الوظائف مثل الحمل والحيض والولادة . نسيجيا يتالف جدار الرحم من ثلاثة طبقات رئيسية هي البطانة الداخلية الرحم Endometrium وعضل الرحم Myometrium والطبقة المصلية Serosa ، تتالف بطانة الرحم من نسيج طلائي عمودي بسيط Simple columnar epithelial tissue الذي يبطن تجويف الرحم ونسيج ضام ملئ بغدد بسيطة انبوبية مستقيمة simple straight tublar gland لها قناة ضيقة تسمى بالغدد الرحمية Uterine gland، إما الطبقة العضلية للرحم فتكون مؤلفة من طبقتين من الالياف العضلية الملساء مرتبة بشكل حزم مفصولة بعضها عن بعض داخلية دائرية وخارجية طولية بينهما العديد من الاوعية الدموية الكبيره . خلال مرحلة الحمل وتحت تاثير الاستروجين تزداد عضلة الرحم في الحجم بشكل كبير نتيجة لفرط التنسج والتضخم ،اما الطبقة المصلية تعد اخر طبقات جدار الرحم الى الخارج وهي غشاء مصلي متصل بالصفاق (Fawcett and Jensh, 2002; Eurell and Frappier, 2006; Sokol,2010; Gartner and Hiatt,2014) .

في اناث الارانب يكون الرحم من نوع ثنائي التفرع يتالف من قرني الرحم المنفصلة و لا يحتوي على الجسم الرحمي ويفتح قرني الرحم في المهبل (Bitto *et al*., 2006) ، بطانة الرحم في الارنب تبطن بنسيج طلائي عمودي بسيط ،ويبلغ طول الرحم في الارنب حوالي 409± 8.07 سم (Rastogi, 2005; Al-Jehashi, 2011).

تعد بطانة الرحم بوصفها احدى الغدد الصماء Endocrine glands إذ تقوم بانتاج عدة هرمونات وعوامل نمو و سايتوكينات ،الا ان المهمة الرئيسة لها هي ان تسمح لانغراس الجنين في الوقت المناسب وتوفير البيئة المناسبة لانجاح الحمل كما ان لها القابلية على تدمير نفسها عند عدم حدوث الحمل (Johnson and Everitt, 2000)

تتكون بطانة الرحم من طبقتين قاعدية و وظيفية ، الطبقة القاعدية تكون متاخمة لعضل الرحم وتبقى بعد الحيض وتخضع لتغيرات محدودة اثناء الدورة الحيضية (Aplin *et al.*, 2008) ، اما الطبقة الوظيفية تكون حساسة للغاية ومستجيبة لهرمون الاستروجين والبروجستيرون ويتم التخلص منها اثناء الحيض (Tabibzadeh,1998) . أما في الثدييات فسمك بطانة الرحم والتغيرات التي تحدث فيها تكون تحت سيطرة هرمونات المبيض الاستروجين Estrogen والبروجستيرون Progesterone (Caligioni, 2009). ان الانسجة الرابطة المتخصصة والتي تقع تحت البطانة تحتوي على أمدادات غنية من الاوعية الدموية (Harris, 2007) . حيث يجهز الرحم بكمية كبيرة من الدم .

يفرز هرمون الاستروجين من خلال خلايا الحبيبية للجريب والجسم الاصفر والذي يُحدث تغييرات في بطانة الرحم وتطوير غدده ، و يرتفع مستوى الهرمون ويهبط في اثناء النصف الاول من الدورة ، ويتسبب عند هبوطه ثخن بطانة الرحم ، وعندما يصل الى الذروة وبالتعاون مع هرمون البروجستيرون يجعل بطانة الرحم اسفنجية فتتسع الغدد الموجودة في بطانة الرحم في مرحلة الافراز ، ويبدا في افراز المواد المغذية للجنين ، ان هرمون البروجستيرون ضروري لنشوء الحمل والحفاظ علية في كل اللبائن ،اذ يعمل على زيادة النشاط الافرازي للغدد الرحمية وزيادة المدد الدموي، وتقليل تقلصات عضلات الرحم والمساعدة في غرس الجنين (Bazer *et al* ., 2010) .

7-2 الغدة النخامية Pituitary gland

الغدة النخامية هي عضو صغير من الغدد الصماء تقع اسفل الدماغ في انخفاض عظمي يدعى السرج التركي Sella Turcica ، تحت التصالبة البصرية Optic chiasm وتعد الغدة الرئيسة في الجسم ، تكون اساسا لتطوير او نمو وظائف العديد من الاعضاء الاخرى في الجسم Kellberman (*et al.*,2009) . تتالف الغدة النخامية من قسمين رئيسين هما النخامية الغدية Adenohypophysis والنخامية العصبية Neurohypophysis ، ان النخامية الغدية (الفص الامامي) يتكون من الجزء القاصي Pars distalis ويشكل اغلب كتلة النخامية الغدية ، والجزء الوسطي Pars intermedia ، والجزء الحدبي Pars tuberalis (Mollard *et al.*, 2012 ; Greaves ,2007). تتألف النخامية العصبية من الجزء العصبي Pars nervosa والقمع Infundibulum والبروز الوسطي Median eminence ، تتعلق الغدة النخامية من منتصف الخط الوسطي البيني للدماغ عند منطقة تحت المهاد Hypothalamus بوساطة ساق وهو امتداد من

البروز الوسطي من منطقة تحت المهاد ويشكل الجزء الداني من النخامية العصبية (Bancalari *et al*.,2012).

تقع الغدة النخامية في الارانب عند قاعدة الدماغ قرب منطقة التصالب البصري والعصب القحفي الثالث يحيط بها جانبيا ، اما العظم الوتدي فيحيط بها من السطح السفلي. الغدة النخامية عبارة عن كتلة تميل الى ان تكون بيضوية في الارانب في حين تكون كروية واكثر تسطحا في خنزير غينيا (AL – sinjary,2012) .

تعد الغدة النخامية العضو المهم في نظام الغدد الصماء حيث يرتبط الفص الامامي منها بتحت المهاد عن طريق البروز الوسطي لتحت المهاد حيث تحتوي هذه المنطقة على الخلايا العصبية التي تنظم افراز النخامية الغدية ، وتبرز من البروز الاوسط اوعية تتحد مع بعضها لتكون ظفيرة من الاوعية البابية في السويقة النخامية والتي تمد الغدة النخامية بكل احتياجاتها من الدم تقريبا (Porter *et al*.,2008) ، توجد عصبونات خاصة في تحت المهاد تصنع وتفرز الهرمونات المحررة والمثبطة التي تتحكم في افراز هرمونات النخامية الغدية (Mescher, 2016) .

يقوم تحت المهاد بافراز ما يسمى بالهرمونات العصبية التي تعد هرمونات محررة Releasing Hormones وهذه الهرمونات اما ان تكون عوامل محفزة Releasing factors او عوامل مثبطة Inhibiting factors وتوثر هذه الهرمونات على الفص الامامي من الغدة النخامية عن طريق اما تحفيز واما تثبيط عمل وافراز هرموناتها ، الهرمون المفرز من تحت المهاد هو اما ان يكون محفزا لافراز هرمونات الفص الامامي للغدة النخامية او مثبطا لها (Bancalari *et al*.,2012) والجزء الوسطي من النخامية الغدية يرتبط مباشرة مع النخامية العصبية (Mcklveen,2002). و يعد كل فص عبارة عن غدة صماء منفصلة في وظائفها عن البعض الاخر من ناحية الوظيفة الافرازية وانواع الهرمونات المفرزة (العلوجي ،2014) .

يتميز الفص الامامي بكثرة الاوعية الدموية الشعرية المحيطة به ، تفرز خلايا الفص الامامي عدداً من الهرمونات التي تعمل على تنظيم كثير من الوظائف في الجسم بما في ذلك النمو و التكاثر و النضج ، و يتكون الجزء الامامي من خمسة انواع من الخلايا الفارزة للهرمونات هي الخلايا الجسمية Somatotropic cells وتفرز هرمون النمو Growth hormone (GH) وخلايا الموجهة القشرية Corticotropic cells تفرز هرمون الموجه لقشرة الكظرية Adrenocorticotropic hormone (ACTH) وخلايا الدرقية Thyrotropes وتفرز هرمون الغدة الدرقية – Thyroid Stimulating Hormone وخلايا الحليب Lactotropes تفرز هرمون الحليب Prolactin

(PRL) والخلايا الموجهة للقند Gonadotropic cells والتي تفرز الهرمون اللوتيني Luteinizing hormone (LH) والهرمون المحفز للجريب Follicle stimulating hormone (FSH) هنالك خلايا في الجزء الامامي للنخامية تنتج اكثر من هرمون واحد مثلا تفرز الخلايا المحرضة للقند الهرمون اللوتيني بالإضافة الى الهرمون المحفز للجريبات في الخلية نفسها .(Plant, 2008 ; Wen,2010)

اما الفص الخلفي للغدة النخامية فيفرز اثنين من الهرمونات هما هرمون الاوكسيتوسين Oxytocin وهرمون الفاسوبرين Vasopressin (Chaudhary and Bano, 2011) ، ولهرمون الاوكسيتوسين دور في تحفيز تقلص العضلات الملساء Smooth muscle في عملية الولادة Partaurition وافراز الحليب خلال فترة الرضاعة (Wen , 2010) .

اما الفص الوسطي Intermediate lobe فيحتوي على خلايا الصبغة Melanotropes والتي تنتج هرمون المحفز للخلايا الصبغية Melanocyte – stimulating hormone (MSH) الذي يحفز انتاج وتحرر صبغة الميلانين Melanin في الجلد والشعر (Mescher, 2016) .

2-7 -1 الهرمونات المحررة للغدد التناسلية

Gonadotropin – Relasing Hormone (GnRH)

هرمونات تصنع وتحرر من قبل عصبونات تحت المهاد وهي المسوولة عن تحرير الهرمون المحفز للجريبات(FSH) والهرمون اللوتيني(LH) من الفص الامامي للغدة النخامية Anterior pituitary gland ولهذه الهرمونات تاثير مباشر على افراز الهرمونات التناسلية من خلال تحفيز الغدد التناسلية المسوؤلة عن تصنيعها وافرازها (المبايض في الاناث والخصيتين في الذكور) لانتاج الهرمونات الانثوية والذكرية وتنظيم انتاج الامشاج (البويضات والحيوانات المنوية) (Dungan and Cliflon, 2006; Mollard *et al*, 2012) . أن الهرمونات المتحررة من محور تحت المهاد – النخامي – القندي تكون مسوولة عن مبدأ تنظيم التكاثر والسيطرة على الدورات الإنجابية أو التكاثرية للاناث ، وتدعى ايضا بالمحور الهرموني تحت المهادي – النخامي – المبيضي Hypothalamo- Pituitary – Ovarian hormone Axis (Ferin, 2008) .وهي تنظم عملية الاباضة بعدد من الهرمونات المفرزة من المناسل التي تقوم بتنظيم افراز الهرمونات المحررة

للهرمونات الموجهة للقند (GnRH) Gonadotropin releasing hormone والتي توثر في النخامي الغدي حيث تقوم بافراز كل من الهرمون المحفز للجريب FSH والهرمون اللوتيني LH اللذين يوديان دورا مهما في نمو الجريبات وعملية الاباضة (Charlton, 2008) .

تعود هذة الهرمونات الى عائلة الهرمونات السكرية البروتينية Glycoprotein التي تتميز بتركيبها البروتيني الكاربوهيدراتي اللازم للنشاط الحيوي و تحتوي الهرمونات المغذية للمناسل على 92 حامض اميني ، ويبلغ الوزن الجزيئي لل FSH وLH 34000 و27000 دالتون على التوالي يتم افراز الهرمونات الموجهة للقند (FSH,LH) من الغدة النخامية عبر ميكانيكة التغذية الراجعة السالبة Feed back mechanism بين كل من التاثير المباشر في تحت المهاد مما يودي الى تثبيط افراز (GnRH) ومن ثم تثبيط افراز الهرمونات الموجهة للقند أو من تأثيرها في النخامي الغدي المباشر(Ganong, 2005) .

ويعد هرمون LH المسوول عن احداث الاباضة و تكوين الجسم الاصفر مما يودي الى افراز الهرمونات الستيرويدية Estrogen وProgesterone من المبيض عند الاناث (Sugino *et al.*, 2005) ،أما في الذكور فهو يساهم في زيادة تصنيع وافراز هرمون Testosterone من الخصية (Roser,2008) .

اما هرمون FSH فيعد المسؤول عن إفراز هرمون Estrogen من المبيض في الإناث بالإضافة إلى مساهمته في عملية نمو تطور الحويصلات المبيضية (Jiang *et al.*, 2012) .

يساعد هرمون LH في التطور النهائي للحويصلة الناضجة ويسهل انتاج الاستروجين من الحويصلات الواقعة تحت تاثير FSH وهذة الاستروجينات تفرز من خلايا البطانة الداخلية Theca lnterna للحويصلة كما تفرز من خلايا الطبقة المحببة بكميات قليلة وزيادة إفراز الـ LH من الغدة النخامية يؤدي إلى تمزق الحويصلات وخروج البويضات وبعد عملية الاباضة يُعد الـ LH مسؤولاً عن تكوين الجسم الأصفر مكان الحويصلات المبيضية (Russell and Robker,2007) .

يحفزهرمون FSH على افراز الهرمون المثبط والذي بدوره يتحكم بافراز الهرمون المحفز للجريبات عن طريق آلية التغذية الاسترجاعية Feed back mechanism (Vadakkadath and Atwood,2005; Macklon & Fauser, 2005). ان انتاج الستيرويدات يقل عند سن الياس بصورة كبيرة مما ينتج عنة زيادة في مستوى هرموني LH وFSH عن طريق الية التغذية

الاسترجاعية (العلوجي،2008) . لذا فأن تركيز البلازما لـFSH وLH تكون مرتفعة بعد سن الياس كمؤثرات تثبيطية للستيرويدات الجنسية (Hadley,2000).

2- 8 هرمون البرولاكتين Prolactin Hormone

البرولاكتين هرمون ببتيدي يصنع ويفرز بواسطة الغدة النخامية الامامية Anterior pituitary gland وخاصة من الخلايا الموجهة للثدي Mammotrophos التي هي خلية حمضية Acidophilic cell كما ينتج هرمون البرولاكتين من خلايا الجسم الاخرى بشكل واسع مثل الخلايا المناعية Immune cell والدماغ Brain والرحم Uterus والغدد اللبنية Mammary gland (Gardner and Shoback, 2018) . يعمل البرولاكتين على تطور الغدد اللبنية للبدء بانتاج الحليب ويعزز تنمية النظام الفصيصي – السنخي بالتازر مع هرمون البروجستيرون كما يقوم بتحفيز نمو القنوات بين الفصيصات ، وايضا له دور في تنظيم ايض الدهون في الانسجة الدهنية والكبد وذلك للمساهمة في توجية المواد الغذائية الاساسية إلى الأنسجة اللبنية عن طريق تنشيط الإنزيمات المسؤولة عن أيض الدهون (Martin *et al.*,2017) .

2 – 9 انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP)

الفوسفاتيز القاعدي (ALP) Orthophosphaoric- monoester phosphydrolase (EC 3-1-1-3) هو الانزيم الذي يحرر مجموعة الفوسفات غير العضوية من الكثير من الاسترات العضوية احادية الفوسفات ويكون نشاطه عند الأس الهيدروجيني (PH = 9-10) (Zang *et al.*, 2004). و يوجد أنزيم ALP في مختلف أنسجة الجسم اذ يتواجد بتراكيز عالية في القنوات الصفراوية للكبد كما يوجد ايضا في العظم ويصنع في المشيمة Placenta عند الحمل حيث يزداد نشاطه بصورة رئيسة في الغشاء الطلائي في موقع الانغراس البيضة المخصبة في الرحم . (Iz-Aldeen and Rasmi,2016)

يقوم الكبد بصنع هذا الإنزيم بكميات أكبر من العظام و الأعضاء الأخرى ويعد قياس مستوى انزيم الفوسفتيز القاعدي مهما ومفيدا من اجل تمييز الامراض الكبدية الصفراوية وامراض العظم ,اذ تلاحظ زيادة في نشاطه بشكل واضح في بعض الحالات التي يحدث فيها انسداد في القنوات

الصفراوية منذ بداية مرض التهاب الكبد الفيروسي ويشبه ما يحدث في يرقان الركود الصفراوي ويصل مستواه الى اكثر من 3.5 مرة (Adak and shivapuir , 2010) .

يوجد انزيم ALP في مصل الدم وجميع أنسجة الجسم ونسبته عاليه في الغشاء المبطن للامعاء حيث يعمل على مساعدة خلايا الامعاء على الامتصاص ،كما يعمل على نقل الفسفور اللاعضوي مما يسهل في عملية تصلب العظام وبصورة خاصة تكلس العظم و يسهل عملية نقل المواد المتايضة Metabolites عبر اغشية الخلايا وبصورة خاصة المواد الشحمية وايض الكاربوهيدرات .كما أن له دوراً في عملية النقل الفعال لبعض النواتج الايضية عبر المشيمة (Kim and Kwak, 2005; Jeacock *et al*., 2005). وفي الكلية والخلايا العظمية والطحال والرئة وأنسجة الغدد اللبنية حيث يوجد في الخلايا الطلائية العضلية Myoepithelial cell بينما في ظهارية الحويصلات لا تحتوي الا على نسبة قليلة منه (Wange *et al* ., 2009) . ان لانزيم ALP دور في عملية تصنيع مكونات الحليب وخصوصا اللاكتوز(Chuang, 1987 ; Backwell ,2001) . يبدا هذا الانزيم بالارتفاع في المراحل الاخيرة من الحمل ويبقى على مستوى عال خلال مرحلة الرضاعة مما يدل على دور هذا الانزيم في وظيفة الخلية اكثر منها في نموها وتكاثرها ((Raubenheimer ,1987 ; Colston *et al*, 1988) .

أما في المشيمة فتكون فعالية أنزيم ALP عالية وتزداد مع الحمل، وهو مسوول عن النقل الفعال للفوسفات ونقل كلوبيولين IgG من الام الى الطفل ، ويساعد على امتصاص المواد الغذائية وفسفرة المواد الاخرى وهذا امر مهم لنمو وتطور الجنين (Mangal *et al* ., 2005) . يعد انزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP بمصل الدم من الإنزيمات التي لها علاقة بوظائف الكبد، فان تركيزة بالدم يعطي صورة واضحة عن مدى فعالية أعضاء الجسم وخصوصا الكبد (Posen and Doherty,2010 ; Bishop *et al*., 2010) . يعد زيادة فعالية انزيم ALP في مصل الدم مؤشراً للعديد من الامراض والتي تتضمن امراض الكبد(Kim and kwak,2005 ; Berk and Korenblat , 2011)، وقناة الصفراء كانسداد هذه القناة بسبب حدوث ورم سرطاني او ربما تليف خلايا قناة الصفراء ، وهذه الحالات ترفع مستوى فعالية هذا الانزيم اكثر من المستوى الطبيعي و أيضا يرتفع مستوى ALP في امراض السكري ، وامراض العظم وسرطان الكلية بالإضافة الى فشل القلب والنوبة القلبية (Mota *et al*., 2008 ; Pratt , 2010) .

تلعب هذه الانزيمات دورا في التغذية والانغراس في المراحل المبكرة للحمل في الحيوانات المختلفة كالفئران والجرذان (Salgado ,2009 ; Rawal, 2016) . يزداد تركيز هذا الانزيم في الطفولة المبكرة ومراحل النمو الاولى حتى سن البلوغ بما يعادل 3-4 اضعاف تركيزه الطبيعي في

البلازما نتيجة لزيادة نشاط الخلايا البانية للعظم ، اما في الثلث الاخير من الحمل فيزداد افرازه المشيمي 2-3 اضعافاً ويزداد افراز نظيره من الغدد اللبنية في فترة الارضاع (Kim and Wyckoff, 1999) .

2- 10 أنزيم النيوكلوتيدايز (NTD) 5' – Nucleotidase

هو 5' – Nucleotidase (EC 3.1.3.5) و يعرف ايضا 5' – ribonucleoside phosphohydrolase (Hennry, 2001) . وهو مسؤول عن أزالة الفوسفات من المركب الكيميائي Mononucleotides خارج الخلايا ، كما يحفز تحويل 5' AMP الى Adenosine خارج الخلية (Koszalka *et al.*, 2008) . انزيم NTD هو عبارة عن بروتين سكري ينتشر بصورة واسعة في خلايا الجسم يتموضع في الغشاء البلازمي للخلية يعمل على تحرير الفوسفات غير العضوي من nucleoside - 5 – phospho (Adak and Shivapuri, 2010) . وجدت مثل هذه الانزيمات في البكتريا والانسان والنباتات (Strater, 2006) .

يعد انزيم 5النيوكلوتيدايز انزيم المسؤول عن ازالة الفوسفات و انتاج مركب الاديوسين من التحلل المائي لمركب AMP اي انه الناتج النهائي لتحلل ATP ، و له دور في عملية تكون الاوعية الدموية و النمو والمناعة .(Zimmermann *et al*. ,2012) . حيث تم اكتشافه في العضلات منذ حوالي 80 سنة **(**Reis, 1934**).**

يعمل مركب الطاقة ATP ومركبه التحللي Adenosine عن طريق مستقبل خاص يعرف purinergic receptors (Zimmermann *et al*., 2012) ، والذي له دور في تنظيم خصوبة الاناث عن طريق التأثير على بطانه الرحم ،فخلال مراحل الشبق تتأثر بطانة الرحم بعمليات مختلفة منها تكون بعملية الافراز الذاتي Autocrine و منها يكون بعملية الافراز الجنبي Paracrine والاخرى بغدد الصم Endocrine،تتاثر بطانة الرحم بهرمون الاستروجين الذي يفرز من المبيض والذي يعد من الغدد الصم حيث يعمل على زيادة تكاثر خلايا البطانة والسدى والتاثير على الغدد الرحمية بمرحلة الجريبات ، تأتي بعدها مرحلة الجسم الاصفر والتي تتاثر بهرمون البروجستيرون حيث تعمل على تهيئة بطانة الرحم لانغراس الجنين (Mihm *et al.*,2011) .

تعد مركبات ATP ومركب ادينوسين من المركبات التي تعمل بصورة الافراز الذاتي والجنبي وله دور في عملية التكاثر (Burnstock, 2007)، ففي الرحم يكون الحاجة الى مركب ATP والادينوسين في عمليات تقلص عضلات الرحم (Hutchings *et al.* ,2009 ; Gillman and Pennefather 1998) كما يعمل مركب ATP على تنظيم محيط السائل الرحمي عن طريق تنظيم افراز أيونات الكلور(-Cl) في البطانة الرحمية (Chan *et al.* ,1997) وامتصاص الصوديوم (Na) (Wang and Chan ,2000) ، وكذلك تنظيم افرازات المخاطية لعنق الرحم (Gorodeski and Hopfer 1995).

كما أن لمركب الادينوسين دوراً في الاحداث ما بعد الانغراس (Blackburn *et al.* ,1992) ودوراً في عملية sperm capacitation داخل القناة التناسلية الانثوية اي انه يؤثر على الخصوبة (Schuh *et al.*, 2007 ; Minelli *et al.*, 2004) . وقد لوحظ وجود انواع من مستقبلات purinergic receptors في القناة التناسلية الانثوية (Arase *et al.* ,2009 و Chang *et al.*, 2008) والذي يختلف التعبير عنها في مراحل مختلفة من الدورة الشهرية (Bardin *et al.* 2000,) والحمل (Slater *et al.*,2002).

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1-3 المواد والأجهزة المستعملة Material and Device

1-1-3 المواد الكيميائية المستعملة :

جدول (1-3) المواد الكيميائية المستعملة بحسب أسم الشركة والمنشأ

ت	المواد Materials	الشركة Company	المنشأ Origin
1	أوكسيد الزئبق الاحمر (Red Mercuric oxide)	BDH	England
2	ايثانول 96% Ethanol	Scharlau	Spain
3	حامض الخليك الثلجي Glacial Acetic Acid	BDH	England
4	حامض البكريك المائي المشبع Saturated Aqueous picric Acid	BDH	England
5	حامض الفوسفوتنكستنك Phosphotungstic acid	Gainland chemical	England
6	حامض الهيدروكلوريك Hydrochloric acid	Scharlau	Spain
7	حامض السلفوسالسيليك Sulfosalicylic acid solution	Gainland chemical	England
8	زايلين Xylene	Scharlau	Spain
9	شمع البرافين Paraffin Wax	Histo – Line Lab, OWax	Italy
10	شب البوتاسيوم	BDH	England
11	عدة فحص انزيم Alkaline phosphatase Kit	Bio merieux	France
12	عدة فحص انزيم 5 – Nucleotidase	Bio merieux	France

13	عدة تقدير الهرمونات Estrogen, progesterone, prolactin ,FSH,LH Kit	Veda Lab Veda	German
14	عدة فحص Estrogen , progesterone receptor Kits	Dako	Denmark
15	عقار الامبسلين Ampicillin W.S.P	Dutch	German
16	فورمالين مختبري (Formalin)تركيز(40%)	BDH	England
17	فحم حيواني منشط Activate Charcoa	BDH	England
18	كلوروفورم Chloroform	BDH	England
19	كحول اثيلي مطلق (99%)	Scharlau	Spain
20	كاشف Light Green reagent	BDH	England
21	كاشف Periodic Acid reagent	BDH	England
22	كاشف Schiff's reagent	BDH	England
23	ثنائي سلفات الصوديوم Sodium metabisulfite	BDH	England
24	مادة Chromo trope 2R	BDH	England
25	مادة الفوكسين القاعدي Basic fuchsin	Scharlau	Spain
26	مادة التحميل D.P.X	Thomas Baker	India
27	مخدر كيتامين Ketamine	Kepro	India
28	مخدر زايلازينXylazine	Ceva sauté	Spain
29	مادة داي زابيم Diazepam	Aleppo	Syria
30	ملون هيماتوكسلين Hemotoxyline	Himedia Lab. Put. Ltd	India
31	ملون الايوسين Eosin	Himedia Lab. Put.	India
32	محلول الثايوباربيوريك (TBA- solution)	BDH	England

2-1-3 الأجهزة والأدوات المستعملة

الجدول (2-3) يوضح الأجهزة المستعملة و الأدوات والشركة المصنعة والمنشأ .

ت	الأجهزة و الأدوات	الشركة Company	المنشأ Origin
1	انابيب بلاستيكية خالية من EDTA	Gold star	Jordan
2	جار تصبيغ زجاجي Gar Staining	Harshman	Germany
3	خيوط ممتصة Absorbable suture	Hospital & home care	China
4	خيوط غير ممتصة non- absorbable suture	Hospital & home care	China
5	سيت تشريح Dissecting tools	S.I.E.	Pakistan
6	شرائح زجاجية مع الغطاء Slides and cover slides	China MHECO	China
7	زجاجيات مختلفة الاحجام Pyrex	Volac	England
8	محاقن نبيذية Disposable syringes	Medical ject	S.A.R.
9	محاقن انسولين glass plastic insulin syringe	Medical ject	S.A. R.
10	ماصات دقيقة micropipette	Bio Basic	Canada
11	ورق ترشيح Filter paper	Turck 0.33 mm Zelpa	Belgium
12	ثلاجة Refrigerator	Concord	Lebanon
13	جهاز Minividas	Bio Merieux	France
14	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	Heraeus Christ	Germany
15	جهاز المشراح الدوار Rotory Microtome	Histo-Line Lab. Mod. MRS 3500	Italy
16	جهاز المطياف الضوئي Spectorophotometer	Apple 203	Japan
17	حمام مائي Water Bath	Chicago Surgical and	USA

	Electrical co.		
18	صفيحة ساخنة Hot Plate	Lassco	India
19	فرن Oven	Daihan – lab. Tech	Korea
20	مجهر مركب ضوئي Compound Microscope Light	Human scope	Germany
21	مجهر ذو كاميرا Compound Microscope	MEIJI	Japan
22	ميزان حساس Sensitive Balance	Sartorius	Germany
23	ميزان كهربائي لوزن الحيوان	Savories	Germany

2-3 طرائق العمل Methods

1-2-3 حيوانات التجربة Experimental Animals

تضمنت الدراسة 48 من اناث الارانب المحلية *Oryctolagus cuniculus* يتراوح معدل اوزانها مابين (1450-2500) غرام و اعمارها بين (6 -12) شهرا ، بحالات فسلجية مختلفة (عذارى Virgin والمرضعات بعد اليوم الاول للولادة Lactating) وضعت الحيوانات في البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري / جامعة كربلاء بشكل مجاميع حسب الحالة الفسلجية للاناث (عذارى و مرضعات) في اقفاص بلاستيكية خاصة ومزودة بغطاء معدني شبكي ، فرشت الاقفاص بنشارة الخشب الناعمة التي بدلت اسبوعيا ، كما تمت العناية بنظافة الاقفاص وتعقيمها بين الحين والاخر ، و وفرت للحيوانات الظروف الملائمة من حيث درجة الحرارة 25 مْ والاضاءة والتهوية . أعطيت الحيوانات العليقة الخاصة وهي عبارة عن علف مركز يتم شراءه من الأسواق المحلية ، كما زودت بالماء بصورة مستمرة Ad libitum طيلة مدة الدراسة ، وتركت الحيوانات لمدة اسبوعين للتاقلم مع الظروف قبل اجراء عملية استئصال المبايض .

2-2-3 تصميم التجربة Design Experience

وزعت 48 عشوائيا من اناث الارانب المحلية *Oryctolagus cuniculus* الى مجموعتين مختلفة من الناحية الفسلجية والتي تضم 24 اناث عذارى Virgin و24 أناث مرضعات Lactating . تضمنت كل مجموعة اربع مجاميع :

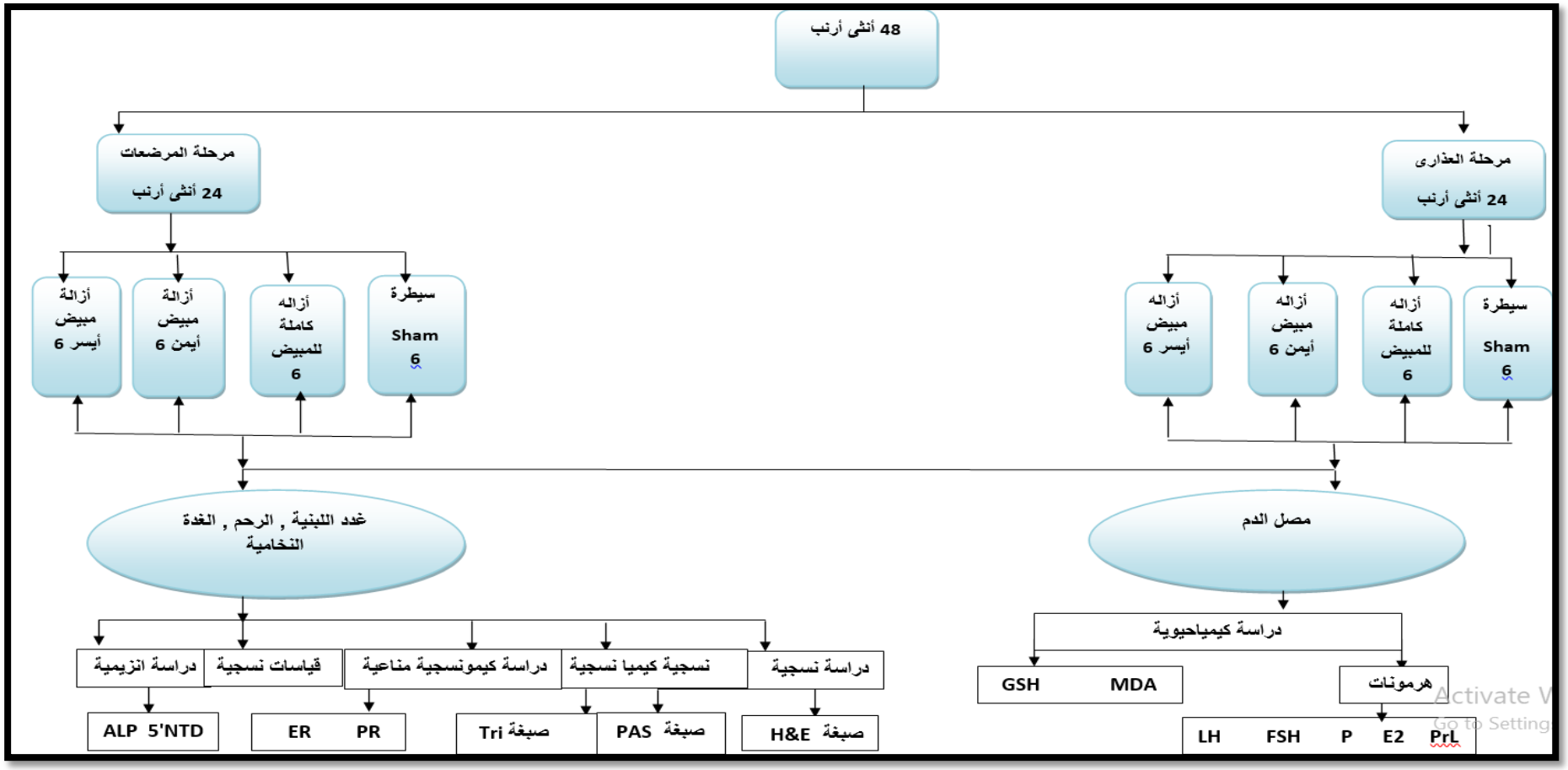
اولا : مجموعة السيطرة Sham operator: شملت 12 من إناث الأرانب للعذارى والمرضعات ، إذ جرى فتح الجلد والعضلات البطنية فقط دون إستئصال المبايض وغلق الجلد بطريقة العملية نفسها لازالة المبايض .

ثانيا : تمثل مجموعة المعاملة بإزالة المبايض الكاملة Bilateral oophorectomy للعذارى والمرضعات لـ 12 انثى ارنب .

ثالثا : تمثل المجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيمن لـ 12 من إناث الأرانب المحلية للعذارى والمرضعات.

رابعا : شملت المجموعة الرابعة لـ12 انثى أرنب وعوملت بإزالة المبيض الايسر للعذارى والمرضعات.

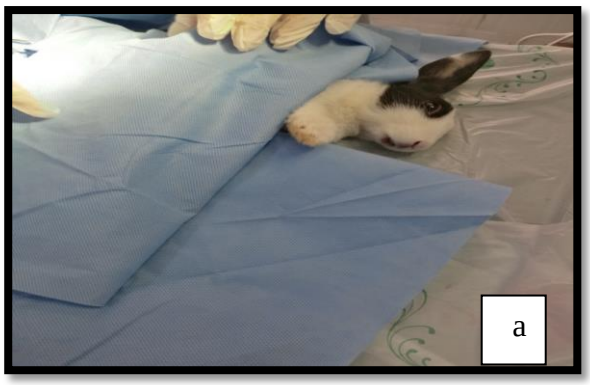
3-2-2-1- مخطط تصميم التجربة

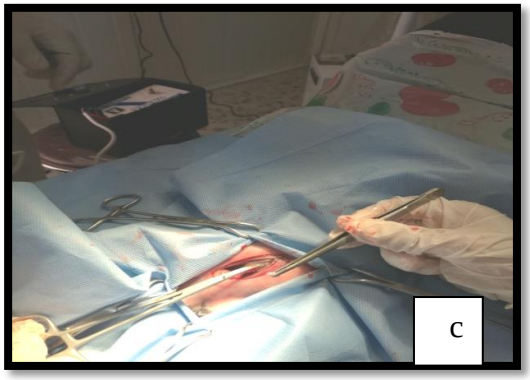


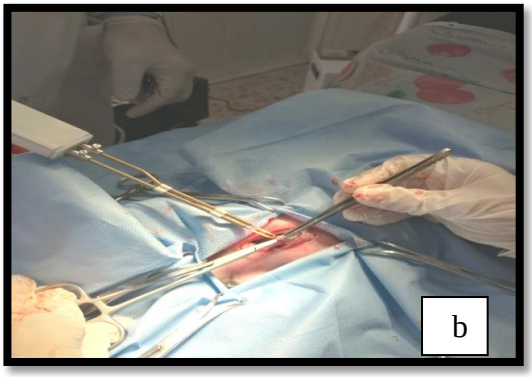
شكل (3-1) يوضح تصميم التجربة

3-2-3 عملية أستئصال المبايض :

أجريت عملية استئصال المبايض لإناث الارانب تحت ظروف جراحية معقمة اذ تم التخدير العام عن طريق الحقن العضلي باستخدام جرعة داي زابيم Diazepam كعقار مهدئ للتخدير بجرعة 1 ملغم / كغم من وزن الجسم بعد 10 دقائق حقن الارنب بالزايلازين Xylazine بجرعة 10 ملغم / كغم من وزن الجسم و كيتامين Ketamine بجرعة 50 ملغم / كغم من وزن الجسم (Albozachri *et al*.,2017). وضع الارنب في وضع الاستلقاء الظهري اذ أزيل الشعر من منطقة البطن ونظفت وعقمت باستعمال الكحول الاثيلي 70 % ، بعدها اجريت العملية بعمل شق جراحي في الجلد بطول 4 سم تقريبا يمتد من خلال الخط الوسطي البطني اسفل السرة ، إذ فتح الجلد فالعضلات البطنية والغشاء البريتوني بعد دفع الامعاء جانبا ليبدو الرحم وبعد متابعة الرحم الى الاعلى من الجهتين اليسار واليمين يمكن الوصول الى المبيضين الايسر والايمن . ترتبط المبايض بجدار الجسم بوساطة اربطة قطعت عن طريق الحرارة باستخدام جهاز heat electrocotry ، بعدها فحصت الاوعية الدموية للتاكد من عدم وجود النزف ، ثم تم غلق طبقات البطن البريتون والعضلات بخيط جراحي قابل للامتصاص نوع (Cat gut,0/3) بطريقة الخياطة المستمرة ، كما جرت خياطة الجلد بالغرز المتقطعة بخيوط الحرير 0/3 (Parhizkar et al., 2008) . وعقم الجرح بمحلول اليود وحقن الحيوان بالمضاد الحيوي الامبسلين Ampicillin ولمدة اسبوع ، وازيلت الخيوط الجراحية الخارجية بعد مرور 10 أيام . إستئصلت المبايض من جميع المجاميع عدا مجموعة السيطرة Sham operator إذ جرى فتح الجلد والعضلات البطنية فقط دون إستئصال المبايض وغلق الجلد بالطريقة السابقة نفسها .







صور رقم (3-1) (a,b,c) توضح عملية إزالة المبايض في إناث الأرانب المحلية

3-2-4 وزن الجسم Body weight

تم تسجيل وزن جسم جميع اناث الارانب ولجميع المجاميع قبل اجراء عملية ازالة المبايض وبعد العملية ، يقاس الوزن باستخدام ميزان كهربائي .

3-2-5 جمع عينات الدم Blood sample collection

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طوال الليل وذلك بعد شهرمن مدة التجربة ، حيث تم سحب 5 مل من الدم من القلب بطريقة طعنة القلب Heart puncture مباشرة عن الطريق وضع الحيوان بشكل مستلقٍ على ظهره ، وقد استخدمت محاقن طبية معقمة سعة 5 مل ، وضع الدم بعد ذلك في أنابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة التخثر بعدها تم فصل مصل للدم بواسطة جهاز الطرد المركزي centerfuge بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة ، وقد تم حفظ الأمصال في ثلاجة Refrigerator في درجة حرارة -20 مْ لحين إتمام القياسات لقياس بعض المعايير التالية :

1- تركيز بعض الهرمونات والتي شملت :

- تركيز هرمون الاستروجين Estrogen
- تركيز هرمون البروجستيرون Progesterone
- تركيز هرمون البرولاكتين Prolactin
- تركيز الهرمون المحفز للجريب Follicle stimulating hormone (FSH)
- تركيز الهرمون اللوتيني Luteinizing hormone (LH)

2- المعايير الكيموحيوية

- تركيز المالونداياالديهايد Malondialdehyde (MDA)
- تركيز الكلوتاثيون المختزل Reduced Glutathion (GSH)

6-2-3 جمع عينات الأنسجة Collection of tissue sample

بعد انتهاء التجربة تم التضحية بالحيوانات (اناث الارانب) بوساطة التخدير بااستخدام الكلوروفورم وشرحت الحيوانات لاستئصال عينات (الغدد اللبنية ، الرحم ، الغدة النخامية) وعزلت كل منها على حدة وازيلت الاجزاء المتصلة بالعضو المستأصل ، و تم حفظ الاعضاء في الفورمالين بتركيز 10 % ومحلول مثبت بوين Bouin's solution في عبوات بلاستيكية نظيفة بعد تعليمها لحين اجراء التقطيع النسجي وأجراء الدراسات التالية :

1- دراسة نسجية وكيمونسجية وكيمونسجية مناعية .
2- تحضير خليط نسيج الغدة النخامية لقياس هرمون LH
3- تحضير خليط نسيج الغده اللبنية والرحم لقياس فعالية انزيمات ALP و NTD

3-2-7 التحضيرات النسجية Histological preprations

حضرت شرائح البرافين تبعا لطريقة (Bancroft and stevene ,2010)

3-2-7-1 تثبيت العينات Sample Fixation

تم تثبيت العينات المراد دراستها نسجيا والمتمثلة (بالغدد اللبنية , الرحم , الغدة النخامية) بعد استئصالها باستخدام محلول الفورمالين بتركيز 10% وبعد 48 ساعة استخرجت العينة من الفورمالين وغسلت عدة مرات بالماء . او تثبت بمحلول بوين المائي Aqueous Bouin's solution ولمدة 12 - 24 ساعة وبعدها تغسل بالكحول الاثيلي بتركيز 70 % لازالة اللون الاصفر لمحلول بوين ، حضر المحلول على وفق طريقة

(Bancroft and stevene ,2010) كما يأتي:

ت	المادة	الكمية
1	محلول حامض البكريك المائي المشبع Saturated Aqueous Picric acid solution	75 مل
2	فورمالين Formalin تركيز 40 %	25 مل
3	حامض الخليك الثلجي Glacial Acetic Acid	5 مل

يتم اضافة حامض البكريك المائي المشبع بمقدار 75 مل والفورمالين بتركيز 40 % بمقدار 25 مل ثم يضاف 5 مل من حامض الخليك الثلجي يمزج الخليط ويتم وضعة بعلب خاصة لتثبيت العينات .

3-2-7-2 الانكاز والترويق Dehydration and Clearing

تم سحب الماء من النسيج وذلك بتمرير العينات في سلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي بدءاً بتركيز (70 % , 80% , 90 % , 100 % , 100 %) ولمدة ساعة ونص لكل تركيز . بعدها روقت النماذج بوضعها في الزايلين لمدة عشر دقائق .

3-2-7-3 التشريب Infiltration

بعد الانتهاء من عملية الترويق نقلت العينات الى قنانٍ زجاجية حاوية على خليط من شمع البرافينParaffin wax درجة انصهاره (56 - 60) درجة مئوية والزايلين بنسبة 1:1 ولمدة نصف ساعة ووضعت في فرن درجة حرارته 59 مْ وذلك لإبقاء الشمع منصهرا ولضمان عملية التشريب للنماذج بالشمع نقلت الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين داخل الفرن ايضا لمدة ساعتين ثم نقلت مرة اخرى الى قنانٍ اخرى حاوية على شمع البرافين لمدة ساعتين ايضا .

4-7-2-3 الطمر Embedding

طمرت العينات بنوعية الشمع نفسه داخل قوالب حديدية خاصة واستخدمت ابرة ساخنة على لهب لإزالة الفقاعات حول العينة وتركت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ثم فصلت عن القالب وحفظت حتى وقت تقطيعها .

5-7-2-3 التشذيب والتقطيع Trimming and cutting

شذبت قوالب الشمع الحاوية على النماذج بمشرط حاد ، وقطعت النماذج باستخدام جهاز المشراح الدوار Rotary Microtome بسمك 5 مايكروميتر , ثم حملت اشرطة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة بعد ان وضعت في حمام مائي درجة حرارته 45 – 50 مْ لمدة دقيقتين لضمان فرش المقاطع النسجية بعدها تركت لتجف لتكون جاهزة للتصبيغ .

6-7-2-3 التلوين Staining

1-6-7-2-3 صبغة هيماتوكسلين هارس Harris, Hematoxylin Stain

ان صبغة الهيماتوكسلين هارس من الصبغات القاعدية التي تستعمل بصورة عامه لتلوين النواة بلون ازرق غامق dark blue , مكونات الصبغة هي :

ت	المادة	الكمية
1	مسحوق الهيماتوكسلين	2.5 غم
2	كحول اثيلي مطلق	25 مل
3	شب البوتاسيوم $AIK(SO_4)_2.12H_2O$ او شب الامونيا $NH_4AI(SO_4)_2.12H_2O$	50 غم
4	ماء مقطر دافئ	500 مل
5	اوكسيد الزئبقيك الاحمر Red mercuric oxide	1.25 غم
6	حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid	20 مل

حضر الملون حسب الخطوات التالية اعتمادا على (Suvarna et al.,2013) :

اذيب الهيماتوكسلين في الكحول المطلق بعدها اضيف الى الشب المذاب بالماء المقطر الدافئ ووضع المزيج على النار حتى درجة الغليان ثم اضيف الية اوكسيد الزئبقيك الاحمر , ثم بردَ المزيج مباشرة بوضع الدورق الذي يحوي المزيج بالماء البارد واضيف اليه حامض الخليك الثلجي ورشح الخليط قبل الاستعمال لتصبح الصبغة جاهزة للاستخدام .

2-6-7-2-3 صبغة الأيوسين الكحولي Eosin stain

حضرت الملون حسب الطريقة التالية واعتمادا على (Suvarna *et al* ., 2013) :

ت	المادة	الكمية
1	مسحوق الأيوسين	1 غم
2	الكحول الاثيلي بتركيز 70 %	99 مل
3	حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid	1 مل

أذيب الايوسين في الكحول بشكل جيد ثم اضيف اليه حامض الخليك الثلجي ورشح بورق الترشيح قبل الاستعمال في اليوم التالي .

لونت الشرائح باستعمال ملون الهيماتوكسلين – ايوسين واعتمادا على (Suvarna *et al*., 2013) وكما يلي :

1 – ازيل الشمع من الشرائح الزجاجية باستعمال الزايلين وعلى مرحلتين ولمدة 5 دقائق لكل مرحلة ثم مررت بسلسلة تنازلية من الكحول الاثيلي ابتداءً من (100 % , 100 % ,90 % , 80 % ,70 %) ولمدة خمس دقائق لكل تركيز .

2 - وضعت الشرائح في ملون الهيماتوكسلين هارس لمدة خمس دقائق .

3 – غسلت الشرائح الزجاجية بالماء الجاري لمدة عشر دقائق .

4 – لونت الشرائح بملون الايوسين الكحولي لمدة سبع دقائق .

5 – ثم غسلت الشرائح بالماء المقطر لمدة دقيقتين .

6 – بعدها نقلت الشرائح الزجاجية الى سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70 % , 80 % , 90 % ,100 % , 100 %) لمدة دقيقتين لكل تركيز ماعدا التركيز الاخير وضعت فيه لمدة 5 دقائق , ثم روقت بالزايلين وعلى مرحلتين في كل مرحلة لمدة 5 دقائق , بعدها اجريت عليها عملية التحميل باستعمال DPX لتثبيت غطاء الشريحة ثم تركت الشرائح على صفيحة ساخنة لتجف لمدة 8 ساعات لتكون جاهزة للفحص المجهري.

3-6-7-2-3 صبغة كوموري ثلاثي الالوان Gomori's One – Step Trichrome Stain

تستعمل صبغة كوموري لتلوين الالياف الكولاجينية والياف العضلات الملساء اذ تظهر الالياف الكولاجينية بلون اخضر أما الياف العضلات الملساء والنواة والسايتوبلازم فتظهر بلون احمر وقد تم تحضيرها وفقا لطريقة (Hansen,2006). ويتكون الملون من المكونات التالية :

ت	المادة	الكمية
1	Chromotrope 2R	0.6 غرام
2	الاخضر الفاتح Light Green	0.3 غرام
3	حامض الخليك الثلجي Glacial Acetic Acid	1.0 مل
4	حامض الفوسفوتنكستنك Phosphotungstic Acid	0.8 غرام
5	الماء المقطر Distilled Water	100 مل

تم اذابة المكونات بالترتيب بالماء المقطر , بعد ذلك اضيف اليها حامض الهيدروكلوريك المركز HCl 1 مل و تم وضعها في الثلاجة لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 4 مْ قبل الاستعمال , ثم رشحت بورق الترشيح قبل استعمالها.

طريقة التلوين :

1 – إزيل الشمع من الشرائح الزجاجية كما في خطوات الملونات السابقة .

2 – مررت الشرائح الزجاجية بسلسلة تنازلية التركيزمن الكحولات ايضا ثم غسلت بالماء المقطر.

3 – وضعت الشرائح الزجاجية في محلول بون Bouin' s solution لمدة ساعة واحدة في الفرن الكهربائي درجة حرارتة 56 مْ .

4 – اخرجت الشرائح من الفرن وتم تركها لتبرد , ثم غسلت الشرائح جيدا بالماء الجاري لحين اختفاء اللون الاصفر .

5 – لونت الشرائح بملون الهيماتوكسلين لمدة دقيقتين كملون مضاد .

6 – غسلت الشرائح بالماء الجاري لمدة خمس دقائق .

7 – لونت الشرائح بملون Trichrome لمدة من 15-20 دقيقة .

8 - وضعت الشرائح الزجاجية في حامض الخليك بتركيز 0.2 % لمدة نصف دقيقه .

9 – عمل Blot ويعني وضع كل شريحه بين ورقتي ترشيح والمسح برفق عليها براحة اليد .

10 – غسلت الشرائح الزجاجية بالماء المقطر , بعدها مررت الشرائح بالكحول الاثيلي بتركيز 90 % و100 % لتغييرين لمدة دقيقتين ، روقت بالزايلين مرتين لمدة خمس دقائق .

11 – روقت الشرائح بالزايلين مرتين .

4-6-7-2-3 صبغة كاشف شف الدوري Periodic Acid Schiff's stain(PAS)

يستخدم هذا الكاشف لتلوين التراكيب التي تحتوي على جزيئات كبيرة من الكاربوهيدرات مثل الكولاجين Collagen ، الكلايكوجين Glycogen ، الغشاء القاعدي Basment membrane والفايبرين Fibrin (Carson and Christa,2009). يتلون الكلايكوجين والكاربوهيدرات باللون القرمزي Magenta والنواة باللون الوردي والكولاجين باللون الاحمر الارجواني الغامق والفايبرين باللون الزهري .

مبدأ عمل الملون :

يقوم الكاشف بأكسدة اصرة الكاربون – كاربون مكوناً الديهايدات والتي تتفاعل مع الفوكسين القاعدي Basic fuchsin أذ يعطي لوناً ارجوانياً .

مكونات الكاشف :(Suvarna *et at* ., 2013)

محلول A :

ت	المادة	الكمية
1	حامض Periodic acid	1.0 غرام
2	ماء مقطر Distilled water	200 مل

خلطت المواد جيدا وتركت لحين الاستعمال .

محلول B :يتكون من المواد التالية :

ت	المادة	الكمية
1	الفوكسين القاعدي Basic fuchsin	1.0 غرام
2	ميتابيسلفيت الصوديوم Sodium metabisulfite	1.8 غرام
3	حامض الهيدروكلوريك Hydrochloric acid	1.7 مل
4	فحم حيواني منشط Active charcoal	حسب الحاجة
5	ماء مقطر Distilled water	200 مل

تم غلي 200 مل من الماء المقطر ثم رفع عن مصدر الحرارة واذيب فية 1.0 غرام من Basic fuchsin بعدها ترك حتى تصل درجة حرارتة الى 50 مْ ، ثم رشح بورق الترشيح ثم اضيف اليه حامض الهيدروكلوريك وترك ليبرد اكثر ، واضيف الية 1.8 غرام Sodium metabisulfite ،ثم حفظ في قنينة معتمة في الثلاجة لمدة 24 ساعة ، بعدها يستخرج ويكون لونه بنياً او اصفراً ، نشط الفحم وذلك بوضعة في الفرن تحت درجة حرارة 60 مْ لمدة نصف ساعة ثم اضيفت له كمية من الفحم الى الكاشف لحين تغير لونه وخلط جيدا ورشح بواسطة ورق الترشيح وابدل ورق الترشيح لعده مرات والناتج يكون عديم اللون .

طريقة التلوين :

1- اتبعت الخطوات نفسها في الملونات السابقة كملون الهيماتوكسلين والايوسين من ازالة شمع البرافين و وصولا الى الماء المقطر .
2- وضعت المقاطع النسجية في محلول A لمدة خمس دقائق , بعدها غسلت بالماء المقطر لمدة خمس دقائق .
3- نقلت المقاطع النسجية الى محلول الكاشف لمدة 15 دقيقة ثم غسلت بالماء الجاري لمدة خمس دقائق ثم بالماء المقطر .
4- وضعت المقاطع النسجية في ملون الهيماتوكسلين لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء الجاري لمدة خمس دقائق ايضا .
5- نقلت بعدها الى سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70% , 80% , 90% ، 100%،100 %) ولمدة دقيقتين لكل تركيز ثم روقت بالزايلين وعلى مرحلتين في كل مرحلة لمدة 10 دقائق .

3-2-7-7 الارساء Mounting

بعد اكمال خطوات التلوين بالملونات المختلفة أجريت عليها عملية التحميل باستعمال DPX لتثبت غطاء الشريحة ثم تركت على صفيحة ساخنة لتجف لتكون جاهزة للفحص (Suvarna *et al.*, 2013).

8-7-2-3 الفحص والتصوير المجهري Microscopic study and photography

فحصت المقاطع النسجية باستخدام المجهر الضوئي Light microscope بقوى تكبير مختلفة ، وتم تصوير المقاطع النسجية بأستعمال مجهر ضوئي نوع MEIJI light microscope مزود بكاميرا مجهر رقمية Digital Camera نوع Canon عالية الدقة .

8-2-3 القياسات النسجية Histological morphomtry :

تم حساب القياسات النسجية للشرائح المحضرة من نسيج الغدد اللبنية والرحم باستخدام المقياس العيني المتري الدقيق (Ocular micrometer, OM) (Galigher and Kozoloff,1964) المثبت في المجهر الضوئي . بعد معايرة الOcular مع ال Micrometer stage لكل قوة تكبير تم قياس سمك الطبقات والبطانة الداخلية لنسيج الرحم وقطر وعدد الحويصلات للغدد اللبنية لكل مليمتر مربع في نسيج الغدة اللبنية للحالات الفسلجية (العذارى ، المرضعات) .

9-2-3 الدراسة الكيميائية النسجية المناعية Immunohistochemical (IHC)

1-9-2-3 مستقبلات الاستروجين والبروجسترون Progesterone and Estrogen Receptor (PR & ER)

تم قياس كثافة مستقبلات الاستروجين والبروجسترون باستعمال العدد الخاصة :

1-Monoclonal Antibody progesterone Receptor

2-Monoclonal Antibody Estrogen Receptor

أساس العمل The principle

اعتمدت هذه الطريقة على مبدا الكشف عن مستضد خاص في النسيج باستخدام جسم مضاد معين. حيث يتم الكشف عن معقد المستضد والجسم المضاد (Antigen –antibody complex) و الذي يلتصق بالشريحة الزجاجية.

طريقة العمل Procedure

حضرت الشرائح حسب طريقة (shi *et al*., 1991) وكما يأتي:

1. توضع عينات الغدد اللبنية والرحم والغدة النخامية في محلول 10% فورمالين لحين اكتمال التقطيع النسجي .
2- تقطع القوالب الشمعية الحاوية على النسيج وبسمك 4 مايكروميتر وتوضع على شرائح مغلفة.
3- توضع الشرائح الزجاجية في حامل التصبيغ (staining rack) وتسخن في فرن درجة حرارته 37مْ لمدة 16 ساعة بعدها في فرن درجة حرارته 60مْ لمدة ساعة واحدة (لكي يلتصق النسيج على السلايد).
4- تمرر الشرائح في 3 جارات زجاجية (jars) حاوية على زايلين حالا بعد اخراجها من الفرن وتبقى 5 دقائق في كل حاوية وذلك لازالة الشمع.
5-تمرر الشرائح الزجاجية في ثلاث تغيرات من الايثانول تنازليا (99%، 95% ،70%) مدة 5 دقائق لكل تغير.
6 - تغسل الشرائح الزجاجية بالماء المقطر لمدة 5 دقائق.
7- توضع الشرائح الزجاجية المغمورة في الجارات الزجاجية الحاوية على محلول Target Retrieval في حمام مائي ترفع درجة حرارته تدريجيا الى ان تصل الى درجة الغليان ، بعدها يترك ليبرد في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة.
8- تغسل الشرائح بمحلول Tris-bufferd salin (TBS) لمدة 5 دقائق.
9- تحدد منطقة النسيج دائريا بواسطة قلم PAP
10- تحضن الشرائح الزجاجية بعد اضافة كمية من بيروكسيد الهيدروجين (Hydrogen peroxide) تركيز 3% على كل المقاطع النسجية لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة .
11. تغسل الشرائح بمحلول Tris-bufferd salin (TBS) لمدة 5 دقائق
12- تضاف الاجسام المضادة الاولية للاستروجين والبروجسترون الى المقاطع النسجية لمدة 30 دقيقه في درجة حرارة الغرفة .
13- تغسل الشرائح بمحلول Tris-bufferd salin (TBS) لمدة 2-5 دقائق
14- تحضن الشرائح الزجاجية كمية من مادة الربط (Biotinylated Goat Antibody) (القنينة 1) لمدة 30 دقائق في درجة حرارة الغرفة.

15- تحضن الشرائح مع كمية كافية من Strept ABC complex (القنينة 2) لمدة 30 دقيقه في درجة حرارة الغرفة.

16-تغسل الشرائح بالـ TBS لمدة 2-5 دقائق بعدها تحضن مع اضافة كمية من +DAB لمدة 20 دقيقة.

17- تغسل الشرائح بمحلول (TBS) لمدة 5 دقائق بعدها بالماء المقطر لمدة 5 دقائق .

18- تصبغ الشرائح بصبغة الهيموتوكسلين Mayer's Hematoxylin لمدة دقيقتين .

19- تغسل الشرائح ن بماء الحنفية لمدة 5 دقائق .

20- تغسل الشرائح بمحلول Tris-bufferd salin (TBS) لمدة 2-5 دقائق .

21- تجفف و تغطى الشرائح بالغطاء مع مادة التحميل .

22- تفحص الشرائح بالمجهر الضوئي ويتم قراءة السلايدات كالاتي :

كثافة الصبغة في الخلايا (داخل النواة ER وفي السايتوبلازم PR)

(-) = لا توجد صبغة .

(+) = قليلة الصبغة .

(++) = متوسطة الصبغة .

(+++) = قوية الصبغة .

3-2-10 القياسات الهرمونية Hormonal Assays

تم استخدام عينات المصل لقياس الهرمونات التالية: الاستروجين (E) والبروجسترون(PRO) والبرولاكتين (PRL) وهرمون محفز للجريبات (FSH) والهرمون اللوتيني (LH) باتباع تقنية : Enzyme linked fluorescent Assya Technique واستخـــــدم جهاز (Mini VIDAS) مع عدة فحص في جدول (3-1) للهرمونات التالية :

3-2-10-1 قياس تركيز هرمون الاستروجين Estimation of Estrogen hormone Concentration

تم قياس تركيز الهرمون في مصل دم الارانب وذلك بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بهرمون الاستروجين في جدول (3-1) المتكون من المواد الآتية :

1 –أشرطة (STR) Strips الخاصة بهرمون Estradiol : وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز Estradiol لغرض تمييزها .

2 - (SPRs) Solid phase receptacles : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (Tip) المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمزEstradiol لغرض تمييزها ايضا .

3 – (C1) Estradiol control , (S1) Estradiol calibrator, (R1) Estradiol dilutant وهذه المواد جاهز للاستخدام .

4 - بطاقة MIe وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستعملة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز الهرمون الاستروجين .

أعتمد مبدأ قياس تركيز الهرمون الاستروجين على طريقة

. Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection

وتعمل مسلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلا عن عملها بوصفها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة, أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة معلمة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً . أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل اتوماتيكي عن طريق جهاز Minividas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من والى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة . تم نقل العينة الى داخل الحفرة الحاوية على anti – Estradiol – antibodies المعلمة Alkaline phosphates الرابط . ويتحرك خليط (العينة / الرابط) بشكل دوري من والى SPRs وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة APR وكذلك بالربط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich خلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس 4-Methly-umbililiferyl phosphate بشكل دوري من والى SPRs . ويقوم الأنزيم بعد ذلك بتحلل المادة الأساس الى الناتج المشع وهو 4-methyl umbelliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي (450 نانوميتر) , وتعتمد شدة الاشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة . وفي نهاية المعايرة حسبت النتيجة أوتوماتيكيا عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضا .

طريقة العمل Procedure

تتضمن طريقة العمل الخطوات التالية :

1 - وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل أوتوماتيكي إذ بدونها لا يتمكن الجهاز من اظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .

2 - تم استعمال شريط SPR & STR واحد لكل من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control و وضعت في المكان المخصص لها في الجهاز .

3 - تم سحب 100 µl من عينة مصل الدم و وضعت في الحفرة (1) الخاصة بها على الشريط Strip (STR) ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .

4 - تم أتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ MANUAL الخاص بالجهاز ليقوم الجهاز بالبدء بعملية المعايرة أوتوماتيكيا والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .

5 - بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة حيث ان هذه الاشرطة تستعمل لمرة واحدة فقط .

3-2-10-2 قياس تركيز هرمون البروجستيرون Estimation of progesterone hormone Concentration

تم قياس تركيز الهرمون في مصل دم الارانب وذلك بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بهرمون البروجستيرون في جدول (3-1) المتكون من المواد الآتية :

1 –أشرطة Strips (STR) الخاصة بهرمون progesterone: وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز progesterone لغرض تمييزها ايضاً.

2 - Solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (Tip) المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمزprogesterone لغرض تميزها ايضا .

3 – progesterone control (C1), progesterone calibrator (S1), dilutant (R1) progesterone وهذه المواد جاهز للاستخدام .

4 - بطاقة MIe وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستعملة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز الهرمون البروجستيرون .

اعتمد مبدأ قياس تركيز الهرمون البروجستيرون على طريقة

. Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection
وتعمل مسلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلا عن عملها بوصفها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة, أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة معلمة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً . أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل أوتوماتيكي عن طريق جهاز Minividas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من والى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة . تم نقل العينة الى داخل الحفرة الحاوية على anti – Estradiol – antibodies المعلمة Alkaline phosphates الرابط . وتحرك خليط (العينة / الرابط) بشكل دوري من والى SPRs وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة APR وكذلك بالربط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich وخلال الخطوات النهائية من المعايرة تحركت المادة الأساس 4-Methly-umbililiferyl phosphate بشكل دوري من والى SPRs . ويقوم الأنزيم بعد ذلك بتحلل المادة الأساس الى الناتج المشع وهو 4- methylumbelliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي (450 نانوميتر) , وتعتمد شدة الاشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة . وفي نهاية المعايرة حسبت النتيجة أوتوماتيكيا عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضا .

طريقة العمل Procedure

تتضمن طريقة العمل الخطوات التالية :

1 - وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل أوتوماتيكي إذ بدونها لا يتمكن الجهاز من اظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .

2 - تم استعمال شريط SPR & STR واحد لكل من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control ووضعت في المكان المخصص لها في الجهاز .

3 - تم سحب 100 µl من عينة مصل الدم ووضعت في الحفرة (1) الخاصة بها على الشريط Strip (STR) ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .

4 - تم أتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ MANUAL الخاص بالجهاز ليقوم الجهاز بالبدء بعملية المعايرة أوتوماتيكيا والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .

5 - بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة حيث ان هذه الاشرطة تستعمل لمرة واحدة فقط .

3-10-2-3 قياس تركيز هرمون البرولاكتين :

Estimation of Prolactin hormone Concentration

تم قياس تركيز الهرمون في مصل دم الارانب وذلك بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بهرمون البرولاكتين المتكون من المواد الآتية :

1 –أشرطة Strips (STR) الخاصة بهرمون prolactin : وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز prolactin لغرض تمييزها .

2 - Solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (Tip) المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز prolactin لغرض تمييزها ايضا .

3 – prolactin control (C1) ,prolactin calibrator (S1) ,prolactin dilutant (R1) وهذه المواد جاهز للاستخدام .

4 - بطاقة MIe وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستعملة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز هرمون البرولاكتين .

اعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون البرولاكتين على طريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection .

وتعمل مسلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلا عن عملها بوصفها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة, أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة معلمة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً . أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل أوتوماتيكي عن طريق جهاز Minividas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من والى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة . تم نقل العينة الى داخل الحفرة الحاوية على anti-prolactin _ antibodies المعلمة Alkaline phosphates الرابط . ويتحرك خليط (العينة / الرابط) بشكل دوري من والى SPRs وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة APR وكذلك بالربط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich و خلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس 4-Methly-umbililiferyl phosphate بشكل دوري من والى SPRs . ويقوم الأنزيم بعد ذلك بتحليل المادة الأساس الى الناتج المشع وهو 4-Methly- umbelliferon الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي (450 نانوميتر) , وتعتمد شدة الاشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة . وفي نهاية المعايرة حسبت النتيجة أوتوماتيكيا عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهازأيضا.

طريقة العمل Procedure

تتضمن طريقة العمل الخطوات التالية :

1 - وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل أوتوماتيكي إذ بدونها لا يتمكن الجهاز من اظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .

2 - تم استعمال شريط SPR & STR واحد لكل من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control وتوضع في المكان المخصص لها في الجهاز .

3 - تم سحب 100 µl من عينة مصل الدم ووضع في الحفرة (1) الخاصة بها على الشريط Strip (STR) ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .

4 - تم أتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ MANUAL الخاص بالجهاز ليقوم الجهاز بالبدء بعملية المعايرة أوتوماتيكيا والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .

5- بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة حيث ان هذه الاشرطة تستعمل لمرة واحدة فقط .

4-10-2-3 قياس تركيز هرمون محفز الجريبات Estimation of FSH Concentration

يتم قياس تركيز الهرمون في مصل دم الارانب وذلك بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بهرمون FSH المتكون من المواد الآتية :

1 –أشرطة Strips (STR) الخاصة بهرمون FSH : وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز FSH , لغرض تمييزها .

2 - Solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (tip) المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز FSH لغرض تميزها .

3 – FSH control (C1) : تم تحضيره باضافة 3 مل 3 من الماء المقطر وترك لمدة 5-10 دقائق .

4 - FSH calibrator (S1) : تم تحضيره باضافة 2 ملم **3** من الماء المقطر وترك لمدة 5 – 10 دقائق .

5 - FSH dilutant (R1) وهو جاهز للاستعمال .

6 - بطاقة MIe وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسه لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز الهرمون المحفز للجريبات .

اعتمد مبدأ قياس تركيز الهرمون المحفز للجريبات على طريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection .

وتعمل مسلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلا عن عملها بوصفها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة, أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة مختومة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً . أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل اتوماتيكي عن طريق جهاز Minividas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من والى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة . تم نقل العينة الى داخل الحفرة الحاوية على anti – FSH – antibodes المعلمة Alkaline phosphates الرابط . ويتحرك خليط (العينة / الرابط) بشكل دوري من والى SPRs وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة APR وكذلك بالربط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich وخلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس 4-Methly-umbililiferyl phosphate بشكل دوري من والى SPRs . ويقوم الأنزيم بعد ذلك بتحليل المادة الأساس الى الناتج المشع وهو 4-Methly-umblliliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي **(450 نانوميتر)** ، وتعتمد شدة الاشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة . وفي نهاية المعايرة حسبت النتيجة اتوماتيكياً عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضا .

طريقة العمل Procedure

تتضمن طريقة العمل الخطوات الآتية :

1 - وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل اتوماتيكي إذ بدونها لا يتمكن الجهاز من أظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .

2 - تم استخدام شريط SPR & STR واحد لكل من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control ووضعت في المكان المخصص لها في الجهاز .

3 - تم سحب 100 µl من عينة مصل الدم ووضعت في الحفرة (1) الخاصة بها على الشريط Strip (STR) ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .

4 - تم أتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ manual الخاص بالجهاز . ليقوم الجهاز بالبدء بعملية المعايرة اتوماتيكياً والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .

5 - بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة تستعمل لمرة واحدة فقط .

5-10-2-3 قياس تركيز الهرمون اللوتيني Estimation of LH Concentration

تم قياس الهرمون اللوتيني بأتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بالهرمون اللوتيني المتكونة من المواد الآتية:

1 -أشرطة Strips الخاصة بالهرمون اللوتيني LH وهي جاهزة للاستعمال ومثلما هو الحال في أشرطة الهرمون المحفز للجريبات FSH , فهي تتكون من عشر حفر .

2 - (SPR2) Solid Phosereceptacles : وهي جاهزة للاستعمال مشابهة تماماً الى SPR2 الخاصة بهرمون المحفز للجريبات الا انها معلمة بالهرمون اللوتيني .

3- (C1) LH Control : تم تحضيره بإضافة 3 ملم ³ من الماء المقطر وتركه لمدة 5-10 دقائق .

4 - (S1) LH Calibrator : تم تحضيره بإضافة 2 ملم ³ من الماء المقطر وتركه لمدة 5- 10 دقائق .

5 – (R1) LH dilutant : وهو جاهز للاستعمال .

6 - بطاقة MLe : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم نتيجة الاختبار الخاص بتركيز الهرمون اللوتيني .

اعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون LH أيضاً على Combines enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection إذ يحدث تنافس بين المستضد الموجود في العينة و المستضد المعلم بـ Anti-LH antibodies المغطية للـ SPR1 وفي النهاية يتكون ناتج مشع تم قياس كمية هذا الإشعاع عن طريق الجهاز بشكل اتوماتيكي . أما بالنسبة لطريقة العمل فقد تم أتباع الطريقة ذاتها المستخدمة في أثناء قياس الهرمون المحفز للجريبات .

11-2-3 تحضير خليط نسيج الغدة النخامية

بعد التضحية بالحيوان واستخراج الغدة النخامية ، تم هرس النسيج في الخلاط (جفنه خزفية) مع 10 مل من الماء المقطر بعد الانتهاء من عملية الهرس وضع المزيج في انابيب وترك لفترة 3 أيام في درجة حرارة الغرفة مع بضع قطرات من الكلوروفورم الا في فصل الصيف يفضل الاحتفاظ بالمزيج في الثلاجة ، ثم اجريت عملية الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة عشر دقائق وفصل الراشح عن الراسب واخذ الراشح و وضع في انابيب بلاستيكية محكمة الغطاء ووضعت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 C - الى حين اتمام قياس هرمون LH .

12-2-3 قياس فعالية الإنزيمين Alkaline Phosphatase (ALP) وانزيم 5'- Nucleotidase (NTD) في نسيج الغدد اللبنية ونسيج الرحم

تحضير النسيج :

تم جمع عينات نسيج الغدد اللبنية ونسيج الرحم بعد التضحية بالحيوانات مباشرة وحفظة في انابيب حاوية على المحلول الملحي المتعادل بتركيز 0.9 % ووضعت الانابيب في المجمدة في درجة حرارة -20 مْ لحين الاستعمال. تم مجانسة الغدد اللبنية وكذلك نسيج الرحم باستخدام المجانس الزجاجي Glass Homogenizer وذلك باستخدام محلول منظم (50 M) ذي PH=8 وبنسبة 3:1 (وزن/ حجم) استمرت عملية المجانسة الى ان اصبح مزيجا متجانسا ، اجريت هذه العملية والعمليات التالية في وسط بارد باستخدام كمية من الثلج للحيلولة دون تلف الانزيمات . بعد الانتهاء من عملية السحق اضيف الى الراشح 1 مل من محلول دارئ الفوسفات ونقل الى جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق وفصل الراشح عن الراسب وأخذ الراشح ووضع في انابيب بلاستيكية محكمة الغطاء، و وضع في المجمدة بدرجة 20- مْ الى حين استعماله في قياس فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP وانزيم NTD . .

12-2-3- 1 قياس فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP) في نسيج الغدد اللبنية ونسيج الرحم

استخدمت عدة التحليل الجاهزة من شركة Bio merieux الفرنسية في قياس فعالية انزيم ALP باتباع الطريقة اللونية من قبل (Kind and King, 1954) . وذلك بحساب كمية الفينول المتحررة من المادة الاساس وهي على وفق التفاعل الاتي :

$$\text{phenyl phosphate} \xrightarrow[\text{pH 10}]{\text{ALP}} \text{phenyl} + \text{phosphate}$$

وقراءة اللون عند طول موجي قدره 510 نانوميتر باستخدام جهاز مطياف من نوع - Spectomic 20 وتتم حساب فعالية الانزيم من المعادلة الاتية :

فعالية الانزيم = (أمتصاصية النموذج - امتصاصية الكفئ) / (أمتصاصية المحلول القياسي) × تركيز المحلول القياسي

وقد كان تركيز المحلول القياسي هو20 وحده لكل 100 مل او 142 وحدة لكل لتر .

2-12-2-3 قياس فعالية انزيم نيوكليوتايدز 5'- Nucleotidase (NTD) في نسيج الغدد اللبنية ونسيج الرحم

تم تقدير فعالية انزيم نيوكليوتايدزباستخدام عدة فحص NTD في جدول (3 -1) وفقا لطريقة (Rieder and Mitra , 1969) .

طريقة العمل :

1- انبوب A : يضاف 0.1 مل من المادة الطافية Supernatant الى 2 مل من المزيج الذي يتضمن [5,- AMP 0.002M, sodium barbital 0.02 M, PH 7.5, and $MgCl_2$ 0.04 M]

2- انبوب B : يحتوي على كل من المحاليل السابقة بالاضافة الى 0.02 ml of $NiCl_2$(1M)

توضع الانابيب A و B في الحاضنة بدرجة 37 مْ لمدة 1 ساعة ،و ينتهي التفاعل باضافة

1.0 ml of 4% (w/v) sodium lauryl sulfate (SDS) and 0.5 ml of 4 M sodium acetate buffer, PH 4.5 (dissolve 27.2 gm/1 Sodium acetate, 0.2M with Acetic acid ,0.2M).

الى كلا الانبوبين . ثم يضاف الى انبوب A 0.02 مل من $NiCl_2$(1M) . ثم 0.2 مل من 5% (w/v) ammonium – molybdate. $4H_2O$ اضيف لكل انبوب 1 مل من in 0.05 NHCl . 2% (w/v) ascorbic acid

تركت الانابيب لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة لزيادة شدة اللون والذي يقاس عند الطول الموجي 660 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف Spectrophotometer .

تقاس فعالية الانزيم = امتصاصية انبوب A _ امتصاصية انبوب B

13-2-3 قياس المعايير الكيموحيوية Biochemical test

1-13-2-3 تقدير تركيز المالونداياالديهايد في مصل الدم Estimation of Malondialdehyde (MDA)

استخدمت طريقة تفاعل حامض الثايوباربيتيوك Thiobarbituric acid (TBA) وحسب هذة الطريقة ، قيس تركيز المالونداياالديهايد Malondialdehyde (MDA) الذي يمثل احد النواتج الرئيسة لعملية اكسدة الدهن ويعد مستواه موشرا لهذه العملية ، اذ يعتمد القياس على التفاعل بين المالونداياالديهايد مع (TBA) (Muslih, *et al* , 2001) .

المحاليل المستخدمة :

1- محلول الثايوبارتيورك (TBA- solution)

يحضر باذابة 0.6 غم من مادة الTBA في 100 مللتر من الصودا الكاوية بتركيز 0.05 مولاي باستخدام القليل من التسخين ، ويحضر هذا المحلول عند الاستعمال .

2- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro Acetic Acid (TCA-solution)

يحضر هذا المحلول بتركيزين ، التركيز الاول 17.5% يحضر باذابة 17.5 غم من مادة TCA في 100 مللتر من الماء المقطر ، والتركيز الثاني 70% يحضر باذابة 70غم من المادة نفسها في 100 مللتر من الماء المقطر، ويحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام .

طريقة العمل Procedure

1- يؤخذ 150 مايكروليتر من مصل الدم ويضاف اليه 1 مل من محلول TCA بتركيز 17.5% ويضاف 1 مللتر من محلول TBA الى المزيج ، ويرج جيدا وتحضن الانابيب في ماء مغلي لمدة 15 دقيقة .

2- تبرد العينات ويضاف اليها 1 مللتر من محلول TCA بتركيز 70% ويترك المزيج بدرجة 37 مئوية لمدة 20 دقيقة .

3- يفصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة / دقيقة ولمدة 5 دقائق .

4- تقرا الامتصاصية عند الطول الموجي 532 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي ويحسب مستوى MDA حسب المعادلة الاتية :

يتم إيجاد التركيز باستخدام معامل الممتصية :-

$$\varepsilon = 1.53 * 10^5 M^{-1} cm^{-1}$$

الحسابات: نستخرج تركيز المالونديالهايد من المعادلة التالية

$$serumMDA = \frac{Absorbance}{d\ X \in} X\ D.F$$

Serum MDA :- تركيز المالونداي الديهايد

Absobance :- الامتصاصية (من الجهاز)

عرض الخلية (1سم وهو ثابت) d = 1

Ɛ = معامل الممتصية (ثابت)

D.F = معاما التخفيف ويساوي 5.51

2-13-2-3 تقدير تركيز الكلوتاثيون المختزل في مصل الدم Estimation of Reduced Glutathione (GSH)

تم قياس تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم باستخدام طريقة كاشف المان Ellmans المتبعة من قبل . (AL- Zamely , *et al* , 2001)

المحاليل المستخدمة :

1- محلول حامض السلفوسالسيليك Sulfosalicylic acid solution

يحضر باذابة 4 غم من حامض السلفوسالسيليك في 100 ملليلتر من الماء المقطر ويحفظ في الثلاجة .

2- محلول دارئ الفوسفات Phosphate buffer solution

يحضر بمزج (0.6 M KH_2PO_4) و (0.08 M Na_2HPO_4) ، ويضبط الاس الهيدروجيني عند 8 .

3- محلول كاشف المان Ellmans

يحضر بتركيز 0.1 ملي مول باذابة 0.00396 غم من مادة 5-5 dithio bis 2-nitrobenzoic acid (DTNB) في 100 ملليلتر من المحلول المنظم ويحفظ الكاشف في الثلاجة .

طريقة العمل Procedure

1- مزج حجم متساوي (150) مايكروليتر من مصل الدم ومحلول حامض Sulfosalicylic acid بتركيز 4% .

2- فصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق .

3- سحب 150 مايكروليتر من الراشح الى انبوبة اختبار ، واضيف اليها 4.5 مللتر من كاشف المان Ellmans 0.1 ملي مول، وتترك لمدة 5 دقائق .

4- قرات الامتصاصية للمحلول باستخدام جهاز الطيف الضوئي عند الطول الموجي 412 نانوميتر .

تم حساب تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم باستخدام المعادلة الاتية :

$$\text{تركيز الكلوتاثيون (ميكرومول / لتر)} = \frac{\text{Absorbance}}{L * Eo}$$

حيث ان :

$Eo = 13600\ M^{-1}\ CM^{-1}$

L = light path (Cm)

14-2-3 التحليل الاحصائي Statistical analysis

حللت نتائج تجارب الدراسة وفق نموذج التجارب العاملية وبتصميم تام التعشية Factorial experiments with completely randomized design ، وتم استعمال اختبار أقل فرق معنوي Least Significant Difference (L. S. D) تحت مستوى 0.05 لبيان معنوية الفروق بين المعاملات المختلفة (الراوي وخلف الله ، 2000).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

4- النتائج والمناقشة Results and Discussion

4-1 الدراسة النسجية : Histological study

تأثير إزالة المبايض الثنائية والأحادية على نسيج الغدد اللبنية للعذارى والمرضعات في الارانب المحلية

4-1-1 صبغة الهيماتوكسلين والايوسين Haematoxylin and Eosin staining

أظهرت النتائج النسجية لمقاطع الغدد اللبنية للعذارى والمرضعات التغييرات النسجية التالية :

4-1-1-1 مجموعة العذارى Virgin group :

أظهرت النتائج النسجية لمقاطع الغدة اللبنية لمجموعة السيطرة العذارى التركيب النسجي الطبيعي للغدد اذ لوحظ وجود الفصيصات الحاوية على البراعم الحويصلية والسدى بين الفصيصات وكذلك النسيج الدهني صورة (4-1) .

اما في صورة (4-2) لمقطع نسجي للغدة اللبنية للعذارى في مجموعة المعاملة بازالة المبايض الكاملة فيلاحظ فيها قلة الفصيصات والبراعم الحويصلية والكثير من النسيج الدهني مقارنة مع مجموعة السيطرة.

يلاحظ في المجموعة المعاملة بازالة المبيض الايمن أنسجة الغدد اللبنية في صورة (4-3) وجود الفصيصات والبراعم الحويصلية النشطة ولوحظت القنوات اللبنية والنسيج الدهني .

اما المقطع النسجي في الصورة (4-4) للغدد اللبنية لمجموعة ازالة المبيض الايسر ، يلاحظ الفصيصات والبراعم الحويصلية المتوسعة النشطة وقلة النسيج الدهني.

4-1-1-2 مجموعة المرضعات Lactating group

إما بالنسبة للمرضعات فقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية صوره (4-5) لنسيج الغدة اللبنية لمجموعة السيطرة للمرضعات التركيب النسجي الطبيعي للغدد والحويصلات المتفرعة وقلة السدى Stroma ،كما يلاحظ وجود الإفرازات في الحويصلات .

إما في نسيج الغدة اللبنية في مجموعة الإزالة الكاملة للمرضعات حيث يلاحظ كثرة الحويصلات غير الفعالة وكثرة السدى و صغر حجم الفصيصات صورة (4-6) .

بينما في المجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيمن أظهرت المقاطع النسجية وجود حويصلات متفرعة حاوية على إفرازات مع قلة السدى صورة (4-7) .

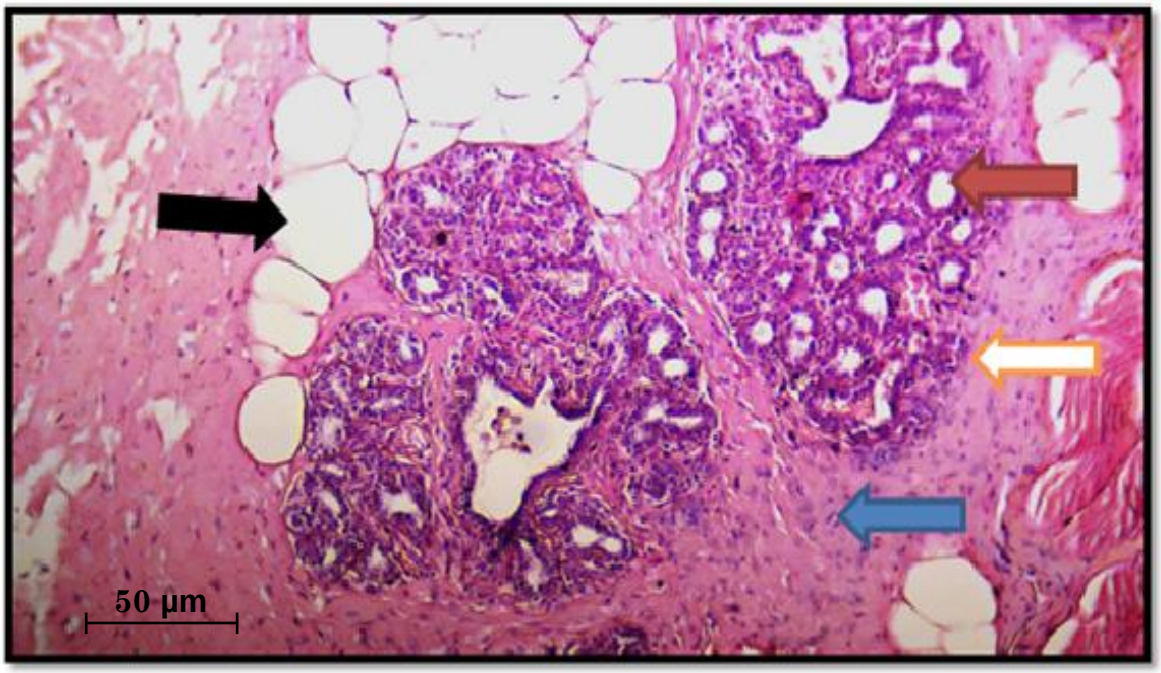
إما صورة (4-8) فهي تبين التركيب النسجي للغدة اللبنية في مجموعة ازالة المبيض الايسر حيث يلاحظ فيها الحويصلات المتفرعة وكثرة السدى كما يلاحظ وجود الافرازات بتركيب نسجي مقارب للطبيعي .

ان نمو الغدة اللبنية يكون تحت السيطرة الهرمونية لهرموني الاستروجين والبروجستيرون واللذان يفرزان من المبايض بالمشاركة مع هرمون البرولاكتين Prolactin الذي يفرز من الفص الامامي للغدة النخامية (Brisken and O᾽ Malley, 2010) .

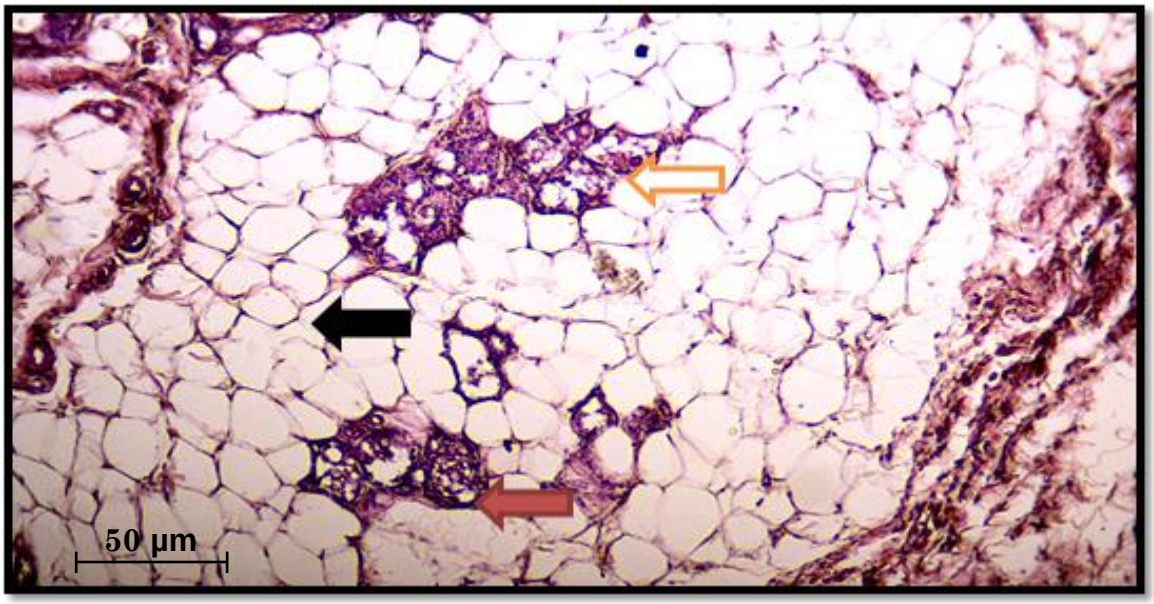
ان هرمون الاستروجين مسؤول عن عملية استطالة القنيات Elongation اذ يحفز استطالة قنوات الحليب للغدد اللبنية ، اما هرموني البروجستيرون والبرولاكتين فهما مسؤولان عن التكوين السنخي Alveologenesis (Asselin-Labat *et al.*,2010 ; Josh *et al.*, 2010) . اما في حالة قلة هرموني الاستروجين والبروجستيرون عند ازالة المبايض فيحدث اضطرابات في تلك العمليتين ولهذا نلاحظ كثرة الحويصلات غير الفعالة وصغر الفصيصات و قلة النسيج البرنكيمي كما تكون القنوات غير متطورة وتتالف من 1-2 من القنوات الرئيسة مع تفرعات محددة (Berry *et al.*, 2003).

لذا ادت عملية الاستئصال الكامل للمبايض للدراسة الحالية الى صغر حجم الفصيصات وكثرة الحويصلات غير الفعالة و السدى للمرضعات وقلة عدد الحويصلات والبراعم الحويصلية للعذارى نتيجة لانخفاض هرمون الاستروجين والبروجسترون حيث يعد المبيض المصدر الرئيس لافرازها ، اما الزيادة في نسبة النسيج الدهني فترتبط بقلة انتاج الحليب وبالعكس (Guyton and Hall,2016) .

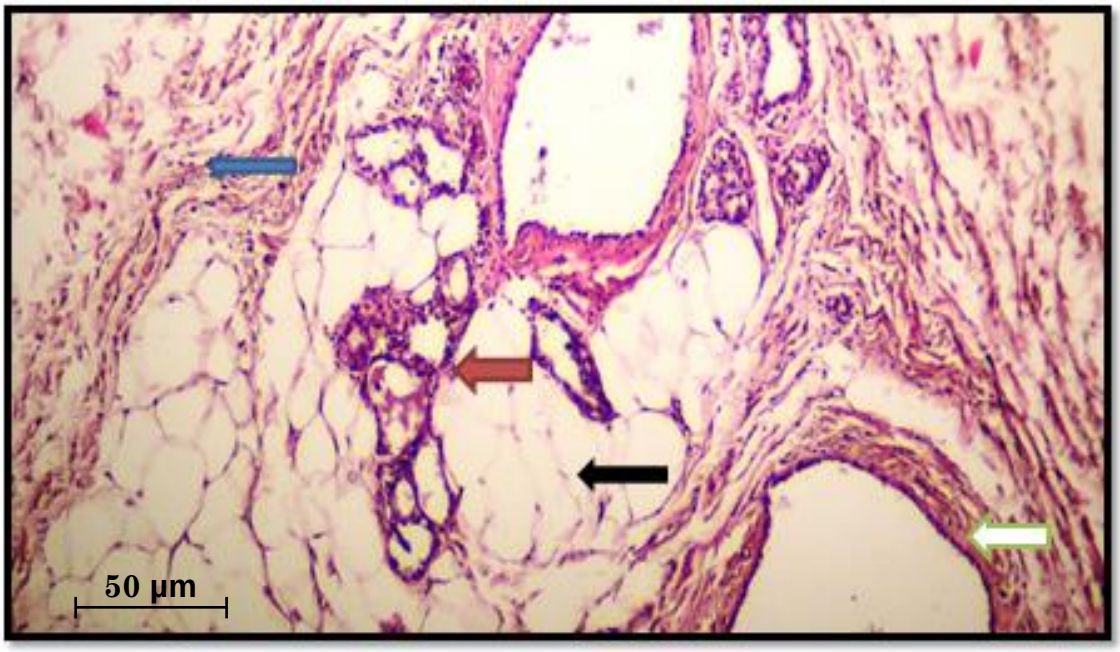
تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Purup *et al.* , (1995) على العجول و Dessauge (2009) *et al.*, في دراستة على الماعز اذ لاحظو ان عملية ازالة المبايض تودي الى انخفاض في النسيج البرنكيمي للغدد اللبنية ونقصان في تمايز وتكاثر الخلايا الطلائية للغدة اللبنية مع زيادة واسعة في كمية النسيج الدهني Adipose tissue مقارنة مع النسيج الافرازي البرنكيمي في حيوانات مزالة المبايض ، كما لاحظو أن معدل تكاثر الخلايا الطلائية للغدة اللبنية واطئ وبشكل ملحوظ وغير متطورة مع قلة الفصيصات والنسيج الطلائي للقنوات غير متطورة وتفرع القنوات اللبنية محدودة ، وهذا التاثير هو نتيجة لانخفاض تركيز هرمون الاستروجين في حيوانات مزالة المبايض ، اذ ان تكاثر الخلايا الظهارية الفارزة للغدة اللبنية يكون تحت تاثير هرموني الاستروجين والبروجستيرون ،وكذلك تفرع القنوات اللبنية (Brisken and O᾽ Malley, 2010). كما اتفقت النتائج مع دراسة(Tad-Urai and Sookvanichsilp, 2007) اذ لاحظا انخفاض في عدد البراعم الطرفية للغدد اللبنية وانخفاض في القنوات الطرفية وعدد الفصيصات والبراعم الحويصلية وبالتالي انخفاض في مجموع القنوات الكلية للغدة اللبنية في الجرذان مزالة المبايض.



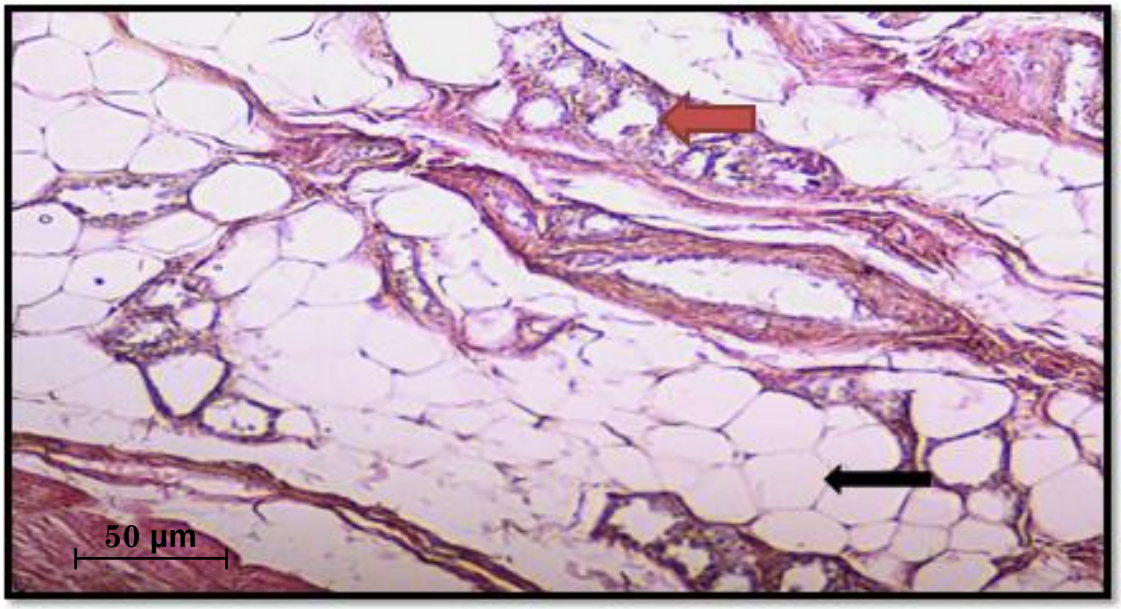
صورة رقم (4-1) مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة سيطرة العذارى يلاحظ الفصيصات (⇦) والبراعم الحويصلية (⇦) والسدى بين الفصيصات (⇦) وكذلك النسيج الدهني (⇦) (H & E 100 X)



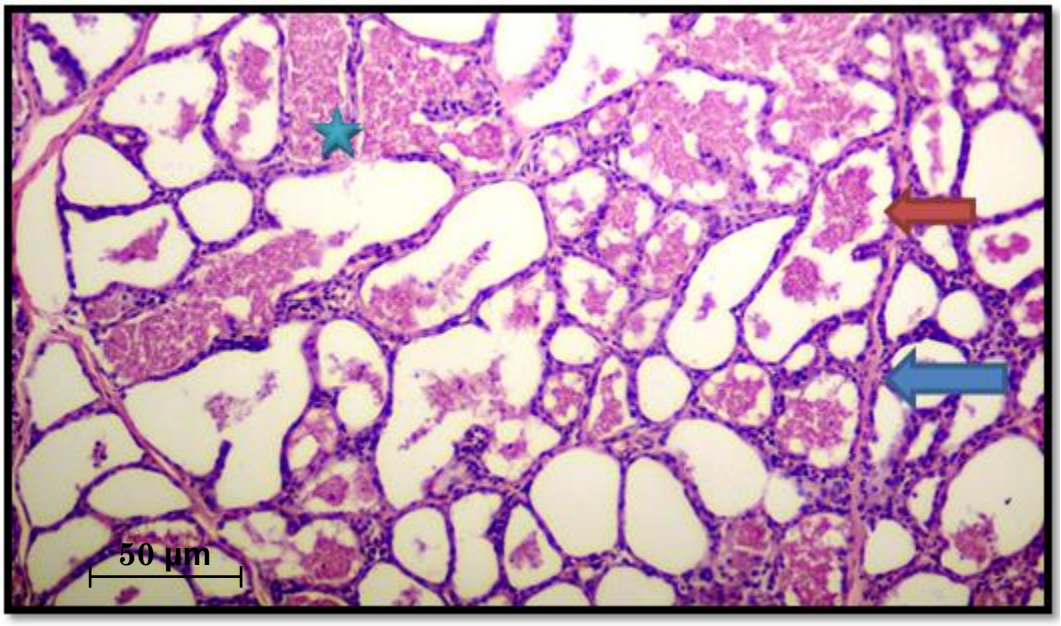
صورة رقم (4-2) مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة الازالة الكاملة للمبايض العذارى حيث يلاحظ قلة عدد الفصيصات (⇦) والبراعم الحويصلية (⇦) وكثرة النسيج الدهني (⇦) (H&E 100X)



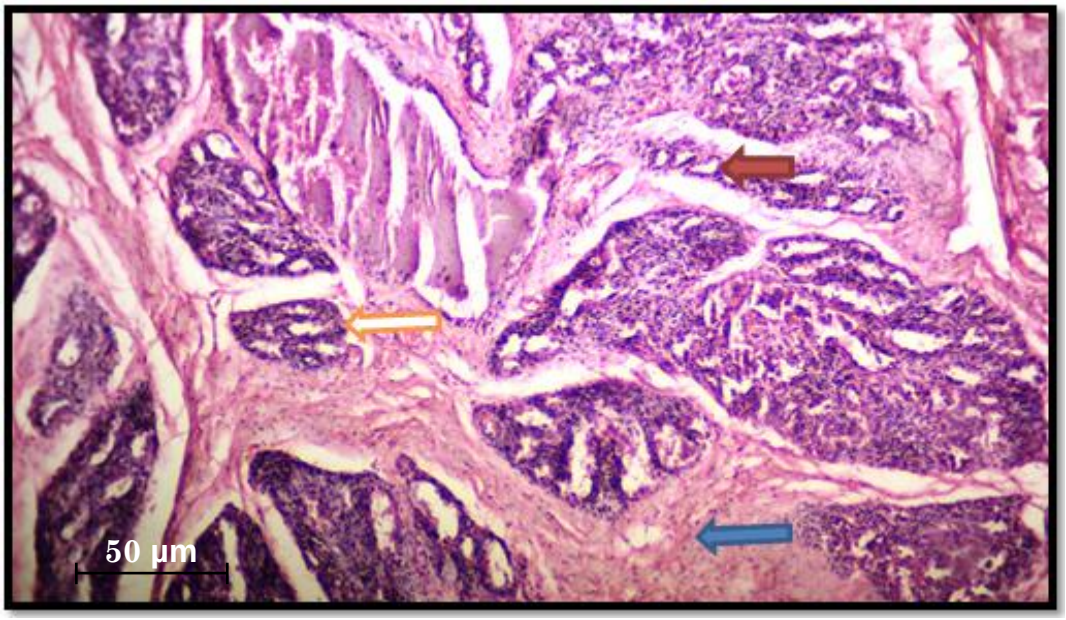
صورة رقم (4- 3) مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة إزالة المبيض الايمن العذارى البراعم الحويصلية المتوسعة (النشطة) ( ) و القنوات اللبنية ( ) وكذلك النسيج الدهني ( ) والسدى ( ) (H&E 100X).



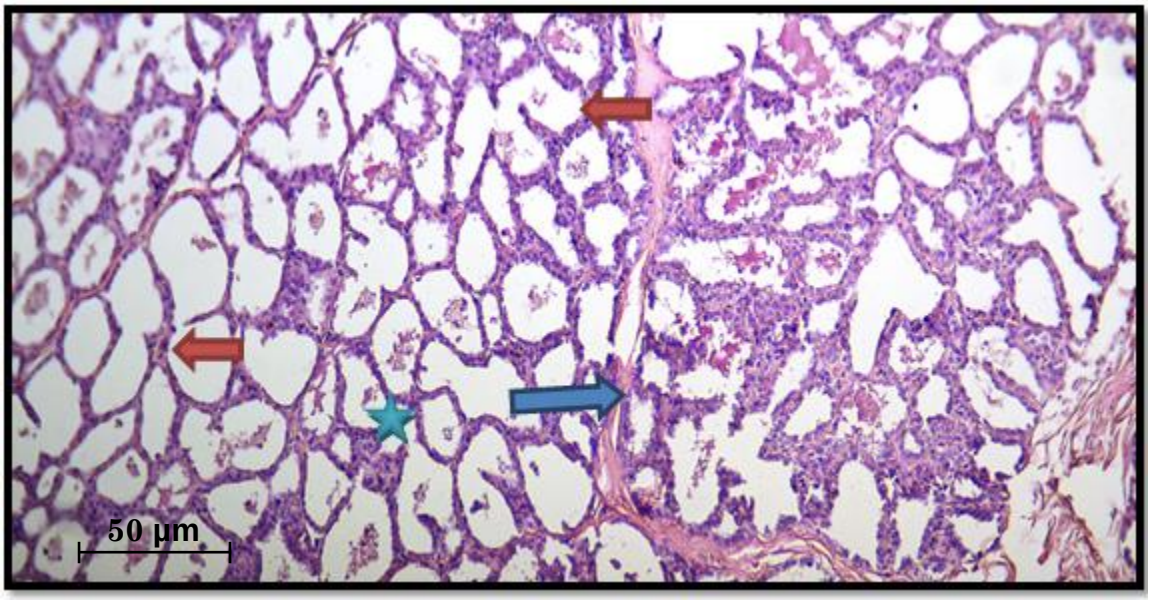
صورة رقم (4-4) مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة إزالة المبيض الأيسر العذارى حيث يلاحظ البراعم الحويصلية المتوسعة (النشطة) ( ) والنسيج الدهني ( ) (H&E 100X).



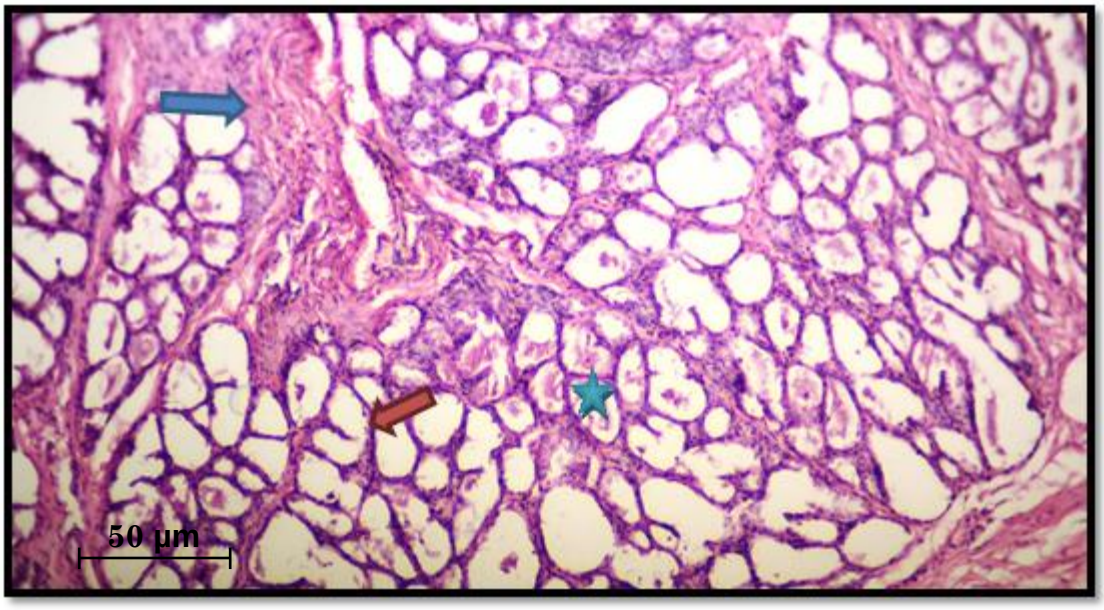
صورة رقم (4-5) مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة سيطرة للمرضعات تبين الحويصلات المتفرعة( ) وقلة السدى ( )كما يلاحظ وجود الافرازات ( ) (H&E 100X).



صورة رقم (4-6) مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة الازالة الكاملة للمرضعات حيث يلاحظ كثرة الحويصلات غير الفعالة ( ) وكثرة السدى ( ) كما يلاحظ صغر الفصيصات ( ) (H&E 100X).



صورة رقم (4-7) مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة ازالة المبيض الايمن للمرضعات حيث يلاحظ الحويصلات المتفرعة (⟵) وقلة السدى (⟵) كما يلاحظ وجود الافرازات (★) (H&E 100X).



صورة رقم (4-8) مقطع نسجي لغدة لبنية لمجموعة ازالة المبيض الايسر للمرضعات حيث يلاحظ الحويصلات المتفرعة (⟵) وكثرة السدى (⟵) كما يلاحظ وجود الافرازات (★)(H&E 100X)

2-4 الدراسة الكيمونسجية Histochemical study

1-2-4 صبغة كاشف شف الدوري Periodic Acid Schiff (PAS)

تم صبغ المقاطع النسجية بصبغة اخرى لغرض الكشف عن وجود الكربوهيدرات في نسيج الغدد اللبنية للعذارى والمرضعات

1-1-2-4 مجموعة العذارى Virgin group

اظهر فحص المقاطع النسجية للغدد اللبنية في مجاميع السيطرة والإزالة الكاملة وإزالة المبيض الأيمن والمبيض الأيسر للارانب المحلية تفاعلا سالبا للصبغة صورة (4- 9)(4-10)(4-11)(4-12) على التوالي .

2-1-2-4 مجموعة المرضعات Lactating group

اظهر فحص المقاطع النسجية للغدد اللبنية تفاعلاً موجبا للصبغة في تجويف الحويصلات لمجموعة السيطرة كما في الصورة (4-13) ، كما اظهرت تفاعلاً موجبا للصبغة في تجويف الحويصلات اللبنية للمجاميع المعاملة بإزالة المبايض الكاملة صورة (4-14) ومجموعتي إزالة المبيض الأيمن صورة (4-15) وإزالة المبيض الأيسر صورة (4-16).

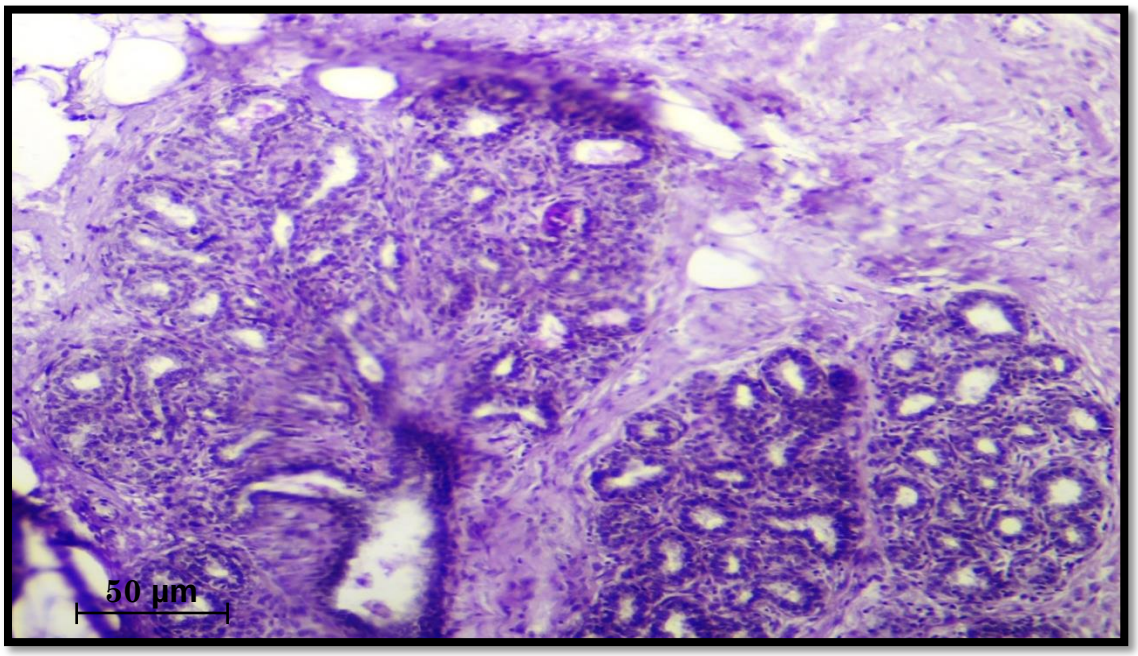
الغدة اللبنية هي عضو متفرع يخضع لكثير من التطور بعد الولادة تحت سيطرة الهرمونات التناسلية منها هرمون الاستروجين الذي له دور في تطور الغدة اللبنية في سن البلوغ وذلك من خلال حثة على تكوين التفرعات الجانبية لقنوات الغدة اللبنية في الدورة المبيضية وفي المراحل المبكرة من الحمل ، يعمل هرمون البروجسترون بالتناسق مع الاستروجين خاصة على نمو الفصيصات وتبرعم الاسناخ ، وتطور الخواص الافرازية لخلايا الاسناخ (Brisken and O'Malley,2010) .

كما ان نمو الغدد اللبنية وتمايز خلاياها المختلفة يزداد بشكل سريع خلال الأيام الأولى من الرضاعة، ويأتي ذلك من انقسامات الخلايا الظهارية وزيادة عددها وارتفاعها وحجمها الكلي. كما تزداد في الوقت نفسه الانسجة الضامة والاوعية الشعرية المغذية للاسناخ. وكل هذه التغيرات تسهم بشكل او بأخر في زيادة الفعالية الافرازية للغدد (Van Keymeulen *et al.*, 2011). ان عملية ازالة المبايض تودي الى انخفاض في مستوى تركيز الاستروجين والبروجستيرون وبهذا تبقى الغدة اللبنية غير متطورة(Berry *et al.*, 2003) .

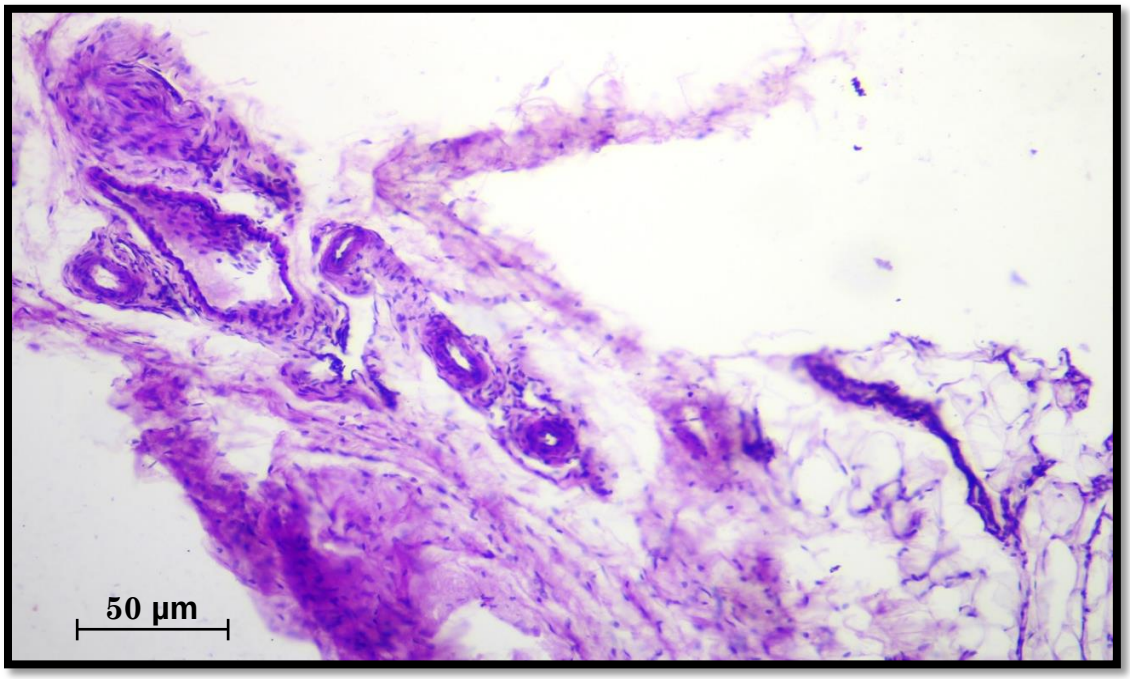
اما في حالة ازالة المبايض لمجموعة المرضعات فقد لوحظ التفاعل الايجابي باستخدام صبغة PAS وهذا يدل على حدوث تصنيع للحليب، إذ ان اثناء مرحلة الرضاعه تكون الغدد اللبنيه قد اكملت نموها وتطورها واكتمل تخصص المتن فيها الذي يمثل الجزء الغدي المتكون من الخلايا الظهاريه المبطنه للاقنية والخلايا الظهاريه الفارزة المبطنة للاسناخ،حيث ان زيادة عدد الخلايا الظهاريه الفارزه المبطنة للاسناخ هو المسؤول المباشر عن زيادة تصنيع وافراز الحليب (Pang and Hartmann,2007; Urashima,2012).

أن زيادة المادة الافرازية في الاسناخ والقنوات اللبنية يفسر التفاعل الايجابي للصبغة ، حيث أن المستويات العالية من هرمون البرولاكتين Prolactin في المرضعات يودي الى تعزيز إفراز الحليب (Anderson *et al.*, 2007) . فقد يعزى هذا التفاعل الايجابي القوي للصبغة الى وجود البروتين السكري Glycoprotein (Drury and Wallington, 1980) . بالأضافة الى هذا قد يشير Glycoprotein مع قطرات الدهون الكبيرة الى حقيقة وجود توليفة من المكونات الرئيسة الثلاثة للحليب وهي الكاربوهيدرات والبروتينات والدهون (Magi *et al.*, 2002; Oftedal, 2013).

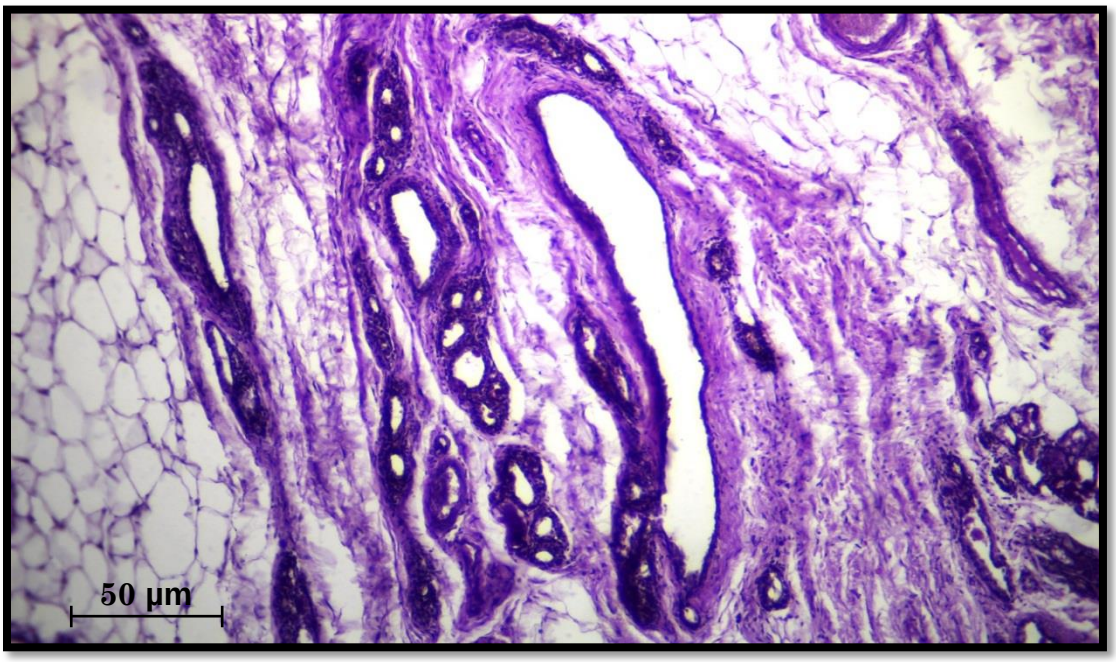
بعد الولادة، يُحث هرمون البرولاكتين من خلال التحفيز المباشر على تصنيع بروتينات الحليب في الظهارة الطلائية للغدة اللبنية و يحفز بصورة غير مباشرة على تكاثر الخلايا الفارزة للحليب (Naylor *et al.*, 2003) وتشير نتائج الهرمونات في الدراسة الحالية ان الارتفاع معنوي ($p<0.05$) في هرمون البرولاكتين في المرضعات ضروري للتكوين الحليبي (Brisken,2002) . لم تؤثر عملية إزالة المبايض في فترة الرضاعة لانواع مختلفة من الحيوانات وذلك لدور هرمون البرولاكتين بعملية الارضاع حيث يعمل كمحفز لإدرار الحليب من الغدة اللبنية (Oftedal,2012) .



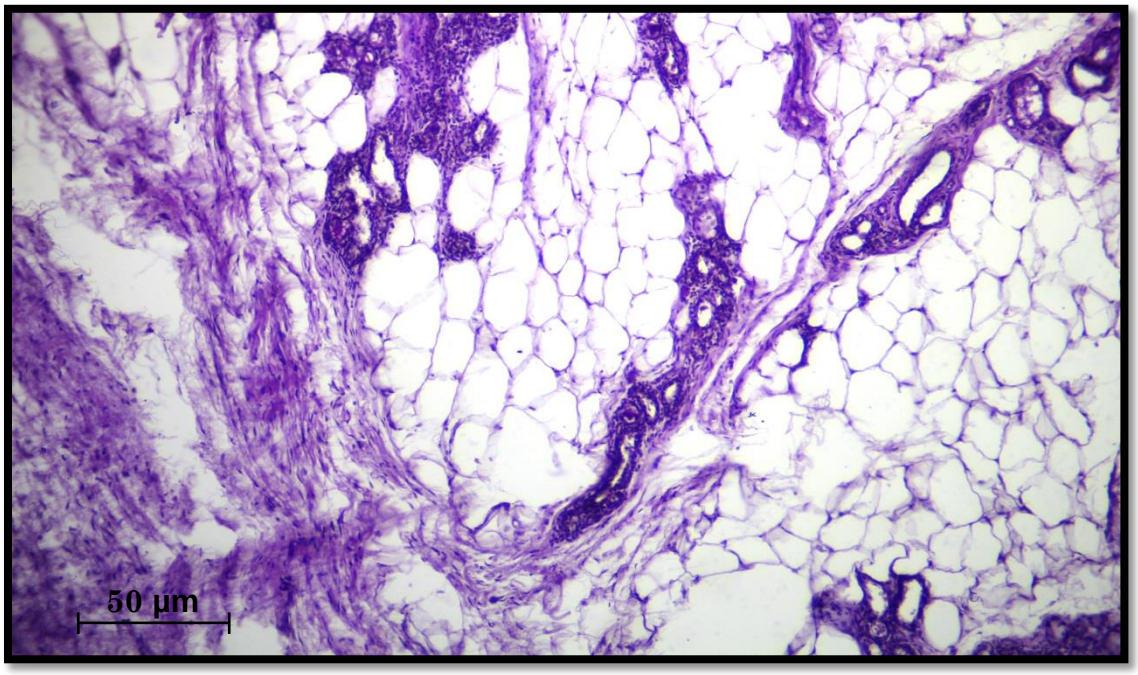
صورة رقم (4-9) مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة السيطرة للعذارى ، تظهر تفاعل سالب لصبغة PAS (100X)



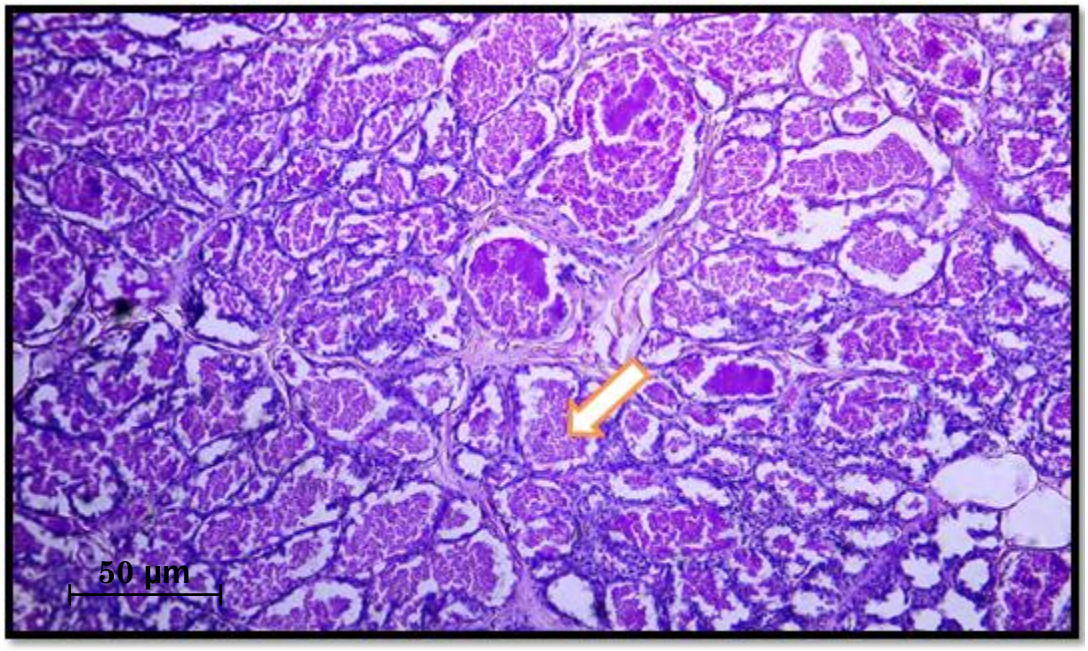
صورة رقم (4-10) مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة الازالة الكاملة للعذارى ، تظهر تفاعل سالب لصبغة PAS (100X)



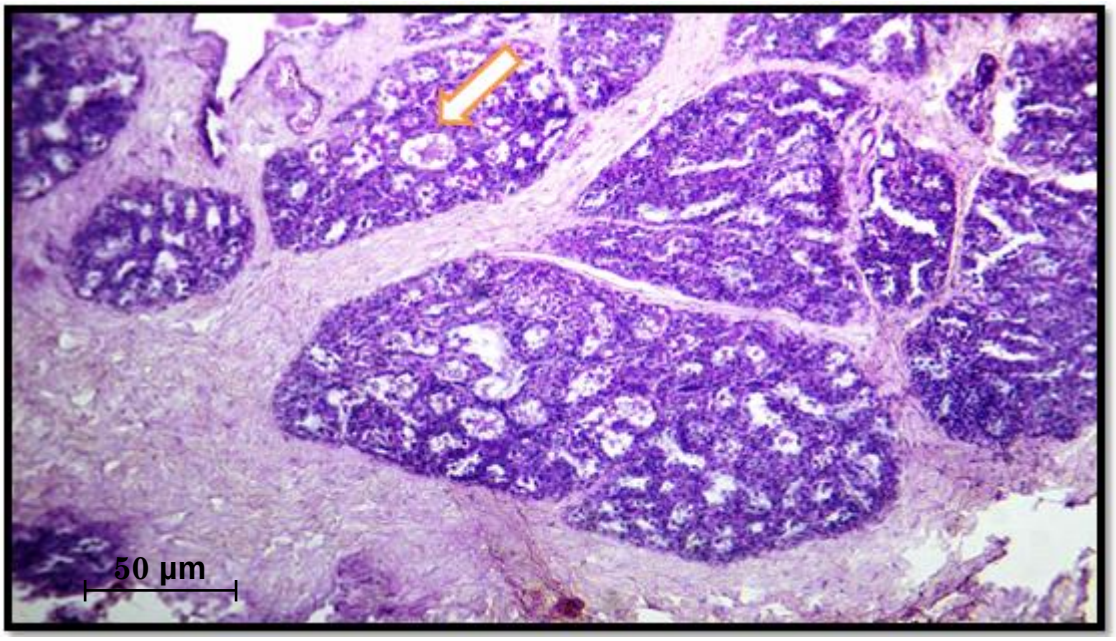
صورة رقم (4-11) مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة إزالة الأيمن للعذارى ، تظهر تفاعل سالب لصبغة PAS (100X)



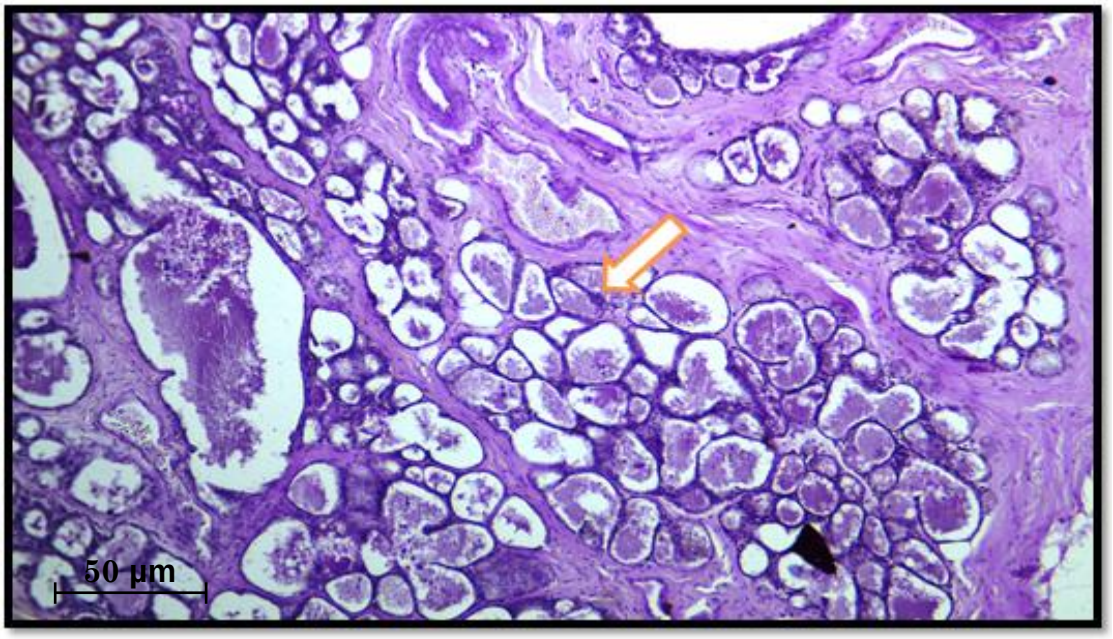
صورة رقم (4-12) مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة إزالة الايسر للعذارى ، تظهر تفاعل سالب لصبغة PAS (100X)



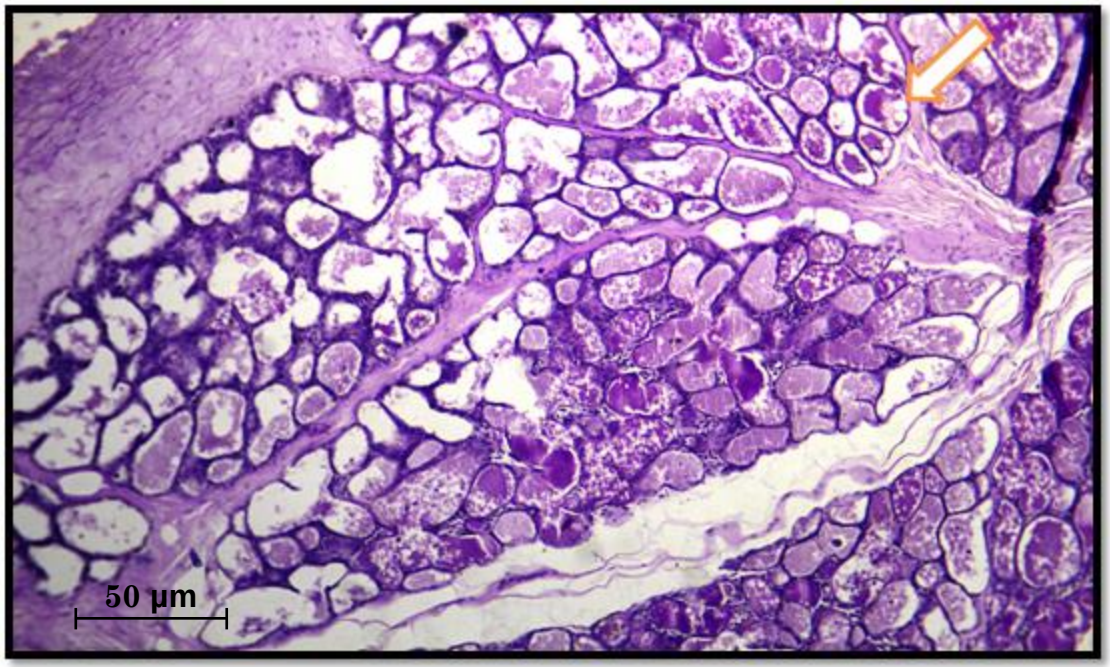
صورة رقم (4-13) مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة السيطرة للمرضعات ، تظهر تفاعل ايجابي لصبغة (PAS(⇦)
(100X)



صورة رقم (4-14) مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة الازالة الكاملة للمرضعات ، تظهر تفاعل ايجابي لصبغة PAS (⇦)
(100X)



صورة رقم (4-15) مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة ازالة المبيض الايمن للمرضعات ، تظهر تفاعل ايجابي لصبغة PAS(⇦) (X100)



صورة رقم (4-16) مقطع نسجي في الغدد اللبنية مجموعة ازالة المبيض الايسر للمرضعات ، تظهر تفاعل ايجابي لصبغة PAS (⇦) (100X)

2-2-4 صبغة كوموري ثلاثي الألوان Gomori's One-Stap stain Trichrome

أظهرت نتائج صبغة كوموري ثلاثي الالوان للغدد اللبنية للحالات الفسلجية للارانب (العذارى والمرضعات) مايلي :

1-2-2-4 مجموعة العذارى Virgin group

اظهرت المقاطع النسجية للغدد اللبنية الملونة بصبغة Trichrome في مجاميع السيطرة Sham للعذارى اذ يلاحظ فيها قلة كثافة الياف الكولاجين Collagen fibers (السدى) صورة (4-17) ، اما في مجموعة المعاملة بإزالة المبايض الكاملة فقد أظهرت المقاطع النسجية كثافة في الياف الكولاجين صورة (4-18) مقارنة مع مجموعة السيطرة. اما المقطع النسجي في صورة (4-19) لمجموعة المعاملة بإزالة المبيض الايمن فقد لوحظ فيها كثافة الياف كولاجين في السدى النتيجة نفسها لوحظت في مجموعة المعاملة بإزالة المبيض الايسر للعذارى حيث لوحظ كثافة الياف كولاجين في السدى صورة (4-20) مقارنة بالسيطرة .

2-2-2-4 مجموعة المرضعات Lactating group

اظهرت الصورة (4-21) قلة في كثافة الياف كولاجين السدى Stroma في مقاطع الغدد اللبنية لمجموعة السيطرة ، اما المجاميع المعاملة بازالة المبايض الكاملة فقد لوحظ فيها كثافة الياف كولاجين السدى صورة (4-22) ، مقارنة مع مجموعة السيطرة و مجموعة المعاملة بإزالة المبيض الايمن ومجموعة المعاملة بإزالة المبيض الايسر (4-23)(4-24) على التوالي واللذان اظهرا كثافة اقل من مجموعة الازالة الكاملة واكثر من مجموعة السيطرة .

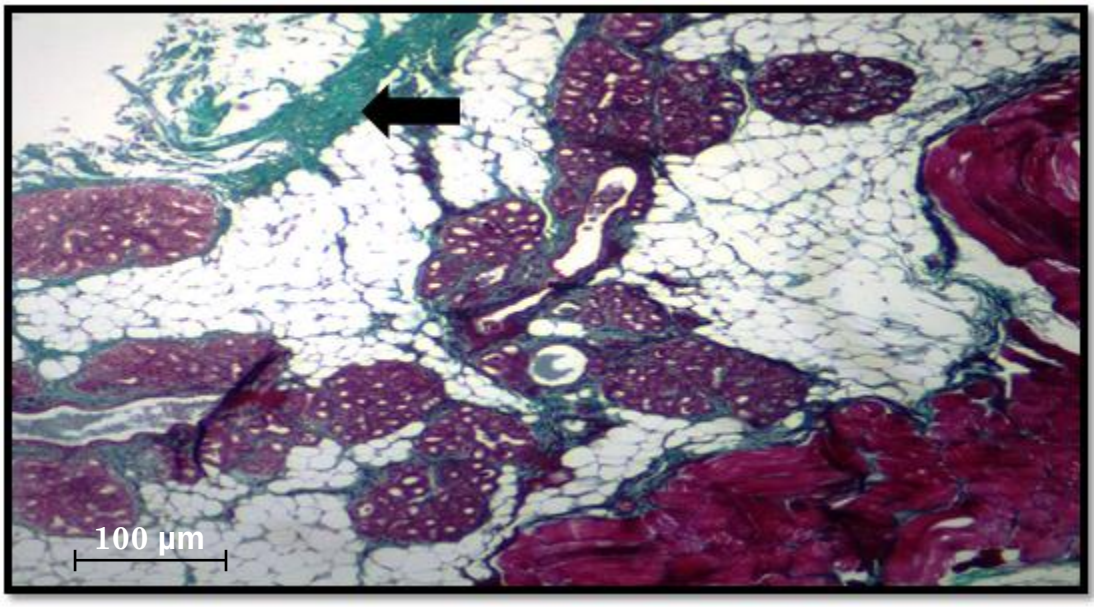
اظهرت المقاطع النسجية الملونة بصبغة Trichrome قلة في كثافة الياف الكولاجين للحالات الفسيولوجية المختلفة للسيطرة وللمجاميع المعاملة بازالة المبيض الايمن والايسر،حيث كانت اقرب الى النسيج الطبيعي.

ان لهرموني الاستروجين والبروجستيرون دوراً في تحفيز النمو الفصيصي – السنخي للغدة اللبنية عن طريق تاثيرها في زيادة تكاثر الخلايا الطلائية الفارزة للغدة ، فضلا عن استطالة وتفرع القنوات اللبنية

(Guyton and Hall ,2016) . ان هذا التغير في حجم الفصيصات وفي اعداد الحويصلات هو نتيجة لوجود المحتويات الافرازية فيها خاصة في فترة الرضاعة والمرتبطة بالزيادة في اعداد الاسناخ والخلايا الفارزة في نسيج الغدة اللبنية والمتزامنة بالزيادة في معدل افراز الحليب ، وذلك بسبب الزياده في حجم النسيج الظهاري الغدي تنخفض كميات الانسجة الضامة والعكس صحيح (Oftedal , 2012).

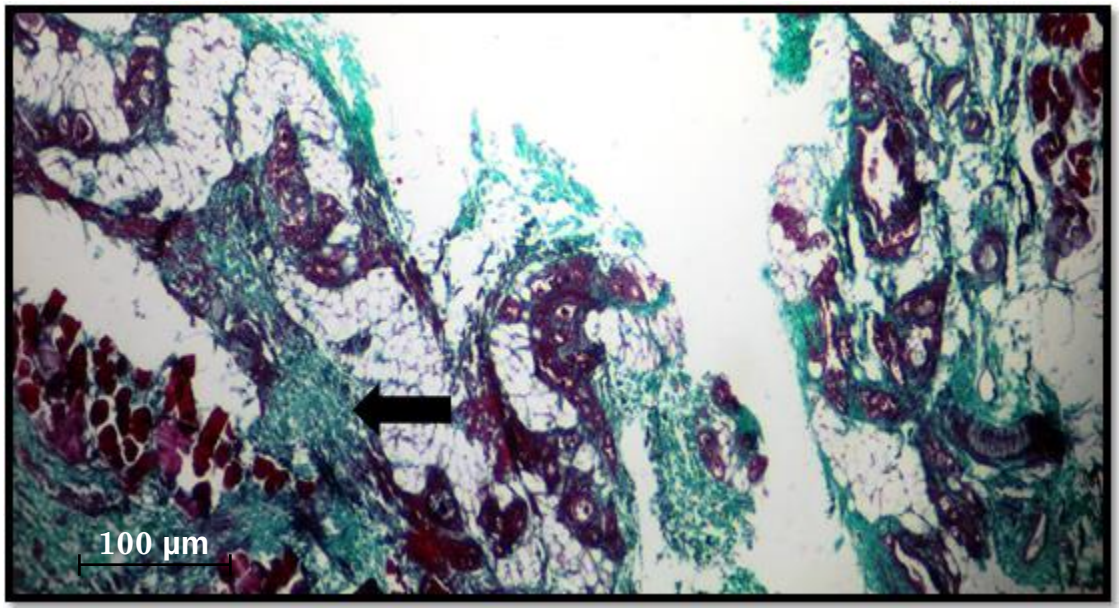
وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع Dessauge, *et al.*,(2009) اذ اشار الى ان عملية ازالة المبايض في إناث الماعز تودي الى نقصان في كمية النسيج البرنكيمي وصغر في حجم الحويصلات وتكون غير متطورة وبالتالي زيادة في السدى النسيج الضام (الياف الكولاجين).

كما اتفقت مع نتائج دراسة Sharman, (2011) إذ أشار إلى إن إزالة المبايض بصورة كاملة يودي الى حصول حالة (سن الياس الجراحي)، حيث تعاني الغدد االلبنية في هذه الحالة ضمور في أجزائها الإفرازية و قنواتها الحويصلية وزيادة في كمية النسيج الدهني والسدى نتيجة للاختلال في تركيز مستوى هرمون الاستروجين.



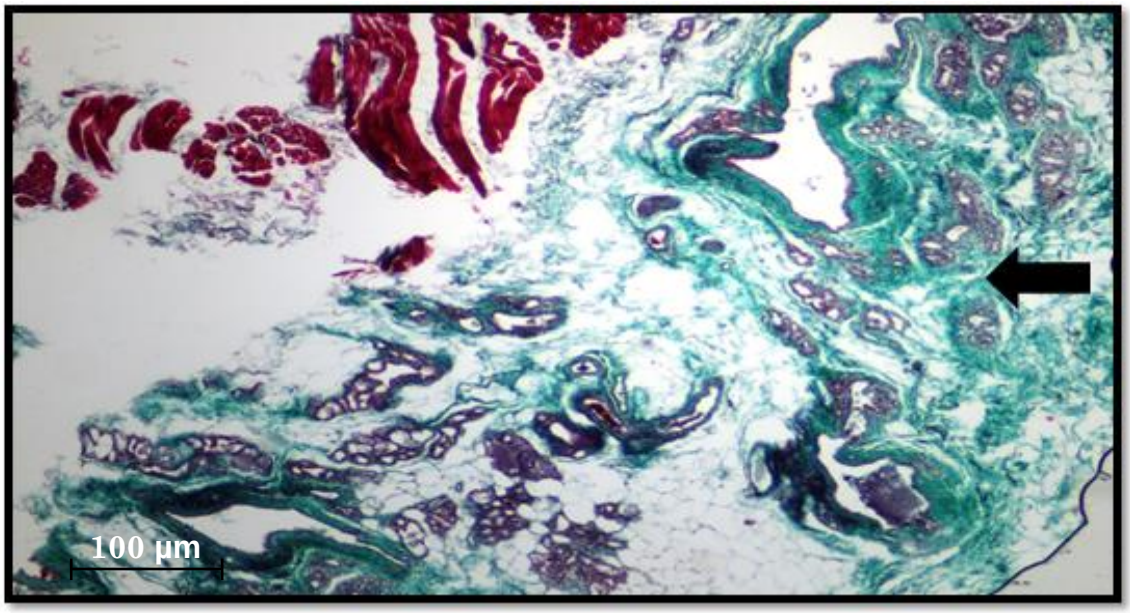
صورة رقم (4-17) مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة سيطرة العذارى يلاحظ فيها قلة في الياف كولاجين السدى (⟵)

لصبغة Trichrome (40X)

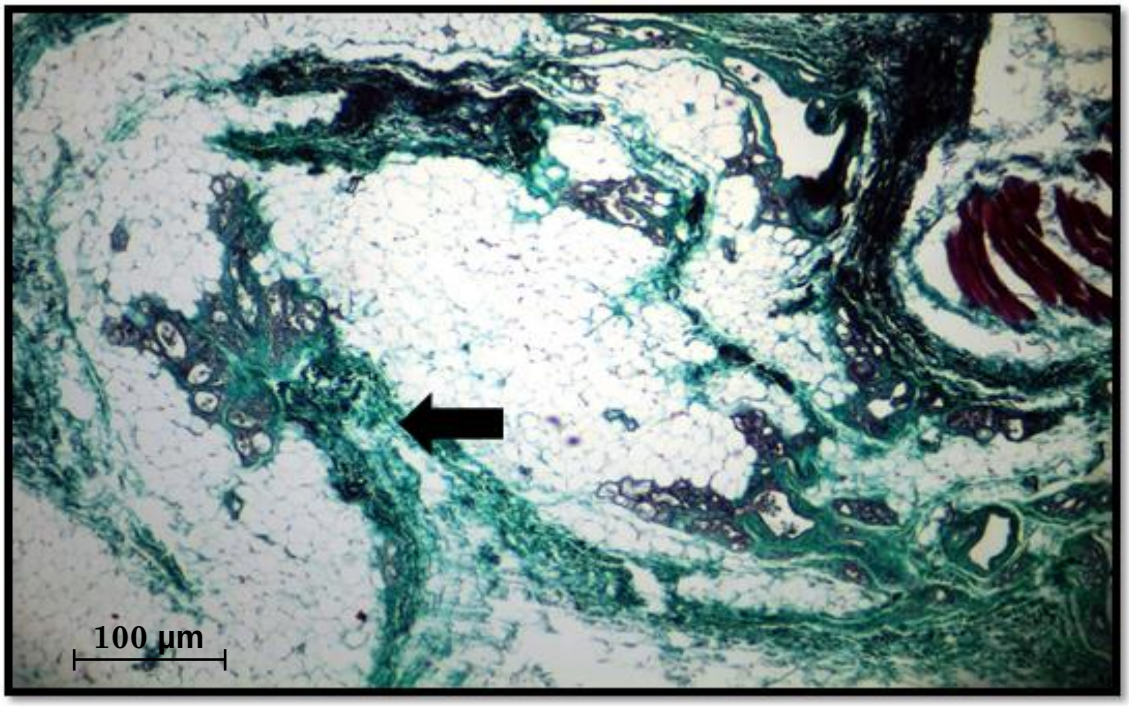


صورة رقم (4-18) مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة الازالة الكاملة للعذارى يلاحظ فيها كثافة الياف كولاجين السدى (⟵)

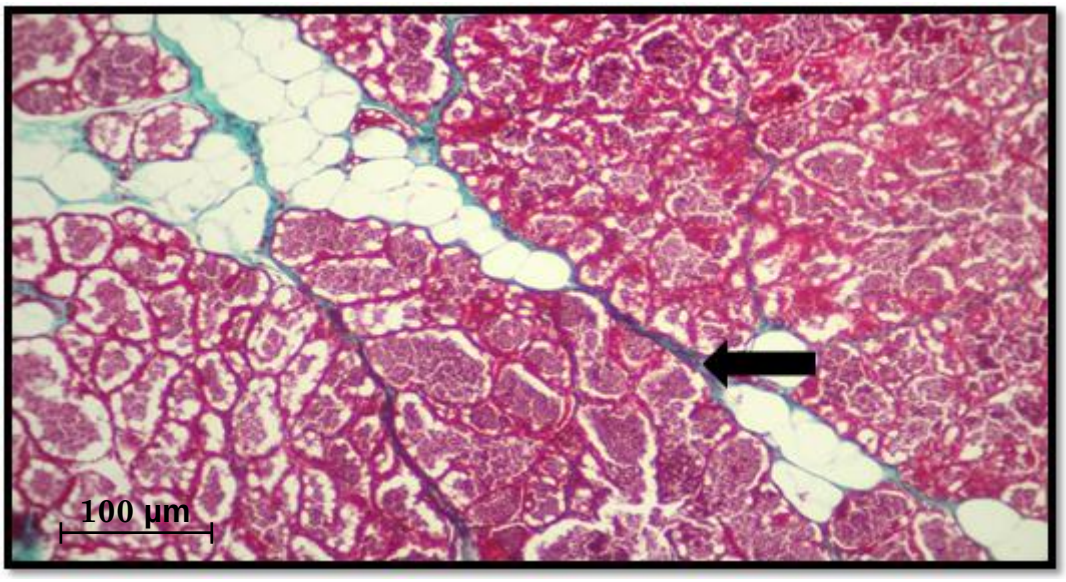
لصبغة Trichrome (40X)



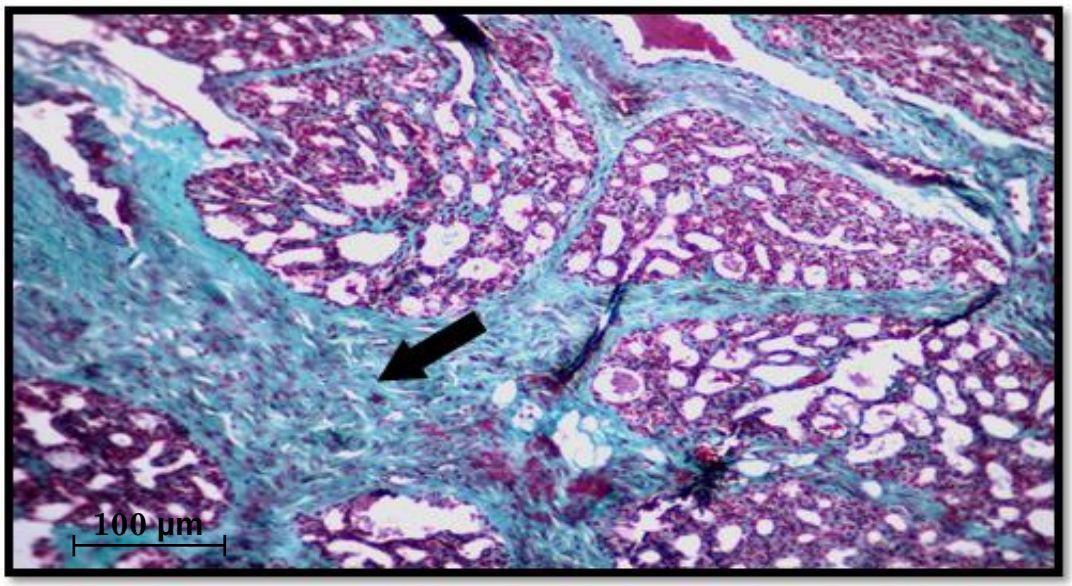
صورة رقم (4-19) مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة إزالة المبيض الأيمن للعذارى يلاحظ فيها كثافة ألياف كولاجين السدى (⬅) لصبغة Trichrome (40X)



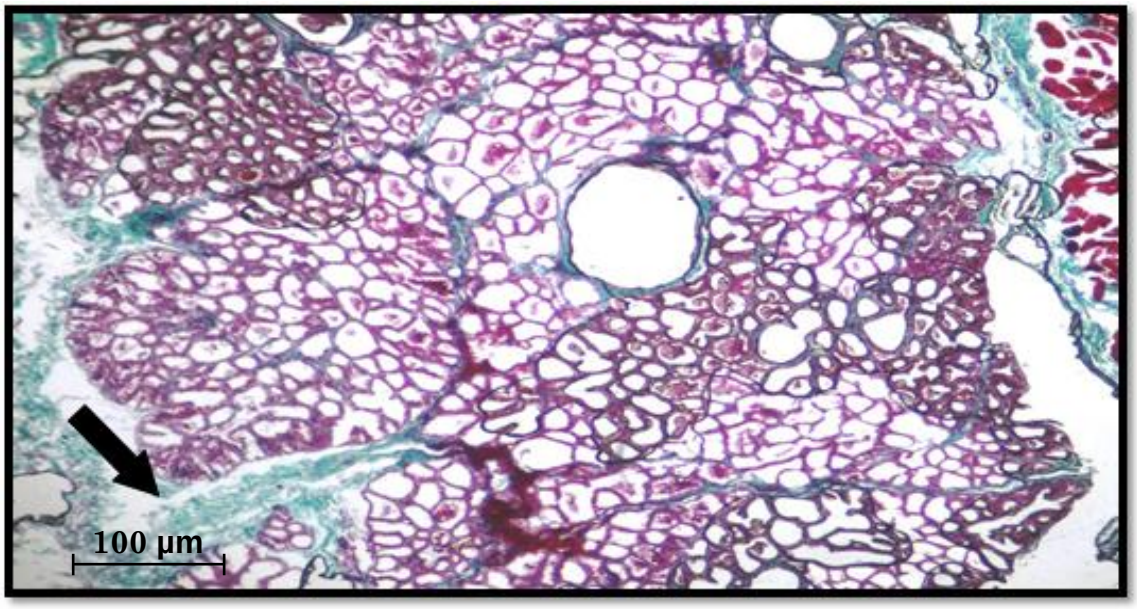
صورة رقم (4-20) مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة ازالة المبيض الايسر للعذارى يلاحظ فيها كثافة الياف كولاجين السدى (⬅) لصبغة Trichrome (40X)



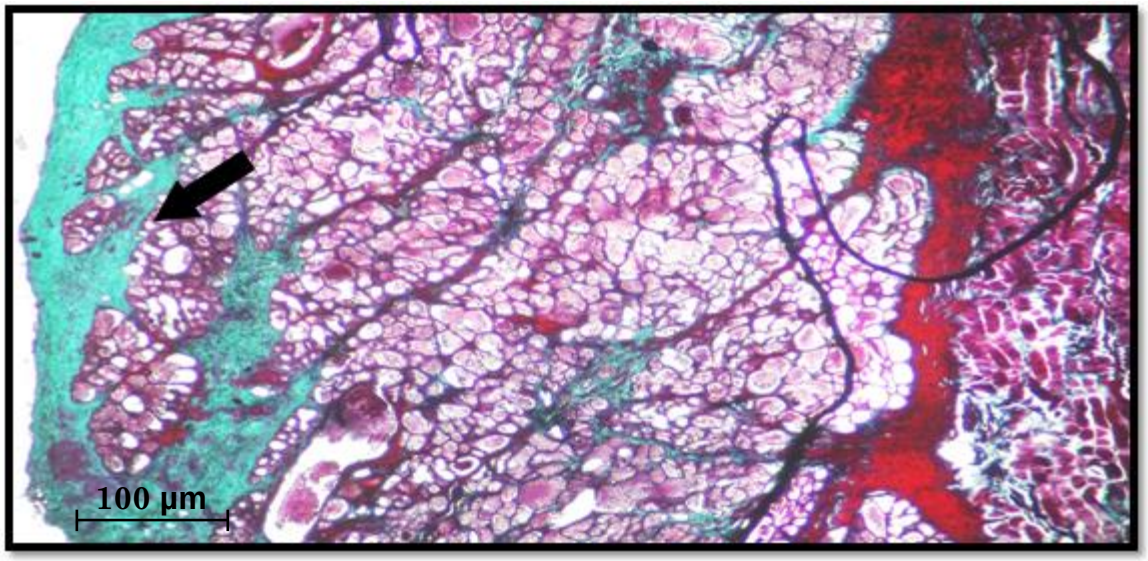
صورة رقم (4-21) مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة سيطرة المرضعات يلاحظ فيها قلة الياف كولاجين السدى (⟵) لصبغة (40X) Trichrome



صورة رقم (4-22) مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة ازالة الكاملة للمرضعات يلاحظ فيها كثافة الياف كولاجين السدى (⟵) لصبغة (40X) Trichrome



صورة رقم (4-23) مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة إزالة المبيض الإيمن المرضعات يلاحظ فيها قلة كثافة الياف كولاجين السدى (⟵) مقارنة بمجموعة الازالة الكاملة لصبغة Trichrome (40X)



صورة رقم (4-24) مقطع نسجي للغدد اللبنية لمجموعة إزالة المبيض الأيسر المرضعات يلاحظ فيها قلة كثافة ألياف كولاجين السدى (⟵) مقارنة بمجموعة الإزالة الكاملة لصبغة Trichrome (40X)

3-4 تأثير إزالة المبايض الثنائية والأحادية على نسيج الرحم للعذارى والمرضعات في الأرانب المحلية

1-3-4 صبغة الهيماتوكسلين والايوسين Haematoxylin and Eosin staining

أظهرت المقاطع النسجية لنسيج الرحم للعذارى والمرضعات التغييرات النسجية التالية :-

1-1-3-4 مجموعة العذارى Virgin group

اظهر الفحص النسجي لمقاطع الرحم لمجموعة السيطرة حيث يلاحظ فيها الطبقات الثلاث للرحم هي البطانة الداخلية للرحم Endometrium وعضل الرحم Myometrium والطبقة المحيطية للرحم Perimetrium صورة (4-25). إذ تتالف بطانة الرحم من نسيج طلائي عمودي بسيط Simple columnar epithelial tissue مع وجود عدد من الغدد الرحمية والطبقة العضلية ووجود الأوعية الدموية ، و وجود الطيات الرحمية صورة (4-26) لمجموعة السيطرة للعذارى .

بينت نتائج الدراسة الحالية أن عملية استئصال المبايض الكاملة أدت إلى تأثر في طبقات الرحم الثلاث وضمورها وقلة طيات الطبقة الرحمية صورة(4-27) وكذلك عدم وجود الغدد الرحمية مع وجود ارتشاح خلوي عالً جدا وقلة في سمك الطبقة العضلية للرحم صورة (4-28) مقارنة مع مجموعة السيطرة .وتظهر صورة (4-29) إن النسيج الرحمي لمجموعة الأرانب مزالة المبيض الأيمن لم يلاحظ فيها تغيرات في الطبقات الثلاث التي كانت اقرب الى النسيج الطبيعي مع وجود الغدد الرحمية ووجود الطيات الرحمية لكن بكميات اقل مع وجود ارتشاح خلوي (4-30) .

كما اظهرت دراسة المقاطع النسجية للحيوانات المعاملة بازالة المبيض الايسر ، وجود الطبقات الثلاث للرحم لكن اقل سمكا مع وجود الطيات الرحمية صورة (4-31) مع وجود ارتشاح خلوي و قلة الغدد الرحمية في طبقة السدى صورة (4-32) .

2-1-3-4 مجموعة المرضعات Lactating group

اظهرت نتائج التقطيع النسجي صوره (4-33) لنسيج الرحم لمجموعة السيطرة للمرضعات وجود الطبقات الثلاث للرحم هي البطانة الداخلية (E) الطبقة العضلية(M) والطبقة المحيطية (P) كما لوحظت الطية الرحمية و الطبقة الظهارية وبداية تكون الغدد في سدى الطبقة البطانية للرحم ،إضافة إلى الارتشاح الخلوي فيها (4-34).

توضح المقاطع النسجية ان عملية الازالة الكاملة للمبايض ادت الى تغير في طبقات الرحم الثلاث وضمورها وقلة طيات بطانة الرحم صورة (4-35) وكذلك عدم وجود الغدد الرحمية ،ووجود ارتشاح خلوي شديد كما ويلاحظ أن الطبقة العضلية اقل سمكا بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ومع المجاميع الاخرى صورة (4-36).

وتظهر صورة (4-37) النسيج الرحمي لمجموعة المزالة المبيض الايمن للمرضعات أن الطبقات الثلاث للنسيج هي اقرب الى النسيج الطبيعي مع وجود الطيات الرحمية ، والغدد الرحمية في بطانة الرحم مع وجود ارتشاح خلوي (4-38) .

أظهرت الصور النسجية لمجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيسر للمرضعات الطبقات الثلاث للرحم لكنها اقل سمكا مع وجود الغدد الرحمية و ارتشاح خلوي صور(4-39) (4-40).

ان المبيض يقوم بافراز الهرمونات الجنسية هرموني الاستروجين والبروجستيرون المسوولة عن نمو الاعضاء التناسلية ،حيث يعمل هرمون الاستروجين على نمو سدى بطانة الرحم وزيادة كبيرة في تطوير غدده في بطانة الرحم ، اما هرمون البروجستيرون يعمل على زيادة النشاط الافرازي للغدد الرحمية وزيادة الـمدد الدمـوي فـي الرحـم ، لـذا فـان اي تـغير فـي نسـب هذين الـهرمونين يـؤدي الـى تـغيرات فـي الـدورة الدمـوية مـما يـؤدي الى زيـادة فـي نفـاذية الاوعية الدموية وزيادة في الوزن الرطـب للـرحم . (Kim *et al*., 2005; Vinci *et al*., 2010)

وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع Santos *et al*.(2010) ودراسة جاسم (2011) و كعيم (2014) اذ اشاروا الى أن عملية استئصال المبايض في الجرذان والارانب يؤدي الى انخفاض الاستروجين المنتج والذي يؤثر مباشرةً في نسيج الرحم ، وهذه التغيرات التي تسببها عملية استئصال المبايض والمتمثلة بقلة السمك في جميع الطبقات و انعدام الغدد الرحمية وقلة الأوعية الدموية في منطقة السدى وعدم انتظام الطبقة الطلائية العمودية لبطانة الرحم .

وكما هو معروف فان الاستروجين يحفز تضخم (hypertrophy) الانسجة الطلائية والعضلية لذا فان اي قلة في نسبة الاستروجين نتيجة وصول المرأة لسن الياس او تعرضها لعملية ازالة المبيض يؤدي الى ضمور في طبقات الرحم والمهبل (Boreham *et al*., 2002; Pessina *et al*., 2006).

كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات (Oner *et al*.,(2002 و(Saruhan *et al*., (2006 و(Ünsal & Sönmez (2014 حيث اشارت نتائج تلك الدراسات الى ان الانخفاض في وزن الرحم بسبب ضمور بطانته وتأثر نسيجها الطلائي والنقصان في الغدد الرحمية بعد استئصال المبايض والذي يودي الى الانخفاض في مستوى الاستروجين المنتج ، حيث ان سمك البطانة الرحمية تزداد بزيادة هرمون الاستروجين (Ganong, 2003) .

وقد بين (Mödder *et al*.,(2004 تأثير الإستروجين في الرحم في الفئران البالغة مستأصلة المبايض اذ ظهر ضمور في طبقات الرحم للمجموعة المستأصلة وقلة التغذية الدموية وقلة عدد الغدد الرحمية وهذا يعود الى انخفاض الاستروجين ، حيث ان الزيادة في الاوعية الدموية ونمو الخلايا للأجزاء المختلفة للرحم تحدث تحت تأثير ارتفاع هرمون الاستروجين (Hafez & Hafez, 2000)

اشارت دراسة (Razi *et al*.,(2010 في الجرذان مزاله لا حدى المبايض وجود تضخم تعويضي للمبيض الثاني مع وجود تجهيز دموي عالي والعديد من الحويصلات الافرازية كبيرة الحجم في سايتوبلازم الخلايا لحبيبية إضافة إلى زيادة في عدد الجريبات الناضجة وقلة في عدد الجريبات الداخلة في (Folicular atresia) كما لوحظ قلة في سمك طبقات الرحم والغدد الرحمية مقارنة مع السيطرة .

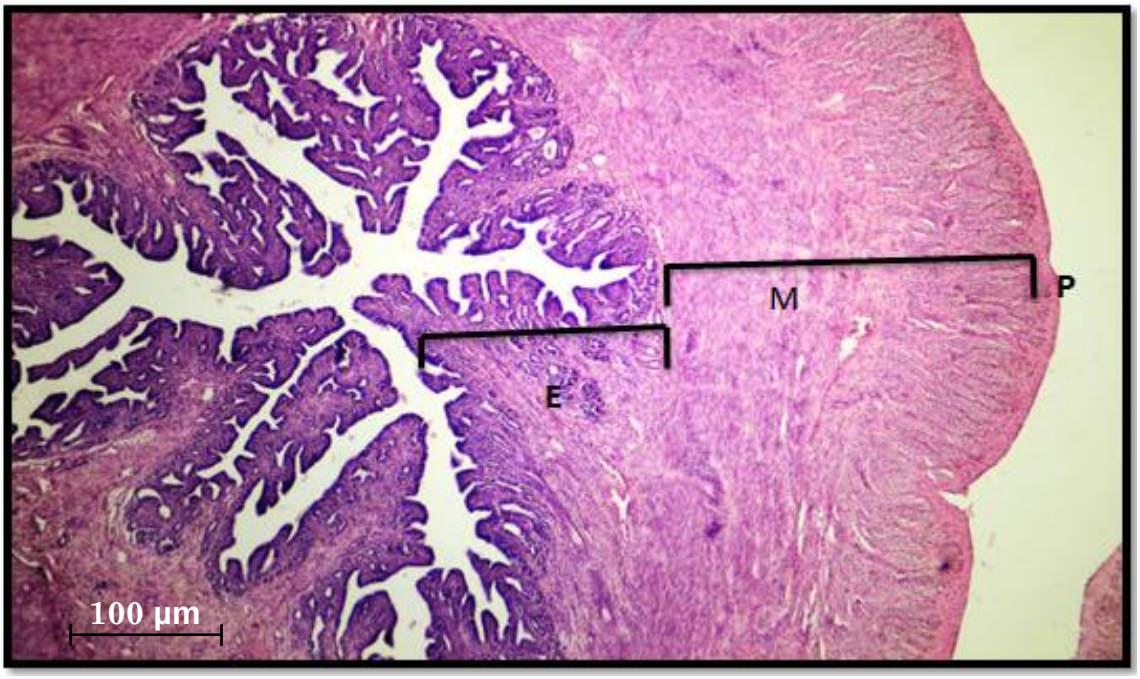
نلاحظ في الدراسة الحالية وجود ارتشاح خلوي عالٍ في السيطرة والمجاميع الاخرى ، سببه ان وجود هذه الخلايا في بطانة الرحم ماتزال مسالة مثيرة للجدل، هناك عدة تفسيرات لذلك اضافة الى انها خلايا دفاعية ضد الاصابات فالكثير من الدراسات اشارت الى وجود اعداد من الخلايا العدلة في جميع مراحل الشبق عدا مرحلة Diestruse حيث تكون نادرة الوجود

(Skjerven,1956 ; McEntee ,1990 ; Schulz,1991) ،اضافة الى وجود خلايا الحمضة في كل طبقات البطانية خصوصا في السدى (Skjerven,1956) حيث لا تختلف اعدادها في جميع مراحل الشبق (McEntee,1990).

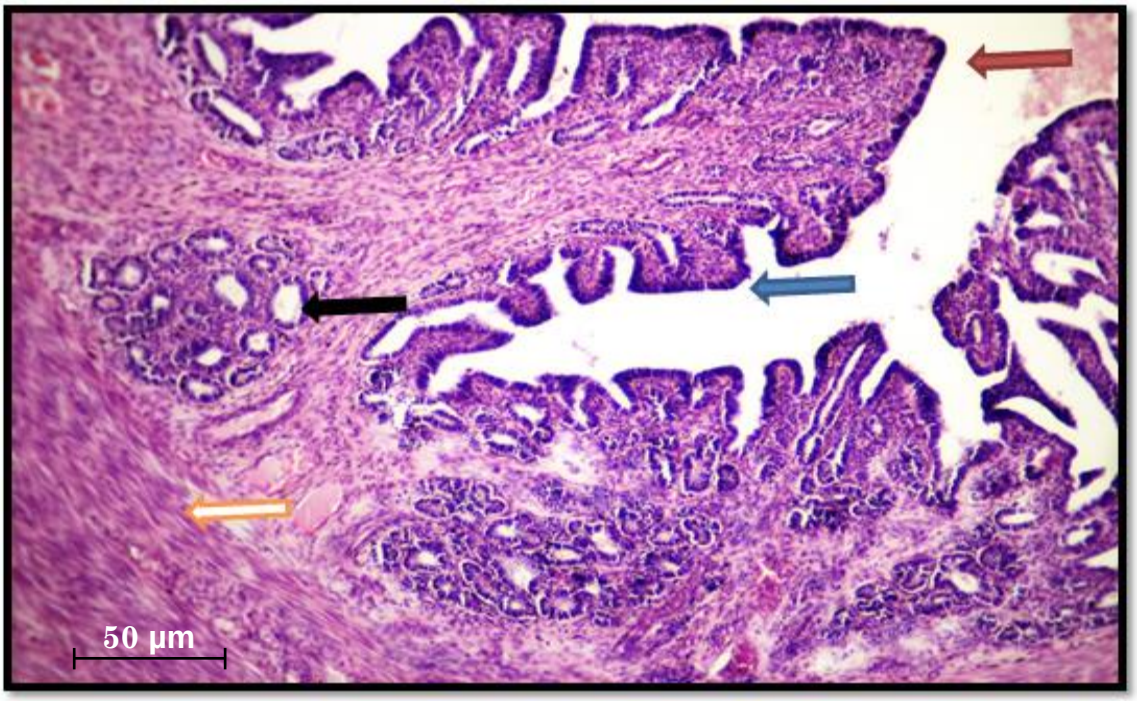
كما اشارت الدراسات الى وجود تجمعات من خلايا البدينة في طبقات السدى بغض النظر عن مرحلة الشبق ،كما يمكن ان توجد في الطبقة العضلية والطبقة المحيطية (Likar and Likar,1964 ;1950, Weber) ،و تبين ان خلايا البدينة لها دور في عملية تكون الاوعية الدموية لذلك يلاحظ تواجدها حولها

حيث يلاحظ ارتفاع اعدادها في السيطرة والازالة الجزئية للجزء السليم وانخفاضها في الجزء المعامل أذ لوحظ بان هذه الخلايا لها دور في عملية تكوين الاوعية الدموية (Burd *et al*., 1989; Selvan *et al*., 1994; Özen *et al*., 2002).

ما تزال مسالة وجود الخلايا اللمفاوية مثيرة للجدل كما توجد بعض التجمعات البؤرية من الخلايا اللمفاوية (Dawson,1959; Skjerven,1956 ; McEntee ,1990 ; Schulz,1991) . وقد فسر ذلك على ان وجود تجمعات البؤرية للخلايا اللمفاوية ليس له علاقة بالحالة الفسيولوجية لبطانة الرحم بقدر ما يتعلق الامر بوجود اصابات سابقة (Schulz,1991; Lucy *et al*., 2016) .اضافة الى ذلك هناك زيادة في اعداد الخلايا Natural killer خلال مرحلة الجسم الاصفر (Oliveira,2013) . كما لوحظ جود بعض الخلايا البلازمية خلال مرحلتي الجريبات والجسم الاصفر (McEntee,1990) . و وجود الخلايا البلعمية في طبقة البطانية للرحم وتختلف اعدادها خلال مراحل الشبق (Cobb and Watson,1995).

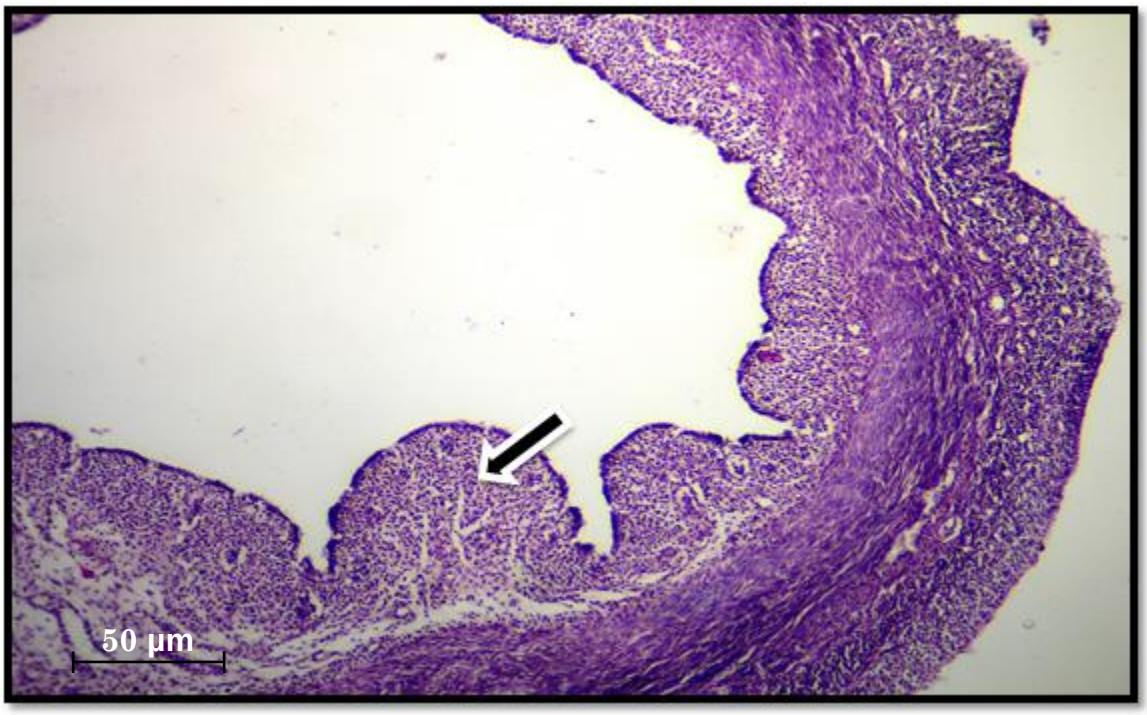


صورة رقم (4-25) مقطع نسجي لرحم مجموعة السيطرة العذارى يلاحظ فيها الطبقات الثلاث للرحم (البطانية (E) ، العضلية (M) والمحيطية (P) (H&E 40X)

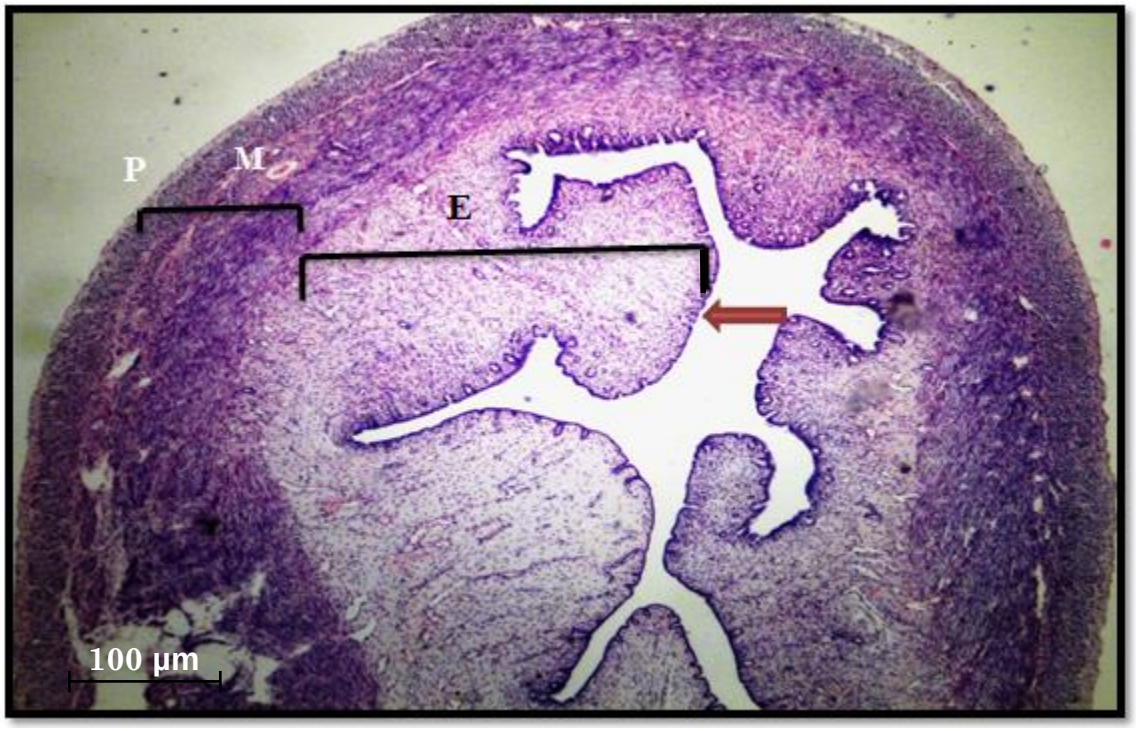


صورة رقم (4-26) مقطع نسجي لرحم مجموعة السيطرة العذارى حيث يلاحظ الطية الرحمية ( ) الطبقة الظهارية ( ) والغدد في سدى الطبقة البطانية للرحم ( ) ، كما يلاحظ الطبقة العضلية فيها ( ) (H&E 100X)

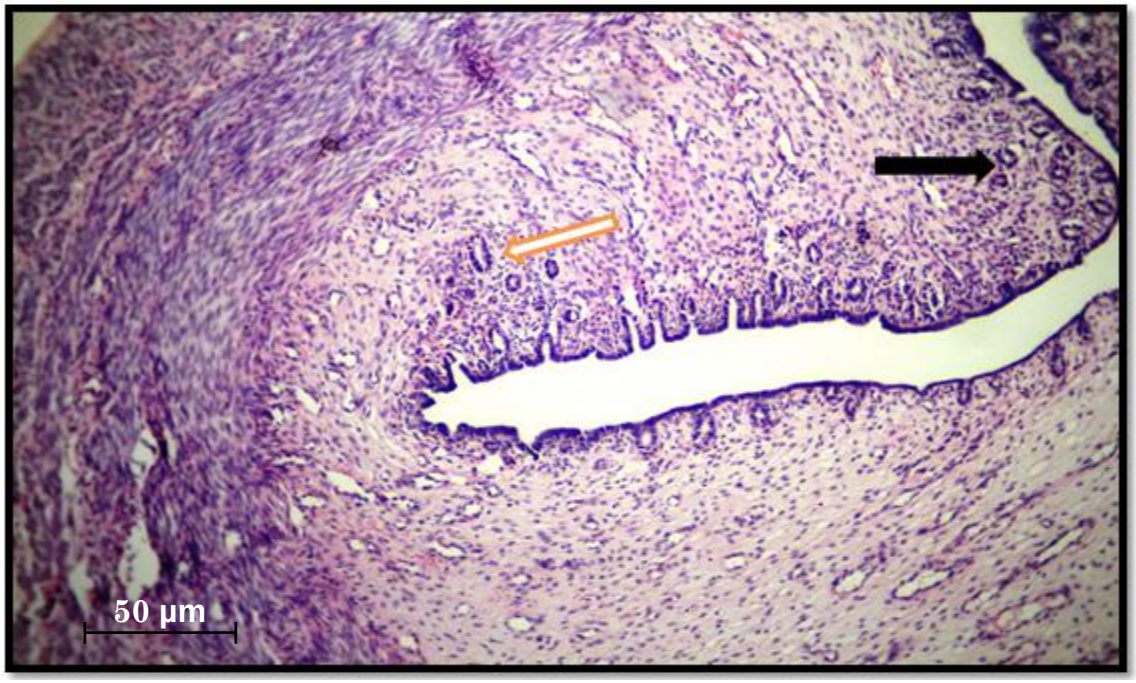
صورة رقم (4-27) مقطع نسجي لرحم مجموعة الازالة الكاملة للمبايض العذارى يوضح فيها تأثر طبقات الرحم البطانية (E)العضلية (M) والمحيطية (P) وضمورها وقلة طيات الطبقة الرحمية (⇐) (H&E 40X)



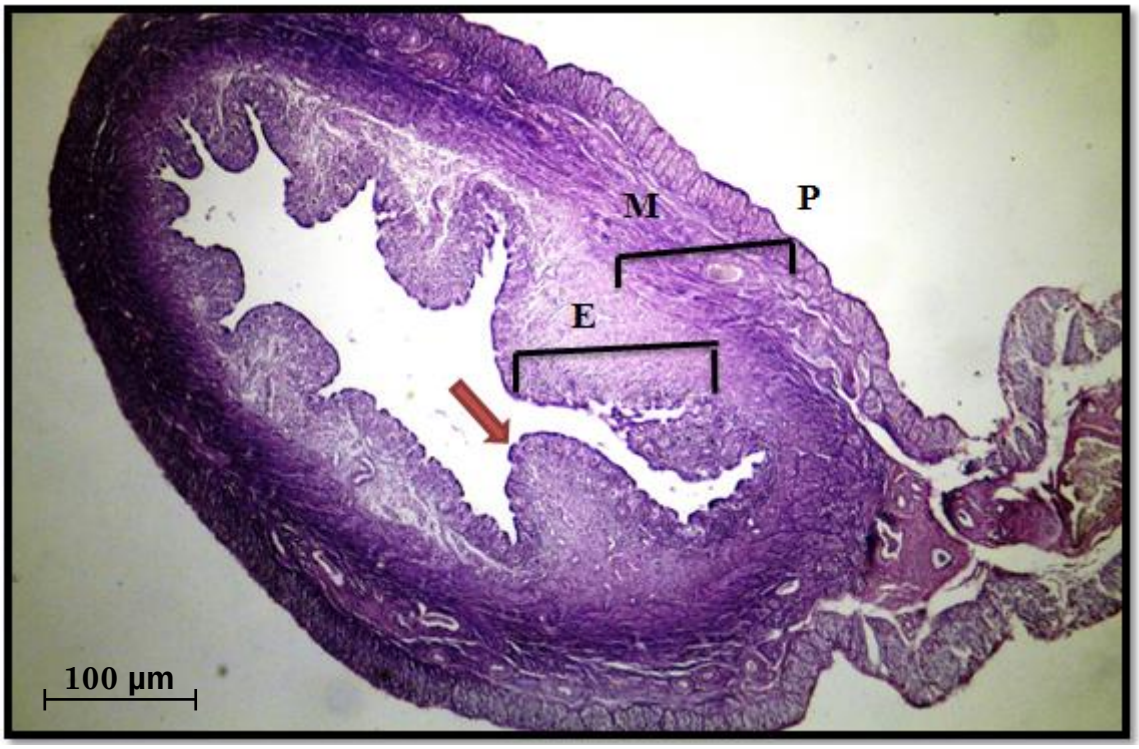
صورة رقم (4-28) مقطع نسجي لرحم مجموعة الازالة الكاملة للمبايض العذارى يوضح عدم وجود الغدد الرحمية مع وجود ارتشاح خلوي عالي (⇐) (H&E 100X)



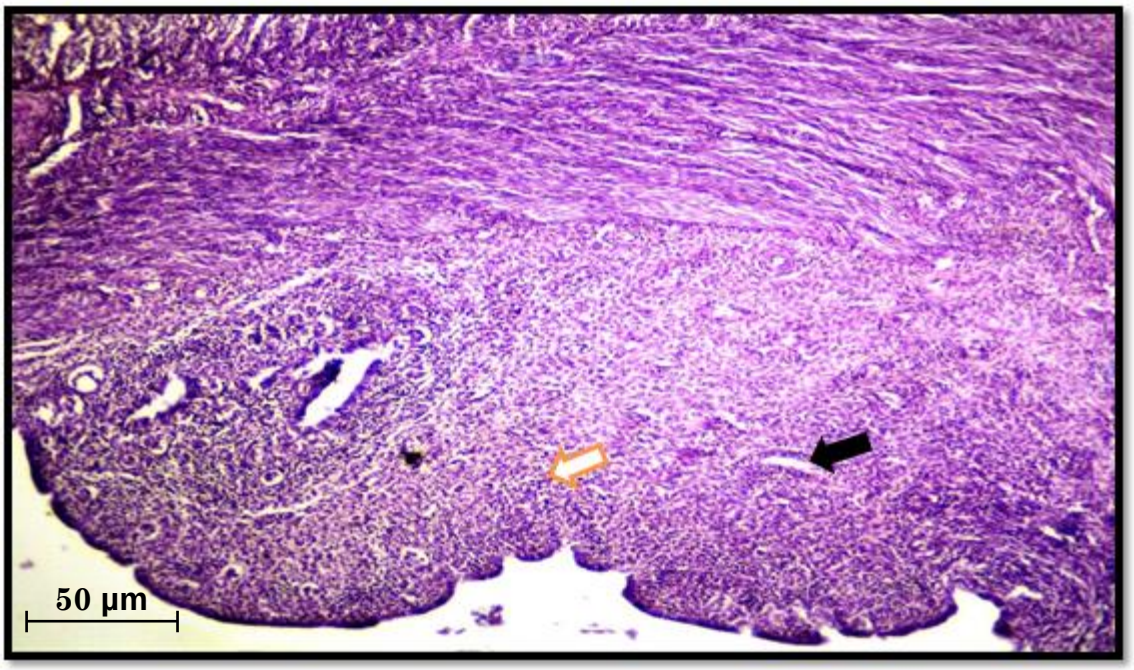
صورة رقم (4-29) مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايمن للعذارى يلاحظ فيها الطبقات الثلاثة للرحم (الطبقة البطانية (E) الطبقة العضلية (M) والطبقة المحيطية (P) اقرب للنسيج الطبيعي مع وجود الطيات الرحمية (⟸) (H&E 40X)



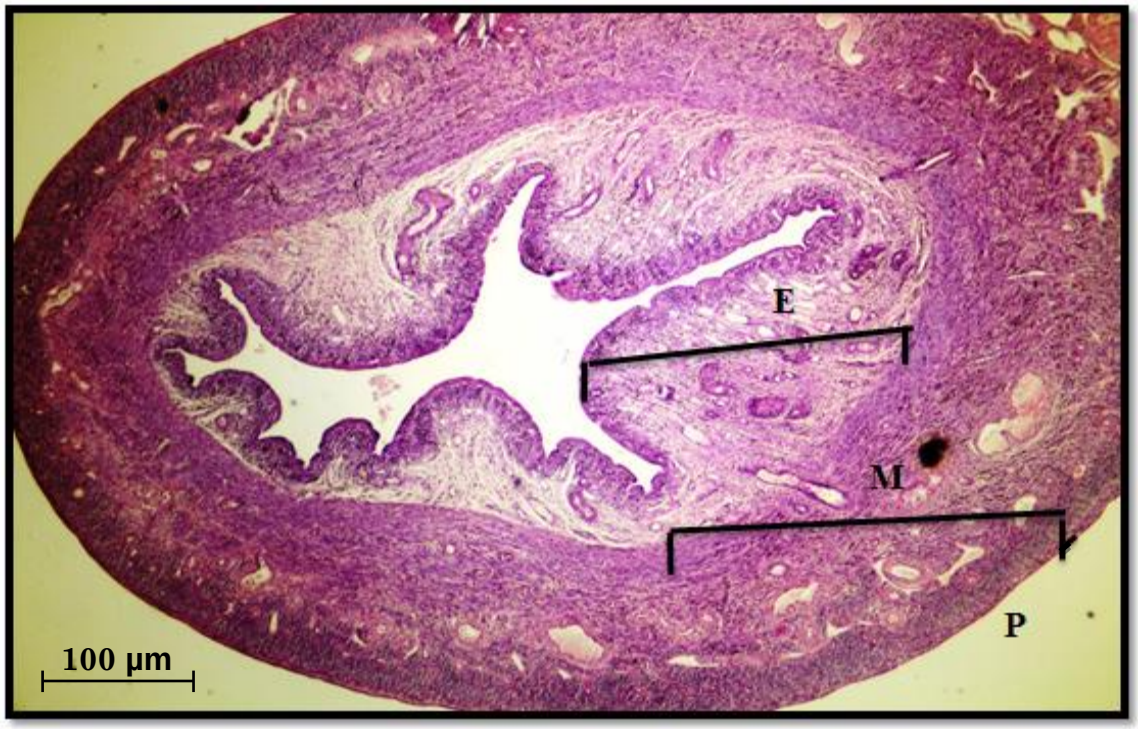
صورة رقم (4-30) مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايمن العذارى وجود الغدد الرحمية في سدى الطبقة البطانية(⟸) مع وجود ارتشاح خلوي (⇦) (H&E 100X)



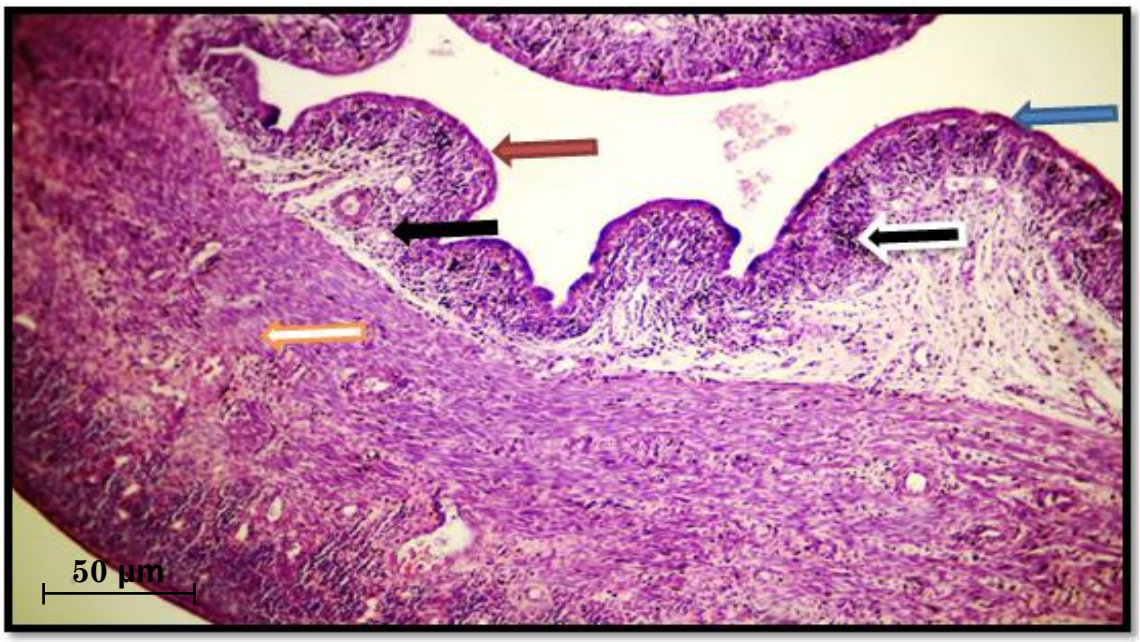
صورة رقم (4-31) مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايسر للعذارى يلاحظ فيها الطبقات الثلاثة للرحم (البطانية (E) العضلية (M) والمحيطية (P))مع وجود الطيات الرحمية (⇦)(H&E 40X)



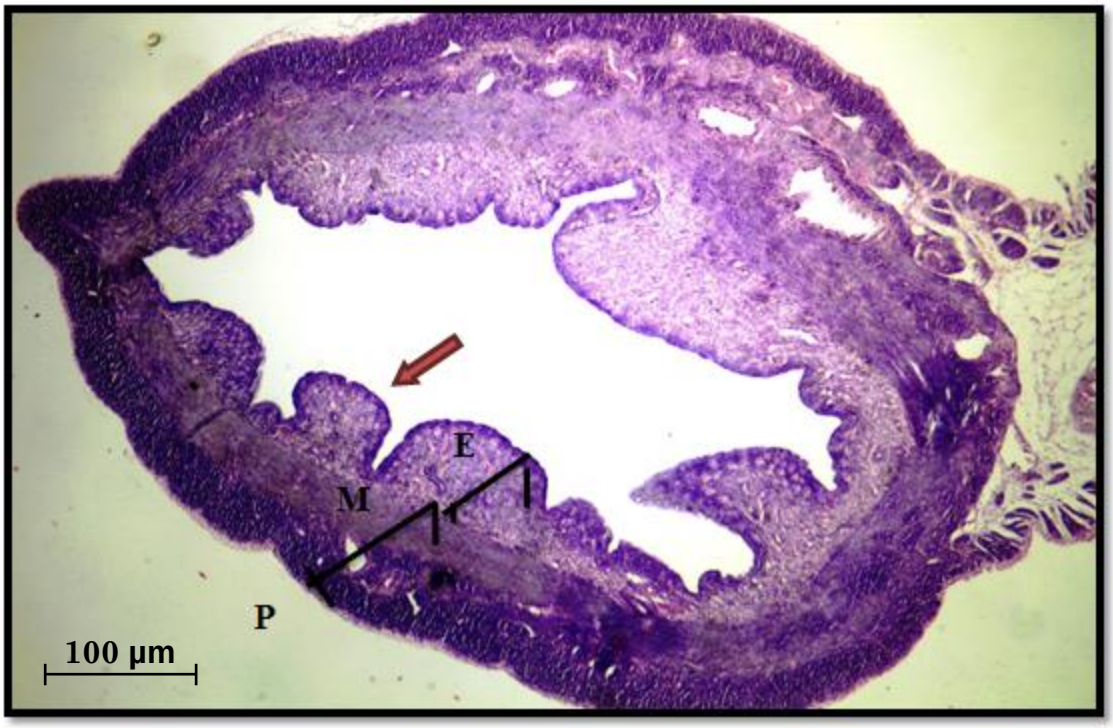
صورة رقم (4-32) مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايسر العذارى وجود ارتشاح خلوي(⇦) مع غدد رحمية في سدى بطانة الرحم (⬅) (H&E 100X)



صورة رقم (4-33) مقطع نسجي لرحم مجموعة السيطرة المرضعات يلاحظ فيها الطبقات الثلاث للرحم (البطانية (E) ، العضلية (M) والمحيطية (P) (H&E 40X)

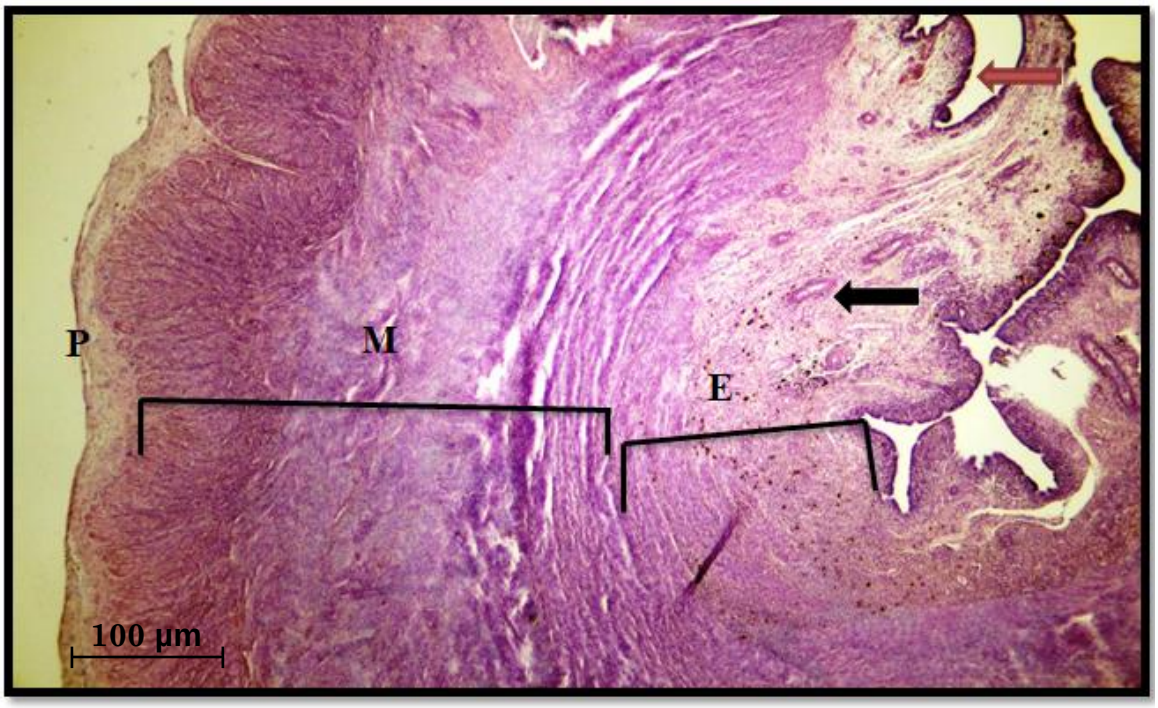


صورة رقم (4-34) مقطع نسجي لرحم مجموعة السيطرة للمرضعات حيث يلاحظ الطية الرحمية ( ) الطبقة الظهارية( ) وبداية تكون الغدد في سدى الطبقة البطانية للرحم ( ) ، كما يلاحظ الطبقة العضلية فيها ( ), والارتشاح الخلوي ( ) (H&E 100X)

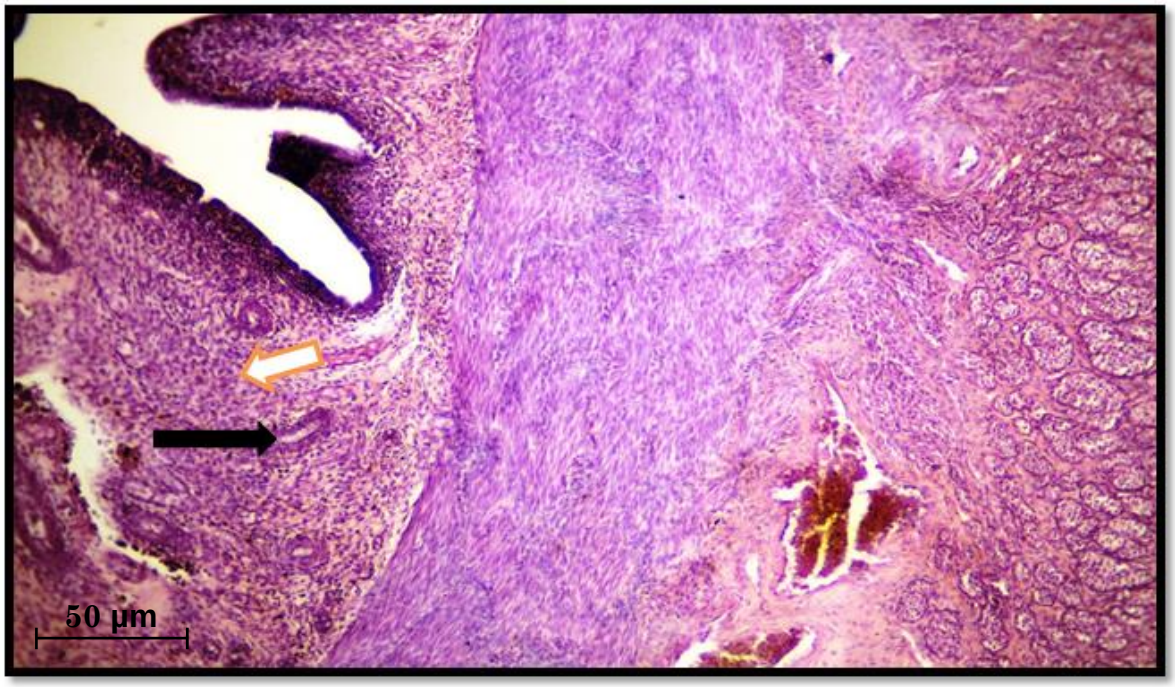


صورة رقم (4-35) مقطع نسجي لرحم مجموعة الازالة الكاملة للمبايض المرضعات يوضح فيها تأثر طبقات الرحم الثلاث البطانية (E) والعضلية (M) والمحيطية (P) وضمورها وقلة طيات الطبقة الرحمية (⟵) (H&E 40X)

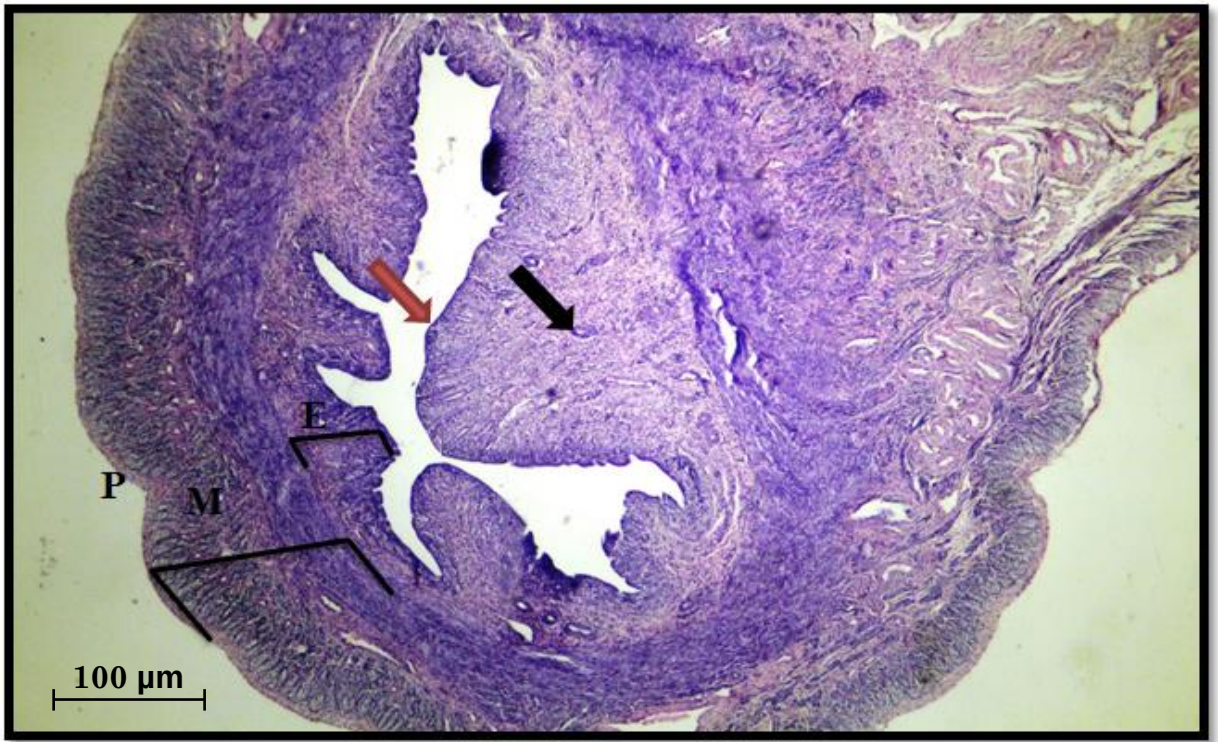
صورة رقم (4-36) مقطع نسجي لرحم مجموعة الازالة الكاملة للمبايض للمرضعات يوضح عدم وجود الغدد الرحمية مع وجود ارتشاح خلوي شديد (⟵) (H&E 100X)



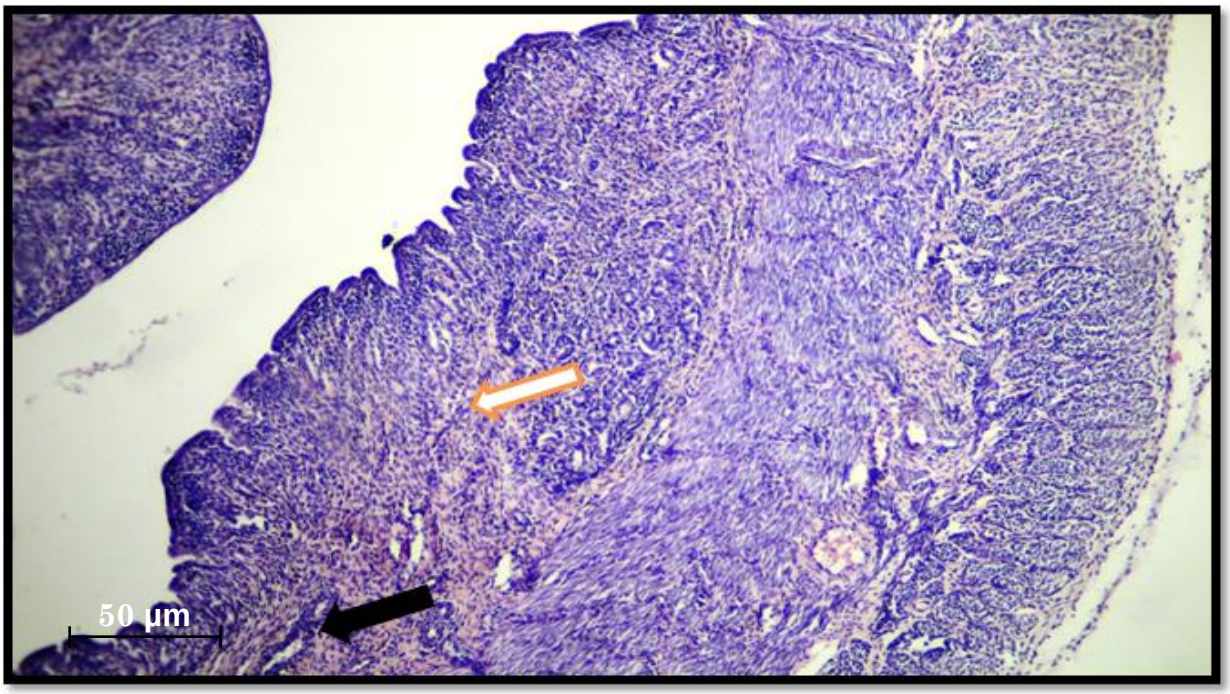
صورة رقم (4-37) مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايمن للمرضعات يلاحظ فيها الطبقات الثلاثة للرحم (الطبقة البطانية (E) الطبقة العضلية (M) والطبقة المحيطية (P) مع وجود الطيات الرحمية (⟵) والغدد الرحمية (⟵) (H&E 40X)



صورة رقم (4-38) مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايمن للمرضعات وجود الغدد الرحمية في سدى الطبقة البطانية(⟵) مع وجود ارتشاح خلوي (⇦) (H&E 100X)



صورة رقم (4-39) مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايسر للمرضعات يلاحظ فيها الطبقات الثلاثة للرحم البطانية (E) العضلية (M) والمحيطية (P))مع وجود الطيات الرحمية (⇦) والغدد الرحمية (⬅)(H&E 40X)



صورة رقم (4-40) مقطع نسجي لرحم مجموعة إزالة المبيض الايسر للمرضعات وجود الغدد الرحمية (⬅) و ارتشاح خلوي (⬅) (H&E 100X).

4-4 الدراسة الكيمو نسجية Histochemical study

4-4-1 صبغة كوموري ثلاثي الألوان لنسيج الرحم Gomori's One-Stap stain Trichrome

أظهرت نتائج صبغة كوموري (العذارى والمرضعات) لنسيج الرحم ما يأتي :

4-4-1-1 مجموعة العذارى Virgin group

اظهرت نتائج المقاطع النسجية لمجموعة السيطرة للعذارى وجود كثافة في الياف الكولاجين في السدى Collagen Fibers في الطبقة الفعالة لبطانية الرحم صورة (4-41) . اما صورة (4-42) لمجموعة الازالة الكاملة للعذارى و يلاحظ فيها قلة كثافة في الياف الكولاجين وقلة الطبقة الفعالة لبطانة الرحم مع ارتشاح خلوي عالٍ.

كما وتظهر الصورة (4-43) لمجموعة إزالة المبيض الأيمن ،وصورة (4-44) لمجموعة أزاله المبيض الأيسر للعذارى فيها كثافة من الياف الكولاجين في السدى ، وغدد رحمية .

4-4-1-2 مجموعة المرضعات Lactating group

في مجموعة السيطرة للمرضعات صورة (4-45) أظهرت المقاطع النسجية فيها كثافة من الياف الكولاجين في السدى والغدد الرحمية مع فعالية الطبقة الفعالة لبطانة الرحم .

إما في نسيج الرحم في مجموعة الإزالة الكاملة صورة (4-46) فهي تبين قلة كثافة الياف الكولاجين لصغر الطبقة البطانية اضافة الى صغر في الطبقة الفعالة لبطانية الرحم ، مع ارتشاح خلوي .

يلاحظ في صورة (4-47) لمقطع نسجي للرحم لمجموعة ازالة المبيض الايمن كثافة في ألياف الكولاجين ،و وجود الغدد الرحمية اضافة الى فعالية الطبقة الفعالة في بطانية الرحم .

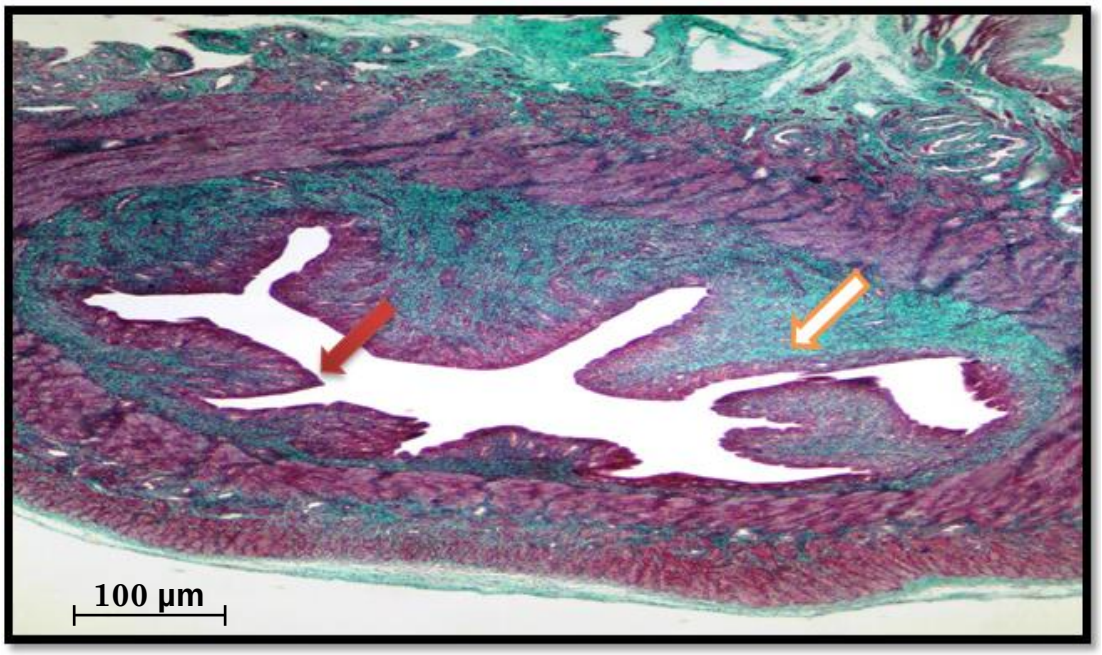
إما في الصورة(4-48) والتي تمثل مجموعة الأرانب المعاملة بإزالة المبيض الايسر للمرضعات فقد أظهرت نتائج المقاطع فيها ايضا كثافة في الياف الكولاجين (السدى) مع غدد رحمية و صغر في الطبقة الفعالة في بطانية الرحم .

يعمل هرموني الاستروجين والبروجستيرون للمحافظة على نسيج القناة التناسلية ، حيث ينظمان نمو وتكاثر والوظيفة الافرازية للخلايا الطلائية للقناة التناسلية وكما هو معروف عندما يكون الرحم تحت تاثير الاستروجين فان تصنيع عوامل النمو تحفز من تطور الاوعية الدموية والتي بالمقابل تحفز الزيادة في استهلاك الاوكسجين وتوفير المغذيات لطبقة البطانية للرحم مما يؤدي الى زيادة في تكاثر الخلوي (Fahey *et al*., 2006 ; Anzaldúa Arce *et al*., 2008).

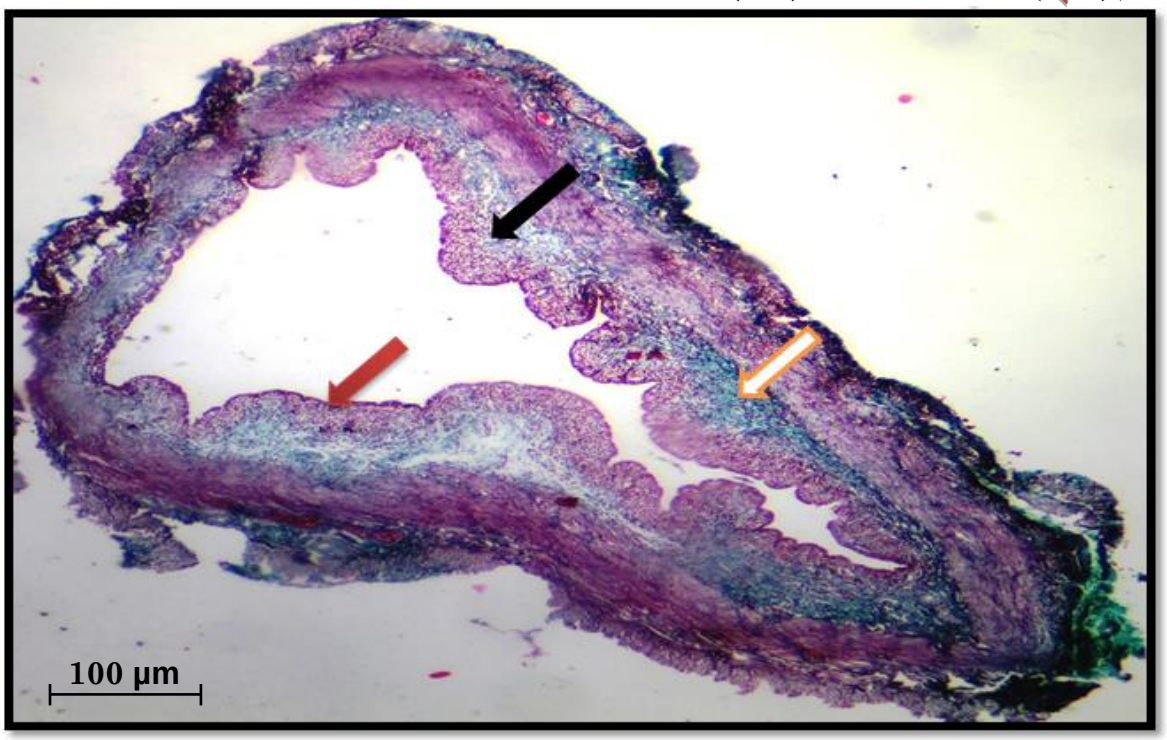
ان الازالة الجزئية للمبيض الايمن او المبيض الايسر للمرضعات تؤدي الى ان تكون الطبقة الفعالة غير نشطة مع كبر منطقة السدى في الطبقة البطانية كون الحيوان في حالة الرضاعة لا يمر بمراحل الشبق (اي انخفاض في نسبة هرمون الاستروجين) والذي يكون مسؤولاً عن نشاط الطبقة الفعالة وهذا مؤشر يدل على دور هرمون الاستروجين في نشاط الطبقة الظهارية للرحم مما يشير الى عدم نشاطها في الازالة الكاملة للمبايض (Ubilla *et al*., 2000).

اذ يعمل هرمون الاستروجين على نمو بطانة لرحم وزيادة كبيرة في تطوير غدده الرحمية اما هرمون البروجستيرون فهو يعمل على زيادة النشاط الافرازي للغدد الرحمية ،كما يلاحظ صغر البطانية بالإزالة للمبيض الايسرعن الايمن كون فعالية المبيض الايسر اعلى من الأيمن في الجرذان (Razi *et al*., 2010).

.

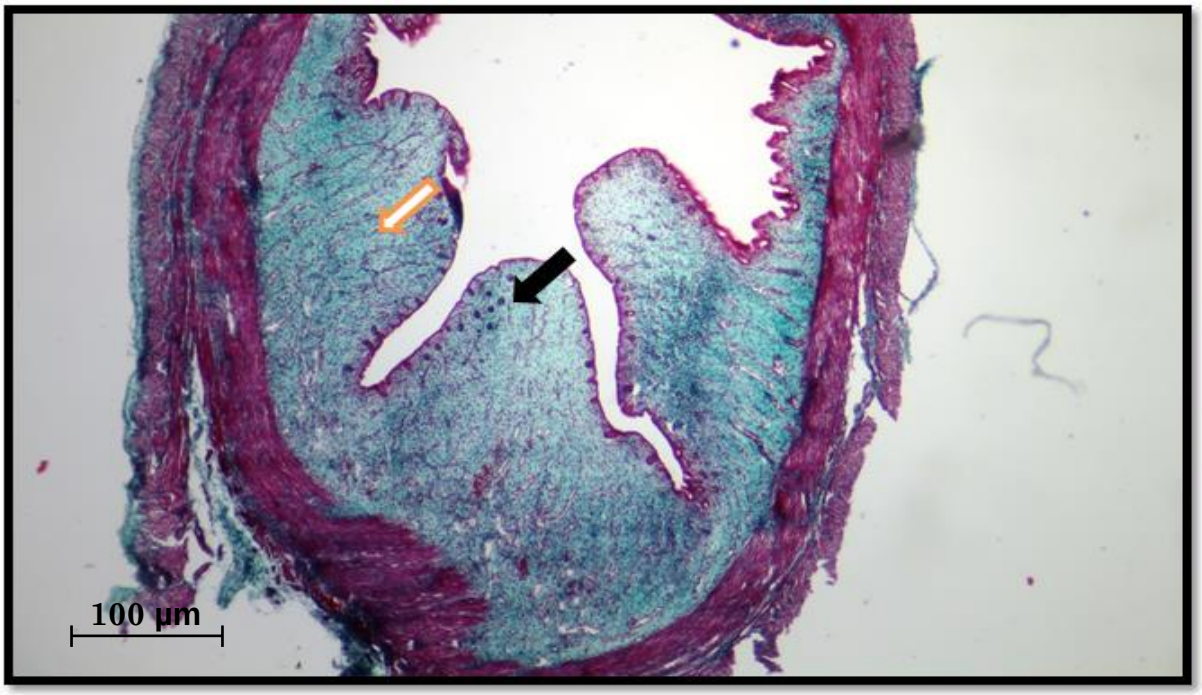


صورة رقم (4-41) مقطع نسجي لمجموعة السيطرة للعذارى يلاحظ فيها الالياف الكولاجين (السدى) (⇦) و الطبقة الفعالة لبطانة الرحم (⬅) لصبغة Trichrome (40X) .

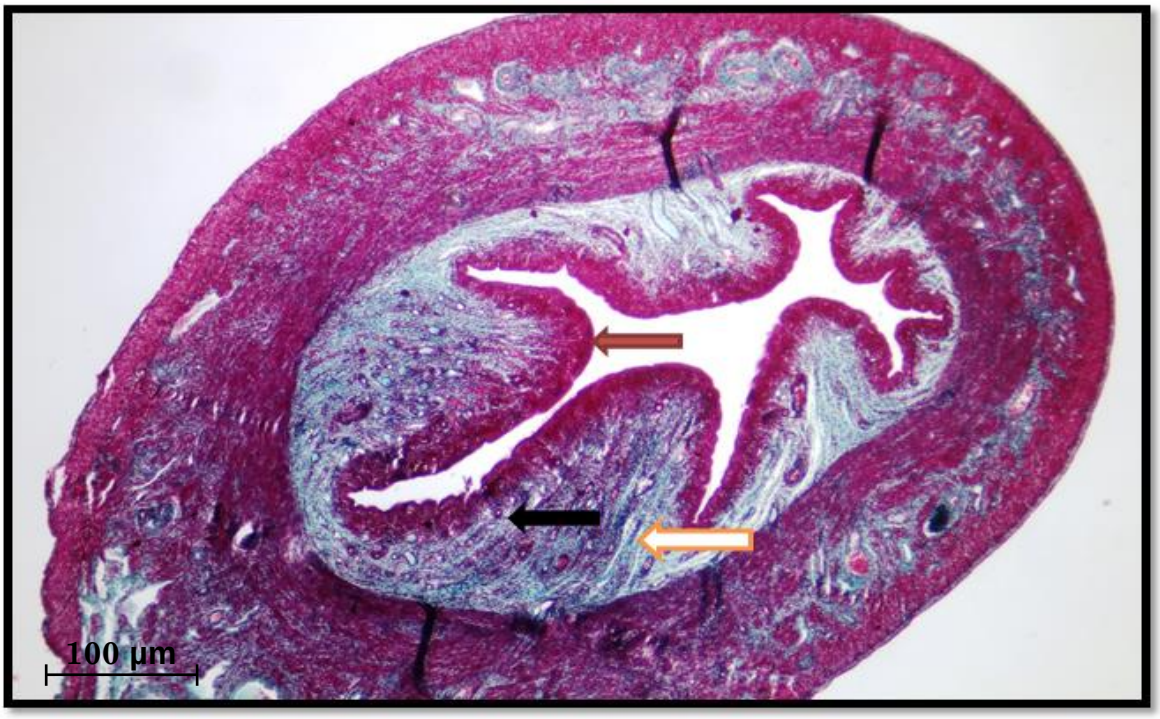


صورة رقم (4-42) مقطع نسجي لمجموعة الازالة الكاملة للعذارى يلاحظ فيها قلة في كثافة الياف الكولاجين (السدى) (⇦) وقلة في الطبقة الفعالة لبطانة الرحم(⬅) (يلاحظ الارتشاح الخلوي) (⬅) لصبغة Trichrome (40X).

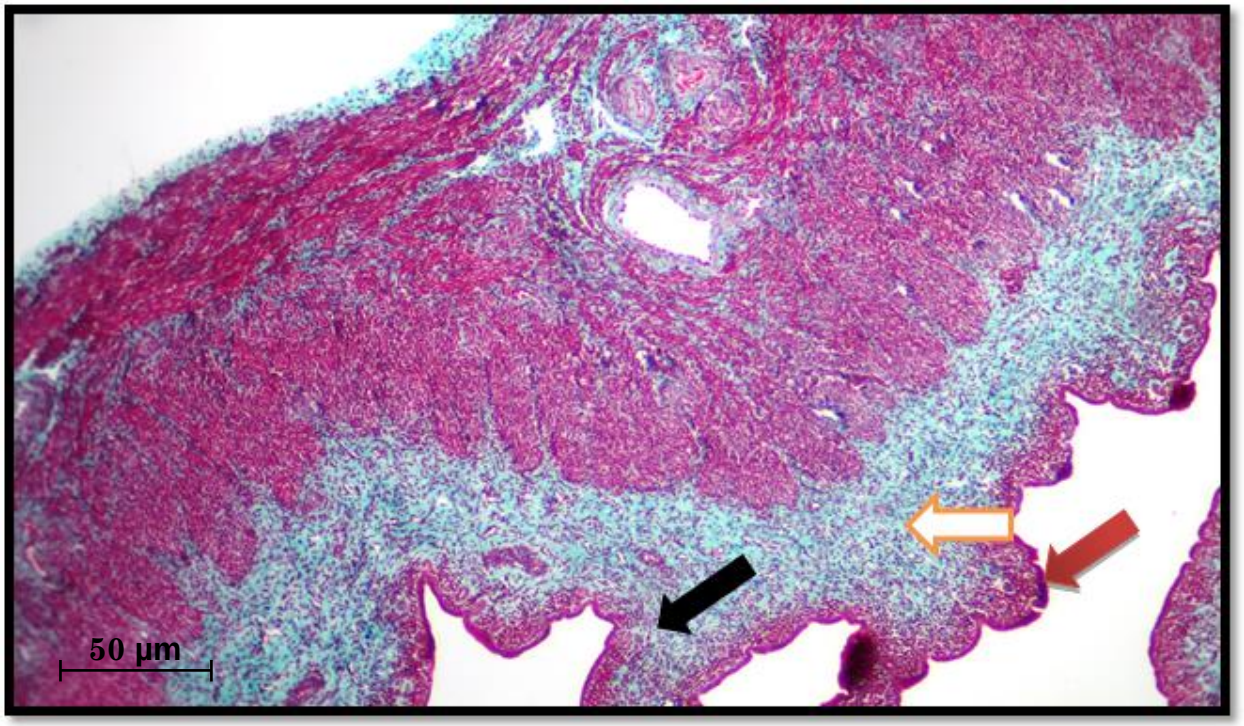
صورة رقم (4-43) مقطع نسجي لمجموعة إزالة المبيض الايمن للعذارى يلاحظ فيها كثافة في الياف الكولاجين (⇦) يلاحظ فيها الغدد الرحمية (⬅) لصبغة Trichrome (40X).



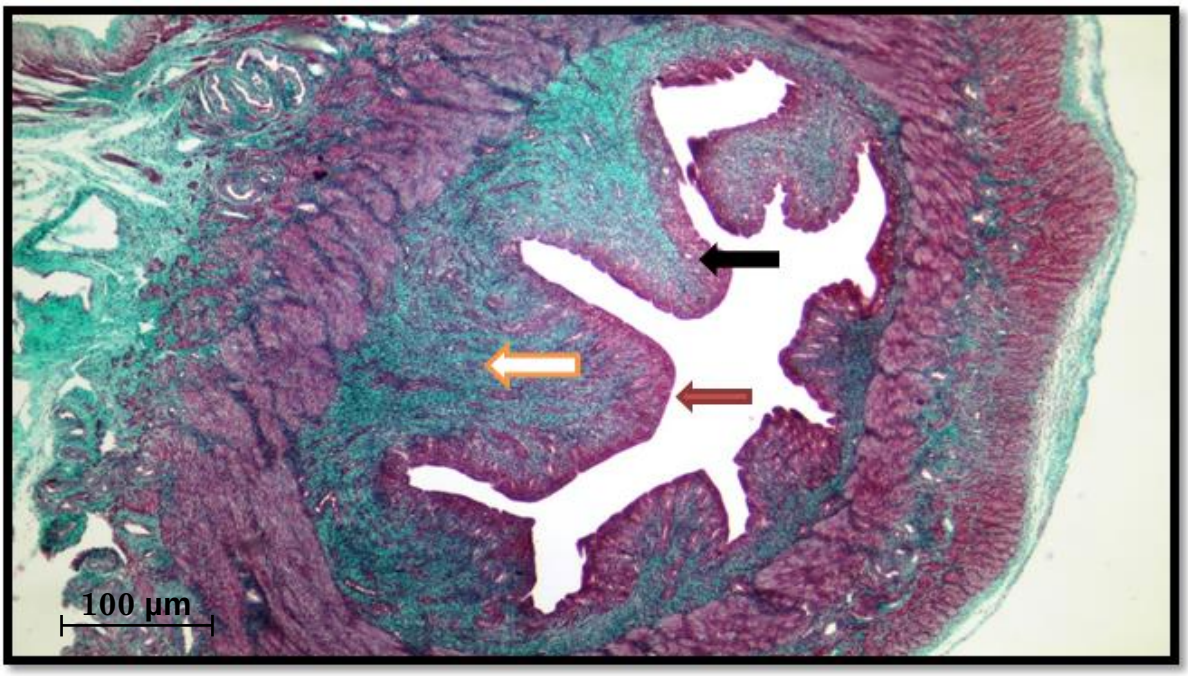
صورة رقم (4-44) مقطع نسجي لمجموعة إزالة المبيض الأيسر للعذارى يلاحظ فيها كثافة من الالياف الكولاجين (⇦) يلاحظ فيها الغدد الرحمية (⬅) لصبغة Trichrome (40X) .



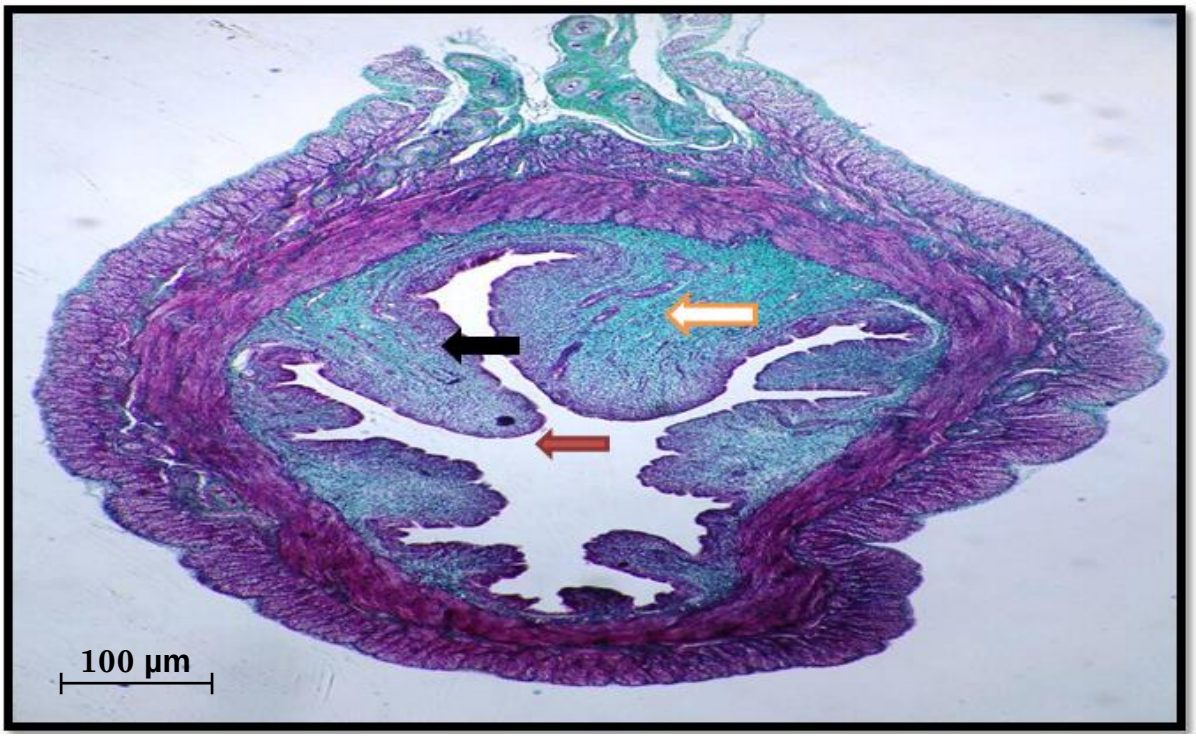
صورة رقم (4-45) مقطع نسجي لمجموعة السيطرة للمرضعات يلاحظ فيها كثافة من الياف الكولاجين (⇦)،كما يلاحظ فيها ا لغدد الرحمية (⬅) و فعالية الطبقة الفعالة في بطانية الرحم (⬅) لصبغة Trichrome (40X) .



صورة رقم (4-46) مقطع نسجي لمجموعة الازالة الكاملة للمرضعات يلاحظ فيها قلة في الالياف الكولاجين(⇦) وصغر في الطبقة الفعالة لبطانية الرحم (⬅) الارتشاح الخلوي (⬅) لصبغة Trichrome (100X) .



صورة رقم (4-47) مقطع نسجي لمجموعة ازالة المبيض الايمن للمرضعات يلاحظ فيها كثافة في الياف الكولاجين (⇦) يلاحظ فيها الغدد الرحمية (⬅)كما يلاحظ فعالية الطبقة الفعالة في طبقة بطانية الرحم (⇦) لصبغة Trichrome (40X)



صورة رقم (4-48) مقطع نسجي لمجموعة ازالة المبيض الايسر للمرضعات يلاحظ فيها كثافة من الالياف الكولاجين (⇦) يلاحظ فيها الغدد الرحمية (⬅) كما يلاحظ صغر الطبقة الفعالة في طبقة بطانية الرحم (⇦) لصبغة Trichrome (40X) .

5-4 القياسات النسجية Histological morphometry

1-5-4 أقطار حويصلات الغدد اللبنية (مايكرون) للارانب

أوضحت نتائج دراسة القياسات النسجية جدول (4-1) حدوث انخفاض معنوي ($p<0.05$) في معدل اقطار الحويصلات للغدد اللبنية في كل من الحيوانات المعاملة بإزالة المبايض الكاملة ومجموعة إزالة المبيض الأيمن ومجموعة إزالة المبيض الأيسر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة للحالات الفسلجية للعذارى والمرضعات وكان متوسط أقطار الحويصلات(20.53 ± 0.21) (36.94 ± 0.51) (26.78 ± 0.21) (50.32 ± 0.33) (75.09 ± 0.16) (60.76 ± 0.54) (48.78 ± 0.31) (120.78 ± 0.55)على التوالي للعذارى والمرضعات ، ففي مجموعة الإزالة الكاملة للعذارى والمرضعات كان الانخفاض معنوياً ($p<0.05$) بالمقارنة مع مجموعتي المعاملة ومجموعة السيطرة ، كما نلاحظ وجود انخفاض ($p<0.05$) معنوي في مجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيسر مقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن .

جدول (4-1) يوضح تأثير إزالة المبايض على قطر الحويصلات لأناث الأرانب للعذارى والمرضعات

المعاملة / الحالة	قطر الحويصلات للسيطرة (مايكرون)	قطر الحويصلات الإزالة الكاملة للمبايض (مايكرون)	قطر الحويصلات إزالة المبيض الأيمن (مايكرون)	قطر الحويصلات إزالة المبيض الأيسر (مايكرون)
العذارى	48.78 A ± 0.31	20.53 D ± 0.21	36.94 B ± 0.51	26.78 C ± 0.21
المرضعات	120.78 A ± 0.55	50.32 D ± 0.33	75.09 B ± 0.16	60.76 C ± 0.54

المعدل ± الخطا القياسي n=6 ,الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه الأفقي تعني وجود فروقات معنوية (P< 0.05).

2-5-4 أعداد حويصلات الغدد اللبنية

أظهرت نتائج الجدول (4-2) للحالات الفسلجية للعذارى والمرضعات الى وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) في أعداد الحويصلات للغدد اللبنية لمجموعة المعاملة بإزالة المبايض الكاملة ومجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيمن ومجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيسر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة للعذارى و المرضعات (9.36 ± 0.11) (16.83 ± 0.12) (12.07 ± 0.11) (16.82 ± 0.16) (25.69 ± 0.21) (20.75 ± 0.14) (23.85 ± 0.10) (36.82 ± 0.31) على التوالي ، كما بينت النتائج ان هناك انخفاضاً معنوياً ($p<0.05$) في مجموعة المعاملة بالإزالة الكاملة (9.36 ± 0.11) (16.87 ± 0.16) للعذارى والمرضعات على التوالي مقارنة مع مجموعتي الإزالة للمبيض الأيمن والأيسر،و بينت النتائج وجود انخفاض معنوي($p<0.05$) في مجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيسر للعذارى والمرضعات بالمقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن .

جدول(4-2)يوضح تأثير إزالة المبايض على أعداد الحويصلات (ملم^2) لأناث الأرانب للعذارى والمرضعات

المعاملة / الحالة	عدد الحويصلات السيطرة	عدد الحويصلات إزالة كاملة للمبايض	عدد الحويصلات إزالة المبيض الأيمن	عد الحويصلات إزالة المبيض الأيسر
العذارى	23.85 A ± 0.10	9.36 D ± 0.11	16.83 B ± 0.12	12.07 C ± 0.11
المرضعات	36.82 A ± 0.31	16.87 D ± 0.16	25.69 B ± 0.21	20.75 C ± 0.14

المعدل ± الخطا القياسي n=6 الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه الأفقي تدل على وجود فروقات معنوية ($P< 0.05$).

لوحظ الانخفاض الحاصل في القياسات النسجية لمجاميع المعاملة وللحالات الفسلجية العذارى والمرضعات والمتمثلة بصغر قطر الحويصلات للغدد اللبنية وأعدادها ، كما ذكر في المناقشة السابقة ان عملية استئصال المبايض تودي الى صغر حجم الفصيصات وكذلك كثرة الحويصلات غير الفعالة وقلة عدد الحويصلات وصغر اقطارها وكثرة السدى نتيجة لانخفاض هرموني الاستروجين والبروجستيرون لان

المبيض يعد المصدر الرئيس لافرازها اذ يعمل البروجستيرون مع الاستروجين على نمو لفصيصات وتبرعم الحويصلات(Pompei *et al.*,2005) ،اذ إن هرمون الاستروجين مسوول عن عملية استطالة قنوات الحليب للغدد اللبنية وتمدد نمو النظام القنوي في مرحلة البلوغ اما البروجستيرون والبرولاكتين مسؤولان عن النمو الفصيصي -الحويصلي (Holland and Roy 1995 ;Brisken and O' Malley, 2010) .

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Berry *et al.*,(2003) إذ لاحظوا ان عملية إزالة المبايض في العجول تودي الى انخفاض في تركيز هرمون الاستروجين وبالتالي يودي الى صغر حجم الفصيصات وقلة عدد الحويصلات وتكون الغدة اللبنية غير متطورة ، وأيضا مع دراسة الباحثان (Tad-Urai and Sookvanichsilp,2007) إذ اشارو إلى انخفاض عدد الفصيصات وقلة عدد الحويصلات في الغدة اللبنية في الجرذان مزالة المبايض.

3-5-4 قياس سمك طبقات الرحم وبطانته للعذارى والمرضعات

أوضحت نتائج القياسات النسجية للرحم الجدول (4 – 3) للعذارى والمرضعات الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدلات سمك طبقات الرحم لمجموعة المعاملة بإزالة المبايض الكاملة (492.00 ± 2.81) (547.15±3.03) ومجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيمن (671.73 ± 4.33) (835.95 ± 2.96) ومجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيسر (568.45 ± 3.47) (741.73 ± 2.51) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة للعذارى والمرضعات(890.32 ± 2.72) (997.28± 2.53) على التوالي ، اما بالنسبة لمجموعة الإزالة الكاملة فقد كان الانخفاض فيها معنوي ($p<0.05$) مقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن وإزالة المبيض الأيسر ، كما لوحظ وجود انخفاض ($p<0.05$) معنوي في مجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيسر مقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن.

كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية للعذارى والمرضعات الى وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) في معدل سمك بطانة الرحم لمجموعة المعاملة بإزالة المبايض الكاملة (217.72 ± 1.16) (194.78 ± 10.68) ومجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيمن(321.11 ± 2.33)(406.72 ± 12.7) ومجموعة إزالة المبيض الأيسر(272.06 ± 2.40) (287.00 ± 11.67) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (466.28±4.51) و (555.11±17.46) للعذارى والمرضعات على التوالي ، و بينت النتائج ان هناك انخفاضاً معنوياً ($p<0.05$) في مجموعة المعاملة بإزالة المبايض الكاملة مقارنة مع مجموعتي الإزالة

للمبيض الأيمن والأيسر، و بينت النتائج وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) في مجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيسر بالمقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن جدول (4-4) .

جدول (4-3) يوضح تأثير إزالة المبايض على سمك طبقات الرحم لأناث الأرانب للعذارى والمرضعات

المعاملة / الحالة	سمك طبقات الرحم للسيطرة (مايكرون)	سمك طبقات الرحم ازالة كاملة للمبايض (مايكرون)	سمك طبقات الرحم إزالة مبيض ايمن (مايكرون)	سمك طبقات الرحم ازالة مبيض الايسر(مايكرون)
العذارى	890.32 A ± 2.72	492.00 D ± 2.81	671.73 B ± 4.33	568.45 C ± 3.47
المرضعات	997.28 A ± 2.53	547.15 D ± 3.03	835.95 B ± 2.96	741.73 C ± 2.51

المعدل ± الخطأ القياسي n=6. الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه الأفقي تعني وجود فروقات معنوية ($P< 0.05$).

جدول (4-4) يوضح تأثير إزالة المبايض على سمك بطانة الرحم لأناث الأرانب للعذارى والمرضعات

المعاملة / الحالة	معدل سمك بطانة الرحم للسيطرة (مايكرون)	معدل سمك بطانة الرحم إزالة كاملة للمبايض (مايكرون)	معدل سمك بطانة الرحم إزالة مبيض أيمن (مايكرون)	معدل سمك بطانة الرحم إزالة مبيض أيسر (مايكرون)
العذارى	466.28 A ± 4.51	217.72 D ±1.16	321.11 B ±2.33	272.06 C ±2.40
المرضعات	555.11 A ±17.46	194.78 D ±10.68	406.72 B ±12.7	287.00 C ±11.67

المعدل ± الخطا القياسيn=6. الحروف المختلفة بالاتجاه الافقي تعني وجود فروقات معنوية ($P<0.05$) .

اتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة(Razi *et al*, 2010)(Fatemeh *et al*.,2008) و (Saruhan *et al*., 2006) اذ اشارو الى ان عملية استئصال المبايض للحيوانات تودي الى قلة سمك جدار الرحم بسبب قلة سمك الطبقات الثلاث وانخفاض في حجم بطانة الرحم نتيجة قلة هرمون الاستروجين المنتج ، حيث ان الاستروجين يودي الى تضخم في انسجة الرحم .

ان تطور وظائف الجهاز الانثوي يعتمد على توازن وتركيز الهرمونات فيه ،حيث ان الاستروجين يوثر في نسيج الرحم ، ان النسيج الطلائي للرحم والطبقة العضلية تتطور تحت تاثير هرمون الاستروجين والذي يؤدي الى سمك في بطانة الرحم (Weihua *et al*,2003) .و يلاحظ ان الطبقة البطانية للرحم تبدا بالتكاثر في مرحلة الجريبات تحت تاثير هرمون الاستروجين والافراز في مرحلة الجسم الاصفر تحت تاثير هرمون البروجستيرون ، ففي مرحلة التكاثر تزداد البطانية بالسمك نتيجة للانقسام الخلوي لخلايا البطانية ، اما في المرحلة الافرازية تصل البطانة الى اقصى حد من السمك وتبدا الغدد الرحمية بافراز Histotrophe (Döcke, 1994; Espejel and Medrano , 2017**)**.

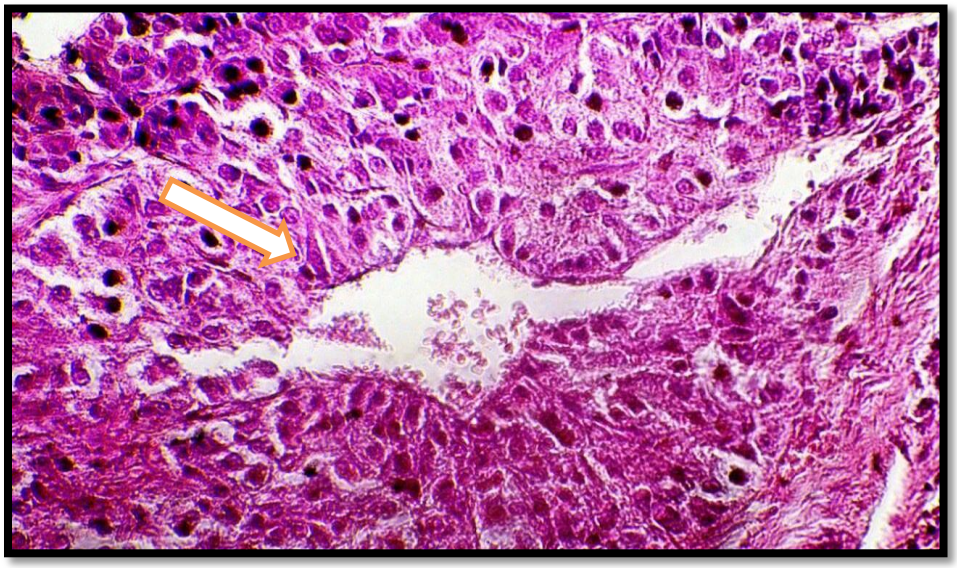
كذلك اتفقت هذه النتائج مع نتائج دراسة (Lee *et al* ., 2004) اذ اشارو الى انخفاض وزن الرحم في الجرذان بعد استئصال المبايض ولاحظو ضمورا في الطبقات العضلية وقلة سمك بطانة الرحم بسبب انخفاض تركيز هرمون الاستروجين . وايضا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة كل من الباحثان Ünsal and Sönmez (2014) اذ لاحظو ان عملية استئصال المبايض في الجرذان تودي الى انخفاض في حجم بطانة الرحم ونقصان كمية النسيج الضام مما يودي الى حدوث تغيير في سمك الرحم (Galigioni, 2009).

اشارت دراسة Youshino *et al.*, (1980) في الارانب البالغة الى انخفاض في سمك طبقات الرحم وقطر الرحم نتيجة انخفاض في تركيز هرمون الاستروجين في الحيوانات مزالة المبايض ، اما دراسة Al-Dahhan , (2015) فقد اشارت الى ان القياسات النسجية في الارانب المزالة المبايض للطبقات الثلاث ادت الى انخفاض في معدل سمك الطيات والصفيحة الاصلية Lamina properia وسمك الطبقة العضلية وكذلك انخفاض في ارتفاع خلايا النسيج الطلائي .

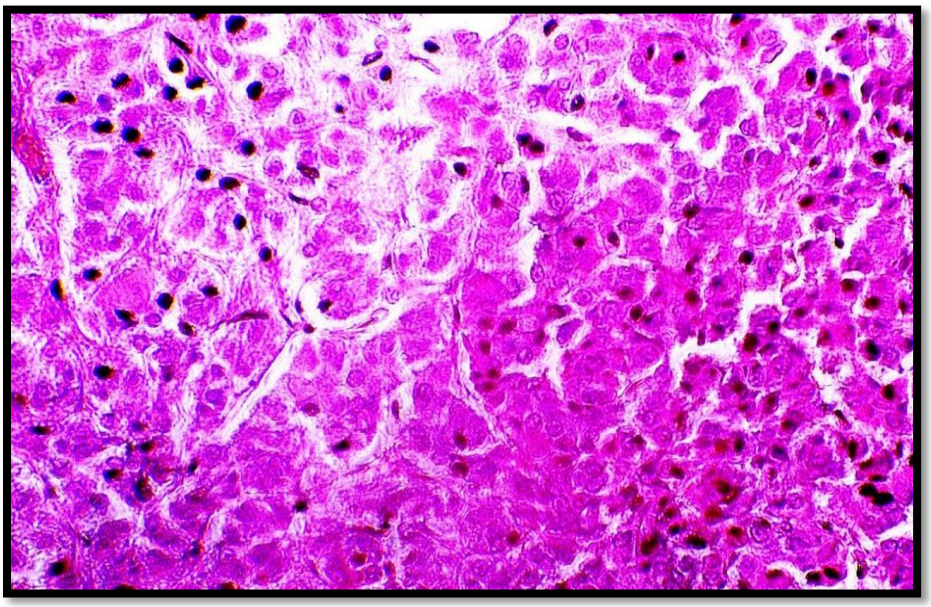
6-4 تأثير إزالة المبايض الثنائية والأحادية على نسيج الغدة النخامية للعذارى والمرضعات في الأرانب المحلية

1-6-4 صبغة الهيماتوكسلين والايوسين Haematoxylin and Eosin staining

تظهر نتائج صبغة الهيماتوكسلين والايوسين ان معاملة الحيوانات بإزالة المبايض الاحادية والثنائية للعذارى و المرضعات سواء كانت ازالة كاملة او جزئية لم تؤدي الى تغيرات نسجية مرضية واضحة في نسيج الغدة النخامية صورة (4-50) مقارنة مع السيطرة (4-49)، كما ان نسيج كان متشابها قي المرضعات و العذارى لكل المجاميع المعاملة.



صورة رقم (4-49) لمقطع من نسيج الفص الامامي للغدة النخامية لمجموعة السيطرة (Sham) ، يلاحظ النسيج الطبيعي للفص مع وجود وعاء دموي (⇦) (H&E 100X)



صورة رقم (4-50) لمقطع من نسيج الفص الامامي للغدة النخامية لأحدى المجاميع المعاملة ، يلاحظ النسيج الطبيعي للفص (H&E 100X)

اشارت دراسة (Greaves, 2007) بأن خلايا الفص الامامي للغدة النخامية تزداد بالحجم والعدد بعد عدة ايام من الاضطراب الهرموني الذي يأتي بعد الأزالة الكاملة للعضو المتأثر بهرمونات تلك الخلايا دون حصول اي تغيرات نسجية مرضية .

كما اشار (Ristić *et al.*,2017) أنه عند ازالة المبايض في اناث الجرذان يحصل تغيير في تمايز خلايا افراز الحليب (mammotrophs) وتحولها الى خلايا المناسل (gonadotropic cells) والذي اكد هذه النتيجة حصول انخفاض في مستوى هرمون برولاكتين بعد ازالة المبايض، كما ان وزن الغدة النخامية لم يتغير بعد ازالة المبايض مما يشير الى زيادة في عدد خلايا المناسل بعد تحول تمايز الخلايا الفارزة للحليب اليها (Childs, 1991) .

7-4 الدراسة الكيميائية النسجية المناعية Immunohistochemical study

1-7-4 مستقبلات الاستروجين والبروجستيرون في الغدد اللبنية والرحم لمجاميع العذارى والمرضعات

يوضح الجدول (4-5) تأثير ازالة المبايض الكامل والجزئي للمبيض الأيمن والأيسر على التعبير عن مستقبلات الاستروجين والبروجستيرون في كلٍ من الغدد اللبنية والرحم لإناث الارانب العذارى و المرضعات ، فعند المقارنة مع السيطرة (sham) ألذي اظهر تعبيراً قوياً (+++) لمستقبلي الاستروجين والبروجستيرون في نسيج الغدد اللبنية ونسيج الرحم للعذارى ومتوسط (++) لهما في نسيج الرحم للمرضعات .

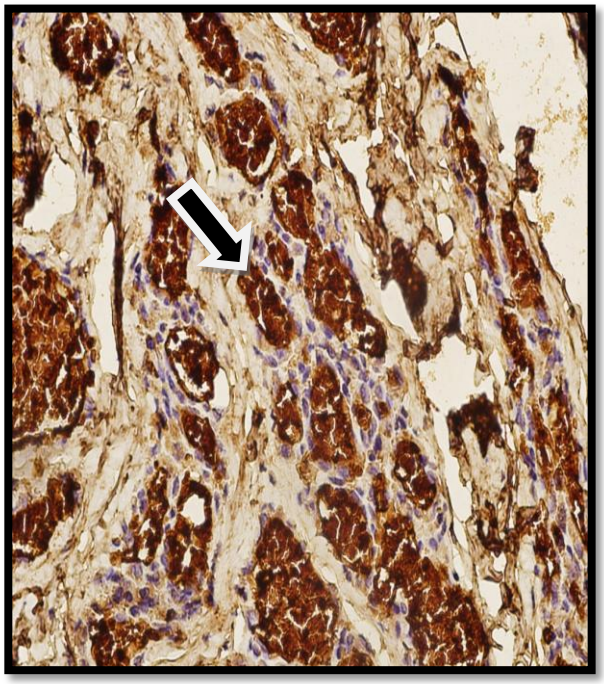
يلاحظ عند الازالة الكاملة للمبيضين قلة التعبير عن مستقبلي الاستروجين والبروجستيرون في كلٍ من نسيجي الغدة اللبنية والرحم للعذارى والمرضعات حيث كان تعبير مستقبل الاستروجين في الغدة اللبنية للعذارى والمرضعات ضعيفاً (+) بينما لم يظهر اي تعبير له في نسيج الرحم ، والنتيجة نفسها ظهرت بالنسبة لمستقبل البروجستيرون ماعدا ظهوره بتعبير ضعيف (+) في نسيج رحم المرضعات .

بينما ظهر تعبير مستقبلي الاستروجين والبروجستيرون قوياً (+++)في نسيج الغدد اللبنية للعذارى والمرضعات ومتوسطاً وضعيفاً (++ ، +) في نسيج الرحم للعذارى والمرضعات على التوالي عند ازالة المبيض الايمن .اما عند ازالة المبيض الايسر فقد لوحظ تعبير متوسط (++) لمستقبلي الاستروجين والبروجستيرون في نسيج الغدد اللبنية وتعبير ضعيف (+) لمستقبلي الاستروجين و البروجستيرون في نسيج الرحم للعذارى والمرضعات.

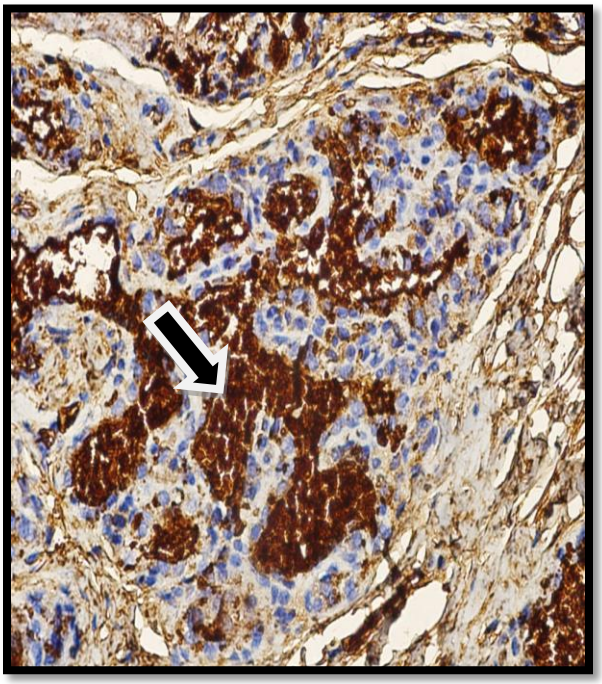
جدول(4-5) يوضح تأثير ازالة المبايض على مستوى التعبير عن مستقبلات الاستروجين والبروجستيرون في الغدة اللبنية والرحم لإناث الارانب العذارى والمرضعات

الحالة الفسلجية / المجاميع	العذارى				المرضعات			
	مستقبلات الاستروجين		**مستقبلات البروجستيرون**		**مستقبلات الاستروجين**		**مستقبلات البروجستيرون**	
	الغدد اللبنية	**الرحم**	**الغدد اللبنية**	**الرحم**	**الغدد اللبنية**	**الرحم**	**الغدد اللبنية**	**الرحم**
السيطرة (Sham)	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
ازالة كاملة للمبيضين	+	-	+	-	+	-	+	+
ازالة المبيض الايمن	+++	++	+++	++	+++	+	+++	+
ازالة المبيض الايسر	++	+	++	+	++	+	++	+

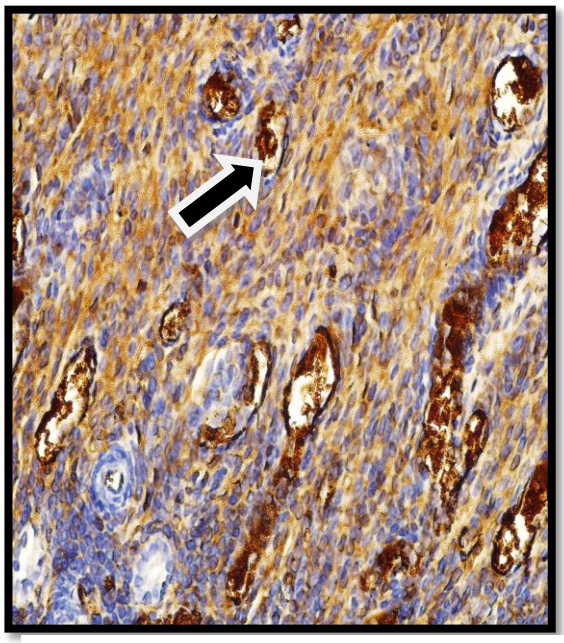
كما تظهر صور (4-51) و(4-52) التعبير الموجب لمستقبلي البروجستيرون والاستروجين في نسيج الغدد اللبنية على التوالي ، اما صور (4-53) و(4-54) فتظهر التعبير الموجب لمستقبلي البروجستيرون والاستروجين وصور (4-55) و(4-56) التعبير السالب للمستقبلين في نسيج الرحم على التوالي



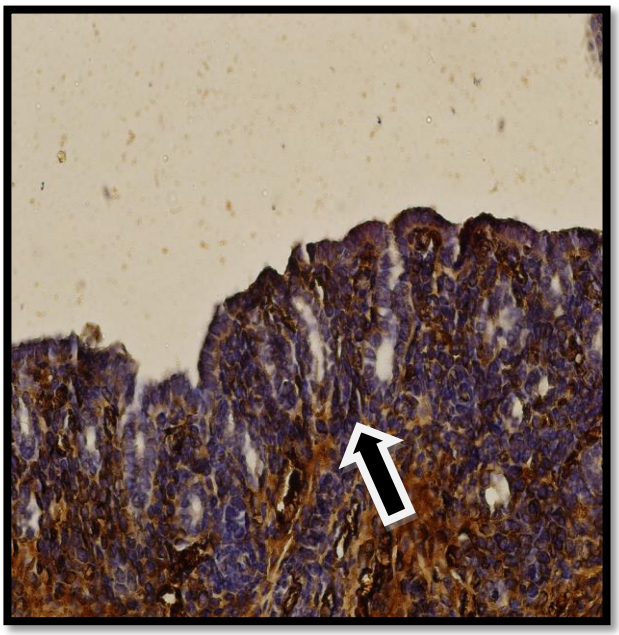
صورة رقم (4-51) مقطع نسجي لغدة لبينية لأنثى أرنب يوضح التعبير الموجب لمستقبل البروجستيرون (←) (400X)



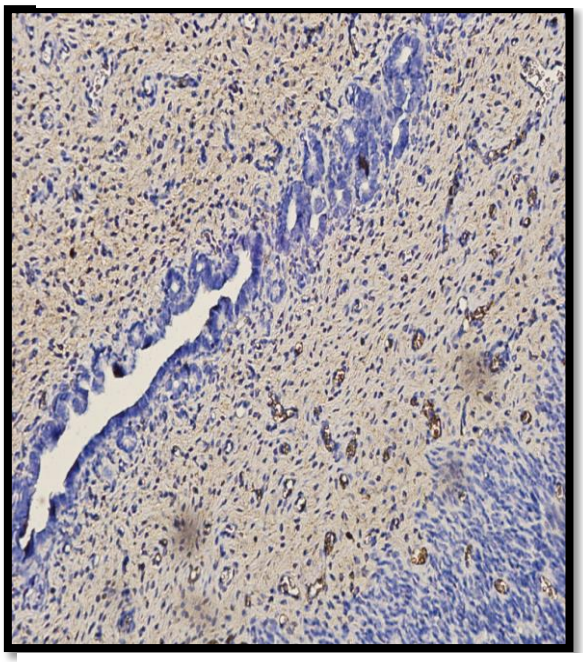
صورة رقم (4-52) مقطع نسجي لغدة لبينية لأنثى أرنب يوضح التعبير الموجب لمستقبل الاستروجين (←) (400X)



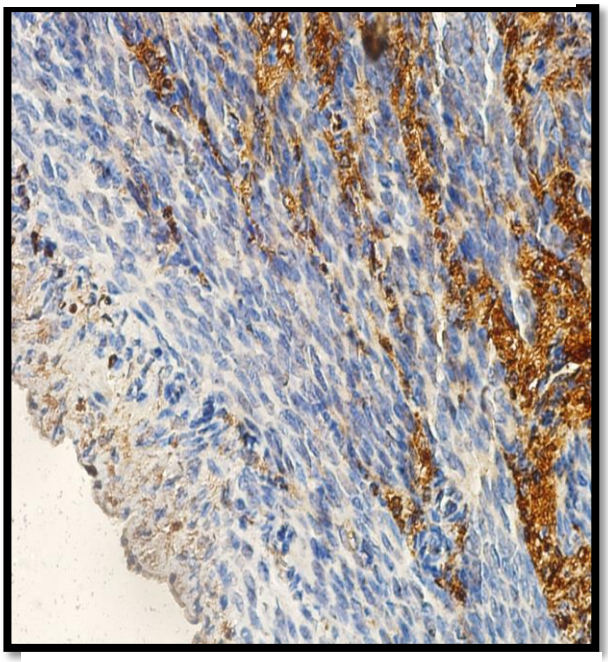
صورة رقم (4-53) مقطع نسجي لرحم انثى ارنب يوضح التعبير الموجب لمستقبل البروجستيرون (⬅) (400X)



صورة رقم (4-54) مقطع نسجي لرحم انثى ارنب يوضح التعبير الموجب لمستقبل الاستروجين(⬅) (400X)



صورة رقم (4-55) مقطع نسجي لرحم انثى ارنب يوضح التعبير السالب لمستقبل البروجستيرون (100X)



صورة رقم (4-56) مقطع نسجي لرحم انثى ارنب يوضح التعبير السالب لمستقبل الاستروجين (100X)

يظهر من النتائج السابقه انخفاض في إعداد الخلايا المعبرة عن مستقبلي الاستروجين والبروجستيرون في حالة الإزالة الكاملة في كل من نسيجي الغدد اللبنية والرحم بالمقارنة مع الإزالة الجزئية لأحدى المبيضين والسيطرة جدول (4-5)، وقد اتفقت هذه النتائج مع نتائج الدراسات (Dessauge *et al*.,(2009 على إناث الماعز عند مرحلة ما قبل البلوغ و دراستي (Homeida *et al* .,(2010 في رحم إناث الإبل ، (Blesson *et al*,.(2012 وفي رحم إناث الجرذان .

كما هو معروف فان الاستروجين والبروجستيرون من الهرمونات الأستيرودية والتي تكون محبة للدهون ، مما يسمح لها الدخول عبر الغشاء البلازمي للخلية والغشاء النووي بعملية الانتشار في النواة تقابل هذه الهرمونات بروتينات تعرف بالمستقبلات والتي لها ميل وخصوصية عالية للارتباط فيها.، يرتبط هرمون الاستروجين بنوعين من المستقبلات (مستقبل الاستروجين الفا وبيتا) ;Kumar *et al*., 1987) Enmark *et al*., 1997). ، يختلف كلا المستقبلين في انتشارهما في نسيج كل من الغدد اللبنية والرحم مما يؤدي الى اختلاف تأثيرهما في النسيج .و تشير نتائج احدى الدراسات بان مستقبل الاستروجين بيتا له تأثير مضاد لمستقبل الاستروجين الفا (Hall and McDonnell , 1999).

يمتلك البروجستيرون مستقبلين ، مستقبل A و B ،ويعتقد أن المستقبل B هو مستقبل منشط بينما A فهو خامد لنشاط B .(Vegeto *et al*.,1993) . لذا فان المستقبل B يعمل على تنشيط تطور نمو الغدة اللبنية من خلال ارتباطه بهرمون البروجستيرون (Conneely *et al*., 2002)

اشارت الدراسة الى ان التعبير عن مستقبل الاستروجين في نسيج الغدد اللبنية يبدا قبل البلوغ بعيدا عن تأثير الهرمونات الاستيرودية حيث تحدث تفرعات للقنوات الاولية (Brisken and O'Malley , 2010).لذا قد يعود اليه سبب وجود التعبير الضعيف عن مستقبل الاستروجين في نسيج الغدد اللبنية للعذارى في الدراسة الحالية ، ففي دراسة (Berry *et al*.,(2003 اشار الى ان عملية ازالة المبايض في اناث الابقار عند مرحلة ما قبل البلوغ تزيد في تعبير مستقبل الفا والذي يتواجد بنسبة قليلة في الخلايا الظهارية ولايوجد في الخلايا السدى ،وقد يفسر هذا الى ان زيادة تعبير خلايا لمستقبل الاستروجين الفا يعود الى فقدان التغذية الراجعة السلبية نتيجة لانخفاض في مستوى هرمون الاستروجين، وهذا ما يفسر وجود تعبير ضعيف (+) لمستقبل الاستروجين في نسيج الغدد اللبنية للعذارى و المرضعات للدراسة الحالية .

تشير نتائج الدراسات الى أن الاستروجين ومستقبله الفا له تأثير على تطور نسيج الغدد اللبنية منها دراسة (Dessauge *et al*.,2009) .كما لوحظ بان انتشار مستقبل بيتا اقل انتشارا من الفا في نسيج الغدد

اللبنية (Berry *et al.*, 2003). لذا فان اي اضطراب في التعبير عن مستقبل الاستروجين الفا يؤدي الى اخلال في تطور و وظيفة الغدد اللبنية على العكس من مستقبل الاستروجين بيتا (Korach, 1994).

اما دراسة (Feldman *et al.*,(1999 وجد أن عملية ازالة المبيضين يؤدي الى خفض التعبير عن مستقبل الاستروجين في الجرذان والتي تعود الى مستواها المقارب الى الطبيعي عند حقنها بالاستروجين مع هرمون النمو .

تشير نتائج الكيميا نسجية المناعية لدراسة Dessauge *et al.*,(2009) على اناث الماعز عند مرحلة ما قبل البلوغ لمستقبلي الاستروجين والبروجستيرون ، ان تعبير هذين المستقبلين في نواة الخلايا الظهارية لنسيج الغدة اللبنية ينخفض عند تعرض الحيوان الى ازالة كاملة للمبيضين ، حيث لوحظ بان مستقبل الاستروجين الفا α ينشط مركب Cyclin D1 الذي يظهر تعبيره في الخلايا الظهارية للغدة اللبنية والذي له علاقة بعمليات التكاثر في الفئران (Steinberg and McNutt , 1999) ،حيث اشار الباحثان الى ان هذا المركب يعمل على اقتران الاشارة لهرموني الاستروجين والبروجستيرون خارج الخلية الى داخل نواة الخلية مما يؤدي الى ادخال الخلية الظهارية اللبنية في دورة الخلية من خلال ادخالها الى طور G1 .اضافة الى ذلك فان Cyclin D1 ممكن ان يفعل تعبير مستقبل الاستروجين والذي بالمقابل يفعل تعبير مستقبل البروجستيرون (Zwijsen *et al.*, 1997). كل هذه التأثيرات التي لها علاقة بزيادة تكاثر الخلايا وتمايزها لهرموني الاستروجين والبروجستيرون ويمكن ان تثبط بفعل الازالة الكاملة للمبيضين من خلال الانخفاض في مستوى هذين الهرمونين.

ان الخلايا الظهارية نفسها ممكن ان تنتج هرمون الاستروجين من خلال P450 aramatase ، الا ان هذا الانتاج من الهرمون لا يمكن ان يقلل من الفعل التثبيطي لإزالة المبيضين حيث وجد ايضا ان التعبير عن مستقبل البروجستيرون في نسيج الغدد اللبنية ينظم بواسطة هرمون الاستروجين المنتج من المبيض

.(Katzenellenbogen and Norman ,1990 ; Dessauge *et a l.*, 2009)

وفي دراسة اخرى اشار بان هرمون البرولاكتين يعمل على زيادة تعبير مستقبل البروجستيرون في رحم الارانب (Chilton and Daniel, 1987). مما يفسر وجود تعبير ضعيف (+) لمستقبل البروجستيرون في رحم المرضعات الارانب في نتائج الدراسة الحالية .

لقد وجد بان هرمون الاستروجين في مرحلة الجريبية للشبق قادر على تحفيز صنع مستقبل البروجستيرون في الرحم لتهيأ الرحم لمرحلة الجسم الاصفر والتي يزداد فيها مستوى هرمون البروجستيرون (Wang *et al.*, 2007 ; Liebich , 2010) . كما تم التوصل الى ان التعبير عن مستقبل الاستروجين الفا ينظم التعبير عن مستقبل البروجستيرون في رحم الجرذان ، حيث ان مستقبل البروجستيرون يزداد تعبيره بزيادة تعبير الخلايا عن مستقبل الاستروجين (Blesson *et al.*, 2012).

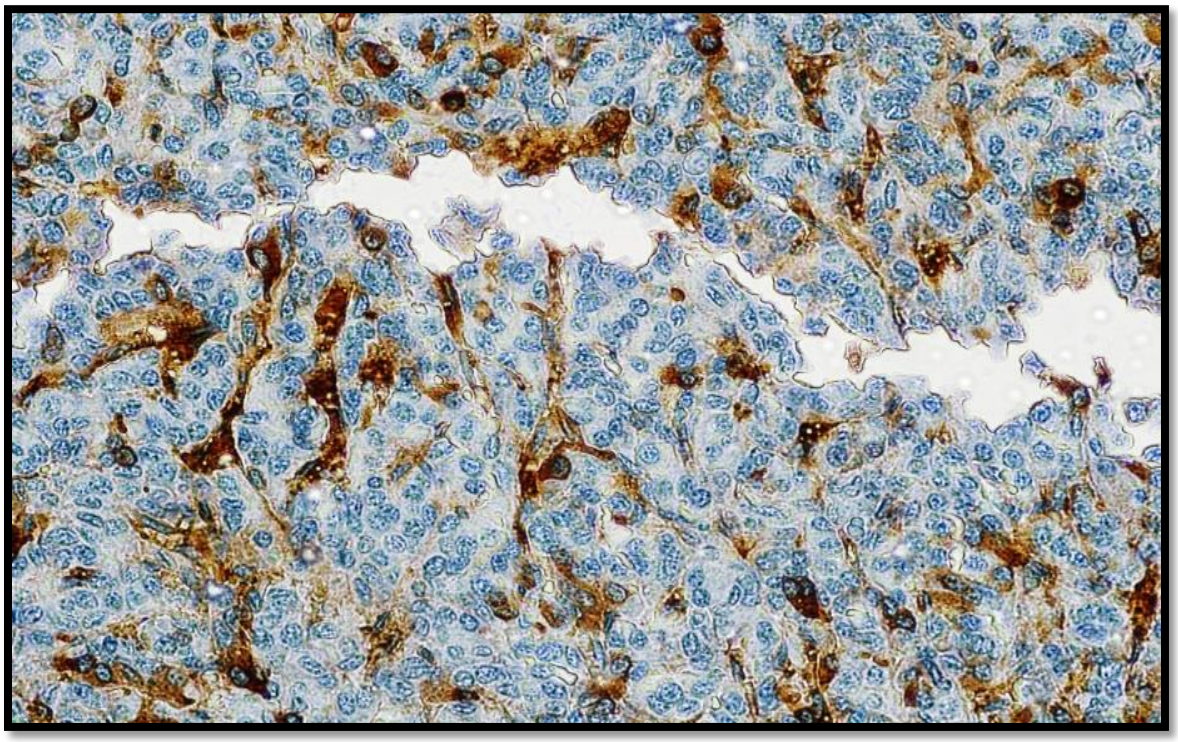
4-7-2 التعبير الكيميائي النسجي المناعي لمستقبلات البروجستيرون في الغدة النخامية لمجاميع العذارى والمرضعات

أظهرت النتائج وجود خلايا كبيرة الحجم و التي تعرف بخلايا المناسل في مجموعة الازالة الكاملة صورة (4-58)،كما اظهرت تلك المجموعة وجود حويصلات في سايتوبلازم تلك الخلايا مقارنة بمجموعة السيطرة ومجموعتي الازالة الجزئية صورة(4-57) التي لم تظهر فيها مثل تلك الخلايا ولا الحويصلات.

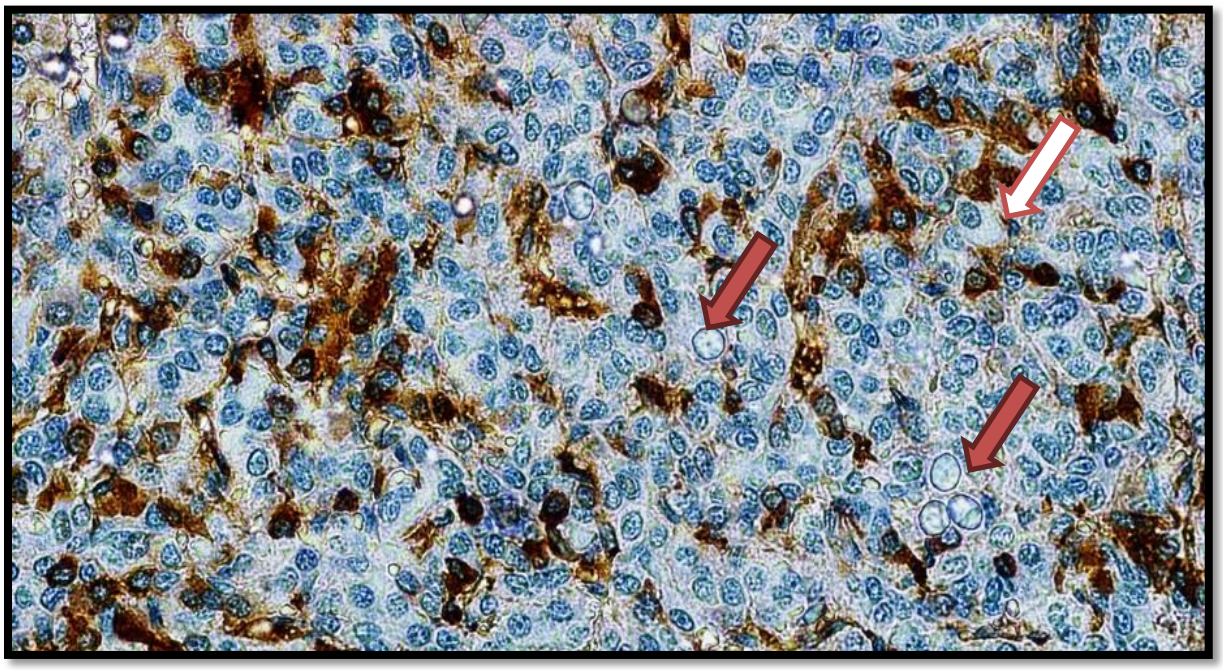
اتفقت النتائج مع دراسة Sánchez-Criado *et al.*,(2006) حيث لاحظو وجود مثل تلك الخلايا والحويصلات في سايتوبلازم الخلايا الفارزة لهرموني اللوتيني والمحفز للجريبات والذي علل سبب وجودها الى زيادة انتاج الشبكة الاندوبلازمية الخشنة لتلك الهرمونات والتي تبدا بافراز عدد من الحويصلات الحاوية على هرموني LH و FSH بعدها تبدا تلك الحويصلات بالاندماج مكونة حويصلة كبيرة الحجم (Capen, 1983).

ان عمل تلك الخلايا يعتمد على افراز الهرمون المحفز لهرمونات المناسل Gonadotrophin releasing hormone (GnRH) من الغدة تحت المهاد والتي بدورها تثبط عن طريق ارتفاع مستوى هرموني الاستروجين والبروجستيرون(التغذية الاسترجاعية السالبة) Feedback mechanism وكذلك عن طريق عامل التثبيط (Inhibin) الذي يفرز بدوره من المبيض (Knobil and Neill, 1994)، لذا عند الإزالة الكاملة للمبيض سوف يقل مستوى هرموني الاستروجين والبروجستيرون وكذلك عامل التثبيط مما يفقد التثبيط لإفراز الهرمون المحفز لهرمونات المناسل (GnRH) والذي بدوره سيحفز بصورة مستمرة الخلايا المنتجة لهرموني LH و FSH . وفي دراسة أشار Greaves,(2007) بأن خلايا الفص الامامي

للغدة النخامية تزداد بالحجم والعدد بعد عدة ايام من الاضطراب الهرموني الذي يأتي بعد الأزالة الكاملة للعضو المتأثر بهرمونات تلك الخلايا .



صورة رقم (4-57) مقطع نسجي من الفص الامامي لغدة نخامية تبين فيها عدم وجود حويصلات في سايتوبلازم الخلايا او وجود خلايا كبيرة الحجم (400X)



صورة رقم (4-58) مقطع نسجي من الفص الامامي لغدة نخامية لمجموعتي الازالة الكاملة تبين فيها وجود حويصلات في سايتوبلازم الخلايا (⇐) و كذلك وجود خلايا كبير ة الحجم (⇦) (400X) .

4-8 الدراسه الوظيفية و الكيموحيوية :

4-8-1 الدراسة الهرمونية Hormonal study

توضح تاثير ازالة المبايض على مستوى هرمونات المصل (هرمون المحفز للجريبات FSH ، الهرمون اللوتيني LH ، هرمون البرولاكتين ،هرمون الاستروجين والبروجستيرون) لاناث الارانب للحالات الفسلجية العذارى والمرضعات .

4-8-1-1 تاثير إزالة المبايض على معدل تركيز الهرمونات في مصل الدم لإناث العذارى

4-8-1-1-1 التغيرات في معدل تركيز هرمون المحفز للجريبات FSH

اظهرت نتائج الدراسة الحالية الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون المحفز للجريبات FSH (10.89 ± 0.25) في مصل دم الارانب مزالة المبايض الكاملة خلال فترة التجربة بالمقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن (6.16 ± 0.92) ومجموعة المعاملة بازالة المبيض الأيسر (7.13 ± 0.91) ومجموعة السيطرة (8.65 ± 1.27) ، كما يشير الجدول الى وجود انخفاض معنوي

($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون FSH في مجموعة المعاملة بازالة المبيض االايمن مقارنة مع مجموعة ازالة المبيض الايسر ومجموعة السيطرة جدول (4-6).

4-8-1-1-2 التغيرات في معدل تركيز الهرمون اللوتيني LH

اظهرت نتائج الجدول (4-6) حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز الهرمون اللوتيني (2.10 ± 4.42) في مجموعة الأرانب مزالة المبايض الكاملة بالمقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن (1.11 ± 2.29) ومجموعة إزالة المبيض الأيسر (1.00 ± 2.11) ومجموعة السيطرة(1.33 ± 2.68) ، بينما يشير الجدول الى عدم وجود فروق معنوية بين مجموعة إزالة المبيض الأيمن مع مجموعة إزالة المبيض الأيسر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

4-8-1-1-3 التغيرات في معدل تركيز هرمون البرولاكتين Prolactin

يلاحظ من الجدول (4 - 6) وجود ارتفاع غير معنوي ($P>0.05$) في مجموعة الإزالة الكاملة (1.32 ± 5.72) بالمقارنة مع مجاميع المعاملة بإزالة المبيض الأيمن (1.44 ± 5.11) والمبيض الأيسر (1.42 ± 4.81) ومجموعة السيطرة (1.25 ± 4.74).

4-8-1-1-4 التغيرات في معدل تركيز هرموني البروجستيرون Progesterone وهرمون الاستروجين Estrogen

أظهرت النتائج في الجدول (4- 6) الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون البروجستيرون (0.11±1.08) في مجموعة الارانب مزالة المبايض الكاملة بالمقارنة مع مجموعة الحيوانات المعرضة لإزالة المبيض الأيمن (0.22 ± 3.01) وإزالة المبيض الأيسر(0.84 ± 2.97) ومجموعة السيطرة (0.11 ± 3.09) ، كما اشار الجدول الى عدم وجود فروق معنوية في مجموعة الارانب مزالة المبيض الأيمن ومجموعة إزالة المبيض الأيسر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .كما يوضح الجدول (4- 6) وجود انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى تركيز هرمون الاستروجين والذي بلغ (2.06±9.55) في المجموعة المعاملة بإزالة المبايض الكاملة مقارنة مع مجموعة مزالة المبيض الايمن (1.94 ± 18.30) والمبيض الايسر(2.01 ± 13.95) ومجموعة السيطرة (3.10 ± 34.10) ، ووجود

انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز هرمون الاستروجين في المجموعة المعرضة لإزالة المبيض الأيسر بالمقارنة مع مجموعة ازالة المبيض الايمن .

جدول (4-6) يوضح تأثير ازالة المبايض على مستوى الهرمونات في مصل إناث الارانب العذارى

الهرمونات / المجاميع	المحفز للجريب (FSH) (ng/ml)	اللوتيني (LH) (ng/ml)	البرولاكتين (PrL) (ng/ml)	البروجستيرون (Pr) (pg/L)	الاستروجين (E_2) (pg/L)
السيطرة	8.65 ±1.27 B	2.68 ±1.33 A	4.74 ±1.25 A	3.09 ±0.11 A	34.10 ±3.10 A
إزالة كاملة	10.89 ±0.25 A	4.42 ±2.10 B	5.72 ±1.32 A	1.08 ±0.11 B	9.55 ±2.06 D
إزالة المبيض الأيمن	6.16 ±0.92 C	2.29 ±1.11 A	5.11 ±1.44 A	3.01 ±0.22 A	18.30 ±1.94 B
إزالة المبيض الأيسر	7.13 ±0.91 C	2.11 ±1.00 A	4.81 ±1.42 A	2.97 ±0.84 A	13.95 ±2.01 C

المعدل ± الخطا القياسي n= 6 الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تعني وجود فروقات معنوية ($P< 0.05$).

4-1-8-2 تأثير إزالة المبايض على معدل تركيز الهرمونات في مصل الدم لإناث الأرانب المرضعات

4-1-8-2-1 التغيرات في معدل تركيز هرمون المحفز للجريبات FSH والهرمون اللوتيني LH

أظهرت نتائج الجدول (4-7) الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون المحفز للجريبات FSH (1.05 ±8.79) في مصل دم الارانب المرضعات مزالة المبايض الكاملة خلال فترة التجربة بالمقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن (0.82 ± 6.06) ومجموعة إزالة المبيض الأيسر (0.91 ± 6.36) ومجموعة السيطرة (1.07 ± 7.05) ، كما يشير الجدول الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون FSH في مجموعة المعاملة بإزالة المبيض الأيمن مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما يلاحظ من الجدول (4-7) حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز الهرمون اللوتيني الذي بلغ (1.25± 4.00) في مجموعة الارانب مزالة المبايض الكاملة بالمقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن (1.21 ± 2.41) ومجموعة إزالة المبيض الأيسر(0.90 ± 2.01) ومجموعة السيطرة (0.33 ± 2.77)، بينما يشير الجدول إلى وجود فروق غير معنوية بين مجموعة إزالة المبيض الأيمن مع مجموعة إزالة المبيض الأيسر .

جدول (4-7) يوضح تأثير إزالة المبايض على مستوى الهرمونات في مصل إناث الارانب المرضعات

الهرمونات / المجاميع	المحفز للجريب (FSH) (ng/ml)	اللوتيني (LH) (ng/ml)	البرولاكتين (PrL) (ng/ml)	البروجستيرون (Pr) (pg/L)	الاستروجين (E_2) (pg/L)
السيطرة	7.05 ±1.07 B	2.77 ±0.33 B	6.04 ±2.52 C	3.15 ±2.01 A	26.50 ±3.90 B
إزالة كاملة	8.79 ±1.05 A	4.00 ±1.25 A	8.25 ±2.00 B	0.71 ±0.51 C	16 ±2.00 D
إزالة المبيض الأيمن	6.06 ±0.82 C	2.41 ±1.21 B	9.25 ±1.24 A	1.44 ±0.62 B	34 ±1.50 A
إزالة المبيض الأيسر	6.36 ±0.91 BC	2.01 ±0.90 B	6.20 ±1.02 C	1.21 ±1.04 B	20 ±0.71 C

المعدل ± الخطا القياسي n= 6 الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تعني وجود فروقات معنوية ($P< 0.05$).

4-8-1-2-2 التغيرات في معدل تركيز هرمون البرولاكتين ProLactin

يلاحظ من الجدول (4-7) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى تركيز هرمون البرولاكتين الذي بلغ (1.24 ± 9.25) في مجموعة الارانب المعاملة بازالة المبيض الايمن مقارنة مع مجموعة مزالة المبيض الايسر(1.02 ± 6.20) ومجموعة مزالة المبايض كاملة (2.00 ± 8.25) ومجموعة السيطرة (2.52 ± 6.04) ، و وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز هرمون البرولاكتين لمجموعة الازالة الكاملة والذي بلغ (2.00±8.25) بالمقارنة مع مجموعة ازالة المبيض الايسر ومجموعة السيطرة (sham) .

4-8-1-2-3 التغيرات في معدل تركيز هرموني البروجستيرون Progesterone وهرمون الاستروجين Estrogen في مصل المرضعات

أظهرت النتائج في الجدول (4 - 7) الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون البروجستيرون (0.51±0.71) في مجموعة الارانب مزالة المبايض الكاملة بالمقارنة مع مجموعة الحيوانات المعرضة لإزالة المبيض والأيمن (0.62 ± 1.44) وإزالة المبيض الأيسر(1.04 ± 1.21) ومجموعة السيطرة (2.01± 3.15)، كما اشار الجدول (4-7) الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز هرمون البروجستيرون في مجموعة الارانب مزالة المبيض الأيمن ومجموعة ازالة المبيض الأيسر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

كما يوضح الجدول (4-7) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى تركيز هرمون الاستروجين والذي بلغ (2.00±16) في المجموعة المعاملة بإزالة المبايض الكاملة مقارنة مع مجموعة مزالة المبيض الأيمن(1.50 ± 34) والمبيض الأيسر(0.71± 20) ومجموعة السيطرة (3.90 ± 50. 26)، ووجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز هرمون الاستروجين في المجموعة المعرضة لازالة المبيض الايسر مقارنة مع مجموعة ازالة المبيض الايمن ومجموعة السيطرة .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في معدل تركيز هرموني FSH ,LH في مجموعة الازالة الكاملة وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون الاستروجين في مجموعة الارانب مزالة المبايض للمجاميع الثلاث ، كما اظهرت النتائج انخفاضاً في تركيز هرمون البروجستيرون في مجموعة ازالة المبايض اما في مجموعة العذارى فقد ظهر عدم وجود فروق معنوية بالنسبة لمجموعة ازالة المبيض الايمن مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذا يدل على كفاءة عمل المبيض الايسر وهذه نتائج

متفقة مع (Purup *et al* ., 1995 ; Edward *et al*.,2001 ; Dessauge *et al* ., 2009 ; Velayudhan *et al*., 2012).

يقوم المبيض فضلا عن انتاجة للخلايا الجنسية بافراز الهرمونات الستيرويدية هما الاستروجين والبروجستيرون ، المسؤولة عن نمو الاعضاء التناسلية الانثوية وظهور الصفات الجنسية الثانوية ونمو الغدد اللبنية وتسمك بطانة الرحم وزيادة الانسجة الدهنية (Brijesh,2013) . ان الانخفاض المعنوي في مستوى تركيز هرمون الاستروجين والبروجستيرون بسبب ازالة المبايض في هذه المجاميع مما ينتج عنة فقدان في صناعة وانتاج هرمون الاستروجين والبروجستيرون نتيجة لفقدان المبايض وهي المركز الرئيس لانتاج هرمون الاستروجين والبروجستيرون وبالتالي انخفاض تركيزهما (Berry *et al*., 2003; Parker *et al*.,2009; Hamed *et al*., 2010 ; Yart *et al*., 2012).

وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة هادي (2014) الذي اشار الى انخفاض هرمون الاستروجين في الارانب مزالة المبايض الثنائية .ان انتاج الستيرويدات يقل عند النساء في سن الياس والنساء المعرضات لازالة المبايض جراحيا وبصورة كبيرة مما ينتج عنة زيادة في مستوى الهرمون اللوتيني LH وFSH وذلك عن طريق التغذية الاسترجاعية السالبة Feed back mechanism بين هرمونات الغدة النخامية والمبيض لانتاج الهرمونات الستيرويدية ،اما هرمون FSH فيرتفع ايضا بسبب الهبوط الحاد في الهرمون المثبط Inhibin (الجبوري , 2006 ; Parker *et al*., 2009).

وتتفق النتائج مع دراستي (Kharode *et al*., (2008; والسعدي (2012) لزيادة مستوى هرمون FSH وLH والذي قد يكون السبب لمهاجمة الجذور الحرة لانسجة المبايض وتحطيم الحويصلات المبيضية في المبيض ، وفي حالة ازالة المبايض جراحيا عند النساء وهي المصدر الرئيس للاستروجين يتراجع الهرمون لتظهر اعراض سن الياس.

ان مستوى هرمون الاستروجين في مصل دم الارانب وصل الى مستويات منخفضة ولم يختفي تماما من مصل الدم لوجود مصادر اخرى تصنعة وبشكل محدود مثل قشرة الغدة الكظرية ،وكذلك المواقع الرئيسة الاخرى لانتاج الاستروجين هي الانسجة الدهنية Adipose tissue ، الجلد، والعضلات وغيرها . (Simpson *et al*., 1999 ; Schwatz,1992 ; Parker *et al*., 2009)

كما اشارت الدراسات (Asuncion *et al.*, 2000; Lane , 2006 ; Novais *et al.*, 2015) الى ان الخلل الوظيفي للمبايض لدى النساء المصابات بتكيس المبايض او امراض اخرى تودي الى انخفاض معنوي في مستوى هرمون الاستروجين والبروجستيرون نتيجة لعدم التوازن في هرمونات المناسل .

ان الانخفاض المعنوي ($P<0.05$) في تركيز هرمون البروجستيرون تتفق مع نتائج الباحثين (Johnson *et al.*, 1997 ; Yart *et al.*, 2012) بان عملية ازالة المبايض تودي الى كبح في الافراز الدوري لهرموني الاستروجين والبروجستيرون وهذا موكد نتيجة لانخفاض الهرمونات خلال عملية الازالة لان المبايض تعد المصدر الرئيس لافراز الهرمونات . كذلك فان ارتفاع مستوى هرمون LH في مصول المريضات جاء نتيجة انخفاض مستويات الاستروجين والبروجستيرون خلال ميكانيكية التغذية الراجعة السالبة. (*Warren and Stiehl*, 1999).

وكانت هذه النتائج متوافقة مع البحوث و الدراسات التي تشير إلى ان انخفاض مستوى هرمون البروجستيرون يتزامن مع ارتفاع مستوى هرمون LH وFSH نتيجة الخلل في وظيفة الغدة النخامية والذي يسبب العجز المبيضي المبكر (Montgomery *et al.*, 2003).

وتشير النتائج الى ارتفاع معنوي ($p<0.05$) لهرمون البرولاكتين في المرضعات ضروري للتكوين الحليبي (Ganong,2003). وقد اتفقت النتيجة مع (Brisken *et al* .,1999; Freeman,2000) إذ اثبتت ان ارتفاع مستوى هرمون البرولاكتين في المصل يرتبط بعملية تكوين الحليب ،اذ ان البرولاكتين يؤثر على مكونات الحليب خلال فترة ادرار الحليب عن طريق تنشيط تخليق البومين الحليب الفا -α Lactolbumin.

يفرز هرمون البرولاكتين من الفص الامامي للغدة النخامية ويعمل على تكوين الحليب في الغدة اللبنية ، ويزداد افرازه بعد الولادة وبدء الادرار , حيث يتوقف افراز العامل المثبط للبرولاكتين Prolactin Inhibiting Factor مما يؤدي الى تنبية افراز البرولاكتين (Grattan *et al.*, 2007)، الذي يشير الى ان زيادة افراز هرمون PRL تبلغ (20%) من حالات انقطاع الطمث الثانوي واضطرابات في الدورة الشهرية .

ان ارتفاع هرمون الحليب لدى النساء يعمل على احداث اضطرابات هرمونية في تحت المهاد والغدة النخامية مما يودي الى اضطراب في مستوى هرموني الاستروجين والبروجستيرون ،يزداد تركيز البرولاكتين خلال فترة الرضاعة (Charles *et al*.,1996; Grattan *et al*, 2007) .

2-8-4 قياس تركيز الهرمون اللوتيني في الغدة النخامية

أظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً ($p\leq0.05$) في مستوى هرمون اللوتيني عند مجموعة الإزالة الكاملة للعذارى(0.32± 1.54) مقارنة مع السيطرة(0.23±0.75) ومجموعة ازالة المبيض الأيمن (0.41±0.81) ومجموعة ازالة المبيض الأيسر (0.21±0.77)، كما أظهرت هذه المجموعة ارتفاعاً غير معنوي إحصائيا لمجموعة الازالة الكاملة (0.36± 1.06) عند المرضعات مقارنة مع مجاميع السيطرة(0.22±0.70) وازالة المبيض الايمن (0.20±0.65)،وازالة المبيض الايسر (0.23±0.61) جدول (4-8).

جدول (4- 8) يوضح تأثير إزالة المبايض على مستوى الهرمون اللوتيني في الغدة النخامية لأناث الأرانب العذارى والمرضعات

الهرمون	الهرمون اللوتيني(LH) (ng/µg)	
الحالة الفسلجية / المجاميع	العذارى	المرضعات
السيطرة	0.75 ±0.23 A	0.70 ±0.22 A
ازالة كاملة	1.54 ±0.32 B	1.06 ±0.36 A
ازالة المبيض الايمن	0.81 ±0.41 AB	0.65 ±0.20 A
ازالة المبيض الايسر	0.77 ±0.21 AB	0.61 ±0.23 A

المعدل ± الخطا القياسي، الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تعني وجود فروقات معنوية ($P< 0.05$).

اتفقت نتيجة مجموعة العذارى مع دراسة Sánchez-Criado *et al*.,(2006) والذي وجد ارتفاع مستوى هرمون اللوتيني في المصل والغدة النخامية للجرذان مزاله المبايض ازالة كاملة .

يسيطر هرمون البروجستيرون على عملية تصنيع وافراز هرمونات المناسل من خلال مستقبل البروجستيرون الموجود على خلايا المناسل ، حيث يتم التصنيع الحيوي لهرمونات المناسل على شكل حويصلات في الشبكة الاندوبلازمية وجهاز كولجي (Pierce, 1988). ويتم تحريرها بعملية exocytosis بتحفيز من هرمون المحرر للمناسل (GnRH) من الغدة تحت المهاد حيث يعمل هرمون الاستروجين كتغذية راجعة سالبة لافراز الهرمون اللوتيني (Ganong,2005) .الأزالة الكاملة للمبايض تؤدي الى فقدان هرموني الاستروجين و البروجسترون مما يؤثر على عملية تخليق وافراز هرمونات المناسل وبالتالي الى تحفيز الغدة النخامية على تصنيع كميات اكبر من هرمونات المناسل(Garner and Blake , 1981).

كما اتفقت نتائج مجموعة المرضعات مع دراسة Fukushima *et al.* ,(2006) حيث لوحظ زيادة نسبة هرمون اللوتيني في مصل المرضعات و ارتفاع نسبة الهرمون في مصل الحيوانات مزاله المبايض والذي يشير الى ارتفاع نسبة تصنيعه في الغدة النخامية .

عدة دراسات وجدت ان الهرمون اللوتيني يرتفع نسبته في المصل كلما قلت عملية امتصاص الجراء بعملية الرضاعة، وبعد الفطام بعدة ساعات حيث يبدأ ارتفاعه تدريجيا ، حيث لوحظ وجود هرمون البرولاكتين من غير وجود العملية الميكانيكية للرضاعة والتي بدورها تزيد من مستوى هرمون الاوكسيتوسين والذي يعمل على التقليل من افراز هرمون اللوتيني (Smith,1978 ; Stevenson *et al.*,1981; Fukushima *et al.* ,2006) ،كما لوحظ انخفاض نسبة هرمون اللوتيني في المصل والغدة النخامية في الجرذان المرضعات مزاله المبايض بصورة كاملة مقارنة مع غير المرضعة (Maeda *et al.*,1989). في نتائج هذه الدراسة لوحظ ارتفاع غير معنوي لهرمون LH في مجموعة المرضعات الازالة الكاملة للمبايض قد يعود ذلك الى كون الفطام في بداية مراحله.

3-8-4 تأثير إزالة المبايض على معدل تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP وإنزيم 5' النيوكلوتايدز NTD لنسجي الغدد اللبنية والرحم للعذارى و المرضعات في الارانب المحلية

تشير نتائج جدول(4-9) و (4-10) الى انخفاض معنوي (**P<0.05**) في مستوى انزيم الفوسفاتيز القاعدي (0.89 ± 0.25) (1.24 ± 0.22)(1.71 ± 0.21) (1.00 ± 0.71)عند مجموعة الازالة الكاملة مقارنة مع السيطرة Sham والمجاميع الاخرى في كلٍ من نسيج الغدد اللبنية والرحم للعذارى والمرضعات على التوالي كما يلاحظ انخفاض معنوي(**P<0.05**) في مستوى انزيم النيوكلوتايدز للعذارى والمرضعات (0.09 ± 0.02)(0.20 ± 0.12) (0.12 ± 0.23)(0.33 ± 0.42) في نسيجي الغدد اللبنية والرحم في مجموعة مزاله المبيضين مقارنة مع السيطرة والمجاميع الاخرى جدول(4 - 9)(4-10) .

جدول (4 - 9) مستوى انزيمي الفوسفاتيز القاعدي وال5' نيوكلوتايدز في نسيج الغدد اللبنية في اناث الارانب (U/g)

الحالات / المجاميع	انزيم فوسفاتيز القاعدي		انزيم 5' النيوكلوتايديز	
	العذارى	**المرضعات**	**العذارى**	**المرضعات**
السيطرة	**2.00 ±1.27 A**	**3.98 ±1.33 A**	**0.78 ±0.88 A**	**2.76 ±1.93 A**
ازالة كاملة	**0.89 ±0.25 B**	**1.24 ±0.22 C**	**0.02 ±0.09 B**	**0.12 ±0.20 C**
ازالة المبيض الايمن	**1.89 ±0.92 A**	**3.10 ±0.91 AB**	**0.64 ±0.52 A**	**1.88 ±1.00 AB**
ازالة المبيض الايسر	**1.82 ±0.91 A**	**2.98 ±1.00 B**	**0.50 ±0.42 A**	**1.76 ±0.99 B**

- ± تمثل المعدل الخطأ القياسي SD
- الاحرف المختلفة تشير الى وجود فروقات معنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة Sham عند مستوى معنوية (P<0.05).

جدول (4- 10) مستوى انزيمي فوسفاتيز القاعدي وال5' نيوكلوتايديز في نسيج الرحم في اناث الارانب (U/g)

الحالات / المجاميع	انزيم فوسفاتيز القاعدي		انزيم 5' النيوكلوتايديز	
	العذارى	**المرضعات**	**العذارى**	**المرضعات**
السيطرة	**3.55 ±2.32 A**	**4.77 ±2.11 A**	**2.35 ±1.88 A**	**3.65 ±1.98 A**
ازالة كاملة	**1.71 ±0.21 B**	**1.00 ±0.71 C**	**0.23 ±0.12 B**	**0.42 ±0.33 C**
ازالة المبيض الايمن	**3.50 ±1.66 A**	**3.92 ±1.00 AB**	**2.30 ±0.60 A**	**2.65 ±0.72 B**
ازالة المبيض الايسر	**2.82 ±2.10 A**	**3.20 ±1.72 B**	**1.65 ±0.71 A**	**2.00 ±0.99 B**

- تمثل المعدل ± الخطأ القياسي SD

الاحرف المختلفة تشير الى وجود فروقات معنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة Sham عند مستوى معنوية ($P<0.05$).

يعد انزيم ALP من انزيمات التي لها علاقة بتحفيز عمليات التحلل المائي لمركبات Monophosphate esters في وسط قاعدي حيث إن له دور مهم في عملية نقل الفوسفات وفي عمليات انقسام الخلايا وعملية الفسفرة وازالة الفوسفات من المركبات ، يقع على قمة وقاعدة الغشاء الخلوي وفي سايتوبلازم الخلايا الظهارية والغدية للغدد اللبنية وايضا على غشاء القطرات الدهنية (Fleming *et al*., 1995; Murray *et al*., 2003 ; Fox and Kelly, 2006).

يوجد معظم انزيم ALP في الخلايا الظهارية العضلية للغدد اللبنية بينما في ظهارية الحويصلات لا تحتوي الا على نسبة قليلة منه ، مما يدل على دور هذه الخلايا في عملية صنع الحليب (Chuang, 1987) ، حيث اشارت دراسة Backwell , (2001) الى دور هذا الانزيم في عملية تصنيع مكونات الحليب وخصوصا اللاكتوز . يبدا هذا الانزيم بالارتفاع في المراحل الاخيرة من الحمل ويبقى على مستوى عال خلال مرحلة الرضاعة مما يدل على دور هذا الانزيم في وظيفة الخلية اكثر منها في نموها وتكاثرها (Raubenheimer ,1987; Colston *et al*., 1988)) .

يعتقد بان ALP الموجود في نسيج الغدد اللبنية له دور في صناعة بروتينات النووية خلال مراحل النمو كما يعتقد بان له دور في فسفرة بروتين الكازائين casein (Bjelakovic, *et al*.,2009; Billen *et al*., 2015).

اشارت نتائج الدراسة الحالية الى انخفاض معنوي في مستواه عند المجاميع مزاله المبايض في الغدد اللبنية للعذارى والمرضعات ، حيث اشارت دراسة Christian *et al*.,(1986) بان فعالية انزيم ALP تزداد مع زيادة مستوى هرمون الاستروجين والذي يتحفز من خلال مستقبلات الاستروجين والذي انخفض مستواه بإزاله المبايض .

من جانب اخر تشير نتائج دراسة (Li *et al*. ,2010) الى ان نشاط انزيم ALP في الخلايا الطلائية لنسيج الرحم في الهامستير يتأثر بمستوى الهرمونات الستيرودية (الاستروجين والبروجستيرون) حيث يتغير مع تغير مراحل الشبق، وقد تم تأكيد ذلك من خلال اعطاء حيوانات الهامستر مزاله المبايض جرعة من هرموني الاستروجين والبروجستيرون مما ادى الى ارتفاع التعبير عن انزيم ALP في خلايا الطلائية للرحم حيث وجدت نتائج هذه الدراسة بان زيادة نشاط احد انواع انزيم ALP في خلايا الطلائية المبطنة للرحم يكون متزامنا بين فعلي هرموني الاستروجين والبروجستيرون .

وفي دراسة اخرى اشارت النتائج الى ان نشاط ALP يزداد في الطبقة الطلائية للطبقة البطانية لرحم جاموس النهرRiver buffalos في مرحلة الجسم الاصفر تحت تأثير هرمون البروجستيرون (Shahrooz *et al* .,2013)، حيث فسر ذلك الى دورALP في عملية تصنيع الكلايكوجين ونقل مركبات افرازية عبر الخلية (Marty and Feldbush, 1993)، الا ان الباحثين (Leiser and Wille, 1975) فسرا بان جهاز كولجي في سايتوبلازم الخلايا الظهارية لبطانة الرحم يقوم بتصنيع كميات كبيرة من ALP وذلك لتثبيط وتحلل مركبات phosphomonesterase العضوية والتي لها دور في مرحلة الجسم الاصفر لتهيئة الرحم لعملية الأنغراس ، كما اشارت هذه الدراسة الى مقاربة هذه النتائج مع اللبائن ، لذا فان دراسة مستوى انزيم ALP دليل على نشاط الخلية (Souvannavong *et al*., 1994)

وفي دراسة اخرى لوحظ بان عدد خلايا البلعمة تزداد في مرحلة الجسم الاصفر مع زيادة مستوى انزيم ALP حيث لوحظ بان السايتوكينات التي تفرزها الخلايا البلعمية والتي تعد المصدر الرئيس للسايتوكينات البطانية في الرحم دور في عملية الانغراس وتعزيز الحمل (Dimitriadis *et al*., 2005 Kummer *et al*., 1995;) ، لذا فمن الممكن الاستنتاج بان الخلايا البلعمية لها دور في زيادة فعالية إنزيم ALP .إضافة

لذلك ان للخلايا البلعمية لها دور في عملية البلعمة للخلايا غير الطبيعية في بطانة الرحم وإزالة المسببات المرضية (Cobb and Watson,1995; Athanasakis *et al*.,1999).

يعد إنزيم '5النيوكلوتايدز هو المسؤول عن إزالة الفوسفات و انتاج مركب الادينوسين من التحلل المائي لمركب AMP اي انه الناتج النهائي لتحلل ATP ، و له دور في عملية تكون الأوعية الدموية و النمو والمناعة .(Zimmermann *et al*. ,2012)

اما في دراسة (Mitrovića *et al*.(,2016 على اناث جرذان مزاله المبايض وجد بان هرمون الاستروجين يؤثر على تعبير انزيم النيوكلوتايدز عن طريق مستقبل استروجين الفا حيث يعمل على زيادة تعبير هذا الإنزيم على عكس مستقبل الاستروجين بيتا ، حيث يؤثر مستقبل الفا على تصنيع بروتين ونشاط إنزيم نيوكلوتيديز بينما يؤثر مستقبل بيتا على نشاطه فقط . لذا فان عملية إزالة المبايض والتي تؤدي إلى انخفاض مستوى هرمون الاستروجين وانخفاض التعبير عن مستقبلات الاستروجين يؤدي بالتالي إلى انخفاض في مستوى انزيم النيوكلوتايدز، مما يؤثر بدوره على النسيج الغدة اللبنية والرحم.

أشارت نتائج دراسة (Shen *et al*.,(2013 بان الاستروجين يعمل على زيادة محتوى الخلية الطلائية للغدد اللبنية من انزيم 5'nuclotidase كما يزيد من نشاطه وفي دراسة اخرى وجد ان التعبير عن انزيم - '5النيوكلوتايدز يختلف في بطانة الرحم حسب مراحل الدور الشبقية في إناث الفئران (Aliagas *et al* 2010,.) حيث إن له دور في تنظيم المحيط السائل لبطانة الرحم وكذلك عملية sperm capacitation داخل القناة التناسلية للانثى (Monks and Fraser 1988 ; Takayama *et al*.,2000).

4-8-4 تأثير ازالة المبايض على مستوى تركيز GSH و MDA في مصل دم الارانب المحلية

4-8-4-1 التغيرات في معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل (GSH) والمالونداياليديهايد MDA في مصل دم مجموعة العذارى للارانب المحلية

يلاحظ من نتائج الجدول (4-11) الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز GSH (8.24 ± 1.00) في مجموعة الارانب مزالة المبايض الكاملة بالمقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن ومجموعة إزالة المبيض الأيسر ومجموعة السيطرة ، وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في مجموعتي المعاملة بإزالة المبيض والأيمن (12.96 ± 1.29) والأيسر (12.00 ± 1.61) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (15.18 ± 0.12).كما يشير الجدول (4-11) الى وجود ارتفاع معنوي في معدل MDA (1.69 ± 0.08) في مجموعة الإزالة الكاملة بالمقارنة مع المجاميع المعاملة للمبيض الأيمن (0.46 ± 0.03) والأيسر (0.51 ± 0.02) ومجموعة السيطرة (0.39 ± 0.26) .

جدول (4-11) يوضح تاثير إزالة المبايض على مستوى تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH والمالونداياليديهايد MDA في مصل إناث الأرانب العذارى

المعايير / المجاميع	GSH µmol/L	MDA mg/dl
السيطرة	15.18 ± 0.12 A	0.39 ± 0.26 A
إزالة كاملة	8.24 ± 1.00 C	1.69 ± 0.08 C
إزالة المبيض الأيمن	12.96 ± 1.29 B	0.46 ± 0.03 B
إزالة المبيض الأيسر	12.00 ± 1.61 B	0.51 ± 0.02 B

المعدل ± الخطأ القياسي (n=6) لكل مجموعة

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تعني وجود فروقات معنوية($P<0.05$)

4 -8-4-2 التغيرات في معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل (GSH) والمالونداياالديهايد MDA في مصل دم مجموعة المرضعات للارانب المحلية

إظهرت نتائج الجدول (4-12) الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز GSH (5.29 ± 1.00) في مجموعة الأرانب مزالة المبايض الكاملة بالمقارنة مع مجموعة إزالة المبيض الأيمن ومجموعة إزالة المبيض الأيسر ومجموعة السيطرة ، وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في مجموعتي المعاملة بإزالة المبيض الأيمن (12.10 ± 1.29) والأيسر(10.73 ± 1.10) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (15.2 ± 1.51).كما يشير الجدول (4-12) إلى وجود ارتفاع معنوي في معدل MDA (1.79 ± 0.05) في مجموعة الإزالة الكاملة بالمقارنة مع المجاميع المعاملة للمبيض الأيمن (0.61 ± 0.02) والأيسر (0.82 ± 0.05) ومجموعة السيطرة(0.43 ± 0.01) .

جدول (4-12) يوضح تاثير إزالة المبايض على مستوى تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH والمالونداياالديهايد MDA في مصل إناث الأرانب المرضعات

المعايير / المجاميع	GSH µmol/L	MDA mg/dl
السيطرة	15.2 ± 1.51 A	0.43 ± 0.01 A
إزالة كاملة	5.29 ± 1.00 C	1.79 ± 0.05 D
إزالة المبيض الأيمن	12.10 ± 1.92 B	0.61 ± 0.02 C
إزالة المبيض الأيسر	10.73 ± 1.10 B	0.82 ± 0.05 B

المعدل ± الخطأ القياسي (n=6) لكل مجموعة

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تعني وجود فروقات معنوية ($P<0.05$)

اشارت الدراسة الحالية ان عملية أزالة المبايض تؤدي الى انخفاض معنوي($p<0.05$) في مستوى تركيز GSH ،تتفق هذه النتيجة مع Weitzmann and Pacitici,(2006) من حدوث انخفاض معنوي في مستوى كلوتاثيون في الجرذان مستأصلة المبايض، وايضا تتفق مع دراسة السعدي (2012) الى حدوث انخفاض في تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH وارتفاع MDA في الارانب مستأصلة المبايض وانخفاض في تركيز الاستروجين .ويتضح من التغيرات أهمية الإستروجين في تنظيم واستقرار مستوى كلوتاثيون الأنسجة وتثبيط أكسدة البروتينات الدهنية وبيروكسدة الدهن في انسجة الحيوان (Rificia and ,1992 Khachaduri).

يعد الكلوتاثيون المختزل من احد الانظمة الدفاعية المضادة للاكسدة ، اذ يودي دور مهم في المحافظة على الخلايا والاعضاء والانسجة من الاجهاد التاكسدي، ان انخفاض مستوى هرمون الاستروجين في مجموعة مزالة المبايض يزيد من توليد الجذور الحرة الاوكسجينية وانواع الاوكسجين الفعالة وبالتالي احداث تاكسد الدهون Lipid Peroxidation والذي يكون البيروكسيدات الداخلية الحلقية وايضا يعمل على تكسير سلسلة الاسيل في الدهون الفسفورية الموجودة في غشاء الخلية مؤديا الى تغيرات في ديناميكية الغشاء وتحطيمه فتقل مضادات الاكسده ومنها GSH وبالتالي ارتفاع MDA الذي يعتبر كموشر للمؤكسدات التي تحطم اغشية الخلايا (Yen *et al.*,1999 ; Tug *et al.*, 2006 ; Valko *et al.*, 2007) .

ان الانخفاض في مستوى الكلوتاثيون في اناث الارانب المعرضة للإجهاد التاكسدي يمكن ان يعزى الى أكسدة الكلوتاثيون GSH او انخفاض تخليقه ،الذي له دور مهم في كبح انواع جزئيات الاوكسجين الفعالة المتسببة في تحطيم او هدم الخلايا ، اذ ان الكلوتاثيون يشارك في العديد من العمليات الحيوية المهمه منها بناء البروتين والنيوكليوتيدات وهو يساهم ايضا في فعالية بعض الانزيمات من خلال عملة كمادة اساس Substrate او كمرافق إنزيمي لبعض العمليات الانزيمية في الخلية (Kerksick & Willoughby, 2005). لذا فان انخفاض مستواة في المصل والأنسجة يعد مؤشرا على زيادة الإجهاد التاكسدي .

وتتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسة (كعيم)، 2014 اذ اشارت الى حدوث انخفاض في مستوى الكلوتاثيون المختزل GSH الذي يعتبر احد مضادات الاكسدة غير الانزيمية في مصل الارانب مزالة المبايض وان النقص في هرمونات المبايض له علاقة مع الفشل بعدم توازن حالة الاجهاد التاكسدي Oxidative strees اي عدم التوازن بين المؤكسدات ومضادات الاكسدة .كذلك ارتفاع مستوى MDA في مصل الارانب مزالة المبايض .

ان الارتفاع في مستوى MDA في مصل الارانب مزالة المبايض يؤثرعلى قدرة النظام للتخلص منها وازالتها وبالتالي الى التقليل من مستويات GSH وهذه النتيجة متفقة مع دراسة التي تشير الى التعاقب الذي يحصل في حالة مضادات الاكسدة لمختلف الانسجة كنتيجة للزيادة في Lipid Peroxidation لها كما في حالة ازالة المبايض الحاصلة وبالتالي انخفاض هرمون الاستروجين الذي يعتبر كمضاد للاكسدة السعدي (2012) و كعيم(2014) .

9-4 وزن الجسم Body weight

أظهرت نتائج الدراسة الحالية لاوزان جسم العذارى وكما مبين في الجدول (4-13) زيادة غير معنوية لمجموعة مزالة المبايض الكاملة ومجموعة ازالة المبيض الايمن والمبيض الايسر مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى المعنوية ($P<0.05$) . في حين سجلت مجموعة المرضعات المعاملة بإزالة المبايض للمعاملات الثلاثة مجموعة الازالة الكاملة ومجموعة ازالة المبيض الايمن والايسر حدوث ارتفاع معنوي في وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية ($P<0.05$) .

جدول (4-13) يوضح تأثير إزالة المبايض على معدل وزن الجسم(كغم) في اناث الارانب للعذارى والمرضعات

المعاملة / الحالة		المعاملة بإزالة المبيض الأيمن	المعاملة بإزالة المبيض الايسر	المعاملة بإزالة كاملة المبايض
العذارى	قبل	1.42 a ± 0.04	1.40 a ± 0.06	1.08 a ± 0.06
	بعد	1.53 a ± 0.04	1.56 a ± 0.04	1.70 a ± 0.07
المرضعات	قبل	1.95 a ± 0.06	2.04 a ± 0.04	2.06 a ± 0.06
	بعد	2.90 b ± 0.09	2. 86 b ± 0.07	2.77 b ± 0.15

- الارقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي SD n = 6
الاحرف المختلفة تشير الى وجود فروقات معنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية ($P<0.05$).

أن الزيادة في وزن الجسم لم تكن معنوية لمجموعة العذارى مزالة المبايض للمجاميع الثلاث ازالة المبايض الكاملة ومجموعة ازالة المبيض الايمن و الايسر مقارنة مع مجموعة السيطرة، اما مجموعة المرضعات هنالك زيادة معنوية للمجاميع الازالة الثلاث مقارنة مع مجموعة السيطرة ، ففي المجاميع مستئاصلة المبايض ربما تكون هناك زيادة في النسيج الدهني نتيجة لقلة الاستروجين المنتج بعد ازالة العضو المسوول بشكل اساسي عن انتاجة ،

واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة السوداني (2009) الى ان عملية استئصال المبايض تودي الى زيادة معنوية في وزن الجسم للمرضعات وعلل ذلك لدور الاستروجينات التنظيمي على الانسجة الدهنية وانها ميكانيكية للحماية الجزئية ضد هشاشة العظام .

في حين اشارت دراسة (Jiang *et al.*, (2008 الى ان عملية استئصال لمبايض ادت الى زيادة معنوية في وزن الجسم اذ انها تسبب زيادة في الاكل(Hyperphagia (overeating مما يودي الى ارتفاع نسبة الدهون وبالتالي زيادة اوزانها وتتفق نتائج الدراسة الحالية في الزيادة ة الوزنية مع (Lee *et al.*, 2004 ; Mohamed and Abdel- Rahman, 2000) .

و إتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة Høegh-Andersen *et al.*, (2004) ان عملية استئصال المبايض يودي الى فرط نمو النسيج الدهني وزيادة في عامل نمو البشرة(EGF) Epidermal growth factor وتودي هذه العوامل دورا مهما في حدوث السمنة في الجرذان مستأصلة المبايض .

كما اشارات دراسات عدة الى ان عملية ازالة المبايض تودي الى الاختلال في ايض المواد الغذائية في الجسم وزيادة الشهية مما يودي الى زيادة في وزن كتلة الجسم ، مما يودي الى فرط نمو النسيج الدهني (Maclean *et al.*, 2010 ; Hamed *et al.*, 2010) .

ان الزيادة الكبيرة في وزن الجسم للجرذان المزالة المبايض بالمقارنة مع جرذان السيطرة وذلك بسبب زيادة صناعة الدهون لديها Lipogenesis او انخفاض تحلل الدهون او الاثنان معا (Tsuang *et al.*,2008).

وتتفق النتائج الحالية مع دراسة (Saruhan *et al.*,(2006 اذ لاحظ زيادة وزن الجسم في الجرذان مزالة المبايض بشكل ملحوظ مقارنة مع مجموعة السيطرة .

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات

استنتج من الدراسة الحالية ان إزالة المبايض في اناث الارانب المحلية للعذارى والمرضعات تؤدي الى :-

1- حصول تغيرات نسجية واضحة في نسيجي الغدد اللبنية والرحم في مجموعة الارانب مزاله المبايض الثنائية و دوراً سلبيا على فصيصات وحويصلات الغدد اللبنية و طبقات الانسجة المكونة للرحم ،كما لها دوراً في الانخفاض في معدل اقطار الحويصلات للغدد اللبنية وإعدادها .
2- أن لإزالة المبايض تأثيرا في كثافة ألياف الكولاجين حيث تؤدي الى زيادتها في نسجي الغدد اللبنية و الرحم .اما عند استخدام صبغة PAS فقد اظهرت مجموعة المرضعات تفاعل موجبا للصبغة داخل الحويصلات للغدد اللبنية .
3- حصول انخفاض بأعداد الخلايا المعبرة لمستقبلات الاستروجين والبروجستيرون في كل من نسيج الغدد اللبنية والرحم .
4- حصول ارتفاع في مستوى FSH و LH وMDA في مصل مجموعة إزالة المبايض الثنائية وارتفاع LH في نسيج الغدة النخامية للعذارى .
5- حصول انخفاض معنوي في مستوى هرمون البروجستيرون وتركيز GSH وانزيم ALP وNTD

التوصيات

1- دراسة تاثير بعض المستخلصات النباتية على الحيوانات مزالة المبايض على نسيجي الرحم والغدد اللبنية والغدة النخامية

2- دراسة تأثير الإزالة الكلية والجزئية على مستقبلات الفا وبيتا ومقارنة تاثيرها في طبقات الثلاث للرحم وكذلك في البطانية والسدى للرحم والغدة اللبنية .

3- دراسة تاثير مستوى الكالسيوم على الحيوانات مزالة المبايض الثنائية وعمل مقاطع نسجية لنخاع العظم .

4- دراسة وراثية عن الجينات المسؤولة عن انتاج بعض المكونات المهمة في الحليب .

5- دراسة نسجية للمجهر الالكتروني للخلايا الطلائية العضلية Myoepithelial cell في حويصلات الغدد اللبنية .

المصادر

References

المصادر العربية :

الحاج ، حميد احمد (2013). مبادئ علم الأنسجة.الطبعة الاولى ، دار الميسره للنشر والتوزيع عمان – الاردن . 352: 359 .

الجبوري ,وفاء عيسى **(2006)** .انقطاع الطمث الثانوي وعلاقته بالحـــــــالة الفسيولوجية والهرمونات لدى النساء .رسالة ماجستير . كلية التربية ,جامعة تكريـت :28-30.

العلوجي ، صباح ناصر(2014) . هرمونات الغدد الصم والغدد التناسلية . موسسة دار الفكر للطباعة والنشر. الطبعة الثالثة ، عمان ، الأردن .

الراوي ، خاشع محمود وخلف الله ، عبد العزيز محمد .(2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية , وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل .الطبعة الثانية .صفحة488

السعدي ، ريم عبد الرحيم مردان(2012). تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد على بعض المعاييرالفسلجية و الوراثية في إناث الأرانب البالغة. رسالة ماجستير. كلية التربية للعلوم الصرفة. جامعة كربلاء.

السوداني، علي خلف علي (2009).تأثير بعض المعاملات في بعض المتغيرات النيسجية والكيموحيوية في الجرذان المختبرية *Rattus norvigius* المزالة المبايض . إطروحة دكتوراه - كلية العلوم / جامعة البصرة.

جاسم، فاطمة عبود (2011). تأثير مستخلص آيزوفلافونات بذور فول الصويا Glycine max في انسجة العظم والرحم للجرذان المختبرية *Rattus norvigicus* مستئصلة المبايض . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة البصرة .

غالي , محمد عبد الهادي وخالد , جوان (2014). الأساسيات في علم الانسجة الحيوانية . دار الدكتور للعلوم الادارية والاقتصادية . الطبعة الأولى , بغداد – العراق .

المصادر العربية .

كعيم ، غصون غانم (2014) . تأثير الاستروجين النباتي في بعض المعايير الفسيلوجية والنسجية والوراثية لإناث الأرانب المستحدث فيها هشاشة العظام . إطروحة دكتوراة . كلية التربية للعلوم الصرفة . جامعة كربلاء .

هادي ، همام علي (2014). دراسة كيموحيوية ونسيجية ووراثية عن تاثير ازالة المبايض على الدماغ والحبل الشوكي في اناث الارانب المحلية . رسالة ماجستير. كلية التربية للعلوم الصرفة. جامعة كربلاء.

References

Adak, M. and Shivapuir, J. N. (2010) . Enzymatic and non – enzymatic liver function test : A review. Res . J. Phar . Bio. Chem. Sci., 1(4) : 593 – 605.

Adelaja, A.S. and Polycarp, N. (2012) . Effects of kolaviron on the histoarchitecture of the ovary, fallopian tube and uterus in female wistar rats. International J. OF Basic Med . *Sci and Pharm.,* 2(2): 70-75 .

Akers, R. M. & Denbow , D. M. (2013). Chapter 18 – Lactation . In R. M. Akers & D. M. Denbow, eds Antomy and Physiology of Domestic Animals, Second edition. John Wiley & Sons, Inc., PP. 529 – 556.

AL – Zamely , O. M. Y. (2001) . Ischemic Heart Disease Via Oxidative Hypothesis . (Thesis) , PH.D. ,Iraq ,University of AL – Mustansiriya .

Al- Asmakh ,M.(2007).Reproductive functions of progesterone . Middle East Fertility Society J.12(3).

Albozachri, J.M.K.; Hameed, F.M.; AL-Tomah, H.M. and Muhammid, H.A. (2017) . Evaluation of tow general anesthetic regimeby use xylazine and ketamine with atropine and diazepam in rabbits . J. university of kerbala, 15 : 21-30 .

Al-Dahhan, M. R. A. (2015). Postnatal histomorphological development of the ovary, uterine tube and uterus in normal and ovariectomized local rabbits (*Oryctologus cuniculus).* PH.D. Thesis College of Veterinary Medicine/Baghdad University.

Aliagas, E.; Torrejón-Escribano, B.; Lavoie, EG.; de Aranda, IG.; Sévigny. J.; Solsona, C. and Martín-Satué, M. (2010). Changes in expression and activity levels of ecto-5′-nucleotidase/CD73 along the mouse female estrous cycle. *Acta Physiol* (Oxf), 199(2):191–197.

Al-Jehashi, O.A. (2011). Histological study of the uterus in rabbit (Oryctologus caniculus) in cyclic and during pregnancy. MSc thesis in Anat. and Histo. Baghdad., 3(4): 4-7.

AL-Sinjary, D.A. (2012). Gross Anatomy Histology and Ultra Stracture of Pituitary Gland in two Species of Vertebrates (Rabbit, Oryctolagus cuniculus and Guinea pig, Cavia porcellus). PH.D. Thesis. college of Education. University of Baghdad.

Anderson, S.M.; Rudolph, M.C.; McManaman, J.L. and Neville, M.C.(2007). Key stages in mammary gland development. Secretory activation in the mammary gland: it's not just about milk protein synthesis! Breast Canc. Res., 9(1): 204.

Anzaldúa Arce, S. R.; Villaseñor Gaona, H. & Pérez-Martínez, M.(2008). Variación en la distribución de linfocitos epiteliales intersticiales en tubas uterinas de la coneja al inicio de la gestación.*Tec. Pecu. Méx., 46(3)*:333-44.

Aplin, J.D.; Fazleabas, **A.T.; Glasser, S.R. and Giudice, L.C. (2008).** The endometrium. Molecular, cellular, and clinical perspectives. London: Informa Healthcare, 1127: 116–120.

Arase, T.; Uchida, H.; Kajitani, T.; Ono, M.; Tamaki, K.; Oda, H.; Nishikawa, S.; Kagami, M.; Nagashima, T.; Masuda, H.; Asada, H.; Yoshimura, Y. and Maruyama, T. (2009). The UDP-glucose receptor P2RY14 triggers innate mucosal immunity in the female reproductivetract by inducing IL-8. *J Immunol* 182(11):7074–7084.

Asselin – Labat, M. L.; Vaillant, F.; Sheridan, J. M.; Pal, B.; Wu, D., Simpson, E. R., et al. (2010) . Control of mammary gland stem cell function by steroid hormone signaling . *Nature 465*, 798 – 802 .

Asuncion, M.; Calvo, R. M.; San Millan, J. L. and et al. (2000). A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain., J. *Clin. Endocrinol. Metab., 85* (7): 2434 – 8.

Athanasakis, I.; Farmakiotis, V. and Papadimitriou, L. (1999). Uterine cytokine production during the menstrual cycle and preimplantation stages in mice. Dev. Immunol., 7: 33-42.

Backwell , R. (2001) . Morphology of normal breast, its hormonal control and pathophysiology . In: (Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism) . Lippincott Williams and Wilkins.Pp :212 – 299.

Bancalari , R . E.; Gregory , L. C.; McCabe , M. J. & Dattani , M. T.(2012) .Pituitary gland development : An update . *Endocrine Development, 23,* 1-15 .

Bancroft , J. D. and Steven , A. S. (2010) . Theory and practice of histologyical techniques . 2nd ed . Churchill living stone , Edinburgh , London : 233 – 250 .

Bardini, M.; Lee, HY. and Burnstock, G. (2000). Distribution of P2X receptor subtypes in the rat female reproductive tract at late prooestrus early oestrus. Cell Tissue Res 299(1):105–113.

Bazer, F.W.; Wu, G.; Spencer, T.E.; Johnson, G.; Burghardt, A.R.C. and Bayless, K. (2010). Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. Mol. Hum.Reprod,16:135-152.

Berk, PD and Korenblat , KM. (2007). Approach to the patient with jaundice or abnormal liver test results. In: Goldman L, Ausiello D, eds. Cecil Medicine. 23rd ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier: chap 150 .

Berry, S. D.; Jobst, P. M.; Eillis, SE.; Howard, R .; Capuco, A. V . and Akers, R. M. (2003) . Mammary epithelial proliferation and estrogen receptor alpha expression in prepubertal Heifers: Effects of ovariectomy and growth hormone .J. *Dairy Sci.,* 86(6): 2098 – 2105.

Bilen,C. N Gençer.N. and Arslan,O.(2015).Purification of Alkaline Phosphatase from Bovine Milk and Investigation of Inhibitory Effects Of Some Veterinary Drugs on Enzyme Activity**,** Hacettepe *J. Biol. and Chem*., 43 (3), 195–203.

Bishop, M. L.; Fody, E. P. and Schoeff L. E. (2010). Clinical Chemistry Techniques Principle , Correlation by Lippincott Williams& Wilikins. Pp: 231 – 298.

Bitto, I.; Arubi, .J.A. and Gumel, A.A. (2006). Reproductive tract morphometric and some hematological characteristics of female rabbits fed pawpaw peel meal based diets. Afr. J. Biomed. Res., 9: 199–204.

Bjelakovic,L.; Kocic,G.; Cvetkovic,T. ; Stojanovic,D. ; Najman, S.; Pop-Trajkovic,Z. ; Jonovic,M and Bjelakovic,B. (2009). Alkaline phosphatase activity in human milk during the first month of lactation, Acta Fac Med Naiss, 26(1) : 43-47.

Blackburn, MR.; Gao, X.; Airhart, MJ.; Skalko, RG.; Thompson. LF and Knudsen, TB. (1992) Adenosine levels in the postimplantation mouse uterus: quantitation by HPLC-fluorometric detection and spatiotemporal regulation by 5′-nucleotidase and adenosine deaminase. Dev Dyn, 194(2):155–168.

Blesson, C. S.; Masironi , B. and Sahlin, L.(2012). Effects of selective estrogen receptor agonists on estrogen receptor expression in the uterus of ovariectomized rats. J. of *M. and I. Phy.*,(2): 35-43.

Boreham, M. K.; Wai, C. Y.; Miller, R. T.; Schaffer, J. I. & Word, R. A. (2002) .Morphometric analysis of smooth muscle in the anterior vaginal wall of women with pelvic organ prolapse. *Am. J Obstet. Gynecol., 187(1)*:56-63.

Brien, J.; Martinson, H.; Durand – Rougely , C.; Schedin, P. (2012). Macrophages are crucial for epithelial cell death and adipocyte repopulation during mammary gland involution . *Development, 139(2):* 269 – 275. doi: 10. 1242/dev. 071696.

Brijesh, K. (2013). Histology: Text & Atias (Female reproductive system) , LiPpincott Williams & Wilkins: 284 288 .

Brisken, C.; Kaur, S.; Chavarria, T., Binart, N.; Sutherland, R.; Weinberg, R., Kelly, P. and Ormandy, C. (1999). Prolactin controls mammary gland development via direct and indirct mechanisms. Dev. Biol. 210: 96 – 106,(Medline).

Brisken, C and O'Malley, B . (2010), Hormone Action in the Mammary Gland. Cold Spring Herb. Perspect. *Biol*.,2:3178-3193.

Brisken, C. (2002). Hormonal control of alveolar development and its implications for breast carcinogenesis. J Mammary Gland Biol Neoplasia , 7 :39-48.

Brisken, C. and Rajaram , R.D. (2006) . Alveolar and lactogenic differentiation. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 11: 239 – 248 .

Brodowska, A.; Laszczynska, M.; Starczewski, A.; Karakiewicz, B. and Brodowski, J.(2007) . The localization of estrogen receptor alpha and its function in the ovaries of postmenopausal women. Folia Histochem. Cytobiol., 45 (4) : 325 – 330.

Burd, PR.; Rogers, HW.; Gordon, JR.; Martin, CA.; Jayaraman, S.; Wilson, SD.; Dvorak, AM.; Galli, SJ. and Dorf, ME. (1989). Interleukin 3- dependent and -independent mast cells stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. J. Exp. Med., 170: 245- 257.

Burnstock, G. (2007). Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission . Physiol Rev 87 (2) :659 – 797 .

Bustamant , A. ; Croxatto, H. ;Cardenas, H. & Orihuela, P. (2012). Diffrerntial participation of endothelin receptors in estradiol-Induced oviductal egg transport acceleration in unmated and Mated rats . Asian Pacific .J. Reproduc . ; (1) : 17 -21 .

Cadar, M.; Miresan , V.; Lujerdean, A. and Raducu, C. (2012). Mammary gland histological structure in relation with milk production in sheep . Journal of Animal *Science and Biotechnology* 45 : 3-5.

Caligioni, C.S. (2009). Assessing reproductive status/stages in mice. Curr Protoc Neurosci, Appendix 4: p. Appendix 4I.1-11.

Cao ,Y.; Mori ,S.; Mashiba ,T.; Westmore , M.; Ma,L.; Sato,M.; Akiyama ,T.; Shi ,L. ; Komatsubara , S. ; Miyamoto ,K . & Norimatsu , H. (2002). Raloxifene ,Estrogen , and Alendronate Affect the processes of Fracture Repair Differently . in Ovariectomized Rats .J . *Bone & Mineral Research .; (17):*2237-2246.

Capecch , M. R.(2005). Gene targeting in mice : functional analysis of the mammalian genome for the twenty- first century. Nat. Rev. Genet.. 6: 507- 12.

Capen, C. C. (1983). Functional and pathologic interrelationships of the pituitary gland and the hypothalamus. In *Monographs on Pathology of Laboratory Animals: Endocrine System* (T. C. Jones, Mohr, U., Hunt, R.D. , Ed.), pp. 101-120. Springer-Verlag, Berlin.

Capuco, A. V. & Akers, R.M. (2009). The origin and evolution of lactation. J. *of biology*, 8, :.37-42 .

Carson , F.L. and Christa, H. (2009) . Histotechnology : a self – instructional text 3rd ed. Hong Kong : American Society for Clinical Pathology Press. 137 – 139 .

Chan, HC.; Liu, CQ.; Fong, SK.; Law, SH.; Wu, LJ.; So, E.; Chung ,YW.; Ko, WH. and Wong, PY. (1997). Regulation of Cl-secretion by extracellular ATP in cultured mouse endometrial epithelium. *J. Membr. Biol.*, 156(1):45–52.

Chang, SJ.; Tzeng, CR.; Lee, YH. and Tai, CJ .(2008). Extracellular ATP activates the PLC/PKC/ERK signaling pathway through the P2Y2 purinergic receptor leading to the induction of early growth response 1 expression and the inhibition of viability in human endometrial stromal cells. Cell Signal 20(7):1248–1255.

Charles, G. ; Nicholase, J.; Margrate, A. and Peter, J. (1996). Essential physiology. (3rd Ed.). Blackwell since Ltd Editorial offices, PP: 1 – 13 .

Charlton, H. (2008) .Hypothalamic control of anterior pituitary function : a history. *J Neuroendocrinal* . 20: 641-646 .

Chauhary, V. and Bano, S. (2011). Imaging of the pituitary : Recent advances, Indian J *Endocrinal Metab 15* (Supp13) : S216 – S223.

Chen, C.C.; Stairs, D.B.; Boxer, R.B.; Belka G.K.; Horseman, N.D.; Alvarez, J.V. and Chodosh, L. A. (2012) Autocrine prolactin induced by the Pten-Akt pathway is required for lactation initiation and provides a direct link between the Akt and Stat5 pathways. *Genes Dev 26(19*):2154–2168.

Childs, GV.(1991). Multipotential pituitary cells that contain adrenocorticotropin (ACTH) and other pituitary hormones. Trends Endocrinol Metab. 2(3): 112-117.

Childsm G. V.; Unabia, G. and Rougeau, D. (1994) .Cells that express luteinizing hormone (LH) and follicle – stimulating hormone (FSH) B – subunit messenger ribonucleic acids during the estrous cycle : the major contributors contain LHB, FSHB, and / or growth hormone. *Endocrinology*, 134 , 990 – 997.

Chilton ,B.S. and Daniel, J.R. (1987). Differences in the rabbit uterine response to progesterone as influenced by growth hormone or prolactine, J.Reprod.Fert.79:581-587.

Christian, C.; and Moenter, S. (2010) . The Neurobiology of preovulatory and Estradiol – induced Gonadotropin – Raeleasing Hormone Surges . Endocrine. Rev 31 : 544 – 577.

Christian, F.; Holinka, H.; Hiroki, L.; Hata, N.; Hiroyuki, K. and Erlio, G. (1986). Effects of Steroid Hormones and Antisteroids on Alkaline Phosphatase Activity in Human Endometrial Cancer Cells (Ishikawa Line). Cancer Research . 46: 277I – 2774.

Chuang, N.N.(1987). Alkaline phosphatase in human milk: a new heat-stable enzyme. *Clin*.Chim., 169:165-174 .

Cobb, SP. and Watson, ED. (1995) An immuno histochemical study of immune cells in the bovine endometrium at different stages of the oestrous cycle. Res Vet Sci 59(3): 238-241.

Colston, K.; Hadcocks, L. & Cleeve, H. (1988). Comparing of AKP activity in normal, lactating and neoplastic rat mammary tissue. Comp. Biochem. Physiol., 89 (4): 709-713.

Conneely, OM.; Mulac-Jericevic, B.; DeMayo, F.; Lydon, JP. and O'Malley, BW. (2002). Reproductive functions of progesterone receptors. Recent Prog Horm Res , 57:339-355.

Conneely, O. and Otto, C. (2007). Progestins and the Mammary Gland. New York: Library of Congress Control.5:233-24

Cox, L. and liu, J. H. (2014) . Primary ovarian insufficiency : an update . Int .J .Womens Health. 6: 235 – 243.

Crop , B.A .;Yamada ,A.T. and Adamson , S.L. (2014). The Guide to Investigation of Mouse Pregnancy . 1st ed , Academic Press :832.

Dawson, F.LM. (1959) The normal bovine uterus, physiology, histology and bacteriology. Vet Rev Annot 5: 73-89.

Dessauge, F.; Finot, L.; Wiart, S.; Aubry, J. and Ellis , S.E. (2009). Effects of Ovariectomy in Prepubertal goats . J . of *Physiology and Pharmacology* , *60* (3): 127 – 133 .

Dimitriadis, E.; White, CA.; Jones, RL. and Salamonsen , LA. (2005). Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation . Human. Reprod . Update. 11 : 613 – 630 .

Döcke , F. (1994) . Veterinär medizinische Endokrinologie . (3rd end) , Gustav Fischer, Stuttgart, Germany, pp. 399 – 498 .

Drummond, A.E.; Baillie, A.J. and Findlay, J.K. (1999) . Ovarian estrogen receptor alpha and beta Mrna expression :Impact of development and estrogen . Mol. Cell. Endocrinal ., 1449(1-2) :153 -161 .

Drury, R.A.B. and Wallington, E.A. (1980). Carbohydrates and mucosubstances. In: Carleton's Histological Techniques. Drury R A B and Wallington E A (Eds.). 5th edition. Oxford, New York Toronto. Oxford University Press. 232 - 259.

Dungan, H. and Cliflon, D.(2006). Minire view: Kisspeptin neurons as central proessors in the regulation of gonadotropin – releasing hormone secretion . Endocrine., 147(3) : 1154 – 1158.

Edward ,J.; Wagner , O. ; Ronnekleiv , M. & Martin , J. (2001).Estrogen Biphasically Modified hypothalamic GABAergic Function Concomitantly with Negative and positive control of Luteinizing hormone Release . J. Neuro. 21(6) :2085-2093.

Elisabet, A.; August, V.; Benjamín ,T. E . ; Maria del, R. T. ;Jordi, P.; Inmaculada, G.; de, A.; Jean, S.; Enric, C. and Mireia, M. S.(2013). Ecto-nucleotidases distribution in human cyclic and postmenopausic endometrium. Purinergic Signalling 9:227–237.

Ellmann, S.; Sticht, H.; Thiel, F.;, Beckmann, M W.; Strick, R. and Strissel, PL . (2009). Estrogen and progesterone receptors: from molecular structures to clinical targets. Cell Mol Life Sci . 66: 2405 – 2426.

Enmark, E.; Pelto-Huikko, M.; Grandien, K.; Lagercrantz, S.; Lagercrantz, J.; Fried, G.; Nordenskjold, M. and Gustafsson J-A. (1997). Human estrogen receptor β-gene structure, chromosomal location and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metab* , 82:4258-4265.

Espejel, MC. and Medrano, A. (2017). Histological Cyclic Endometrial Changes in Dairy Cows: An Overview. Dairy and Vet Sci J 2(1):1-3.

Esther, V. P. (2003). Reproductive tract of the female rabbit. Ph.D. Thesis. Switzerland.

Eurell, J.A. and Frappier, B. L. (2006). Female reproductive system. In: Dellmanns textbook of veterinary histology. 6th ed. Ames, Iowa, USA, Blackwell publishing, Pp: 256-278.

expression in the apical plasma membrane of rat uterine epithelial cells during implantation. Cell Calcium 31(5):201–207.

Fahey, J. V.; Schaefer, T. M. & Wira, C. R. (2006). Sex hormone modulation of human uterine epithelial cell immune responses. *Integr.Comp. Biol., 46(6)*:1082-7.

Fatemeh, P.; Mojdeh, S.; Mehdi, F.M.; Mojtaba, R.V. and Ebrahim, H.(2008). The changes in morphology and morphometrically indices of endometrium of ovariectomized mice in response to exogenous ovarian hormones. Iranian J. Reprod. Med., 6: 125-131.

Fawcett, D.W. and Jensh, R.P. (2002). Female reproductive system. In: Bloom and Fawcetts Concise histology. 2nd (ed). London, Arnold Publishers. Pp: 283-296.

Feldman, M.; Ruan, W.; Tappin, I.; Wieczorek, R. and Kleinberg D. L. (1999) . The effect of GH on estrogen receptor expression in the rat mammary gland. J. Endo., 163:515–522.

Feng, Y. (2007) . Mechanism of estrogen receptor – alpha action and the conseguence of its conditional deletion on mammary gland development and function. Ph.D. Thesis, University of Cincinnati, College of Medicine, USA.

Ferin, M. (2008). The Hypothalamic – Hypophyseal – Ovarian Axis and the Menstrual Cycle. Glob libr women's med ISSN : 1756 – 2228 ; DOI 10.3843/ Glowm,10283.

Findlay , J .K.; Kerr, J. B.; Britt, K.; Liew, S . H. and Simpson, E. R.; Rosairo , D. and Drummond, A . (2009). Ovarian Physiology : follicle development ,oocyte and hormone relationships Australia . *Anim. Reprod* ., *6*(1) : 16 -19 .

Fleming, H.; Begley, M.; Campi, T.; Condon, R.; Dobyns, K.; McDonagh, J. and Wallace, S . (1995). Induction of heat labile alkaline phosphatase by butyrate in differentiating endometrial cells. *J.* Cell. Biochem., 58: 509- 516.

Forster , C.; Makela, S.; Warri, A.; Kietz, S.; Becker, D.; Hultenby, K.; Warner, M. and Gustafsson, J.A. (2002) . Involvement of estrogen receptor beta in terminal differentiation of mammary gland epithelium . Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of Amerrica ., 99 : 15578 – 15583 **.**

Fox, P and Kelly, A(2006). Indigenous enzymes in milk: overview and historical aspects-Part 2, Review, International *Dairy Journal*, 16 :517-532.

Freeman, M.; Kanyicska, B.; Lerant, A. and Nagy, G. (2000). Prolactin: Structure, Function and Regulation of Secretion : Physiological Reviews, 80 (4) : 1523 – 1631.

Fukushima, A.; Yin, P.; Ishida, M.; Sugiyama, N. and Arita, J. (2006). Pup removal suppresses estrogen-induced surges of LH secretion and activation of GnRH neurons in lactating rats" Journal of Endocrinology 191:339–348.

Galigher and Kozoloff, P. F. (1964). Essential practical microtechniqu . Lea and Febiger, Philadelphia pp : 41 – 44 .

Ganong, W. F. (2003). The gonads: Development and function of the reproductive system, the Hypothalamus and pituitary gland in: Review of medical physiology, 21st ed. Alange medical books Mc Graw-Hill, New York.(4): 320-451.

Ganong. W. F. (2005) . The gonads : Development and function of the reproductive system In : Review of Medical Physiology . Ganong. W.F. (ed.). 21 ed., Appleton and Lange , New York. Pp. 508 -517 .

Gardner, D. G. and Shoback, D. M.(2018), Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology, Tenth Edition (Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology) 10th Edition. 92: 869.

Garner, LL. and Blake, Ch .A. (1981). Ultrastructural, immunocytochemical study of the LH secreting cell of the rat anterior pituitary gland: changes occurring after ovariectomy. Biology of Reproduction.

Gartner, L.P. and Hiatt, J.L. (2014). Color Atlas and Text of histology.6th ed. Saunders Elsevier.

Gillman, TA. and Pennefather, JN. (1998). Evidence for the presence of both P1 and P2 purinoceptors in the rat myometrium. Clin Exp *Pharmacol Physiol* 25(7–8):592–599.

Gorodeski, GI. and Hopfer, U. (1995). Regulation of the paracellular permeability of cultured human cervical epithelium by a nucleotide receptor . J Soc Gynecol Investig 2 (5) : 716 – 720.

Grattan, D.; Jasoni, C.; Liu, X. and Anderson, G. (2007). Prolactin regulation of gonadotropin – releasing hormone neurons to suppress Luteinizing hormone secretion in mice . Endocrine., 148: 4344 – 4351.

Greaves , P. (2007) .Endocrine glands In Histopathology of preclinical toxicity studies , *Academic* Press pp . 782-795 .

Green, C.E.; Bredl, J.; Holt, W.V.; Watson, P.F. and Fazeli, A. (2009). Carbohydrate mediation of boarsperm binding to oviductal epithelial cells in vitro. Reprod., 122 : 305 – 315.

Guyton, A.C. and Hall, J.E. (2016). Text book of Medical Physiology. 13th ed.. Saunders co. Elsevier, U.S.A.921-938.

Hadley, M. E.(2000) .Endocrinology Fifth edition, Prentice-Hall, Inc. USA.

Hafez, E.S. & Hafez, B. (2000). Hormones , growth factors an reproduction . In : Reproduction in farm Animals . Hafez , E.S.E. and Hafez , B. (eds), 7th ed .lippincott Williams and Wilkins , awolte kluwer co. Philadelphia . pp:31-55.

Haidong , L.; Fang, Yu.; Zhihong, T. and Zaiguo H. (2011). Effect of Cistanches H ERBA Aqueous Extract on Bone Loss in Ovariectomized Rat., 25: 361 – 371.

Hall, J. and McDonnell, D.(1999). The estrogen receptor β-isoform (ERβ) of the human estrogen receptor modulates ER α transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. *Endocrinology* , 140:5566-5578.

Hamed, G. M.; Bahat, N. M.; El-Agate, S. M.; Soliman, G. ZA. & Emara, M. M. (2010) . Effect of asoy bean protein diet on Ovarectomised females lbino rats subjected to myocardial Infarction . Singrpore . *Med. J*. 51(10): 781 – 789.

Hansen, L. (2006). Gomori rapid one step trichrome stain ; origin : Am. J. Clin. Pathol. 1950 , 20: 661 -63. .

Harris, L. K. and Aplin, J. D. (2007). Vascular remodeling and extracellular matrix breakdown in the uterine spiral arteries during pregnancy. *Reprod Sci,* 14: 28 -34.

Hartmann , P.E. (2007). The lactating breast : An overview from down under . Brewstfeed Med 2 : 3 – 9 .

Hassiotou , F. and Geddes , D. (2013). Anatomy of the Human Mammary Gland : Clinical *Anatomy* 26 (1) : 29–48.

Hassiotou, F.; Metzger, P.; Trengove, N.; Tat Lai, C.; Filgueira, L. and Hartmann P.E. (2012). The immunological cellular and biochemical contents of breast milk respond to maternal or infant infections . In Minisymposium on Lactation: Biology of milk production and secretion, San Diego, USA.

Heldring , N.; Pike, A.; Andersson, S.; Matthews, J.; Cheng, G.; Hartman, J.; Tujague, M.; Strom, A.; Treuter, E. and Warner, M. (2007) .Estrogen receptors : how do they signal and what are their targets. *Physiol Rev.,* 87: 905 – 931.

Hendrson , J.; Oliveriar, D. and Parker, S. (2015) . Endocrinology .3th , Brit. Pp:233-242.

Hennry, J. B. (2001) . Clinical diagnosis and management . 20th ed., W. B. Saunders Company, pp: 288 – 296.

Henry, J. L.; Sasha, A. H.; Susan, M. G.; Dermot, G. M.; Roger, G. S.; Sarah-Louise, W. and Joseph, M. S. (2007). Female reproductive tract fluids: composition, mechanism of formation and potential role in the developmental origins of health and disease Reproduction, Fertility and Development, 20(1): 1–8.

Hickey , M. ; Davis, SR . & Sturdee ,DW. (2005) . Treatment of menopasual symptoms : what shall we do now ? .Lancet .366 : 409-421.

Høegh-Andersen, P.; Tanko, L.B.; Andersen, T.L.; Lundberg, J.A.M.; Heegard, a.-m.; Delissé, J.-M. and Christgau, S.(2004). Ovariectomized rats as amodel of postmenpausal osteoarthritis: validation an application.Arthis. Res.Ther.,6(2): R169-R180.

Holland, MB. and Roy, D.(1955) . Estrone-induced cell proliferation and differentiation in the mammary gland of the female Noble rat. Carcinogenesis, 1995; 16: 1955-61.

Homeida A.M.; Al-Eknah, M.M.; Althnalan,T.A.; Al-Haider, A.K.; Al-Bokhadaim, I.F. and Al-Mubarak, A.I. (2010). Effect of reproductive status,ovariectomy and sex steroid administration on estrogen and progesterone receptors in the uterus of camel .Rese.*J.Pharmacol*.4(1):5-8.

Hovey, R. C.; Trott, J.F. and Vonderhaar, B.K. (2002). Establishing a framework for the function mammary gland : from endocrinology to morphology . J. Mamm. Gland Biol. Neopl, 7(1): 17 – 38.

Hutchings, G.; Gevaert, T.; Deprest, J.; Nilius, B.; Williams, O. and Ridder, D.(2009) . The effect of extracellular adenosine triphosphate on the spontaneous contractility of human myometrial strips. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol., 143(2) : 79 – 83 .

Iz- Aldeen , I.Y. and Rasmi, A. J.(2016). Histochemical study of the uterus in local rabbit (Lepus cuniculus) during early Implantation period .Bas.J. *Vet. Med., Vol* 16 (1) 243-252.

Jeacock, M. K.; Morris, N. F. and Piester, J. A. (2005). The activity of alkaline and acid phosphotase in the human placenta. An Inter. J. Obster. *Gyneco*l., 70, 267 – 273.

Jiang, X.; Liu, H.; Chen, X. and Sriaman, V. (2012) . Structure of Follicle – stimulating hormone in complex with the entire ectodmain of its receptor . Proc. Acad. Sci., 109(3): 1241 – 1256.

Jiang, J.M.Y.; Sacco, S.M. and Ward, W.E.(2008). Ovariectomy-Induced hyperphagia dose not modulate bone mineral density or bone strength in rats[1´2].J.Nutr.,138: 2106-2110.

Johnson, M. L.; Redmer, D. A. and Reynolds, L. P. (1997) . Effects of ovarian steroids on uterine growth , morphology and cell proliferation in ovariectomized, steroid – treated . *Biol. Reprod*. 57: 588 – 596.

Johnson, M.H. and Everitt, B.J. (2000). Essential Reproduction. UK: Blackwell Science Ltd. 47–71.

Josh , P.A.; Jackson, H.W. and et al. (2010). Progesterone induces adult mammary stem cell expansion. Nature 465(7299): 803–807.

Junqueira , L.C. and Carneiro , L.(2005) . Basic Histology text & atlas . 11th ed., The Mc Graw-Hill companies. : 435-450 .

Katica, A.; Mlaco, N.; Hamamdzic, M.; Varatanovic, N. and Cengic B. (2012). Comparative description of the mammary gland of dubska pramenka during the dry period and lactation, Biotechnology in *Animal Husbandry* 28: 723-732.

Katzenellenbogen , J.A. and Katzenellenbogen, B. S. (1996). Nuclear hormone receptors : Ligand activated regulators of transcription and diverse cell responses. Chem. Biol., 3(7) :529 – 536.

Katzenellenbogen, B. S. and Norman, M. J. (1990). Multihormonal regulation pf the progesterone receptor in MCF- 7 human breast cancer cells : interrelationships among Insulin / Insulin – like Growth Factor – I, serum and estrogen. *Endocrinology 126* : 891 – 898.

Kawasaki, K.; Lafont, A-G. & Sire, J. Y.(2011). The Evolution of Milk Casein Genes from Tooth before the Mammals. Molecular *Biology and Evolution, 28(7),* pp. 2053 – 2061.

Kelberman, D.; Rizzoti, K.; Lovell-Badge, R.; Robinson, I. C. A. F. & Dattani, M.T. (2009) . Genetic Regulation of Pituitary Gland Development in Human and Mouse. *Endocr. Rev 30* : 790 - 829 .

Kerksick , C. and Willoughby, D. (2005) . The antioxidant vole of glutathione and N – Acetyl –Cysteine Supplements and exercise – Induced oxidative strees . J. Int .Soc. Sports .Nutr. , 2(2) : 38-44.

Kharode, Y.P.; Sharp, M.C. and Bodine, P.V.N.(2008). Ovariectomized rat as a model for human osteoporosis in drug discovery. Meth. in Mol. Bio., 455: 111-124.

Kim , E. and Wyckoff, H. (1999) . Reaction mechanism of alkaline phosphatase based on crystal structures, Twomental Ion catalysis. J. Mol. Biol. 218(2): 449 – 464.

Kim, H. and Kwak, J. (2005) . Electrochemical determination of total alkaline phosphtase in human blood with micropatterened to film. J. Electro. Chem., 577: 243 – 248.

Kind, P.R.W. and King, E.G. (1954). Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine. J. Clin. Path., 7, 322-326

Kinder, J. E. ; Day, M.L. and Kittock, R.J. (1987). Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. *J. Reprod. Fertil. Suppl*., 34: 167-186.

Kleeman, S.D. and Silva, W.A. (2007) . Gynecologic anatomy .In : Sokol AI, Sokol ER, eds. The Requisites in Obstetrics and Gynecology : General Gynecology . Philadelphia, Mosby Elsevier , P : 87.

Knapczyk-Stwora, K.; Durlej, M.; Duda, M.; Czernichowska-Ferreira, K.; Tabeckaloncznska, A.; and Slomczynka, M. (2011) . Expression of oestrogen receptor α and oestrogen receptor β in the uterus of the pregnant swin . Reprod . Domest. Anim., 46(1) :1 – 7 .

Knobil, E., Neill, J.D. (1994). The pituitary and the hypothalamus. In *The Physiology of Reproduction*,Raven Press, New York.

Korach, K. S. (1994) . Insights from the study of animals lacking functional estrogen receptor. Science 266:1524–1527.

Koszalka, P.; Ozuyaman, B.; Huo, Y.; Alma, Z.; Ulrich, F.; Norbert, B.; Anja, B.; Ulrich, K. M. D.; Michael, L. S.; Jean, S.; Adrian, G.; Artur – Aron, W.; Andrei, M.; Zhaoping , D.; Christian, W.; Klaus, L.; Herbert, Z.; Axel, G. and Jurgen, S. (2008). Targeted distruption of cd73/Ecto – 5-Nucleotidase alters thromboregulation and augments vascular inflammatory response . J . Circ. Res., 95: 814 – 821.

Kuiper, G.G.; Calsson, B.; Grandien, K.; Enmark, E.; Haggblad, J.; Nilsson S. and Gustafsson, J.A. (1997) . Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta . Endocrinology , 138(3): 863 – 870.

Kumar, V.; Green, S.; Stack, G.; Berry, M.; Jin, JR. and Chambon, P.(1987). Functional domains of the human estrogen receptor. Cell, 51:941-951.

Kummer, V.; Zraly, Z.; Canderle, J. and Maskova , J.(1995). Light and scanning electron microscopy of endometriun of ovariectomized cows treated with oestradiol *Vet. Med*., 40 : 265 -271.

Lamote, I.; Meyer, E.; Massart- Leen, A.M. and Burvenich C. (2004) . Sex steroids and growth factors in the regulation of mammary gland proliferation , differentiation, and involution . Steroids. 69 : 145- 159.

Lane, D. E. (2006). Polycystic ovary syndrome and its differential diagnosis ,, Obstet. Gynecol. Surv.; 61 (2): 125 – 35.

Lawrence, R. A. and Lawrence, R. M.(2005). Breast feeding, A. Guid for the medical profession 6th ed. Elsevier *mosby, phila* P.A.P. 73 – 86.

Lee, Y.-B.; Lee, H.-J.; Kim, K.S.; Lee, J.-Y.; Nam, S.-Y.; Cheon, S.-H. and Sohn, H.-S.(2004). Evaluation of preventive effect of isoflavone extraction on bone loss in ovariectomized rats. Biosci.*Biotechnol*. *Biochem.*,68(5): 1040-1045.

Leiser, R. and Wille, KH. (1975). Alkaline phosphatase in the bovine endometrium and implantation. Anat. Embryol. (Berl). 148: 145-157.

Li, S.; Han, B.; Liu, G.; Li, S. ; Ouellet, J. ; Labrie , F. and Pelletier, G.(2010) . Immunocytochemical Localization of Sex Steroid Hormone Receptors in Normal Human Mammary Gland . J Histochem Cytochem . 58 (6) : 509 – 515 .

Liebich, HG. (2010) . Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel. (5th edn), Schattauer, Stuttgart, Germany: 335-338.

Likar, IN. and Likar, LJ. (1964) Acid mucopolysaccharides and mast cells in the bovine uterus at different stages of the sexual cycle. Acta Endocrinology 46: 493-506.

Lucy, MC.; Evans, TJ. and Poock, S. (2016) Lymphocytic foci in the endometrium of pregnant dairy cows: Characterization and association with reduced placental weight and embryonic loss. Theriogenology 86(7): 1711- 1719.

Macklon, NS. and Fauser, BC. (2005). Follicle – stimulating hormone and advance follicle development in the human.Arch Med Res. 32:595 – 600.

Maclean, P.; Giles, E.; Johnson, G.; McDaniel, S.; Fleming –Elder ,B.; Gilman ,K.; Andrianakos, A.; Jackman, M.; Shroyer ,K & Schedih , P. (2010) . A Surprising Link Between the Energertics of Ovariectomy- induced Weight Gain and Mammary Tumor progression in Obese Rats . Obesity 18 (4):696-703.

Maeda, K.; Tsukamura, H.; Uchida, E.; Ohkura, N.; Ohkura, S. & Yokoyama, A. (1989) . Changes in the pulsatile secretion of LH after the removal of and subsequent resuckling by pups in ovariectomized lactating rats. J. of *End.*, 121 277–283.

Magi, B.; Letta, F.; Romagnol, R.; Liberatori, S.; Pallini, V.; Bini, L.; Tripodi, A.; Cintorino , M.; Chellini, F.; Acuri, F.; De Felice, C. and Paulesu, L. (2002). Presence of macrophage migration in hibitory factor in human milk: evidence in aqueous phase and milk fat globules. Fedi. *Res*.. 51(5): 619-623.

Mallepell, S. ; Krust, A.; Chambon, P. and Brisken, C. (2006) . paracrine signaling through the epithelial estrogen receptor a is required for proliferation and morphogenesis in the mammary gland . Proc Natl Acad Sci., 103 : 2196 – 2201.

Mangal, A.; Shrivastava, P.; Gaur, U.; Jain, A.; Goyal, U. and Rath, G. (2005). Histochemical analysis of placental alkaline phosphatase in disorders complicating pregnancy. *J. Anat. Soc. India*, 54:28-33.

Mangelsdorf, D. ; Thummel, C.; Beato,M. ; Herrlich, P.; Schutz, G.; Umerono , K.; Blumberg , B. ; Kastner, P. ; Mark, M. and Chambon , P. (1995). The nuclear receptor superfamily : The second decade. Cell, 83: 834 – 839.

Martin, F.; Stein, T. and Howlin, J. (2017). Mammary Gland Development: Methods and Protocols Springer New York.

Marty, LM. and Feldbush, TL. (1993). Effect of anti-alkaline phosphatase monoclonal antibody on B lymphocyte function. Immunol Lett 38:87-95.

Marya, R.K. (2010) . Medical Physiology .3rd (ed.) CBS Publishers and Distributors Pvt Ltd. New Delhi, : 594 .

Masiero, S.; Ferasin, S.; Gerton, GL.; Moss, SB. and Williams, CJ. (2007). Effects of extracellular adenosine 5′-triphosphate on human sperm motility. Reprod Sci 14(7):655–666.

McClain, R.M.; Wolz, E. and Davidovich, A.(2007). Reprodutive safty studies with Genistein in rats. Food and chemical Toxicology, 45:1319-1332.

McEntee, K. (1990). Reproductive pathology of domestic mammals. (4th edn), Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 110-112.

Mcklveen, D. V. M. and Tori, K. (2002) .Evaluation of normal equine pituitary gland. The University of Blacksburg, Virginia.

McNally, S. and Martin, F. (2011) Molecular regulators of pubertal mammary gland development. *Ann Med 43(3)*:212–234.

Mescher, A. L. (2016) . Junqueira ’s Basic Histology Text and Atlas. India . Fourteenth Edition .Mc Graw Hill Companies, Singapore. : 483 – 488 . .

Mihm, M.; Gangooly, S. and Muttukrishna, S. (2011) .The normal menstrual cycle in women. *Anim Reprod Sci* 124(3–4):229–2362.

Minelli, A.; Liguori, L.; Bellazza, I.; Mannucci, R.; Johansson, B. and Fredholm, BB. (2004). Involvement of A1 adenosine receptors in the acquisition of fertilizing capacity. *J Androl* 25(2):286–292.

Mitrovića, M.; Zarića, D.; Drakulića, j.; Martinovića, M.; Stanojlovića, j.; Sévignybc, A. ; Horvata, N.; Nedeljkovićd, I. and .Grkovića, J. (2016). 17β-Estradiol upregulates ecto-5′-nucleotidase (CD73) in hippocampal synaptosomes of female rats through action mediated by estrogen receptor-α and –β. Volume 324, 2 June , Pages 286-296.

Miyoshi, H.; Yamaoka, K.; Urabe, S.; Kodama, M. and Kudo, Y. (2010) Functional expression of purinergic P2X7 receptors in pregnant rat myometrium. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 298(4): R1117–R1124.

Mödder, U.I.L.; Rigqs, B.L.; Spelsbergr, T.C.; Faser, D.G.; Atkinson, E.J.; Arnold, R. and Khosla, S.(2004). Dose-response of estrogen on bone versus the uterus in ovariectomized mice. European *J.Endocrin*., 151:503-510.

Mohamed, M. K. and Abdel – Rahman, A. A. (2000). Effect of long – term ovariectomy and estrogen replacement on the expression of estrogen receptor gene in female rats . Eur. J. Endo., 142 : 307 – 314.

Mollard, P.; Hodson, D. J.; Lafont, C.; Rizzoti, K. & Drouin, J. (2012) . A tridimensional view of pituitary development and function . Trends in *Endocrinology and Metabolism*, 23(6) , 261 – 269.

Monks, NJ. and Fraser, LR. (1988). Inhibition of adenosine-metabolizing enzymes modulates mouse sperm fertilizing ability: a changing role for endogenously generated adenosine during capacitation.Gamete Res 21(3):267–276.

Montgomery Rice, V.; Limback, SD.; Roby, KF. and Terranova, PF. (2003) . Differential responses of granulosa cells from small and large follicles to follicle stimulating hormone (FSH) during the menstrual cycle and acyclicity: effects of tumour necrosis factor- *J., Hum* Reprod 13:1285.

Mota, A.; Silva, P.; Nevers, D.; Calhau, C.; Lemos, C.; Torres, D.; Martel, F.; Fraga, H., Ribeiro, L., Alcada, M., Pinho, M., Negrao, M., Pedrosa, R., Guerreiro, S., Guimarães, J., Azevedo, I. and Martins, M. (2008) . Characterization of rat heart alkaline phosphtase isoenzymes and modulation of activity . Braz. J. Med. Biol. Res., 41(7) : 600 – 609.

Mulac-Jericevic, B. and Conneely, OM. (2004) . Reproductive tissue selective actions of progesterone receptors. Reproduction , 128 (20) : 129-146.

Murray, R.; Granner, D.; Mayes, P. and Rodwell, V.(2003). Harper's Illustrated Biochemistry, 26^{ed} . The McGraw-Hill Companies, Inc. United States.

Muslih , B. ; Mizil, Y. O. & Al – Nimer, M. S. (2001) . Detection The level of peroxynitrite, and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction. Nat. J. Chem. , (4) : 625-637.

Naylor, M.J.; Jason, A.L.; Nelson, D.H. and Christopher, J.O. (2003). Prolactin regulates mammary epithelial cell proliferation via autocrine/paracrine mechanism. Endo.. 20(1): 111-114.

Nelson, H. (2008) . Menopause . Lancet .371 : 760-770 .

Neville, MC. ; McFadden TB. and Forsyth, I . (2002) . Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion . J Mammary Gland *Biol Neoplasia 7 (1*): 49 – 66.

Nilsson, S. and Gustafsson, J. (2010) . Estrogen receptors : their actions and functional roles in health and disease . In Nuclear Receptors : Current.

Nishikawa, S.; Kagami, M.; Nagashima, T.; Masuda, H.; Asada, H.;Yoshimura, Y. and Maruyama, T. (2009) .The UDP-glucose receptor P2RY14 triggers innate mucosal immunity in the female reproductive tract by inducing IL-8. *J Immunol* 182(11):7074–7084.

Norman ,A.W. and Henry ,H.L.(2014). Hormones - 3rd Edition. (ed).chennail , India.

Novais, S.; Benetti-Pinto, C. and Garmes, H. (2015). Polycystic ovary syndrome and chronic autoimmune thyroiditis. *Gynecol Endocrinal*. Jan; 31 (1): 48 – 51.

Oakes, S; Hilton, H. and Ormandy, C. (2006). The alveolar switch: coordinating the proliferative cues and cell fate decisions that drive the formation of lobuloalveoli from ductal epithelium. Breast Cancer Res.,8.2:207-217.

O'Brien J, Martinson H, Durand-Rougely C, Schedin P (2012). Macrophages are crucial for epithelial cell death and adipocyte repopulation during mammary gland involution. Development 139(2):269–275.

Oftedal, O.T. (2013) . Origin and Evolution of the Major Constituents of Milk. In P. L. H. McSweeney & P. F. F. Fox, eds. Advanced Dairy Chemistry: Volume 1A: Proteins: Basic Aspects, 4th Edition. Boston, MA: Springer Science+Business Media New York, (2):1–42.

Oftedal, O. T. (2012). the Evolution of the milk secretion and its ancient origins . *animal*, 6(30), PP.355 – 368.

Oliveira, LJ. Mansourri-Attia, N.; Fahey, AG.; Browne, J. and Forde N, et al. (2013) Characterization of the The Profile of the Bovine Endometrium during the Oestrous Cycle and Early Pregnancy. PLoS One, 8(10): e75571.

Omara, E.A.; Shaffie, N.M.; Et-Touny, S.A. and Aal, W.A.(2009). Histomorphometric evaluation of bone tissue exposed to experimental osteoporosis and treated with *Retama eaetam* extract. J.Appl.Sci. Res. ,5(7):706-716.

Oner, H.; Oner, J.; Kukner, A. and Ozan, E. (2002). Effects of estrogen and/ or progesterone on the changes occurring in the uterine luminal epithelium of ovariectomized rats. *Acta Vet.*, 52 (2-3): 97-106.

Özen, A.; Abti, RN. and Kurtdede, N. (2002). Light and electron microscopic studies on mast cells on the bovine oviduct. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr., 109: 412-415.

Ozlu, T.; Gungor, A.C.; Donmez, M. E. & Duran, B.(2012). Use of progestogens in pregnant and infertile patents. Arch Gynecol Ostet., 286(2) : 495 – 503 .

Pang. W.W. and Hartmann, P.E. (2007). Initiation of human lactation: Secretory differentiation and secretory activation.. *J. Mamm. Glan.Biol. Neop*., 12:211-221. Abstract.

Parhizkar, S.; Ibrahim, R. and Abdul Latiff, L. (2008) . Incision choice in laparatomy :A comparison of two incision echniques in ovariectomy of rats .World Appl. Sci. J., 4(4) : 537 – 540. .

Parker, W. (2010) . Bilateral oophorectomy versus ovarin conservation : effects on lung – term woman's health. *J. Minim Invasive Gynecol.,* 17 (2) : 161 – 66.

Parker, W.; Jacoby , V.; Shoupe, D. and Rocca, W.(2009) . Effect of bilateral oophorectomy on women's long – term health. Womens health (Lond Engl) . (5) : 565 - 76.

Peaker, M. (2002). The mammary gland in mammalian evolution: A brief commentary on some of the concepts. Journal of Mammary Gland Biology and Neop., 7(3), pp.347–353.

Pearse, A. G. E. and Reis, J. L. (1951). The Histochemical Demonstration of a Phosphatase (5- Nucleotidase). Postgraduate Medical School , London, W. 12, 50: 531-535.

Pelekanou, E. and Leclercq , G. (2011) . Recent insights into the effect of natural and enviromenttal estrogens on mammary development and carcinogenesis Int. J. Dev . Biol., 55: 869 – 878.

Pessina, M. A.; Hoyt, R. F. Jr.; Goldstein, I. & Traish, A. M.(2006). Differential effects of estradiol, progesterone, and testosterone on vaginal structural integrity. *Endocrinology, 147(1)*:61-9.

Pierce , JG. (1988). Gonadotropins : chemistry and biosynthesis . In: The Physiology of Reproduction, Eds. E. Knobil and J. Neill, New York: Raven Press, pp. 1335 – 1348 .

Plant, T. M. (2008) . Hypothalamic Control of the pituitary – Gonadal Axis in Higher Primate Key Advances over the Last Two Decades. J. Neuroendo., 20: 719 – 726.

Pompei, LM.; Carvalho, FM.; Ortiz, SCBC. and et al. (2005). Morphometric evaluation of effects of two sex steroids on mammary gland of female rats. Maturitas , 51: 370-9.

Porter, J. C.; Sisoom J. F.; Arita, J. and Reymond M. J. (2008) . Hypothalamic – hypophyseal vasculature and its relationship to secondary cells of the hypothalamus and pituitary gland . Vitam. Horm., 40 : 145 – 167.

Posen, S. and Doherty, E. (2010). The measurement of serum alkaline phosphatasein clinical medicine. Adv. Clin. Chem., 22: 165.

Pratt, DS. (2010) . Liver chemistry and function tests. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, eds. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. 9th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier: chap 73.

Preston, R. and Wilson, E. (2017). Oral Contraception. A Clinical Guide for Contraception (4th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins. pp. 298–313.

Prossnitz, ER .; Arterburn , JB . & Sklar , LA .(2007) . GPR30 : A G protein- coupled receptor for estrogen . Mol . Cell . *Endocrinal* . 265 – 266 .

Purup. S.; Sejrsen, K. and Akers, RM. (1995). Effect of bovine GH and ovariectomy on mammary tissue sensitivity to IGF-I in prepubertal heifers. J. Endo., 144(1): 153-158.

Rastogi, S.C. (2005). Female reproduction. In: Essentials of Animal Physiology, 4th (ed). New Age International, New Delhi, Pp: 444- 448 .

Raubenheimer, E.J. (1987). The myoepithelial :Emberyology,Function and Proliferative aspects.CRC Critical Review in Clinical Laboratory Science, 25 (2):161-193.

Rawal, S. (2016). Comparative analysis of uterine biochemistry in rat treated with world – wide popularly used contraceptive . European Journal of Biotechnology and Bioscience. 1: 4 – 11.

Razi, M.1 ; Feyzi, S.1; Shamohamadloo, S.1; Najafi, G.1; Ensafi, A.1; Eyvari, Sh.1 and Peyrovi, T.(2010). Compensatory ovarian changes, mast cell distribution and luminal structure changes following unilateral ovariectomy in rats**.** Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University.11 (1): 28-37.

Reis, MJ.(1934). Nucleotidase and its relation to the deamination of nucleotides in the heart and the muscles. *Bull Soc Chim Biol*. 16:385–399.

Richer, JK.; Jacobsen, BM.; Manning, NG.; Abel, MG.; Wolf, DM. and Horwitz, KB . (2002). Differential gene regulation by the two progesterone receptor isoforms in human breast cancer cells *The Journal of biological chemistry* . 277: 5209-1809.

Ridder, D. (2009) . The effect of extracellular adenosine triphosphate on the spontaneous contractility of human myometrial strips. Eur *J*. Obstet Gynecol Reprod Biol 143(2):79–83.

Rieder, S. V. and Mirt, O. (1969) .A simplified procedure for the assay of 5- Nucleotidase . *J*. Clini. Chemi., 15(8): 727- 729 .

Rificia ,V. & Khachadurian, A. (1992). The inhibition of low density lipoprotein oxidation by 17-beta estradiol . Meta . Clin . Exper .; 41 :1110-1114.

Ristić, N.; Ajdžanović, V.; Manojlović-Stojanoski, M.; Maliković, J.; Uśćebrka, G.; Marković, Z. and Milošević, V.(2017). Effects of Estradiol on Histological Parameters and Secretory Ability of Pituitary Mammotrophs in Ovariectomized Female Rats. *Cell Journal.(Yakhteh*), Vol 19, No 3:461-468.

Rivera ,C. ; Grossardt ,B. ; Rhodes ,D. & et al .(2009). Increased cardiovascular mortality after early bilateral oophorectomy . Menopause .; 16 (1): 15-23.

Roser, J. F. (2008). Regulation of testicular function in the stallion : An intricate network of endocrine , paracrine and autocrine system. Anim. Reprod Sci. 107 : 179 – 196.

Ross , M.H. and Pawlina , W. (2016) . Histology A text and Atlas with correlated cell and molecular biology . 7th edition .Wolters Kluwer Health .

Ross, J.; Stefanatos, G.; Kushner, H.; Bondy, C.; Nelson, L.; Zinn, A. & Roeltgen, D. (2004) . The Effect of Genetic Differences and Ovarian Failure : intact Cognitive function in Adult Women with premature Ovarian Failure *Versus* Turner syndrome . *J. Clin Endocrnol & Metabol.* ; 89(4) : 1817 – 1822.

Russell, DL. and Robker, RL. (2007). Molecular mechanisms of ovulation : co-ordination through the cumulus complex . Hum Reprod Update . 13: 289 – 312.

Sagsoz, H.; Akbalik, M. E.; Saruhan, B. G. and Ketani, M.A.(2011). Localization of estrogen receptor A and progesterone receptor B in bovine cervix and vagina during the follicular and luteal phases of the sexual cycle. Biotech. Histochem., 86(4) : 262 – 271.

Salgado, R. M.; Capelo, L. P.; Favaro, R. R.; Glazier, J. D. and Aplin, J.(2009) . The estrous cycle modulates small leucine-rich proteoglycans expression in mouse uterine tissues. Anat.Rec., 292(1):138-53.

Samuelson , D. A. (2007). Textbook veterinary Histology, Saunders, imprint of Elsevers Inc., Pp : 459-464 .

Sánchez-Criado J.E.; Martín de las Mulas J.; Bellido, C; Navarro V. M. ; Aguilar, R.; Garrido-Gracia J. C. ; Malagón, M. M.; Tena-Sempere, V. and Blanco, V . (2006) . Gonadotropin-secreting cells in ovariectomized rats treated with different oestrogen receptor ligands: a modulatory role for ER_ in the gonadotrope). *J*. of Endo., 188, 167–177.

Santos, E.T.; Sampaio, M.D.D.; Cecon, P..R.; Simões, M.D.J.; Sartori, M.G.F. and Girão, M.J.B.C.(2010). Effects of soy isoflavones on the uterus and urethra of ovariectomized rats. *Int.Urogyneocol*.J.,21: 111-116.

Saruhan, B. G.; Özbağ, D.; Özdemir, N. and Gümüşalan, Y. (2006). Comparative Effects of Ovariectomy and Flutamid on Body-Uterus Weight and Uterine Histology in the Ovariectomized Rat Model . *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 13(4): 221-226 .

Schuh, SM.; Hille, B. and Babcock, DF. (2007) . Adenosine and catecholamine agonists speed the flagellar beat of mammalian sperm by a non-receptor-mediated mechanism. *Biol Reprod* 77(6):960–969.

Schulz, LC. (1991). Pathologie der Haustiere. Gustav Fischer, Jena, Germany, pp. 576-655.

Schwatz ,P. (1992). The role of prophylactic oophorctomy in the avoidance of ovarian cancer .Int .J. Gynaecol .Obster .;39(3): 175-84.

Selvan, RS.; Butterfield, JH. and Krangel, MS. (1994). Expression of multiple chemokine genes by a human mast cell leukemia. *J*. Biol. Chem., 269: 13893-13898.

Shahrooz, R.; Razi, M. and Babai, A. (2013). Histochemical study of river buffalo's uterine endometrium in follicular and luteal phases. Iranian *J. of Vet. Res*., Shiraz University, 14 (4): 320-326.

Sharman ,S.(2011). Prophylactic Bilateral Oophorectomy :Dose Benefits Out Weigh Risks. India .;13 (1):1-2.

Shelling AN. (2010). Premature ovarian failure. Reproduction. 140: 633 – 641.

Shen,Z.; Fahey, J.; Bodwell, J. ; Rodriguez-Garcia,M.; . Rossoll,R.; Crist,S.; Patel, M.and Wira, M.(2013). Estradiol Regulation of Nucleotidases in Female Reproductive Tract Epithelial Cells and Fibroblasts. 8 (7): 1-13.

Shi, S.; Key , M. and Kalra, K. (1991) . Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin embedded tissue : an anhancement method for immunohistchemical staining based on microwave oven heating of tissue sections . *J* . Histochem. Cytochem ., 394(6) : 741 – 748 .

Shuster, L. ; Gostout, B. ; Grossardt , B .& Rocca, W. (2008). Prophylactic oophorectomy in premenopasual woman and long –term health. Menopause . Int. ; 14(3) : 11-16

Simpson , ER. (2000). Role of aromatase in sex steroid action. *J Mol Endocrinol* 25 (2) : 149 – 156 .

Skafar, D. F. and Zhao, C. (2008) . The multifunctional estrogen receptor – alpha F domain . Endocrine , 33 (1) : 1 – 8 .

Skibiel, A.L. ; Finney, S.C. and Gibbard, P. L. (2013). The evolution of the nutrient composition of mammalian milk. J. of Anim. Ecol., 82 (6), pp. 1254 – 1264.

Skjerven, O. (1956). Endometrial biopsy studies in reproductively normal cattle; clinical, histochemical and histological observations during the estrous cycle. Acta Endocrinol 22(Suppl 26): 1-101.

Slater, M.; Murphy, CR. and Barden, JA. (2002). Purinergic receptor expression in the apical plasma membrane of rat uterine epithelial cells during implantation. Cell Calcium 31(5):201–207.

Smith, S.M. (1978). The relative contribution of suckling and prolactin to the inhibition of gonadotropine secretion during lactation in the rat .*Biology of Rep.*

Sokol, E. (2011). Clinical anatomy of the uterus, Fallopian tubes, and ovaries Glob. libr. Women's Med., 2: 672-673.

Sominski, A.; Tobin, D. J.; Shhibahara, S. & Wortsman, J. (2004). Melanin Pigmentation in Mammalian Skin and Its Hormonal Regulation. Physiol. Rev., 84 : 1155 -1228.

Souvannavong, V.; Brown, S.; Sarih, M. and Adam, A.(1994). Expression and visualization during cell cycle progression of alkaline phosphatase in B lymphocytes from C3H / HeJ mice. Journal of leukocyte Biology Volume 55 : 626 – 632 .

Steinberg, MS. and McNutt, PM .(1999). Cadherins and their connections: adhesion junctions have broader functions. Curr Opin Cell Biol , 11 (5): 554-560.

Sternlicht, M. D. ; Kouros – Mehr, H.; Lu, P. and Werb, Z. (2006). Hormonal and local control of mammary branching morphogenesis . Differentiation 74(7): 365 – 381 .

Stevenson, J.S.; Cox, N.M. and Rritt, J.H.(1981). Role of the ovary in controlling luteinizing hormone, Follical stimulating hormone and prolactin secretion during and after lactation in pigs . *Biology of Rep*.24:341-353.

Strater, N. (2006) . Ecto – 5' nucleotidase : Structure function relationships. Purin. Sign., 2 : 343 – 350 .

Suckow, M.A. and Scroeder , V. (2010) . The laboratory Rabbit, 2nd ed ., CRC press Taylor and Francis grope , *Indoiana U.S.A*

Sugino, N.; Suzuki, T. and Sakata, A. (2005). Angiogenesis in the human corpus luteum: changes in expression of angiopoietins in the corpus luteum throughout the menstrual cycle and in early pregnancy. *J* Clin Endocrinal Metab. 90: 6141 -6148.

Suvarna , S.K. ; Lyaton , C. and Bancroft , J. D. (2013) . Bancroft 's Theory and practice of histological technique . Seven ed. Elsevier Limited, China. Xiv- 604.

Tabibzadeh, S. (1998). Molecular control of the implantation window. Hum Reprod Update 4(5):465-471.

Tad – Urai, N. and Sookvanichsilp, N. (2007). Bone Density and Morphology of Mammary Glands of Ovariectomized Rats Treated with Combined Raloxifene and Alendronate. Mahidol University J. of *Pharmaceutical Sciences* . 34 (1-4): 47-52.

Takayama, T.; Matsubara, S.; Shibahara, H.; Minakami, H.; Takizawa, T. and Sato, I. (2000). Ultracytochemical localization of 5′-nucleotidase activity in human ejaculated spermatozoa. *Int J Androl* 23(2):106–108.

Tamm, K; Suhorutshenko, M; Room, M; Simm, J. and Metsis, M. (2012) . Steroid –basic science steroid hormones ..intech, Open Access Publisher. Tallinn University of Technology , Faculty of Science, Center for Biology of Integrated System.

Traish, A. M. (2004) . Effects of ovariectomy and steroid hormones on vaginal smooth muscle contractility. *Int. J. Impot. Res.,16(1)*:43-50.

Tsuang, Y.-H.; Chen, L.-T.; Chiang, C.-J.; Wu, L.-C.; Chiang, Y.-F.; Chen, P.-Y.; Sun, J.-S. and Wang, C.-C.(2008). Isoflavones prevent bone loss following ovarietomy in young adult rats. *J.*Orthopaedic surg. and Res., 3(12): 1-9.

Tug, N.; Celik, H.; Cikim, G.; Ozcelik, O. and Ayar, A. (2006). The correlation between plasma homocystine and malondiadehyde levels in preeclampsia. Neuroendocrinolgy Letters., 24 (6) : 445 – 448.

Ubilla, E.; Rebollar, P. G.; Pazo, D.; Esquifino, A. & Alvariño, J. M. R. (2000). Effects of doe-litter separation on endocrinological and productivity variables in lactating rabbits. Livest. Prod. Sci., 67(1-2):67-74.

Ünsal, F. and Sönmez, M., F. (2014). The effects of Ovariectomy on Ghrelin Expression in the Rat Uterus . Adv *Clin Exp Med 23*: (3) 363–370 .

Urashima, T.; Fukuda, K. & Messer, M. (2012) . Evolution of milk oligosaccharides and lactose: a hypothesis. animal, 6(03), pp.369–374.

Vadakkadath, M. S. & Atwood, C. S. (2005). The role of hypothalamic – Pituitarygonadal hormone in the normal structure and functioning brain .Cellular and Molecular Life Sciences. 62, 257 – 270.

Valko, M. ; Leibritz , D. ; Moncol, J. ; Cronin, M. ; Mazur, M. and Telser, J. (2007) . Free radicals and anyloxidants in normal physiological functions and Human disease .Int. J.Biochem. Cell Biol. , 39(1):44-84.

Van Keymeulen, A.; Rocha, AS.; Ousset, M.; Beck, B.; Bouvencourt, G.; Rock, J.; Sharma, N.; Dekoninck, S . and Blanpain, C. (2011) . Distinct stem cells contribute to mammary gland development and maintenance. *Nature 479*:189–193.

Vasudevan, K. and Sztein, JM.(2011). Treatment of sperm with extracellular adenosine 5′-triphosphate improves the in vitro fertility rate of inbred and genetically modified mice with low fertility. Theriogenology 76 (4):729–736.

Vegeto, E.; Shahbaz, MM.; Wen, DX.; Goldman, ME.; O'Malley, BW. and McDonnell, DP. (1993) . Human progesterone receptor A form is a cell and promoter-specific repressor of human progesterone receptor β function. Mol Endocrinol , 7: 1244-1255.

Velayudhan, B. T.; Huderson, B. P.; McGilliard, M. L.; Jiang, H.; Eill, S. E. and Akers, R. M. (2012). Effect of staged ovariectomy on measures of mammary growth and development in prepubertal dairy heifers. *Animal*, 6, 941 – 951.

Vinci, A.; Bacci, B.; Benazzi, C.; Caldin, M. & Sarli, G.(2010). Progesterone receptor expression and proliferative activity in uterine tumours of pet rabbits. *J. Comp. Path., 142(4)*:323-7.

Virant-Klun, I.; Rozman, P.; Cvjeticanin, B.; Vrtacnik-Bokal ,E.; Novakovic, S.; Ruelicke ,T.; Dovc ,P. & Meden-Vrtovec , H. (2007) . Parthenogenetic Embryolike Structures in the Human Ovarian Surface Epithelium Cell Culture in Postmenopasual Women with No Naturally present Follicles and Oocytes . (Accepted for publication). Stem cells & Development .

Wang, J.; Kevin, W.; Brandon, B. and Chung – Chiun, L . (2009). The detection of Alkaline phosphtase using an electrochemical biosensor in a single step approach. Sensor., 9: 8709 – 8721.

Wang, CK.; Robinson, RS.; Flint, AP. And Mann, GE. (2007) .Quantitative analysis of changes in endometrial gland morphology during the bovine oestrous cycle and their association with progesterone levels. Reproduction 134(2): 365-371.

Wang, XF. and Chan, HC. (2000). Adenosine triphosphate induces inhibition of Na(+) absorption in mouse endometrial epithelium: a Ca (2+)-dependent mechanism. *Biol Reprod* 63(6):1918–1924.

Warren, M.P. and Stiehl, A.L. (1999) Exercise and female adolescents: effects on the reproductive and skeletal systems. Journal of the American Medical Women's Association 54 (3), 115-120.

Watson, C. J. and Khaled, W. T. (2008) . Mammary development in the embryo and adult : a journey of morphogenesis and commitment. Development 135, 995 – 1003.

Weber, AF.; Morgan, BB. and McNutt, SH. (1950) Tissue mast cells in the virgin bovine uterus during the estrous cycle. Cornell Veterinarian 40: 34-38.

Weihua, Z.; Andersson, S.; Cheng, G.; Simpson, E.R.; Warner, M. and Gustafsson, J.A. (2003). Update on estrogen signaling. Elsevier Sci., 546:17-24.

Weitzmann ,M. & Pacifici ,R. (2006). Estrogen deficiency and bone loss :an inflammatory tale . J.Clin .Invest.;116 (5):1186-1194. .

Wen, S. (2010) . genetic labeling and function characterization of GnRH target cells in the house mouse Mus musculus (Linnaeus,199758) Hamburg. Child.

Wiehel, R.; Lantvit, D.; Yamada, T. and Christov, K. (2011). Progesterone receptor modulator, inhibits mammary carcinogenesis by suppressing cell proliferation and inducing apoptosis. Cancer Prev Res (Phila) 4, 414 – 424.

Worley, M. and Welch, R. (2013). Endometriosis – associated ovarian cancer a review of pathogenesis . International *Journal of Molecular Sciences,* 14(3): 67 – 79.

Yart, L.; Dessauge, F.; Finot, L.; Barbey, S.; Marnet, P. G. and Lollivier, V. (2012). Ovariectomy improves lactation persistency in dairy cows , *J Dairy Sci*. 95: 3794 – 3802.

Yen , S.; Jaffe , R. and Barbieri , R. (1999). Reproductive endocrinology .4th ed . Philadelphia:Saunders . 110 -133 ;301 -319;751-784.

Yorio, M.; Adela, S.; Elizabeth, S. and Jose, M.(2000). Alkaline phosphtase isoenzymes for the diagnosis of metastatic tumors and lymphoma as of liver and one. Med., 60:311-315.

Youshino, T.; Hiroyuki, S. and Hiroshi, N. (1980). Ciliation in endometrial epithelium of the rabbit following ovarioctomy. Department of Animal science, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan. Pp: 301-302.

Young, J.M. and McNeilly, A.S. (2010). Theca: the forgotten cell of ovarian follicle. Pub Med. *Reprod*. 140 (4) : 489 – 504.

Zang, L.; Buchet, R. and Azzar, G .(2004). Phosphate binding in the active site of alkaline phosphatase and the interactions of 2-nitrosoacetophenone with alkaline phospatase- induced small structural changes . *Biophys*., J. 86: 3873 – 3881.

Zimmermann, H.; Zebisch, M. and Strater, N. (2012). Cellular function and molecular structure of ecto-nucleotidases. Purinergic Signal 8(3):437–502.

Zwijsen, RM.; Wientjens, E.; Klompmaker, R.; van der Sman, SJ.; Bernards, R. and Michalides, RJ. (1997) . CDK-independent activation of estrogen receptor by cyclin D1.Cell ; 88(3): 405-415.

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Kerbala

College of Education for Pure Sciences

Department of Biology

Study histological and physiological effects of Ovariectomy on pituitary, uterus and mammary gland in local rabbits.(*Oryctolagus cuniculus*)

A Thesis

Submitted to the College of Education for Pure Sciences - Kerbela University as a Partial Fulfillment for the Requirements of the Degree Doctor of Philosophy of Science in Biology (Zoology)

By

Ashwaq Kadhem Obeid

M. SC. Biology- Kofa University.

Supervised by

Assist Professor Dr. **Sinaa Jaboury Al-Bazii**

Professor Dr. **Wefaq Jaboury Al-Bazii**

1440 A.H. **2019 A.D.**

Abstract

This study aimed to investigate the effect of bi- and uni- lateral ovariectomy on mammary gland, uterine tissues and pituitary gland in female rabbits *Oryctolagus cuniculus*. Forty eight animals were divided randomly into two groups, one of them at virgin stage and anther at lactating stage. Each group subdivided into four groups (control(sham)) the first group , second one (bilateral ovariectimized) group ,the third and fourth groups (left and right unilateral ovariectomized) respectively , (6 rabbits in each group). Thereafter, the animals were sacrificed after a month of operation to provide mammary, uterine and pituitary tissues for the histological, histochemical ,imunohistochemical and morphometrical studies .

Blood samples were collected for biochemical tests including Estrogen , Progesterone , Prolactin , Follicle stimulating and Luteinizing hormones concentration and LH hormons concentration in pituitary tissue, Malondialdehyde and Reduced Glutathion in serum .The Alkaline phosphatase and 5 – Nucleotidase in mammary and uterus tissue. The following results were obtained:

- Histological section with hematoxylin and eosin stain of mammary gland in bilateral ovariectomy of virgin animals revealed that decrease in the size of lobules and alveoli with less dilated and increase in adipose tissue compared with their control, while in lactating rabbits bilateral ovariectomy animal showed small lobules containing less branching alveoli with in inactive alveoli and increased in stroma.

Staining sections with trichrome have revealed there is excessive amount of collagen fibers in the stroma of the mammary gland tissue in all

treatment groups of lactating and virgin in comparison with their controls.

Beside that histochemistry studies of the Periodic Acid Schiff's (PAS) staining showed a positive reaction in histological section of mammary tissue in all groups of lactating stage, while the virgin groups showed a negative reaction to the PAS stain. On the other hand , there is a significant decrease($p<0.05$) in the diameters and numbers of alveoli in all treatment groups in compared with their controls.

Histological study of the uterus sections showed many changes caused by bilateral ovariectomy , this included: decreased in thickness and folded with atrophy of uterus layers , absence of uterine glands and infiltration of inflammatory cells in compared with other groups in virgin and lactating stages. While trichrome stained sections showed an excessive amount of collagen fibers in the uterus in all treatment groups in compared with their controls.

Histological section with hematoxylin and eosin stain of pituitary gland in bilateral ovariectomy of virgin and lactating groups showed no pathological changes ,in addition , the staining with immunohistochemical stain of progesterone receptors in gonad cell showed large cells with vacuoles in their cytoplasm in bilateral ovariectimized in compared with other groups .

The estrogen and progesterone receptors expression in mammary and uterine tissue of animals treated in virgin and lactating treated groups showed weakly positive (+) stain reactions and no expression(-) of estrogen and progesterone receptors in the mammary and uterus tissue of bilateral ovariectomized virgin group. Weak expression(+) of estrogen and progesterone receptors in mammary tissue, no expression (-) of

estrogen receptors and weak expression (+) of progesterone receptors in uterus tissue of lactating group. The virgin and lactating showed a strong expression (+ + +)(++) for estrogen and progesterone receptors The mammary and uterus tissue respectively in right unilateral ovariectomy , and moderate positive (++), weakly positive stain reaction (+) to estrogen receptors and progesterone receptors in the mammary and uterus in of virgin and lactating groups of left unilateral ovariectomy .

The results showed a significant increase ($p<0.05$) in the level of hormones (FSH, LH) in bilateral ovariectomized groups for two physiological stages(virgin , lactating) compared to their control. In addition, there is no significant differences in prolactin hormone level in treatment groups for virgin compared with control (sham), while the prolactin hormone level significantly increased ($P<0.05$) in right removal of ovarian in lactating stage ,significant decrease ($P<0.05$) in the concentration of progesterone and estrogen hormone in bilateral ovariectomized groups for virgin and lactating stages compared with their controls .The significant decrease ($P<0.05$) showed in the level of LH hormone in the pituitary gland tissue.

Significant decrease ($P<0.05$) in the level of alkaline phophatase enzyme (ALP) and 5'- Nucleotidase enzyme (NTD) in bilateral ovariectomized group in virgin , lactating groups compared to the control in the mammary and uterus tissue.

The present study showed a significant decrease ($P < 0.05$) in the serum concentration of reduced glutathione (GSH) and a significant increase ($P<0.05$) in the serum malondiaaldehyde (MDA) concentration in ovariectomized groups for two physiological (virgin , lactating) compared with control.

In conclusion , the bilateral ovariectomy caused histological , histochemical and physiological changes in the mammary ,uterus and pituitary tissue in virgin and lactating groups of female rabbits.