جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية – كلية التربية
قسم علوم الحياة

دور عشبة البحر *Fucus vesiculosus* في تركيب ووظيفة الغدة الدرقية لذكور الجرذان المعاملة بعقار البروبيل ثايو يوراسيل Propylthiouracil

اطروحة قدمت الى

عمادة كلية التربية /جامعة القادسية وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة / علم الحيوان Zoology

من الطالبة

رشا مزاحم حاتم

ماجستير علوم حياة /ماجستير انسجة وتشريح ٢٠١٢

أشراف

الاستاذ الدكتور

حسين خضير عبيس الميالي

1440 هـ 2019 م

قرآن كريم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

((وَقُلِ الْحَمْدُ لِلَّهِ سَيُرِيكُمْ آيَاتِهِ فَتَعْرِفُونَهَا
وَمَا رَبُّكَ بِغَافِلٍ عَمَّا تَعْمَلُونَ))

صدق الله العلي العظيم

النمل (٩٣)

الاهداء

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

((وقل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون))

صدق الله العلي العظيم

الهي لايطيب الليل الا بشكرك ولا يطيب النهار الابطاعتك ولاتطيب اللحظات الابذكرك ولا تطيب الاخرة الابعفوك ولا تطيب الجنة الابرؤيتك.

((الله ﷻ))

الى من بلغ الرسالة وادى الامانة ونصح الامة الى نبع الرحمة ونور العالمين

((نبينا محمد صلى الله عليه واله وسلم))

الى النور الذي ينير لي درب النجاح ((والدي العزيز))

والى من علمتني الصمود مهما تبدلت الظروف ((امي العزيزة))

الى سند الحياة وظلها وعزها ((زوجي العزيز))

الى حب الحياة وعطائها واملها ((اخواتي واخوتي))

الى فرح الحياة ونورها ((ابنائي احمد وامير وحسن))

رشا

شكر وامتنان

الحمد لله العلي القدير،الذي اسبغ نعمه ظاهرة وباطنة وأقر بفضله العيون واشرح بنوره الصدور وبعد:

اسجد لله العظيم شكرا وحمدا على ما غمرني به من سداد وتوفيق وما منحني به من صبر وتثبيت حتى تم انجاز هذه الاطروحة وأسأل الله ان تكون شمعة تنير الدرب لكل طالب علم منيب ،كما اقدم الشكر والتقدير الى اولي العلم وارباب المعرفة اساتذتي الكرام وخاصة استاذي ومشرفي الفاضل الاستاذ الدكتور (حسين خضيرعبيس) لما بذل من جهد ووقت في سبيل تقديم التوجيهات والارشادات والتي اسهمت بشكل كبير في اظهار هذه الاطروحة. كما اوجه الشكر والتقدير الى عمادة كلية التربية ورئاسة قسم علوم الحياة ومنتسبيه متمثلة برئيس القسم واعضاء هيئته التدريسية لما قدموه من دعم وتوجيه خلال مدة البحث كما اقدم أسمى أيات الشكر والتقدير لاهلي المتواجدين معي الذين قدموا لي كل الدعم ولم ينسوني بدعائهم الذي انار لي الطريق ،كما اقدم الشكر الى زوجي العزيز (ابو احمد)الذي كان مرافقا ومساندا لي حيث تحمل جزءً كبيراً من اعباء الحياة لنتقاسم سويا ثمرة هذا النجاح كما لانسى صديقاتي وزميلاتي اللواتي اعتز بهن لهم مني كل الشكر والتقدير والى كل من اسهم في انجاز هذه الاطروحة ولو بكلمة او نصيحة او دعاء لهم مني كل الشكر والتقدير

رشا

اقرار المشرف

اشهد ان اعداد الاطروحة الموسومة (دور عشبة البحر ***Fucus vesiculosus*** في تركيب ووظيفة الغدة الدرقية لذكور الجرذان المعاملة بعقار البروبيل ثايو يوراسيل **(Propylthiouracil)** قد جرى تحت اشرافي في كلية التربية / جامعة القادسية ، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة / علم الحيوان .

التوقيع:

الاسم:أ.د.حسين خضير عبيس الميالي

المرتبة العلمية: استاذ

العنوان : كلية التربية / جامعة القادسية

التاريخ: ٢٠/ ٣ / ٢٠١٦

اقرار رئيس قسم علوم الحياة

اشارة الى التوصية المقدمة من قبل الاستاذ المشرف ارشح هذه الاطروحة الى المناقشة.

التوقيع:

الاسم :أ.م.د. احمد جاسم حسن النائلي

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : جامعة القادسية/ كلية التربية/ قسم علوم الحياة.

التاريخ :

اقرار المقوم اللغوي

اشهد أن هذه الإطروحة الموسومة بـ" دور عشبة البحر *Fucus vesiculosus* في تركيب ووظيفة الغدة الدرقية لذكور الجرذان المعاملة بعقار البروبيل ثايو يوراسيل **Propylthiouracil** " قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من اخطاء لغوية و تعبيرية وبذلك اصبحت مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم : أ.د.فاضل ناهي

المرتبة العلمية: استاذ

العنوان :كلية التربية /جامعة القادسية

التاريخ :

اقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن اعضاء لجنة التقويم والمناقشة اطلعنا على الاطروحة الموسومة ب (**دور عشبة البحر *Fucus vesiculosus* في تركيب ووظيفة الغدة الدرقية لذكور الجرذان المعاملة بعقار البروبيل ثايو يوراسيل Propylthiouracil**) وقد ناقشنا الطالبة (رشا مزاحم حاتم البوخلاط) في محتوياتها وماله علاقة بها بتاريخ 2019/2/25 ،فوجدناها جديرة بالقبول لنيل شهادة دكتوراه فلسفة في علوم الحياة/علم الحيوان بتقدير (أمتياز) .

رئيس اللجنة
التوقيع:
الاسم :د.اسعد عبد الحمزة الجنابي
المرتبة العلمية: أستاذ
العنوان:كلية الطب /جامعة الكوفة
التاريخ: 2019/٣/٥

عضو اللجنة
التوقيع:
الاسم:د.نصير جواد حمد المختار
المرتبة العلمية:أستاذ
العنوان:كلية الطب/جامعة بابل
التاريخ: 2019/٣/٥

عضو اللجنة
التوقيع:
الاسم:د.علي مانع حسن التميمي
المرتبة العلمية:أستاذ
العنوان:كلية الزراعة/جامعة سومر
التاريخ: 2019/٣/٥

عضو اللجنة
التوقيع:
الاسم:د.عباس صبار داخل
المرتبة العلمية:أستاذ مساعد
العنوان:كلية الطب /جامعة القادسية
التاريخ: 2019/٣/٥

عضو اللجنة
التوقيع:
الاسم:د.احمد جاسم حسن
المرتبة العلمية:أستاذ مساعد
العنوان:كلية التربية/جامعة القادسية
التاريخ: 2019/٢/٥

عضو اللجنة (المشرف)
التوقيع:
الاسم:د.حسين خضير عبيس
المرتبة العلمية:أستاذ
العنوان :كلية التربية /جامعة القادسية
التاريخ: 2019/٢/٨

مصادقة عمادة كلية التربية
التوقيع:
الاسم:أ.د.خالد جواد كاظم العادلي
المرتبة العلمية:أستاذ
المنصب :عميد كلية التربية
التاريخ: 2019/٩/١

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لغرض معرفة الدور الوقائي والتأثيرات الجانبية لعشبة البحر الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ودورها في التقليل من التأثيرات الجانبية لمضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) في وظيفة الغدة الدرقية وتركيبها وتم تقييم هذا التأثير من خلال المعايير التي اشتملت عليها الدراسة الحالية وهي:

(التغيرات الوزنية لوزن الجسم العام ووزن الغدة الدرقية،قياس تراكيز هرمونات الغدة الدرقية (هرمون الثايروكسين T4 وهرمون الثايروثين الثلاثي اليود T3 والهرمون المحفز للغدة الدرقية TSH) ، قياس مستوى المالون ثنائي الالديهايدMDA ،دراسة التغيرات النسجية للغدة الدرقية والمتمثلة بحجم الجريبات Follicle size وارتفاع الخلايا الظهارية High of Epithelial cells و حجم الغروان (مايكروميتر) Colloid Volume ،دراسة Real time -PCR للهرمون المحفز للغدة الدرقية .TSH في الغدة النخامية وإنزيم Thyroid peroxidase في الغدة الدرقية، دراسة Immunohistochemistary لإنزيم Thyroidperoxidase في أنسجة الغدة الدرقية.

استخدم في هذه الدراسة (60) ذكراً بالغاً من الجرذان البيض بأعمار تنحصر ما بين(3-4)اشهر وأوزان تنحصرما بين (200-250)غم وتم تقسيمها الى خمس مجاميع بالأضافة الى مجموعة السيطرة وكانت المجاميع متساوية بالعدد حيث شملت كل مجموعة عشرة جرذان ، مجموعة السيطرة :جرعت Normal saline ولمدة ستة اسابيع ،المجموعة الاولى (G1): جرعت بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) وبتركيز 35 ملغم / كغم من وزن الجسم ولمدة ستة اسابيع،المجموعة الثانية (G2) : جرعت بمضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (PTU) وبتركيز 15 ملغم /كغم من وزن الجسم ولمدة ستة اسابيع ،المجموعة الثالثة (G3) : جرعت بالعشبة البحرية بتركيز 35 ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة ثلاثة اسابيع ثم مضاد الدرقية (PTU) بتركيز 15ملغم /كغم من وزن الجسم للاسابيع الثلاث المتبقية ،المجموعة الرابعة (G4): تم تجريعها بمضاد الدرقية (PTU) بتركيز 15 ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة ثلاث اسابيع ثم العشبة البحرية بتركيز 35 ملغم /كغم من وزن الجسم للاسابيع الثلاث المتبقية ،اما المجموعة الخامسة (G5) :فقد جرعت بالعشبة البحرية وPTU بالتزامن وبالتراكيز نفسها السابقة واستمر التجريع مدة ستة اسابيع .

وفي نهاية التجربة تم تخدير الحيوانات بأستعمال (الكلوروفورم) مع مراعاة اخذ وزن الجسم لكل جرذ قبل وبعد اجراء التجربة ،كما تم اخذ عينات الدم لأجراء الاختبارات الهرمونية التي

تشمل هرمونات الدرقية (T4 ,T3) بالاضافة الى الهرمون المحفز للدرقية (TSH)بواسطة تقنية الاليزا كما تم قياس مستوى (Malondialdyhyde) بواسطة جهاز المطياف الضوئي،كما أزيلت الغدة الدرقية والغدة النخامية وتم أخذ وزن الغدة الدرقية ثم أخذت عينات منها لغرض الدراسة النسيجية وكذلك الدراسة الجزيئية لتقدير تعبير الحامض النووي الرايبوزي المراسل لجينات (TPO ,TSH) بأستعمال تقنية qRT-PCR الكمية والدراسة الكيميائية النسيجية – المناعية .

أظهرت نتائج الدراسة ان تناول العشبة البحرية نتج عنه انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل وزن الجسم ووزن الغدة الدرقية في حين كان هناك انخفاض في معدل وزن الجسم لكن كان هناك ارتفاع في وزن الغدة الدرقية في مجموعة الجرذان المعاملة بالبروبيل ثايوراسيل كما كان هناك ارتفاع معنوي في معدل وزن الجسم ووزن الغدة الدرقية في المجاميع (G3,G4) في حين لم يكن هناك فرق معنوي في معدل وزن الجسم ووزن الغدة الدرقية في المجموعة (G5) .

كما اظهرت نتائج قياس مستوى MDA الى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في المجموعة المعاملة بالعشبة البحرية(G1) والمجموعة المعاملة بمضاد الدرقية PTU (G2) وفي المجموعة الرابعة (G4) التي تم تجريعها ب PTU مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للاسابيع الثلاث المتبقية في حين لم يكن هناك فرق معنوي في المجاميع (G3,G5) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما اشارت نتائج الاختبارات الهرمونية الى حصول زيادة معنوية ($P<0.05$) في مستوى هرمون T3 و T4 وانخفاض معنوي في مستوى هرمون TSH في مجموعة الجرذان المعاملة بالعشبة البحرية في حين كان هناك انخفاض معنوي في مستوى هرمونات الغدة الدرقية وارتفاع معنوي في مستوى هرمون TSH في المجموعة المعاملة بالبروبيل ثايوراسيل المعاملة الثانية (G2) المحموعة الثالثة (G3) بينما المجموعة الرابعة (G4) اظهرت ارتفاعاً معنوياً في مستوى الهرمونات الثلاثة اما المجموعة الخامسة (G5) فلا يوجد هناك فرق معنوي في مستوى هرمون T3 لكن كان هناك انخفاض معنوي في مستوى هرمون T4 و TSH.

كما أظهر الفحص النسجي للمقاطع المأخوذة من الغدة الدرقية لحيوانات المجموعة الاولى الى عدم وجود تشوهات نسيجية مع ظهور استجابة جيدة للعشبة البحرية التي سببت نمو العديد من الجريبات والتي عادة ما تكون بأحجام مختلفة اما بالنسبة لبقية المعاملات (G2,G3,G4,G5) فقد كانت هناك تغيرات مرضية في نسيج الغدة الدرقية التي تتمثل بظهور تشوه واضح في

التركيب الجريبي وقلة في حجم الجريبات وارتفاع الخلايا الظهارية وانخفاض في حجم الغروان كما يمكن ملاحظة وجود نزف دموي(Hemorrhage) و تنخر(Necrosis).

كما أظهرت نتائج الدراسة الجزيئية ارتفاع معنوي في مستوى تعبير الجين TSH في انسجة الغدة النخامية في المعاملة الاولى بمقدار عشرة اضعاف (10.458) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة (1.061) كما كان هناك زيادة معنوية في تعبير الجين في المجموعة الثالثة (G3) بمقدار (2.926) المجموعة الرابعة (G4) بمقدار (4.569) الا انه انخفض تعبير الجين TSH في المجموعة الثانية (G2) في حين لم يكن هناك فرق معنوي في المجموعة الخامسة (G5) (1.269) واما بالنسبة لتعبير جين TPO في انسجة الغدة الدرقية فكان هناك تناقص في تعبير الجين في المجموعة الاولى (G1) بمقدار (0.882) عند المقارنة مع السيطرة (1.056) في حين كان هناك انخفاض في تعبير جين TPO في المجاميع (G2,G3,G4) (8.198) و(3.253) و(5.978) على التوالي كما كان هناك زيادة معنوية في تعبير الجين في المجموعة الخامسة (G5) بمقدار (1.704) عند مقارنتها مع السيطرة .

بينت نتائج الدراسة الكيميائية –النسجية –المناعية لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية تفاعلاً مناعياً ايجابياً للانزيم في انسجة الغدة الدرقية في المجموعة الاولى (G1) اي ان قوة التصبيغ المناعي كانت كثيفة في قمم اغشية الخلايا الجريبية اما حيوانات المجموعة الثانية (G2) المجموعة الخامسة (G5) فكان التفاعل المناعي لانزيم TPO سلبي اي اختفاء التعبير عن هذا الانزيم في قمم اغشية جريبات الغدة الدرقية كما كان هناك تغييرات واضحة في حجم الجريبات وكانت الانوية متعددة الاشكال كما يمكن ان نلحظ وجود الاخاديد اما بقية المجاميع (G3,G4) فكان هناك انخفاض في التفاعل المناعي لانزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية .

نستنتج من الدراسة الحالية ان تجريع الحيوانات بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) بتركيز 35 ملغم / كغم من وزن الجسم في المجموعة الاولى والمجموعة الخامسة والتي جرعت بالعشبة البحرية ومضاد الدرقية بالتزامن كان هناك تأثيرات واضحة في تحسين اداء وظيفة الغدة الدرقية وتركيبها على العكس من عمل مضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (PTU) بتركيز 15ملغم / كغم من وزن الجسم الذي كان له أثر سلبي على وظيفة الغدة الدرقية وتركيبها .

قائمة المحتويات

Page	الفصل الاول :المقدمة
2-1	1-المقدمة
3-2	(1-1):الهدف من الدراسة
20-4	**الفصل الثاني : استعراض المراجع**
4	(1-2):الفوقس الحويصلي Fucus vesiculosus
6-5	(1-1-2):التركيب الكيميائي Chemical composition
7	(2-1-2):الاهمية الطبية للفوقس الحويصلي
8	(3-1-2): تحذيرات ودواعي عدم الاستعمال
9-8	(2-2):الغدة الدرقية Thyroid gland
13-10	(1-2-2):تصنيع هرمونات الغدة الدرقية Thyroid hormones
13	(2-2-2):اضطرابات الدرقية Thyroid Disorders
14	(1-2-2-2):قصور افراز الغدة الدرقية Hypothyroidism
15-14	(2-2-2-2):فرط افراز الغدة الدرقية Hyperthyroidism
15	(3-2):البروبيل ثايوراسيل Propylthiouracil
16-15	(1-3-2):الخصائص العامة للبروبيل ثايوراسيل General properties of Propylthiouracil
17-16	(2-3-2):الحركية الدوائية وميكانيكية العمل Pharmacokinetics and Mechanism of action of Propylthiouracil
18-17	(4-3-2):الاثار الجانبية للبروبيل ثايوراسيل Side effect of Propylthiouracil
19-18	(4-2):الاجهاد التأكسدي Oxidative Stress
19	(5-2):الجذور الحرة Free Radicle
20-19	(6-2): بيروكسيدة الدهن Lipid Peroxidation
44-21	**الفصل الثالث :المواد وطرائق العمل**
21	(1-3):المواد Materials
21	(1-1-3):الاجهزة والمعدات Equipments and Instruments
22	(2-1-3):العدد Kits
23-22	(1-2-1-3):عدد فحص الاليزا ELISA Kits
24	(2-2-1-3):عدد قياس تفاعل سلسلة البلمرة للاستنساخ العكسي في الوقت الحقيقي الكمي Quantitive Real-Time Reverse Transcriptase PCR Kits qRT-PCR
25-24	(3-2-1-3):البادئات Primers
25	(4-2-1-3):عدد تفاعل الكيمياء النسيجية المناعي Immunohistochemistary Kits
26	(3-1-3):المواد الكيميائية Chemicals Materials
27-26	(2-3):حيوانات التجربة Experimental animals
27	(3-3):تحضير العشبة البحرية *Fucus vesiculosus*
27	(4-3):تحضير مضاد الدرقية (PTU)
28-27	(5-3):تصميم التجربة Experimental design

(3-6):قياس وزن الجسم	29
(3-7):التضحية بالحيوانات وسحب الدم	29
(3-8):المعايير المدروسة	30
(3-8-1):الاختبارات الهرمونية Hormonal tests	30
(3-8-1-1):تقدير تركيز هرمون الثايروكسين T4	31-30
(3-8-1-2):تقدير تركيز هرمون الثايرونين ثلاثي اليود T3	32-31
(3-8-1-3):تقدير تركيز الهرمون المحفز للغدة الدرقية TSH	33
(3-8-2):قياس تركيز المالون ثنائي الالديهايد في مصل الدم (MDA)	34-33
(3-8-3)الدراسة النسيجية	34
(3-8-3-1):تحضير المقاطع النسيجية	35-34
(3-8-3-2):القياسات النسجية للغدة الدرقية	36
(3-8-4):الدراسة الجزيئية Molecular Study	37
(3-8-4-1):فحص سلسلة البلمرة في الوقت الحقيقي الكمي (الاستنساخ العكسي) Quantitative Reverse Transcription Real-Time PCR(RT-qPCR)	37
(3-8-4-1-1):استخلاص الاحماض النووية الكلي Total RNA Extraction	37
(3-8-4-1-2):قياس تركيز ونقاوة الحامض النووي الرايبوسومي الكلي Assessing RNA Yield and quality	38
(3-8-4-1-3):المعاملة بأنزيم DNase ITreatment	39-38
(3-8-4-1-4):طريقة تصنيع cDNA synthesis	39
(3-8-4-1-5):فحص Quantitive Real-Time PCR(qPCR)	40
(3-8-4-1-6):طريقة تحليل البيانات Real-Time PCR Data analysis	41
(3-8-5):دراسة الكيمياء النسجية المناعية Immunohistochemistary(IHC)	41
(3-8-5-1):تحضير المحاليل والكواشف المستعملة في Immunohistochemistary	42-41
(3-8-5-2):طريقة العمل	44-42
(3-9):التحليل الاحصائي Statistical Analysis	44
الفصل الرابع : النتائج	**68-45**
(4-1):التغيرات الوزنية	45
(4-1-1): معدل الكسب الوزني	45
(4-1-2): النسبة المئوية لوزن الغدة الدرقية	46
(4-2):مستوى MDA في مصل الدم	47
(4-3):الدراسة الهرمونية Hormonal study	48
(4-3-1):مستوى هرمون T3 في مصل الدم	48
(4-3-2):مستوى هرمون T4 في مصل الدم	49
(4-3-3):مستوى هرمون TSH في مصل الدم	50
(4-4): الدراسة النسجية Histological study	51
(4-4-1):القياسات النسجية	51
(4-4-1-أ): ارتفاع الخلايا الظهارية High of epithelial cells	51
(4-4-1-ب): حجم الجريبات Follicle size	52

(4-4-1-ج):حجم الغروان Colloid volume	53
(4-4-2): التغيرات النسجية المرضية	58-54
(4-5):الدراسة الجزيئية molecular study	58
(4-5-1):تركيز RNA الكلي ونقاوته	60-58
(4-5-1-1):تركيز الحامض RNA في انسجة النخامية	61
(4-5-1-2): تركيز الحامض RNA في انسجة الدرقية	62-61
(4-5-2):تفاعل سلسلة البلمرة للاستنساخ العكسي في الوقت الحقيقي الكمي (qPCR)	62
(4-5-2-2-1):الكمية النسبية لتعبير جينات TSH في انسجة النخامية	62
(4-5-2-2-2): الكمية النسبية لتعبير جينات TPO في انسجة الدرقية	63
(4-6):الدراسة الكيميائية النسجية المناعية Immunhistochemistary study	64
(4-6-1):تعبير انزيم الثايروبد بيروكسيديز(Thyroid peroxidase)في انسجة الدرقية	68-64
الفصل الخامس : المناقشة	**83-69**
(5-1):التغيرات الوزنية	71-69
(5-2):مستوى MDA في مصل الدم	72-71
(5-3):الدراسة الهرمونية	74-73
(5-4):التغيرات النسجية المرضية	76-74
(5-5):الدراسة الجزيئية	76
(5-5-1):التركيز الكلي لل RNA في انسجة الغدة النخامية والغدة الدرقية	77-76
(5-5-2):الكمية النسبية لتعبير جينات (TPO ,TSH)في انسجة النخامية والدرقية	80-78
(5-6):الدراسة الكيميائية النسيجية المناعية	80
(5-6-1):تعبير انزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية	83-80
الفصل السادس: الاستنتاجات والتوصيات	**85-84**
(6-1):الاستنتاجات Conclusions	84
(6-2):التوصيات Recommendations	85
المصادرالعربية والاجنبية References	114-86
Summary	A-C

قائمة الجداول

الرقم	العنوان	الصفحة
(1-3)	يمثل الاجهزة والمعدات المختبرية المستعملة في الدراسة الحالية	22-21
(2-3)	يمثل عدد فحص الاليزا المستخدمة في الدراسة الحالية	24-22
(3-3)	يمثل العدد التي استعملت في تفاعل qRT-PCR المستعملة في الدراسة الحالية	24
(4-3)	يبين البادئات التي استعملت في تفاعل qRT-PCR للكشف عن التعبير الجيني	25-24
(5-3)	يمثل العدة التي استعملت في تفاعل الكيمياء النسيجية المناعية في الدراسة الحالية	25
(6-3)	يمثل المواد الكيميائية التي استعملت في الدراسة الحالية	26
(7-3)	يبين مكونات العليقة المستخدمة اثناء فترة الدراسة	27
(1-4)	يبين تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) على تركيز RNA الكلي ونقاوته في انسجة الغدة النخامية في ذكور الجرذان البالغة	59
(2-4)	يبين تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) على تركيز RNA الكلي ونقاوته في انسجة الغدة الدرقية في ذكور الجرذان البالغة	60

قائمة الاشكال والمخططات

الرقم	العنوان	الصفحة
(1-2)	عشبة الفوقس الحويصلي	5
(2-2)	الغدة الدرقية	9
(3-2)	تصنيع هرمونات الغدة الدرقية	11
(4-2)	البناء الحياتي لهرمونات الغدة الدرقية	12
(5-2)	الية تنظيم افراز هرمونات الغدة الدرقية	13
(1-3)	تصميم التجربة	28
(1-4)	تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على معدل الكسب الوزني (غم) في ذكور الجرذان البالغة	45
(2-4)	تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على وزن الغدة الدرقية (غم/100 غم من وزن الجسم) في ذكور الجرذان البالغة	46
(3-4)	تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على مستوى MDA (ملي مول /لتر) في ذكور الجرذان البالغة	47
(4-4)	تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على تركيز هرمون T3 (نانوغرام/مل) في ذكور الجرذان البالغة	48
(5-4)	تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على تركيز هرمون T4 (نانوغرام/مل) في ذكور الجرذان البالغة	49
(6-4)	تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على تركيز هرمون TSH (نانوغرام/مل) في ذكور الجرذان البالغة	50
(7-4)	تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على ارتفاع الخلايا الظهارية (مايكروميتر) في ذكور الجرذان البالغة	51
(8-4)	تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على حجم الجريبات (مايكروميتر) في ذكور الجرذان البالغة	52
(9-4)	تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد	53

	الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على حجم الغروان (مايكروميتر)في ذكور الجرذان البالغة	
(10-4)	مقطع عرضي للغدة الدرقية في مجموعة السيطرة	55
(11-4)	مقطع عرضي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) (T1)	56
(12-4)	مقطع عرضي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة بمضاد الدرقية (البروبيل ثايوراسيل) (T2)	56
(13-4)	مقطع عرضي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة بالعشبة ثلاث اسابيع ثم PTU للاسابيع الثلاث المتبقية (T3)	57
(14-4)	مقطع عرضي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة بمضاد الدرقية (PTU)ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للاسابيع الثلاث المتبقية (T4)	57
(15-4)	مقطع عرضي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة بالعشبة ومضاد الدرقية سوية (T5)	58
(16-4)	تركيز RNA الكلي في انسجة الغدة النخامية في ذكور الجرذان البالغة	61
(17-4)	تركيز RNA الكلي في انسجة الغدة الدرقية في ذكور الجرذان البالغة	62
(18-4)	الكمية النسبية لجين TSH في انسجة الغدة النخامية في ذكور الجرذان المعاملة بالعشبة البحرية ومضاد الدرقية ومجموعة السيطرة	63
(19-4)	الكمية النسبية لجين TPO في انسجة الغدة الدرقية في ذكور الجرذان المعاملة بالعشبة البحرية ومضاد الدرقية ومجموعة السيطرة	64
(20-4)	التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في مجموعة السيطرة	65
(21-4)	التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في المجموعة المعاملة بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) (T1)	66
(22-4)	التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في المجموعة المعاملة بمضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (PTU) (T2)	66
(23-4)	التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في المجموعة المعاملة بالعشبة البحرية 3 ثم PTU للاسابيع 3 المتبقية (T3)	67
(24-4)	التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في المجموعة المعاملة ب PTU (3) ثم العشبة البحرية للاسابيع (3) المتبقية (T4)	67
(25-4)	التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور	68

قائمة المختصرات

Abbreviation	Meaning
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate
Ct	Threshold cycle number
cDNA	Complementary DNA
DAB	Diaminobenzidine
DIT	Diiodotyrosine
DEPC	Diethyl pyrocarbonte
DNA	Deoxyribonuclic acid
D.P.X	Dibutyl Pthalate Xylene
D.W	Distilled water
EDTA	Ethylene diamine tetra acetic acid
EPA	Eicosapentaenoic acid
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
FDA	Food and Drag Administration
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
HPT-axis	Hypothalamus pituitary thyroid -axis
H_2O_2	Hydrogen peroxide
HRP	Horse Reading Peroxidase
IHC	Immunohistochemistary
I	Iodine
MIT	Monoiodotyrosine
MDA	Malondialdehyde
mRNA	Messenger ribonucleic acid
MMI	Mithmazole
NIS	Natrium-iodide symporter
O.D	Optical Density
PTU	Propylthiouracil
PBS	Phosphate Buffer Saline
qRT-PCR	Quantitiave Real-Time Reverse
RNA	Ribonuclic acid
ROS	Reactive oxygen species
T3	Triiodothyroinine
T4	Thyroxin
TCA	Trichloro acetic acid

TSH	**Thyroid Stimulating hormone**
TPO	**Thyroid peroxidase**
Tg	**Thyroglubulin**
TSHR	**Thyroid stimulatin hormone recepetor**
TBA	**Thiobarbituric acid**

1-المقدمة Introduction

تعد عشبة البحر*Fucus vesiculosus* من الطحالب الورقية البنية Laminariales التي تنتمي الى عائلة الاعشاب البحرية وتنمو في المياه الباردة من محيطات العالم ولها تاريخ طويل من استعمالها كغذاء وكذلك للاستخدامات الطبية لما تمتلكه من خصائص بيولوجية ، وتعد من مضادات الاكسدة الطبيعية اذ تمنع تكوين الجذور الحرة المسببة للأمراض (Song *etal*., 2000) وتمنع تشكل الاورام وتحفز فعالية انزيم اللايبيز (Lipase) ولها كفاءة علاجية في خفض نسبة الكولسترول كما تحافظ على معدلات السكر في الدم، كما انها تنشط عملية التمثيل الغذائي في عضلة القلب وتحسن اداء العضلة القلبية وتعد مصدراً طبيعياً غنياً باليود ،كما تحتوي على العديد من العناصر الغذائية الممتصة بما في ذلك البوتاسيوم K والمغنسيوم Mg والكالسيوم Ca والفيتامينات الأساسية للخلية (Mayer *etal*., 2011) كما تحتوي على متعدد السكريات المتمثّلة ب (Fucoidan, Laminine, Laminarin, Alginates) فضلا عن عدد من السكريات الأخرى والسكريات البسيطة، وكذلك الكروم الذي له دور فعال في السيطرة على نسبة السكر بالدم ويساعد على الحفاظ على السكري في خارج الجسم، كما تستخدم في انتاج العديد من الأطعمة مثل الآيس كريم ومعجون الأسنان والحبوب ومستحضرات التجميل(Kitamura *etal*. 1991) .

البروبيل ثايوراسيل Propylthiouracil المعروف أيضا باسم بي – تي – يو PTU ،هو دواء مثبط لعمل الغدة الدرقية ويستعمل لمعالجة حالات النشاط المفرط للغدة الدرقية حيث يثبط انتاج هرمونات الغدة الدرقية وذلك عن طريق منع أكسدة اليود (Chiao *etal*., 2000)، يؤثر الدواء أيضا على هرمونات الغدة الدرقية المخزونة فيها وكذلك المتواجدة في مجرى الدم حيث يمنع تصنيع هرمونات الدرقية عن طريق منع أكسدة اليود، اذ يمنع بناء الثايروكسين T4 وتراي ايودوثايرونين T3 لذلك يستعمل لعلاج فرط الدرقية، ومن الاثار الشائعة للـ Propylthiouracil هي التورم، الغثيان، التقيؤ وحرقة وفقدان الطعم وخدر وحساسية و تبيض الشعر وفقر الدم اللاتنسجي وانخفاض عدد خلايا الدم البيضاء في الدم، وتشمل أعراض

وعلامات نقص المحببات والآفات المعدية التي تصيب الحلق والجهاز الهضمي والجلد مع الشعور العام بالمرض والحمى وانخفاض في الصفائح الدموية قد يحدث أيضا وهذه الصفائح لها دور مهم في عملية تخثر الدم كما ان نقص الصفائح الدموية قد يؤدي الى مشاكل مع النزيف (Sener *etal*., 2006).

ويعد اليود عنصراً حيوياً من اجل وظيفة الغدة الدرقية اذ يسبب نقصه في اثناء الحمل والطفولة المبكرة القماءة (التخلف العقلي والعاهات الحركية الشديدة)وفِي البالغين كمية اليود المنخفضة (لها مأخذ عالية جدا) يمكن ان يسبب قصور الغدة الدرقية، اذ تعد الغدة الدرقية واحدة من اهم الغدد الصماء الموجودة في الجسم فهي الوحيدة التي تنتج هرمونات وتخزنها في الغدة نفسها الى حين الحاجة اليها، وتعد خلايا الدرقية الوحيدة من بين الخلايا القادرة على امتصاص اليود (Ganong, 2001) وتنتج الغدة الدرقية هرموناتها وهي هرمون الثايروكسين Thyroxin (T4) وهرمون الثايروسين الثلاثي اليود Triiodthyronine (T3) ، وهما عبارة عن مشتقات الحامض الاميني التايروسين Tyrosine استجابة للتحفيز بوساطة الهرمون المحفز للدرقية Thyroid Stimulating Hormone (TSH) الذي يفرز من الفص الأمامي للغدة النخامية Pituitary gland (Gregkelly,2000) وتؤدي الغدة الدرقية دورا مهما في المحافظة على معدلات الأيض بالجسم اذ ان لهرمونات الدرقية تاثيرات مهمة في تصنيع الدهون وايضها، ومن ثم حدوث أي اضطراب في مستوى الهرمونات يؤدي الى اضطراب في مستوى الدهون في مصل الدم Dyslipidemia (Walsh *etal*., 2005) زيادة على ذلك ان للغدة الدرقية دورا في عملية النمو والتطور وكذلك التأثير على الجهاز العصبي المركزي Centeral) Nervons System) والجهاز التناسلي وجهاز الدوران العام، اذ تسهم في تنظيم الفعاليات الفسيولوجية كافة في الجسم ويظهر تأثيرها في الأعضاء والأنسجة المختلفة ومنها القلب والكبد (Ganong, 2003)

1-1 .الهدف من الدراسة Aim of the study

بالنظر لقلة الدراسات والابحاث المنشورة داخل العراق حول دور هذه العشبة وتأثيرها على الغدة الدرقية حيث توجد دراسة واحدة فقط تناولت دور العشبة وتأثيرها على وظيفة الغدة الدرقية وهرموناتها (T4,T3) لذا كان من الضروري تطوير دراسة شاملة ومعمقة لبيان تأثير

هذه العشبة على وظيفة وتركيب الغدة الدرقية , ولكي يتم تحقيق هدف الدراسة تم دراسة المعايير الاتية :

1-التغيرات الوزنية لوزن الجسم العام ووزن الغدة الدرقية.

2-قياس تراكيز هرمونات الغدة الدرقية (هرمون الثايروكسين T4 وهرمون الثايروثين الثلاثي اليود T3 والهرمون المحفز للغدة الدرقية TSH)

3 – قياس مستوى المالون ثنائي الالديهايدMDA

4-دراسة التغيرات النسجية للغدة الدرقية والمتمثلة ب :-

أ- حجم الجريبات Follicle size

ب- ارتفاع الخلايا الظهارية High of Epithelial cells

ج- حجم الغروان (مايكروميتر) Colloid Volume

5-دراسة Real time -PCR للـ :-

أ- الهرمون المحفز للغدة الدرقية .TSH في الغدة النخامية.

ب- إنزيم Thyroid peroxidase في الغدة الدرقية.

6-دراسة Immunohistochemistary لإنزيم Thyroid peroxidase في أنسجة الغدة الدرقية.

- استعراض المراجع Review of Literature

1-2 .الفوقس الحويصلي Fucus Vesiculosus

عشبة بحرية من الفصيلة الفوقسية يبلغ طولها نحو المتر تنتشر على شواطئ بريطانيا وإيرلندا والنرويج وسواحل البحر الأبيض المتوسط وسواحل شمال الأطلسي ويوجد كذلك في شمال روسيا والسواحل الشرقية لكندا والولايات المتحدة الامريكية، يفضّل حصادها في فصل الربيع وأوائل الصيف لان نمو العشبة خلال هذه المدة يكون جيداً ومحتواها من اليود عالٍ، تعرف بأسماء عديدة منها Bladderwrack وعشب البحر sea kelp والفوقس الأحمر و sea wrack و Rock warck (Teas *etal*., 2004) كما وتتميز هذه العشبة الموضحة في الشكل (2-1) بكونها من الطحالب البنية Brown algae التي تكون قبل جفافها لزجة زيتية وذات لون بني مخضر نتيجة لوجود صبغة فوكوزاثين Fucoxanthin (white, 2000).

ومن صفاتها الأخرى المميزة لها تكون ذات رائحة قوية وغير مقبولة الطعم وتتميز هذه العشبة بكونها مصدرا غنياً باليود كما هو الحال في العديد من الأعشاب البحرية الأخرى، سُميت هذه العشبة ب Bladder wrack لكونها عبارة عن فروع متعددة وبداخلها أكياس صغيرة وعلى ابعاد متفاوتة مملوءة بالهواء تبقيه في وضع مستقيم وأقرب الى سطح الماء ولهذه الطحالب أهمية في البيئات المائية لانها تأوي العديد من الكائنات البحرية الأخرى وخاصة القواقع (Serrao *etal*., 1996)

ويصنف الفوقس الحويصلي عالميا الى : (Guiry, 2012)

مملكة النبات Kingdom : plant

Phyllum : Heterokontophyta

صنف الطحالب البنية class : Phyaeophyceae

رتبة الفوقسيات Order : Fucales

العائلة الفوقسية Family : Fucaceae

الفوقس Genus : Fucus

الفوقس الحويصلي Species : F. vesiculosus

بالإضافة الى هذا النوع هنالك عدة أنواع من جنس الفوقس منها:- (Stegena *etal*., 1997)

- الفوقس المنشاري Fucus serratus L
- الفوقس الحلزوني Fucus spiralis L
- Focus tendo L
- الفوقس الصغير Fucus atomarius L
- الفوقس المقرن Fucus ceranoides L
- الفوقس الأبيض Fucus albus L

الشكل (2-1):يوضح عشبة الفوقس الحويصلي (Algaebase,2016)

1-1-2 .التركيب الكيميائي Chemical Composition

تحتوي هذه العشبة على الكاربوهيدرات وبتراكيز عالية تنحصرما بين (45%-70%) والتي تكون موجوده على شكل كلوكوز Glucose وزايلوز Xylose وكالاكتوز Galactose وبتراكيز (53.8مول/ 100غم) و (35.3مول/ 100غم) و (10.8مول/100غم) على التوالي (EMA, 2013) , وبالإضافة الى الكاربوهيدرات تحتوي العشبة على البروتينات Proteins وبنسبة (5-8%)والدهون Lipids وبنسبة (1-4%) (Guiry, 2011).

ومن خلال الدراسات والأبحاث تم الكشف عن وجود المركبات الدهنية السكرية Glycolipids في العشبة مثل احادي كلاكتوسايل ثنائي اسيل الكلسيرول (Mono-Galactosyl diacylglycerol) وثنائي كلاكتوسايل ثنائي اسيل كلسيرول (DiGalactosyl diacylglycerol) بالإضافة الى احتواء العشبة على الكليسيريدات الثلاثية Triglycerides-TG وبكميات اقل منها تتواجد الدهون الفوسفاتية Phospholipids (Jones and Harwood, 1992)

كما وتحتوي العشبة على الأحماض الدهنية Fatty acids مثل Eicosapentaenoic acid- EPA وحامض الارجيدونك Arachidonic acid وحامض البالمتك Palmatic acid (Guiry, 2011) ،بالإضافة الى وجود كميات متفاوتة من المعادن مثل البوتاسيوم K

والصوديوم Na والكالسيوم Ca والمغنسيوم Mg والكبريت S بالنسب التالية وعلى التوالي (1.5% ,1%, 2.5%, 4%, 6.5%) بالإضافة الى العناصر النزرة مثل الحديد Fe والمنغنيز Mn والزنك Zn والنحاس Cu والنيكل Ni وبالنسب الاتية وعلى التوالي (150ملغم/كغم، 150ملغم/كغم، 50 ملغم/كغم، 4 ملغم/كغم، 20 ملغم/كغم) كما وتحتوي هذه العشبة على نسبة عالية من اليود وبتركيز 500 ملغم/كغم (Arbaizar and LIorca, 2011) ،المكونات الأخرى المهمة في هذه العشبة فلوروتانين Florotanins وهو نوع من التانينات Tannins الموجودة في الطحالب البنية (Kubanek *etal*., 2004)

والستيرولات sterol مثل فيكوسيترول Fucosterol وبيتا سايتوستيرول B-Sitosterol مع نسب قليلة من حامض الاسكوربك VitC (L-Ascorbic acid) وفيتامين B_1 (Thiamin) و B_2 (Riboflavin) وB_3 (Niacin) و B_6 (Pyridoxine) وحامض الفوليك (Folic acid) وفيتامين K (phylloquinone) (Pielesz and Kulec, 2010) كما وجد ان هذه العشبة محتوية على البكتينات pectins والأحماض الامينية Amino acids وسوربتول Sorbitol وحامض الاكرليك Acrylic acid كما وتتميز بوجود بعض الصبغات Pigments مثل Fuxoxanthin المسؤول عن اللون البني المخضر للعشبة (White, 2000) والصبغات الأخرى هي Squalene, B-Carotene, Lutein كما تحتوي العشبة على Fucoidan الفيوكويدان الذي يمثل الجزء الأساسي في الطحالب البحرية وهو عبارة عن سكريات متعددة Polysaccharids كبريتي الذي يتميز بتركيبه المعقد الذي يكون على نوعين يو- فيوكويدان U-Fucoidan و ف- فيوكويدان F-Fucoidan ويمتاز Fucoidan بان له القدرة على توقف نمو الخلايا السرطانية والعمل على قتل نفسها وهذه العملية تعرف بالتخلص الذاتي (Rodriguez *etal*., 2014) .

2-1-2 . الأهمية الطبية للفوقس الحويصلي :-

استعملت هذه العشبة في الطب الشعبي التقليدي لعلاج اضطرابات الغدة الدرقية Thyroid gland وخاصة قصور الغدة الدرقية Hypothyroidism لانها مصدر غني باليود لذلك فهي تساعد على تحفيز وظائف الغدة الدرقية التي تزيد من معدل استخدام الجسم للطاقة وبالتالي تقلل من البقايا الدهنية كما ان هذه العشبة تعمل على فقدان الوزن عند استخدامها في إطار نظام غذائي

منخفض السعرات الحرارية ،كما ان الأبحاث الحالية تشير الى ان هذه العشبة يكون لها دور في الحد من خطر الإصابة بالسرطانات المرتبطة بهرمون الاستروجين والتحسن المحتمل في أعراض الحيض (Skibola, 2004; Rodriguez *etal*., 2014)

كما ان لهذه العشبة دور في علاج الأورام السرطانية وخاصة سرطان القولون Colon cancer لانها تحتوي على نسبة كبيرة من الالياف هذا بالإضافة الى ان هذه العشبة تحتوي على مركبات تعمل على تكسير الفيبرين، احد أنواع البروتينات التي يستخدمها الجسم لكي ينظم اطار عمل الأوعية الدموية الجديدة وعندها تعجز الأورام السرطانية عن الحصول على الدم اللازم لنموها وبالتالي تعجز عن النمو والتفشي في الجسم (Stanley *etal*., 1998; Jimenez-Escrig *etal*., 2001) كما أوضحت الكثير من البحوث ان استعمال هذه العشبة كمرهم يمكن ان يقلل من سمك الجلد ويزيد مرونته وبالتالي يمكن اعتبار هذه العشبة مضادة للشيخوخة لانه كلما تقدم العمر ازداد سمك الجلد وكذلك تستخدم هذه العشبة في علاج الاضطرابات الجلدية وخاصة شفاء الجروح (Visuthikosol *etal*., 1995 ; Fujimura *etal*., 2002) ولهذه العشبة كفاءة علاجية في خفض نسبة الكولسترول الكلي Total cholesterol كما تحافظ على معدلات السكر في الدم لذلك لهذه العشبة دور فعال في علاج مرض السكري Diabetes Mellitus (Aksenov *etal*., 2007; Kent, 2010)

كما تعد هذه العشبة من مضادات الأكسدة الطبيعية اذ تمنع تكوين الجذور الحرة المسببة للامراض (Graufel *etal*., 1989; Dockal, 2012) كما تستخدم هذه العشبة في علاج الكثير من الأمراض منها أمراض الروماتيزم Rheumatism والتهاب المفاصل Arthritis وامراض المعدة Stomach diseases كما وتستخدم هذه العشبة كمسهل لحركة الامعاء حيث يتألف ما يصل الى حوالي 45% من وزنها من الالجين وهو احد المركبات الكاربوهيدراتية المعقدة التي تنتفخ في الماء حيث يكون الالجين طبقة هلامية في الامعاء تغطي وتهدئ بطانة الامعاء وتلين البراز (Fujimura *etal*., 2002) ، كما وتستخدم في علاج السعال Cough والصداع Head aches وغيرها من الامراض كما ولم يثبت لحد الان بان هذه العشبة لها تأثير سام (Peterman, 2010)

3-1-2 .تحذيرات ودواعي عدم الاستعمال :-

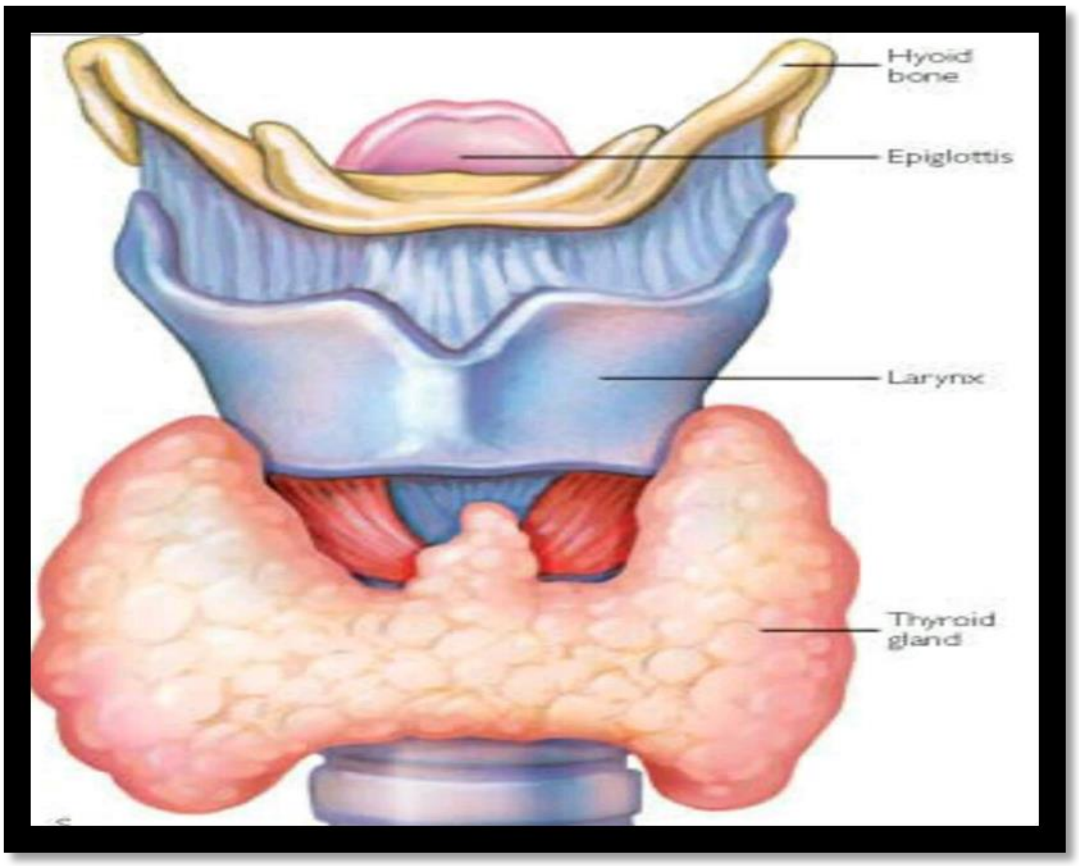
عشبة الفوقس الحويصلي تتميز باحتوائها على تراكيز عالية من اليود وهذه التراكيز لها تأثير على مستوى هرمونات الغدة الدرقية Thyroid gland hormones ،كما ان هذه العشبة لها تأثير على نسبة العناصر المعدنية الموجودة في الدم مثل الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم، ومن المحتمل ان يكون نمو هذه العشبة في المياه الملوثة بالمعادن الثقيلة مثل الرصاص Lead _ Pb

والزرنيخ Arsenic-As وبالتالي تسبب هذه المعادن تلف في الاعصاب وامراض في الكلى Kidney diseases لذلك فلا بد من اجراء فحوصات يتم من خلالها الكشف عن مستوى هذه العناصر قبل ان يتم استعمال هذه العشبة, (Zaragoza *etal*.,2008, Nagataki, 2008; Peterman, 2010)وبما ان هذه العشبة تحتوي على MucoPolysaccharides التي قد تعمل على منع امتصاص بعض الأدوية وبالتالي تزيد من خطر الإصابة بالنزيف وخاصة عند استخدامها في تراكيب مع مضادات التخثر او الأدوية المضادة للصفائح الدموية كما وقد تسبب الحساسية Sensitivity والإسهال Diarrhea كما ان استعمالها يؤدي الى تأخر الحمل كما انه يمنع استخدام هذه العشبة مع الأدوية المحتوية على اليود (Skibola, 2004)

2-2. الغدة الدرقية Thyroid gland

تعد الغدة الدرقية من اهم الغدد الصماء في الجسم واكبرها، اذ تقع في الرقبة تحت الحنجرة Larynx مباشرة وتحتوي على فصين ايمن وأيسر يغطيان السطح البطني للقصبة الهوائية ويرتبطان بالقصبة الهوائية بوساطة البرزخ Isthmus الذي يكون موقعه أسفل الغضروف الحلقي Cricoid cartilage ، اذ يكون سمك كل فص حوالي من (4-2سم) وارتفاعه حوالي (2 سم)وبعرض(2.5-1.5سم) (Germann and Stanfield, 2002, Eroschenko, 2008) وتقوم الغدة الدرقية بإفراز محتوياتها من الهرمونات مباشرة الى الدم لكي تؤدي عملها من خلال تأثيرها على الخلايا الهدف (Ravichand *etal*.,2005) .

يبلغ وزن الدرقية حوالي (25-15غم). (Ganong, 2001)، وهي تشبه الفراشة في الشكل كما موضحة في الشكل(2-2).



الشكل (2-2): الغدة الدرقية ،الصورة مقتبسة من (Thibodeau/Pattons:The Human Body in Health and Disease,3rd edition,2002).

اما من الناحية النسجية تتألف الغدة الدرقية من عدد هائل من الحويصلات المجوفة الكروية الشكل والتي تكون محاطة بطبقة واحدة من الخلايا الطلائية (Epithelial cells) والتي تدعى بالجريبات Follicle اذ يبلغ قطر كل جزيئة (30مايكرومتر) وتجويفها ممتلئ بمادة غروية Colloid لزجة تتألف أساسا من بروتين درقي كروي Thyroglobulin الذي يرتبط به اليود الذي يشكل المصدر الوحيد لهرمون الدرقية ويعد ثايروكلوبيولين بروتين كاربوهيدراتي ووزنه الجزيئي حوالي (660000) دالتون ومحتوى على 75% بروتين وتحتوي جزيئة الثايروكلوبيولين على حوالي (2-3%) من التايروسين.

اما النسيج الواقع بين الحويصلات فيضم أنسجة ضامة وأوعية دموية وتبرز نحوه الخلايا نظير الحويصلية تفرز هذه الخلايا الهرمون الثالث للدرقية وهو الكالسيتونين (Zoellar ، *etal*; 2007; Eroschenko, 2008).

1-2-2.تصنيع هرمونات الغدة الدرقية Thyroid Hormones Synthesis

يطلق تعبير هرمونات الدرقية على تلك الهرمونات المشتقة من الحامض الأميني تيروسين Tyrosine التي تضم ثلاث ذرات او اربع ذرات من اليود التي تنظم معدل عمليات الأيض في الجسم ولها دور في التأثير على الدوران العام وبروتينات البلازما (Eric *etal*.,2006) وهرمونات الدرقية الرئيسة هي :-

الثايرونين رباعي اليود او ما يسمى بالثايروكسين (Thyroxin(tetra-iodothyronine – T4)

الثايرونين الثلاثي اليود (Tri-iodothyronin- T3)

حيث يكون لهما الدور في تنظيم معدل الأيض في الجسم بالإضافة الى نمو الأجنة والعظام وفي نمو الأنسجة وتطورها وخاصة الأنسجة الهيكلية والعصبية وبالتالي النمو الطبيعي للجسم (Granner, 2000; Doherty and way, 2005; Deibert, 2009)

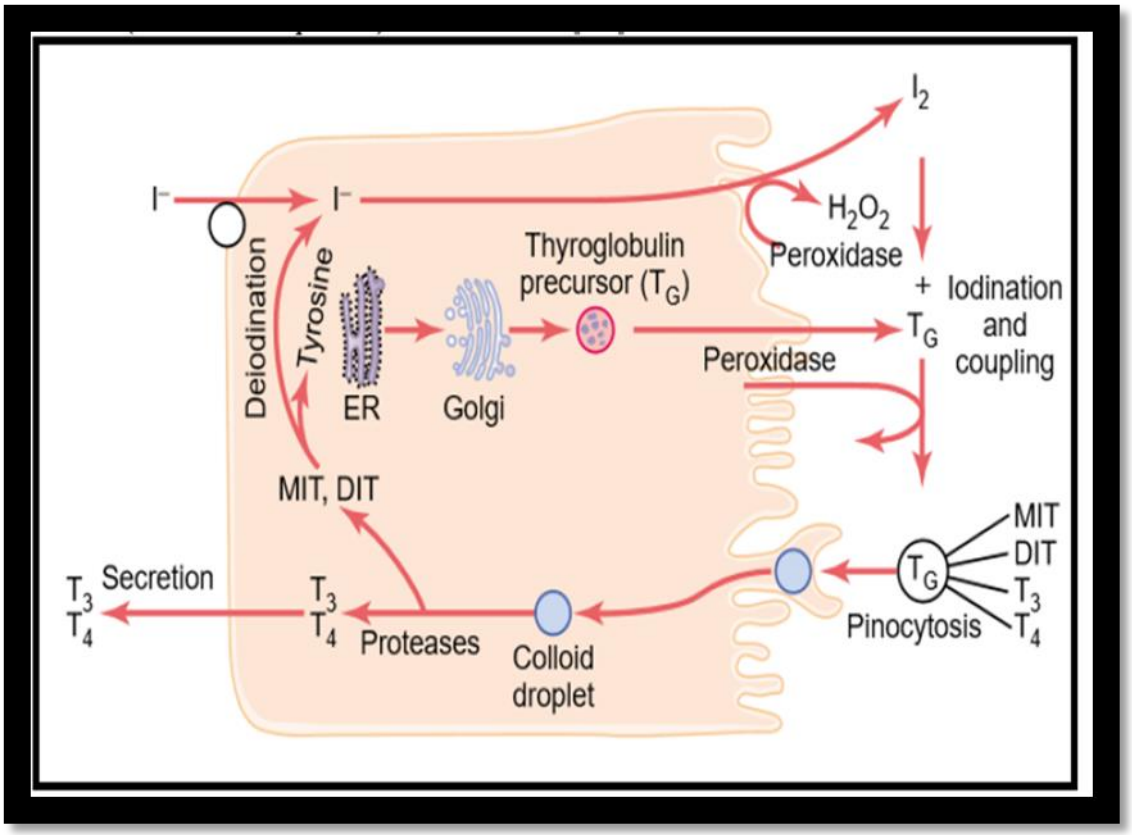
وبالإضافة لهذين الهرمونين تفرز الغدة الدرقية هرمونا ببتيديا هو الكالسيتونين Calcitonin ويفرز هذا الهرمون استجابة لارتفاع تركيز الكالسيوم في الدم فوق معدله الطبيعي (Vandernoot *etal*.,2012) و تفرز الدرقية كميات من T4 اكبر من تلك المفرزة من T3 ولكنT4 المفرز كله يتحول انزيميا في الأنسجة الهدف الى T3قبل ان يقوم بوظائفه أي حوالي 20% من T3 يفرز من الدرقية و80% المتبقية من T3 تأتي نتيجة لنزع اليود Deiodination من الثايروكسين T4 ويتم ذلك في الكبد والكلية وتحت تأثير انزيم -5 Iodothyronine deiodinase type I (5-DI) (Berry *etal*.,1991)، بينما يعمل انزيم 5ʹ- Iodothyronine deiodinase type II (5ʹ-DII) في النخامية والدماغ لتزويدها بـT3 (safran *etal*., 1991) كما وجد حوالي 5% من T3 المعاكس (rT3) يتم تصنيعه في الدرقية اما الكمية المتبقية أي 95% تأتي من نزع اليود من الجزء التايروسيني (الداخلي) للثايروكسين بفعل انزيم 5-Iodothyronine deiodinase في الأنسجة المحيطية وكما موضحة في الشكل(2-3) (Ganong,2003) ،حيث يتم تصنيع هرمونات الدرقية في جريبات الغدة الدرقية نتيجة لأستجابتها للهرمون المحفز للدرقية Thyroid Stimulating Hormone (TSH) المفرز من الفص الامامي للغدة النخامية وبعدة خطوات :

-الخطوة الاولى :تمثل انتقال اليود فعندما يتم تناول الطعام الحاوي على اليود العضوي (I_2) وقبل ان يمتص من الامعاء يتحول الى يود غير عضوي (I^-) ثم يتم امتصاصه وانتقاله الى الخلايا الجريبية عن طريق الدم بعملية النقل الفعال Active transport عن طريق التبادل مع شوارد الصوديوم بوجود ATPase بعدها يخرج اليود من الخلية الجريبية نحو الغروان Colloid حتى يرتبط ببروتين Thyroglobuline(Tg) (Chung,2014).

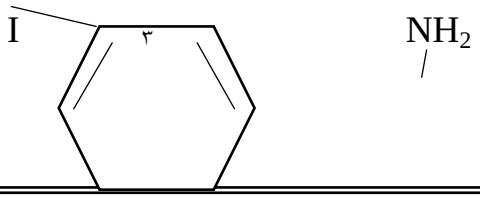
-الخطوة الثانية : تمثل يودنة الكلوبيولين الدرقي حيث يتأكسد اليود غير العضوي Iodide الى يود عضوي Iodine في الخلايا الجريبية بوجود H_2O_2 قبل ارتباطه بمركب Tg يتم التفاعل بوجود انزيم Thyroid peroxidase(TPO) ثم ينتقل اليود الفعال ويرتبط بالتيروسين الموجود في Tg هذه العملية تسمى باليودنة (Iodination) وبذلك يتكون Mono iodo tyrosine(MIT) بعدها ترتبط ذرة يود ويتشكل Di iodo tyrosine(DIT) .

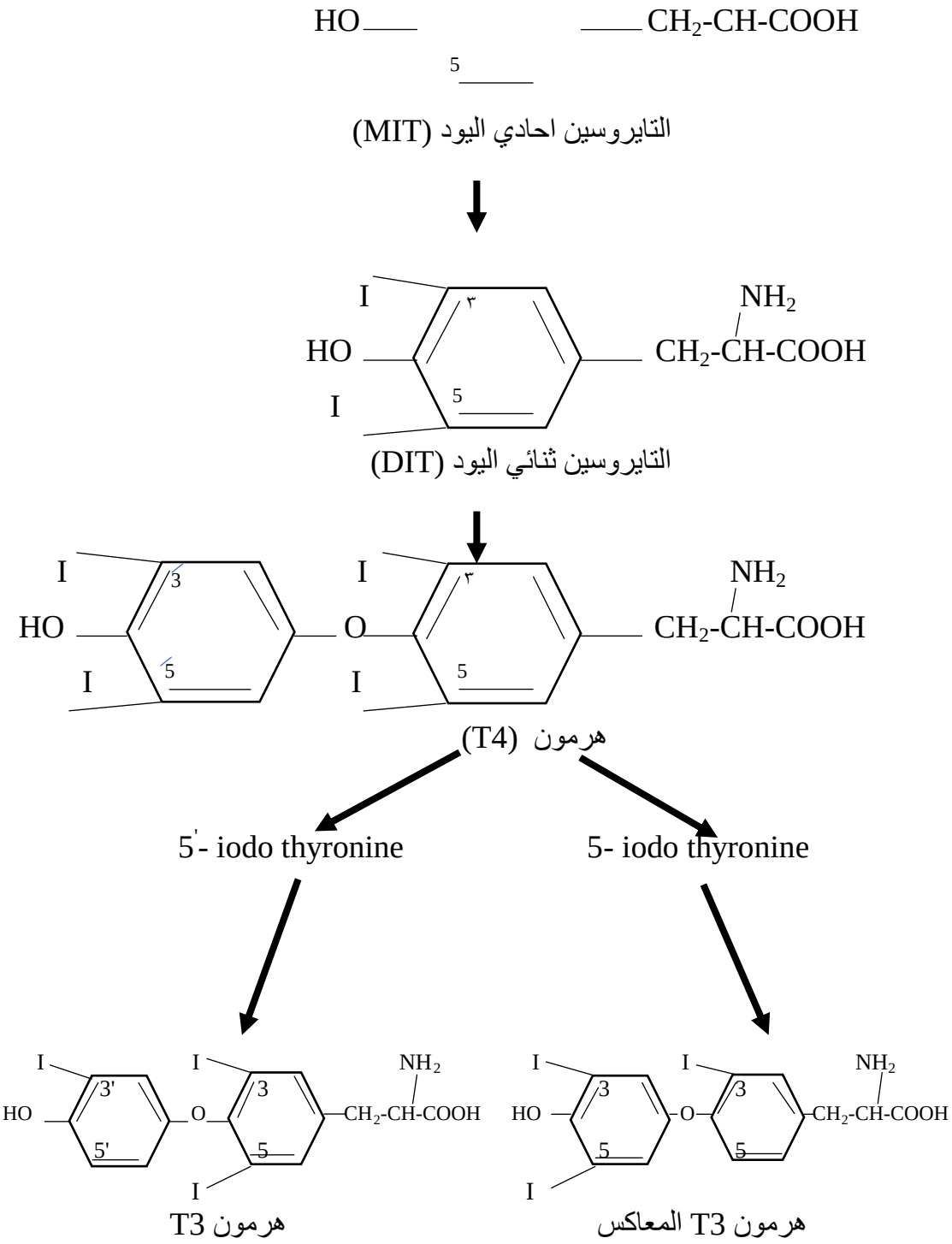
-الخطوة الثالثة : تمثل هذه الخطوة التزاوج (Coupling) حيث تحدث هذه الخطوة بين المركبين السابقين(MIT,DIT)وبذلك تتكون هرمونات الغدة الدرقية (T4,T3) ويحتاج هذا التزاوج الى انزيم Thyroid peroxidase(TPO) وبذلك تكون هرمونات الدرقية مرتبطة مع جزيئة Tg ومخزونة في الغدة الدرقية .

-الخطوة الرابعة : تمثل دخولTg مع MIT، DIT و T3، T4 الى الخلية وبواسطة التشرب الخلوي Pinocytosis وانفصال T3,T4 بواسطة Proteolysis ويبقى في الخلية لحين الافراز .(Jameson and Weetman,2010)



الشكل (2-3) :يوضح تصنيع هرمونات الغدة الدرقية (Guyton &Hall,2006)

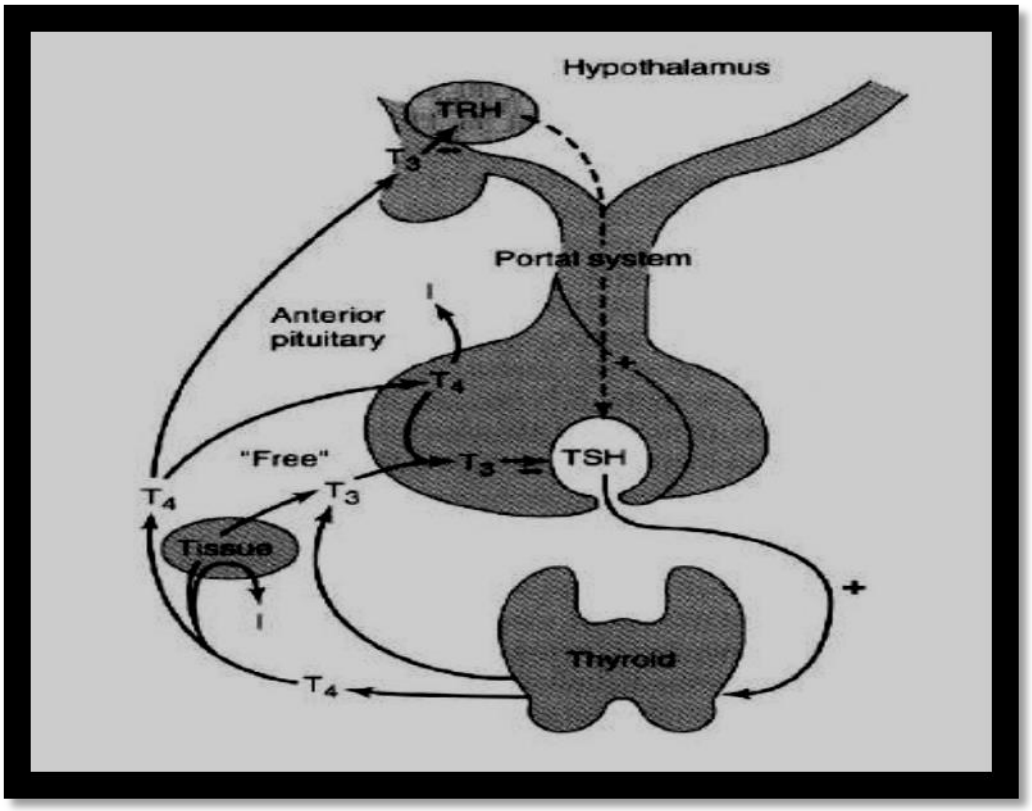




شكل (2-4) البناء الحياتي لهرمونات الغدة الدرقية(Granner,2000)

يخضع تنظيم إفراز هرمونات الدرقية الى الية التغذية الاسترجاعية السالبة (Negative feed back mechanism) بين هرمون منشط الدرقية TSH المفرز من النخامية الأمامية وهرمونات T3 وT4 المفرزة من الغدة الدرقية، فعندما ينخفض مستوى هرمونات الدرقية بالدم

فإنها تنبه تحت المهاد على إفراز الهرمون المحرر لهرمونات الغدة الدرقية Thyrotrophin (Releasing Hormone TRH) الذي يحث النخامية الأمامية على إفراز منشط الدرقية Thyroid Stimulating Hormone (TSH وهو المسؤول المباشر عن إفراز T3 وT4 من الدرقية ويستمر افرازها الى ان تصل الهرمونات الى المستوى المطلوب بالدم، اما عندما يرتفع معدل هرمونات الدرقية بالدم فإنها تؤثر بالية تغذية راجعة سلبية على كل من تحت المهاد والنخامية الأمامية فتثبط افرازهما (Garrett and Grishman,2010 ; Brent, 2012) .



الشكل (2-5) الية تنظيم افراز هرمونات الغدة الدرقية (De Ruiter,2004)

2-2-2.اِضطرابات الغدة الدرقية Thyroid gland Disorders

تنشا امراض الغدة الدرقية نتيجة لعجز وظيفي في الغدة الدرقية نفسها او في الغدة النخامية التي تنتج الهرمون المنبه للدرقية TSH او تحت المهاد والتي تنظم الغدة النخامية عن طريق الهرمون المحرر للدرقية TRH وامراض الدرقية شائعة اذ تصيب حوالي 13% من البالغين وتكون الإصابة اكثر عند كبار السن والنساء وتشمل امراض الغدة الدرقية :-

2-2-2-1. قصور افراز الغدة الدرقية Hypothyroidism

وهي حالة مرضية تنتج عن نقص افراز هرمونات الغدة الدرقية، حيث ان وظيفة هرمونات الدرقية هي تنظيم عمليات التمثيل (الاستقلاب) الحيوية في الجسم فان اعراض قصور الغدة الدرقية تكون عبارة عن تباطؤ في هذه العمليات مما يؤدي الى تباطؤ عام في وظائف الجسم كلها ولا سيما المتعلقة بالنشاط والحيوية ولكن الأسباب التي تؤدي الى هذه الحالة هي :-

1-نقص اليود فاليود ضروري لتصنيع هرمونات الغدة الدرقية(Agustin and Babu,2013)

2-الالتهاب المناعي او التهاب هاشيموتو (Thyroiditis's Hashimato) وهو إصابة الغدة الدرقية بالتهاب مناعي ذاتي (Autoimmuno disease) حيث ينتج الجسم اجساما مضادة تهاجم الغدة الدرقية مما يؤدي لضعف عمل خلاياها وبذلك تكون خلاياها تالفة او غير قادرة على انتاج كمية كافية من الهرمونات (Mizukami *etal*,1992).

يؤدي نقص افراز TRH و TSH لأي سبب كان او الخلل في الدرقية نفسها او نقص في كمية اليود في الصغار، هذا النقص يعيق من قدرة المحاور العصبية على التفرع والخلايا العصبية على تكوين الزوائد الشجيرية وهذه التغيرات تنتج عنها إعاقة عقلية شديدة يصاحبها قصر القامة نتيجة لتأثر الانسجة الهيكلية تدعى هذه الاعراض مجتمعة بالفدامة Cretinism اما قصور افراز الغدة الدرقية لهرموناتها في البالغين فانه يسبب الاستسقاء المخاطي Myxoedma حيث ينخفض معدل الايض ويشعر الفرد بالبرد ويحدث استسقاء وبطئ في الحركة والتفكير والعمليات العقلية وعندما يكون السبب نقص اليود يحدث الدراق جويتر (Goiter) وهو تضخم الدرقية (Mishra, 2012) ، نتيجة للحث المستمر للغدة بوساطة هرمون TSH ونتيجة لزيادة هذا الهرمون فانه يؤثر على خلايا الغدة الدرقية مما يحفزها على انتاج كميات كبيرة من السائل الغروي داخل الجريبة مع نمو للغدة الدرقية وبالتالي يزداد حجم الجريبات مما يؤدي الى تضخم الغدة الدرقية بحيث يزداد وزنها الى حوالي (300-500) غم او اكثر في الانسان (Agustin and Babu,2013)

2-2-2-2. فرط افراز الغدة الدرقية Hyperthyroidism

هنالك عدة أسباب لفرط نشاط الغدة الدرقية ومن أهمها :-

1-يزداد افراز الدرقية نتيجة لمرض غريفز (Graves disease) او ما يدعى تضخم الغدة الدرقية Exophthalmic goiter وهنا يحتوي الدم على اجسام مضادة شبيهة بهرمون TSH يرتبط بمستقبلات TSH على الدرقية فتسبب حثا مستمرا لها فتتضخم الغدة ويزداد افرازها ولهذا فان المرض هو احد امراض المناعة ضد الذات(Livolsi, 1994, Gilmour *etal*., 2000)

2-زيادة في الوظيفة الذاتية للدرقية Thyroid Hyperautonmus نتيجة لإصابة الغدة الدرقية بأورام في مناطق معينة وهذه المناطق تحت تأثير الهرمون المحفز للدرقية كما في الأورام الجريبية Follicular adenomas (Glinoer, 1998)

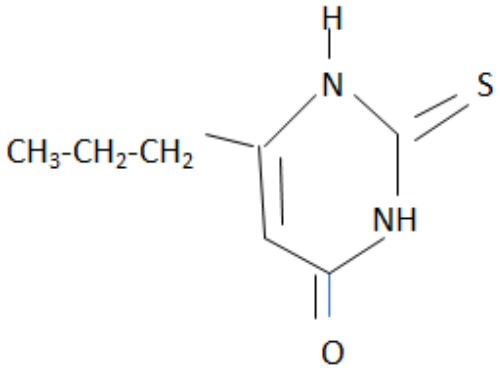
3-الادوية والهرمونات الخارجية المنشأ التي يتم تناولها على شكل عقاقير يمكن ان تؤثر على الغدة الدرقية عن طريق تحفيزها وبذلك تعمل عمل الهرمون المحفز للدرقية TSH مما يؤدي الى زيادة عمل الغدة وبالتالي زيادة انتاج هرموناتها مما يسبب فرط الغدة الدرقية (Stanbury *etal*., 1998) .

2-3. البروبيل ثايوراسيل propylthiouracil

من مركبات الثيونااميد Thionamide المضادة لعمل الغدة الدرقية والمعروف أيضا باسم بي- تي- يو (PTU) ,(6-n-propyl-2-thiouracil) وهو دواء مثبط لعمل الغدة الدرقية Thyroid gland ويستخدم لمعالجة حالات النشاط المفرط للغدة الدرقية لدى بعض المرضى ولا سيما الذين يعانون من داء غريفز (Graves's disease) وهو الصورة الأكثر شيوعا لهذا الاضطراب، حيث يثبط انتاج هرمونات الغدة الدرقية وذلك عن طريق منع اكسدة اليود اذ يمنع بناء الثيروكسين T4 وترابيودوثيرونين T3 ويؤثر الدواء أيضا على الهرمونات المخزونة في الغدة الدرقية وكذلك المتواجدة في الدم (Moriyama *etal*., 2007; Manna *etal*., 2013)

2-3-1.الخصائص العامة للبروبيل ثايوراسيل General Properties of Propythiouracil

هو من مركبات الثيونااميد Thionamide وهو عبارة عن مادة بيضاء بلورية وتكون بشكل باودر ابيض يشبه النشا بالمظهر له طعم مر قابل للذوبان قليلا في الماء وكذلك قابل للذوبان بالكلورفورم والايثانول ولا يذوب في البنزين وداي ايثل اثير Diethylether الصيغة الجزيئية لهذا الدواء هي $C_7H_9N_2OS$ والوزن الجزيئي (170,23KD) اما تركيبه الكيميائي :



(Budavari, 2000)

اما الأسماء التجارية الأخرى لهذا الدواء هي :-

(procasil, propacil, propycil, propythiocil, propythioril, prothiucil) وغيرها، يتوافر هذا الدواء على شكل أقراص 25ملغم او 50ملغم ويعطى عن طريق الفم . (Gennaro, 1995 ; Herband, 2000)

2-3-2. الحركية الدوائية وميكانيكية العمل : Pharmacokinetics and Mechanism of action of Propylthiouracil

يعطى الدواء عن طريق الفم ويمتص بسرعة من قبل ممرات القناة الهضمية وحوالي من (80-90 %)منه مرتبط بالالبومين وكذلك PTU يعبر من خلال المشيمة من الام الى الطفل وكذلك يوجد في حليب الام وبتراكيز مختلفة ام نصف عمره حوالي (1-2ساعة) ويعطى من (3-2) مرة في اليوم وبحسب شدة الإصابة (Streetman and Khanderia,2003 ;Hegeduse, 2009)

اما ميكانيكية العمل الرئيسة له فهو منع تخليق هرمونات الغدة الدرقية T3 , T4 ويكون هذا التأثير في داخل الغدة وخارجها فتأثيرات PTU داخل الغدة الدرقية تتمثل بما يأتي:-

1-تثبيط تصنيع اليود العضوي.

2-تثبيط دمج اليود مع بقايا الثيروسين لبناء الدرقي الكروي الثيروغلوبيولين (Thyroglobulin)

3- تثبيط الاقتران مع (iodothyrosines) ويتم تحديد هذه التأثيرات عن طريق تثبيط عمل البيروكسيدير Peroxidase للغدة الدرقية، ويعد هذا الانزيم بروتين سكري glycoprotein حيث يرتبط مع مجموعة الهيم على غشاء الخلية لجريبات الدرقية وبعد ان يصطاد اليود من

خلال (Na^+/I^- symporter) التي تنظم اليود من خلال مركبات وسطية تتفاعل مع بقايا التيروسين لتكوين التايروسين احادي اليود (monoiodothyrosine (MIT) والتايروسين ثنائي اليود (Diiodothyrosine (DIT) عن طريق الازدواج مع واحد من MIT وواحد من DIT المشتقة من T3 واثنين من DIT المشتقة من T4 كما ان PTU هو احد مركبات الثيونااميد وهي تشابه بقايا الثيروسين في تركيبها الكيميائي لذلك فـ(PTU) يتنافس معها للارتباط مع (TPO-IOX) وتثبيط عمل الخطوات اللاحقة لتصنيع هرمونات الدرقية.

4-كما ان PTU له دور في تثبيط المناعة التي قد تكون كجزيء من تأثيرها العلاجي كما ان (PTU) يعزز موت الخلايا المبرمج للخلايا اللمفاوية داخل الغدة الدرقية (weetman, 1992; Mitsiades *etal*., 2000) كما ان PTU يثبط الخلايا التائية T-cells والخلايا القاتلة الطبيعية (Wang *etal*., 1988) كما ان وظيفة الغدة الدرقية بحد ذاتها كافية للحد من الاستجابة المناعية (Volpe, 2001)

اما تأثيرات PTU الخارجية فتتمثل بتثبيط تحويل T4 الى T3 ويرجع ذلك الى عرقلة deiodinase من النوع (deiodinase type – 1) (Cooper, 2005; Hassan *etal*., 2013) حيث وجد ان PTU يتفاعل مع selenenyl iodide لتشكيل selenenyle sulfide ومن ثم منع تحويل T4 الى T3 (Roy and Mugesh, 2008)

4-3-2 .الاثار الجانبية للبروبيل ثايوراسيل Side Effect of Propylthiouracil

الاثار الجانبية للـPUT عادة ما تكون خفيفة ويمكن تحديدها خلال المراحل الأولى من العلاج (Bartalena etal, 1996) وقد تحدث أيضا اثار جانبية كبيرة لكن غير مهددة للحياة فمن تأثيرات PTU الطفيفة التهاب وحكة وطفح جلدي Skin rashes والم مفصلي arthralgia وحمى fever وغثيان واضطرابات بالشم (تكون اكثر في اثناء العلاج) وقد تحدث في حوالي من (5-10%) من المرضى المعالجين بـ PTU (Bartalena,1996;Cooper, 1999;Pearce,2006) اما الاثار الجانبية الرئيسة فهي ندرة المحبيات Agranulocytosis سمية الكبد Toxic hepatitis والتهاب الاوعية الدموية Vasculitis وفقر الدم اللاتنسجي (Cooper,2005) وتعرف ندرة المحبيات بانها انخفاض في اعداد كريات الدم البيض المحببة في حوالي 30% من المرضى الذين عولجوا بـ PTU (Tajiri and Noguchi, 2005; Takata *etal*. , 2009) وهذه الحالة يمكن ان تحدث بسبب

أليتين واحدة مناعية بوساطة اجسام مضادة للخلايا الحبيبية (Mitsiades,2000) والأخرى مرتبطة بالأضرار السمية المباشرة للـ PTU (Bandyophhay *etal*., 2002) تحدث معظم حالات ندرة المحببات خلال الاشهر الثلاثة الاولى من العلاج ولكنها احيانا قد تنشأ بعد سنة او اكثر من العلاج ومن الاعراض الاكثر شيوعا لهذه الحالة هي الحمى وامراض البلعوم والانتنانات ويمكن ان تتبع او تحدث مضاعفات بوجود بكتريا Pseudomonas aeroginosa وفي مثل هذه الحالة يقطع العلاج فورا وتعطى مضادات واسعة الطيف لتجنب تطور المرض (Streetman and Khanderia, 2003; Cooper , 2005) وهنالك تأثير جانبي رئيسي اخر وهو تسمم الكبد الذي قد ينشأ عادة خلال الاشهر الثلاثة الاولى من العلاج حيث يصاب الكبد بالتنخر (Bahn *etal*., 2009; Cooper and Rivkees, 2009))لذلك فقد اوصت منظمات الاغذية والادوية FDA بان PTU يوصى به كعلاج ثانوي يستخدم فقط في المرضى غير القادرين على استخدام MMI ميثمازول Methimazole او النساء في الثلث الاول من الحمل (Cooper and Rivkees , 2009)وعلى الرغم من ان التهاب الاوعية الدموية هي حالة نادرة الا انها وجدت مرتبطة مع العلاج بـ PTU النمط السريري لهؤلاء المرضى مثل مرضى داء الذئبة الاحمراري (SLE) (SYSTEMIC Lupus Erythematosus) واعراضها تتمثل بالقصور الكلوي الحاد والتهاب المفاصل والتقرحات والطفح الجلدي واعراض الجهاز التنفسي مثل التهاب الجيوب الانفية. (Streetman and Khanderia, 2003) لذلك من الضروري لا بد من مراقبة المرضى كل (4-6) اسابيع خلال المراحل الاولى من العلاج وكل (2-3) شهر بعد ذلك لملاحظة فيما اذا كان هنالك اثار جانبية مع قياس تراكيز هرمونات الدرقية (TSH , T4 , T3) وتحاليل الدم الكاملة واختبار وظيفة الكبد ومن المهم تقييم حجم الغدة الدرقية والاوعية الدموية (Kim etal.,2001; Lian etal.,2004)

2 -4– الاجهاد التأكسدي Oxidative Stress

ويمكن تعريفه على انه حالة عدم التوازن في نظام العوامل المؤكسدة (oxidants) والعوامل المضادة للتأكسد (antioxidants) عن طريق انتاج المزيد من العوامل المؤكسدة مثل مركبات الاوكسجين الفعالةٌ (Reactive oxygen species ,ROS)) التي قد تكون جذور حرة (OH, O2 او H2O2) وهناك مصادر متعددة لل ROS في الجسم وايضا اخرى خارج الجسم، مايتوكوندريا والعضلات الهيكلية التي تمثل المصدرالاساسي لل ROS في الانظمة البايولوجية (Rahman,2007; de Diego-Otero *etal*.,2009) تكون استجابة الخلية لأي مستوى معتدل من الاجهاد التأكسدي من خلال تحفيز نظامها المضاد للتأكسد والانظمة

الدفاعية الاخرى، لكن عند ازدياد الاجهاد التأكسدي الى مستوى عالٍ ينتج عنه تحطم في الجزيئات الخلوية مثل(DNA) والبروتينات والدهون في الجسم (Araujo *etal*.,2006).

2-5- الجذور الحرة Free Radical

هي انواع كيميائية (ذرات او جزيئات) تمتلك الكترون واحد او عدة الكترونات منفردة (غير مزدوجة) في الطبقة الخارجية اي انها غير مستقرة ، ولها القدرة على العيش والاستمرار في نشاطها الحيوي باستقلال تام وتعد كذلك منتجات ثانوية لعملية التمثيل الغذائي للخلايا وهي دقائق قلقة سريعة التفاعل تمتاز بقدرتها على احداث تغيرات كيميائية وخلال مدة زمنية قصيرة مسببة تحطم للانسجة التي تحويها يمكن ان تؤدي الى الموت الخلوي (Pham-Huy *etal*.,2008; Singh *etal*.,2010. ومن اهمها الحوامض النووية مؤدية الى حدوث ضرر بالخلية عن طريق اكسدة هذه الحوامض عند تفاعلها مع جذر OH وهذه الاضرار قد يمكن اصلاحها او لايمكن وبعض هذه التفاعلات تسبب تغيير في DNA اما بتغيير القواعد النتيروجينية او حدوث ارتباط غير طبيعي بين الحوامض والبروتينات مما يسبب طفرات وراثية (Fonseca *etal*.,1997) ومن تاثيراتها الاخرى قدرتها على تحطيم الاغشية الخلوية وزيادة نفاذيتها وفقدانها لوظائفها (Stahl and Sies,1997) كما تسهم الجذور الحرة بزيادة شدة المرض لكثير من الامراض منها حالات العقم والاعتلالات العصبية واعتلال شبكية العين كما وتؤثر الجذور الحرة على الغدة الدرقية فعند زيادتها يزداد نشاط الغدة الدرقية وعند نقصانها يسبب قلة في نشاط الغدة ،كما تقسم الجذور الحرة الى مصدرين (داخلية المنشأ Endogenous وهي تأتي من المايتوكوندريا والبيروكسيسومات وتفاعلات الخلايا الداخلية والخلايا البلعمية و خارجية المنشأ Exogenous وهي تكون خارج الجسم وتحفز بوساطة الملوثات والاشعاع والتدخين والادوية والمركبات الكيميائية (Suleyman *etal*.,2003; Kale *etal*.,2007).

2-6- بيروكسيدة الدهن Lipid Peroxidation

تحدث هذه العملية نتيجة تحلل الاحماض الدهنية غير المشبعة او تفككها في اغشية الخلايا بوساطة سلسلة من تفاعلات التحفيز الذاتي للجذور الحرة لتكوين هيدرو بيروكسيدات الدهن Lipid hydroperoxides التي بدورها تتفكك حتى تكون مركبات اخرى مثل المالون ثنائي الالديهايد وهو يعد الناتج النهائي لعملية بيروكسدة الدهن الذي يعد مؤشراً لحالات زيادة تكون الجذور الحرة والاجهاد التأكسدي (Block *etal*.,2002;Lobo,2010) كما ان هناك عوامل تؤدي الى زيادة بيروكسيدة الدهن مثل درجة عدم تشبع الاحماض الدهنية اذ انه كلما زادت تزداد

عدد الاواصر المزدوجة ونتيجة لذلك تزداد بيروكسيدة الدهن كذلك الايونات المعدنية مثل الحديد والنحاس تعدان عوامل مساعدة لهذه العملية (Grund *etal*.,2003).

ويعد MDA منتج داخلي المنشأ ناتج عن عملية بيروكسدة الدهن Lipid peroxidation التي تحدث بصورة تلقائية في خلايا الجسم (Laura *etal*.,2003; Atip *etal*.,2010) كما ويستخدم MDA كدليل للبحث عن وجود فرط الاكسدة في أنسجة الجسم ، كما ويعد جذر الهيدروكسيل ($OH^{\bullet}$) أحد الجذور المحطمة للأغشية الخلوية عن طريق التفاعل المباشر مع الأحماض الدهنية غير المشبعة مسبباً بيروكسدة الدهن وهذه بدورها تنتج مجموعة من النواتج ، وهذه النواتج تكون فعالة (Defeng and Cederbaum,2003) ، كما وجد ان MDA له القدرة على التفاعل مع الجزيئات البايلوجية الأخرى مثل DNA والبروتينات في حالات الاجهاد التاكسدي وتؤدي دوراً كبير في حدوث الطفرات نتيجة لتفاعلها مع DNA ومن ثم حدوث الأورام السرطانية (Sewerynek *etal*.,2000).

- المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3-1- المواد Materials

3-1-1.الاجهزة والمعدات Equipments and Instruments

الجدول (3-1): الاجهزة والمعدات المختبرية التي استعملت في هذه الدراسة مع اسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ.

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة (المنشأ)
1	انبوبة اختبار Eppendrof tubes	Biobasic (Canada)
2	ثلاجة Refrigerator	Concord (Lebanon)
3	جهاز الدورات الحرارية Thermo cycler apparatus (PCR)	Bioneer (Korea)
4	جهاز الاليزا Elisa reader	Bio Tek Elx 800 bioelisa reader (America)
5	جهاز الطرد المركزي centrifuge	Hettich (Germany)
6	جهاز الترحيل الكهربائي Gel electrophoresis apparatus	Consort (Belgium)
7	حاضنة Incubator	Gallen Kaamp

		(England)
8	حمام مائي water bath	Memmert (Germany)
9	حاوية النيتروجين السائل liquid nitrogen can	Rockefeller (USA)
10	فرن كهربائي Electric oven	Eriotti (Italy)
11	كاميرا رقمية Digital camera	Samsung (Vietnam)
12	المشراح الدوار Microtome	Gmbh.Co. (Germany)
13	موصدة Autoclave	Tomy® (Germany)
14	مازج Mixture	Exispin (Korea)
15	مجهر ضوئي Microscope (Olympus)	MT (Japan)
16	ميزان الكتروني حساس Sensitive electronic balance	Gallen Kaamp (England)
17	ماصات عديدة الاقنية Multichannel	CYAN (Belgium)
18	مدقات صغيرة Micropistlles	Geneaid (USA)
19	Exispin vortex centrifuge	Bioneer (Korea)
20	High speed cold centrifuge	Eppendrof (Germany)
21	Miniopticon Real-Time PCR	Bio Rad (USA)
22	Micropepitte 0.5-10 , 20-200 , 100-1000	Eppendrof (Germany)
23	Nanodrop spectrphotometere	THERMO (UK)
24	Vortex	CYAN (Belgium)

3-1-2. العدد

3-1-2-1. عدد فحص الاليزا ELISA Kits

الجدول (3-2):عدد فحص الاليزا التي استخدمت في هذه الدراسة مع اسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ ومكونات العدة

اسم العدة	الشركة وبلد المنشأ
1- عدة قياس هرمون T3	**ABO,British**
مكوناتها	

- **محاليل ومواد العدة التي استخدمناها لقياس T_3:**

- جفنة فيها حفر تكون مطلية بمادة Anti T_3-Antibody تدعى هذه الجفنة microtiter.
- محاليل قياسية standard جاهزة للاستعمال.
- 15 مللتر من مادة T_3 HRPO Conjugated Diluent.
- 0.8 مللتر من (20 X) T_4 HRPO Conjugated Concentrate.
- 12 مللتر من Color reagent (A).
- 12 مللتر من Color reagent (B).
- 10 مللتر من Stop Solution (2NHCL).

2-عدة قياس هرمون T4	**ABO, British**

مكوناتها

- جفنة ذات حفر microtiter wells مطلية بمادة Anti T4 Antibody.
2- محاليل قياسية Standard جاهزة للاستخدام.
3- 15 مللتر من مخفف T4 HRPO Conjugated.
٤- 0.8 مللتر من المركز T4HRPO Conjugated (مركز حوالي20X).
5- 15 مللتر من الكاشف الملون A.
6- 15مللتر من الكاشف الملون B
7- 10 مللتر من المحلول الموقف للتفاعل HCL (2N).

3-عدة قياس هرمون TSH	**Monobind – Inc الامريكية**

مكوناتها

1-المحلول القياسي الثايروتروبين المخففThyrotropin Calibrators standard solution : الذي يتكون من سبعة تراكيز مخففة وكل علبة تكون حاوية على (١) مل وكالأتي A(0),B (0.5), F(20), E(10) , D(5.0) , C (2.5),G(40) مايكرو وحدة دولية/لتر .

2-محلول السيطرة Control Solution :ويعتبر مدى يتعرّف من خلاله على الحالة المرضية

3-الأنزيم الكاشف لل (TSH): يحتوي على الاجسام المضادة .

4-الحفرWells : وهي (96) حفرة وتكون مطلية بمادة الستربتوفايدين Streptavidin وتكون هذه الحفر محفوظة داخل كيس من الألمنيوم.

5-محلول الغسل Wash Solution: يتكون من Surfactant مذاب في Buffered saline.

6-محلول العمل Work Solution : وهو على نوعين ال substrate A و التي تكون حاوية على Tetramethyl benzidine (TMB) و Substrate B الحاوي على Hydrogen peroxide (H2O2).

7-محلول التوقف Stop Solution:هو عبارة عن حامض قوي (حامض الهيدروكلوريك HCl).

3-1-2-2.عدد قياس تفاعل سلسة البلمرة للاستنساخ العكسي في الوقت الحقيقي الكمي qRT-PCR Quantitave Real-Time Reverse Transcriptase PCR Kits

الجدول (3-3): العدد التي استعملت في تفاعل qRT-PCR في هذه الدراسة مع اسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ.

ت	اسم العدة	مكوناتها	الشركة وبلد المنشأ
1	Accu Zol™ Total RNA Kit Extraction	Trizol Reagent 100ml	Bioneer (Korea)
2	Accu Power® Rockt script RT Pre Mix	- Rocket script Reverse Transcriptase (200u)	Bioneer (Korea)
		-5X Reaction Buffer (1x)	

	-DDT (0.25 mM)		
	-dNTP (250 mM each)		
	-RNase Inhibitor (1u)		
Bioneer (Korea)	-2x Green star Master Mix	Accu Power® 2x Master Greenstar qPCR Mix	3
	8 well strips x12 each		
	-DEPC-D.W 1.8ml x4 tubes		
Bio Basic (Canada)	-DNase I enzyme	DNase I enzyme set Kit	4
	-10x buffer		
	-free nuclease water		

3-2-1-3. البادئات Primers

تم تصميم هذه البادئات في هذه الدراسة وذلك باستخدام موقع NCBI Gene Bank Data وقد تم تجهيز هذه البادئات من قبل شركة بايونير الكورية كما في الجدول ادناه:-

الجدول (3-4): البادئات التي استعملت في تفاعل qRT-PCR للكشف عن التعبير الجيني

primer	sequence		Amplicon
Trh	F	AAAAGGGCATTGGGTCATCC	119 bp
	R	ACTTGTGGGCTTTGCTTCAC	
Tpo	F	AAGGAGCACTCTTTGGCAAC	124 bp
	R	TTGCGCAACTGCTTCTCAAC	
GAPDH	F	ATGCCCCCATGTTTGTGATG	136 bp
	R	TCCACGATGCCAAAGTTGTC	

NCBI Reference sequence : thyrotropin releasing hormone (Trh): NM-019353.2 , thyroid peroxidase (Tpo): NM-019353.2 and GAPDH: NM-017008.4

3-2-1-4. عدد تفاعل الكيمياء النسيجية المناعية

الجدول (3-5) : العدة التي استعملت في تفاعل الكيمياء النسيجية المناعية في هذه الدراسة مع اسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ.

اسم العدة	مكوناتها	الشركة المصنعة وبلد المنشأ
عدة قياس انزيم الثايروويد بيروكسيديزTPO	-Normal serum 1.25 ml EnVision (secondary Ab mice serum) -Solution N 1.3 ml -Solution B 1.3 ml -DAB Buffer 50 ml -DAB 1.25 ml -Reagent 5ml -3% Hydrogen peroxide solution -Citrate butter solution	Dako (EnVision ™ FLEX) Denmark

3-1-3. المواد الكيميائية Chemical Materials

الجدول (3-6) : المواد الكيميائية التي استعملت في هذه الدراسة مع اسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ.

ت	المواد الكيمائية	الشركة وبلد المنشأ
1	ايثانول Ethanol	BDH (England)
2	ايزو برو بانول Isopropanol	BDH (England)
3	DEPC water	Bioneer (Korea)
4	Free nuclease water	Bioneer (Korea)
5	كلوروفورمChloroform	BHD(England)
6	محلول فسلجي Normal Saline	Labort(India)
7	اكاروز Agarose	Sigma – Aldrich (USA)
8	فورمالين Formalin 10%	Labort (India)
9	ايوسين الكحول الحامضي Acidic Alcoholic	Ridel-dehaenag

	eosin	(Germany)
10	هيماتوكسلين hematoxylin	Merk (Germany)
11	شمع البرافين Paraffin wax	Merk (Germany)
12	ايثيديم بروماید Ethedium Bromide	Bio – Labs (England)
13	صبغة الترحيل Loading dye	Bio – Labs (England)
14	محلول فسلجي Normal Saline	Labort (India)
15	زايلين Xyline	Milpharm (England)
16	Tris – Borat- EDAT (TBE)	Amresco (USA)
17	ماء محرر انزيم الرنا RNase free water	Invitrogen (USA)
18	Trizol® reagent	Invitrogen (USA)

2-3. حيوانات التجربة Experimental animals

استخدم في التجربة 60 جرذاً بالغاً من الذكور تنحصر اوزانها (250-200) غم واعمارها تنحصر ما بين (3-4)اشهر والتي تم ايواؤها في البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري في جامعة القادسية وقد اجريت الدراسة للفترة من ٥/١٤ ولغاية ٦/٢٥ لسنة ٢٠١٧ ووضعت في ظروف قياسية (14 ساعة ضوء و 10 ساعات ظلام) طوال مدة التجربة وبدرجة حرارة (20 – 21 درجة مئوية) ورطوبة (40%) حيث وضعت الجرذان في اقفاص بلاستيكية نظيفة ومعقمة اعدت لهذا الغرض وذات اغطية معدنية مشبكة تم تجهيزها بنظام خاص لشرب الماء باستعمال قناني ذات سعة 500 مليلتر مزودة بحلمة في نهايتها حيث تم تزويدها بالماء بصورة مستمرة طوال مدة التجربة كما وتحوي على معلف امامي مشبك وتم فرش ارضية الاقفاص بنشارة الخشب كما تمت العناية بنظافة الاقفاص وذلك بتبديل نشارة الخشب ثلاث مرات في الاسبوع كما زودت الجرذان بالعليقة الغذائية القياسية (Ward,1970) .

الجدول (3-7) **:**مكونات العليقة المستخدمة اثناء فترة الدراسة

التسلسل	المادة العلقية	النسبة %	لكل (10) كغم
1	حليب مجفف كامل الدسم	20.0	2.00 كغم
2	جريش الحنطة	17.0	1.70كغم
3	دقيق الحنطة	17.0	1.70كغم
4	جريش الشعير	20.0	2.00 كغم
5	جريش الذرة	25.5	2.50 كغم
6	ملح الطعام	1.0	0.10 كغم

بالاضافة لهذه المكونات تضاف مجموعة من الفيتامينات والاملاح المعدنية والاحماض الامينية المتوفرة في (Cholivet-A.M.)وبجرعة (10) غم لكل (10) كغم من العلف.

3-3.تحضير العشبة البحرية (*Fucus vesiculosus*)

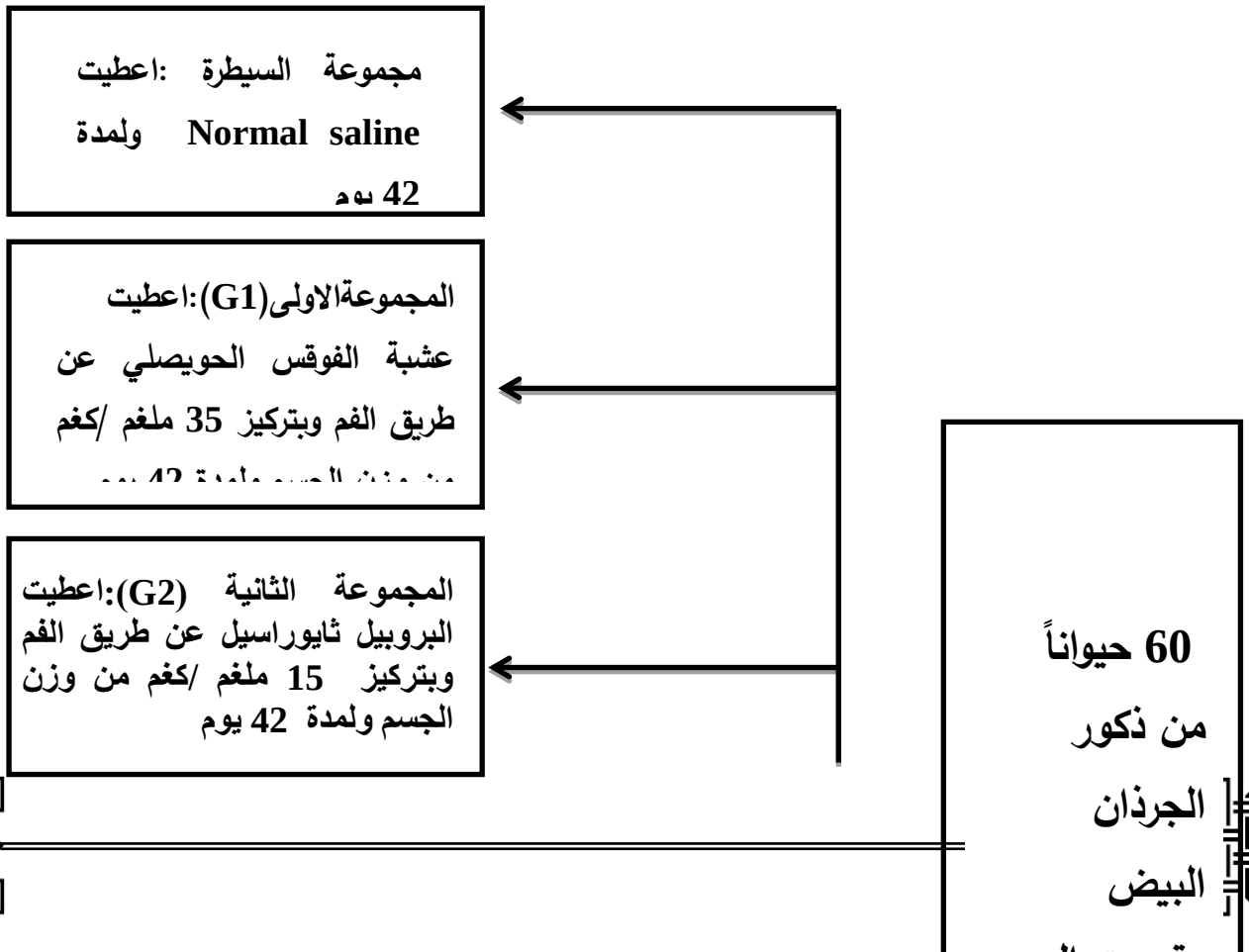
اعتماداً على وزن الحيوانات ،والجرعة المحددة تذاب الكمية المناسبة من العشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) في الماء وبحسب طريقة (السامرائي،٢٠١٣) وتجرع الحيوانات عن طريق الفم باستخدام الانبوب المعدي (Stomach tube).

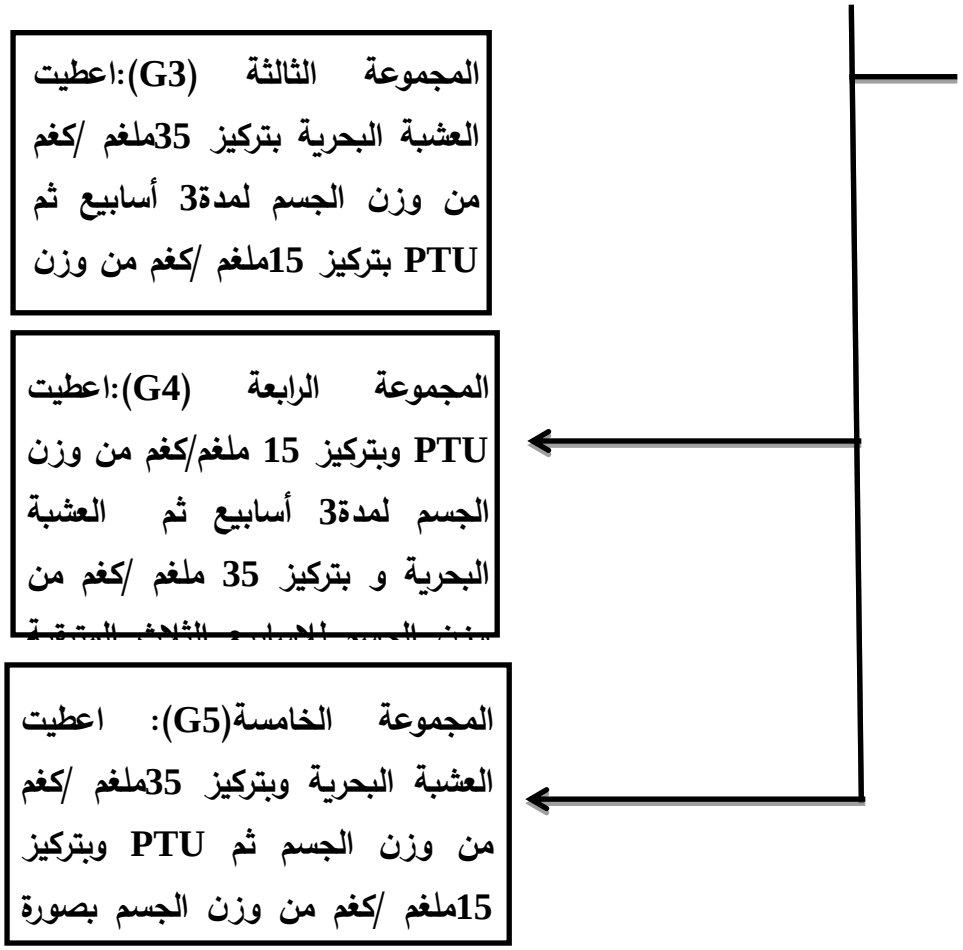
3-4.تحضير مضاد الدرقية (Propylthiouracil)

اعتماداً على وزن الحيوانات ،والجرعة المحددة تذاب الكمية المناسبة من مضاد الدرقية (PTU) في الماء وبحسب طريقة (Suzki and O'neal, 1967) وتجرع الحيوانات عن طريق الفم باستخدام الانبوب المعدي (Stomach tube).

3-5. تصميم التجربة Expermental design

اشتملت هذه التجربة على استخدام 60 جرذاً ذكراً بالغاً، اذ تم تقسيم الجرذان عشوائيا الى ستة مجموعات متساوية العدد في كل مجموعة 10 جرذان وكان معدل أوزانها (170 – 180)غم وبحسب المخطط الموضح ادناه :-





مخطط(3-1): يوضح تصميم التجربة

3-6.قياس وزن الجسم Measurement of body weight

تم قياس وزن جسم الحيوانات قبل بدء التجربة وبعد انتهاء التجربة بوساطة الميزان الحساس ثم استخرج الكسب الوزني بحسب المعادلة :

الكسب الوزني (غم)= الوزن النهائي (غم)- الوزن الابتدائي (غم).

وكذلك تم قياس وزن الغدة الدرقية بوساطة الميزان الحساس ثم تم حساب النسبة المئوية لوزن الغدة الدرقية نسبة الى وزن الجسم بحسب المعادلة :

$$\text{النسبة المئوية لوزن الغدة الدرقية} = \frac{\text{وزن العضو (غم)}}{\text{وزن الجسم (غم)}} \times 100$$

3-7. التضحية بالحيوانات وسحب الدم

تم تخدير الجرذان بشكل كامل باستعمال الكلوروفورم وبعد التخدير تم سحب عينات الدم من كل حيوان من القلب مباشرة ثم تم وضع الدم في انابيب خالية من مانع التخثر potassium EDTA وذلك للحصول على مصل الدم ومن ثم قياس مستويات الهرمونات التي تشمل (TSH , T4 , T3) بالإضافة الى مستوى MDA) ثم شرحت الحيوانات واستأصلت منها الغدة الدرقية والنخامية من اجل اجراء الدراسة النسيجية والجزيئية Molecular study ودراسة الكيمياء النسيجية المناعية Immunohistochemistary (IHC) .

3-8 .المعايير المدروسة

3-8-1. الاختبارات الهرمونية Hormonal tests

3-8-1-1. تقدير تركيز هرمون الثايروكسين T4

3-8-1-1- أ . اساس الفحص :

تم قياس تركيزهرمون T4 باستعمال عدة الفحص الجاهزة Kit باستعمال تقنية الاليزا حيث يعتمد الفحص على التفاعل بين الاجسام المضادة في الانزيم الكاشف ومستضدات هرمون الثايروكسين في المصل .

3-8-1-1- ب . تحضير الكواشف

1- تم جلب الكواشف جميعها إلى الغرفة وبدرجة حرارة (18-25) درجة مئوية قبل الاستخدام.

2- يحضر محلول TMB من مزج كاشف Aمع كاشف Bبنسبة 1:1ومن ثم تم خلطهما بشكل جيد جدا. ويبقى هذا المحلول ثابتاً بدرجة حرارة الغرفة وفي الظلام لمدة ساعة.

3- يحضر الكاشف المرتبط T4 HRPO Conjugated يتم أضافت 0.1 مللتر من الكاشف المرتبط المركز إلى2مللتر من الكاشف المرتبط المخفف بنسبة (1:20) ، ويخلط بشكل جيد. إن كمية الكاشف المرتبط تكون مستقرة بدرجة حرارة 4 درجة مئوية ولمدة أسبوعين .

3-8-1-1- ج. طريقة العمل :-

1- استخدمت الجفنة الخاصة ضمن العدة. وتستخدم ثلاث مجاميع من الحفر المطلية بمادة Anti T_4-Antibody .

2- تم وضعها على حامل وعلمت ، وكانت ثلاث مجاميع: مجموعة للنماذج، ومجموعة للسيطرة، ومجموعة للنماذج القياسية.

3- أضيف 50 مللتر من النموذج، و50 مللتر من السيطرة، و50 مللتر من المادة القياسية لكل مجاميع الحفر.

4- أضيف 100 مللتر من كاشف الانزيم المرتبط لكل حفرة .

5- تم مزجه لمدة 10 ثواني، مع مراعاة المزج الجيد.

6- يحضن بدرجة حرارة الغرفة (18-25) درجة مئوية ولمدة 60دقيقة.

7- يتم التخُلص من خليط الحضن، ثم بعدها تغسل الحفر 5 مرات بالماء المقطر.

8- تجفف الحفر بورق نشاف بشكل جيد للتخلص من قطرات الماء المتبقية.

9- يضاف 200مللتر من محلول TMB لكل حفرة، وتحرك بهدوء لمدة 5 ثواني.

10- يحضن بدرجة حرارة الغرفة و لمدة 20 دقيقة وبدون تحريك .

11- يتم ايقاف التفاعل بإضافة 50 مللتر من HCL (2N) في كل حفرة، ثم يخلط بشكل هادئ.

12- تقرئ الكثافة الضوئية(قيمة O.D) له وبطول موجي450 نانوميتر في جهاز Microtiter well reader

3-8-1-2. تقدير تركيز هرمون الثايرونين ثلاثي اليود T3

3-8-1-2- أ . اساس الفحص

تم قياس تركيزهرمون T3 باستعمال عدة الفحص الجاهزة Kit وبأستخدام تقنية الاليزا حيث يعتمد الفحص على التفاعل بين الاجسام المضادة في الانزيم الكاشف ومستضدات هرمون T3في المصل .

3-8-1-2- ب. تحضير الكواشف

- تم جلب الكواشف جميعها إلى الغرفة و بدرجة حرارة ما بين18–25 درجة مئوية قبل الاستعمال.
- يحضرمحلول TMB، بخلط كاشف Aالملون مع كاشف B الملون بنسبة1:1، وتمزج بشكل جيد جدا ويترك ليستقر وبدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة. وبعد الاستخدام يتم التخلص من المزيج.
- لتحضير الكاشف T_3 HRPOالمرتبط تم أضافت 0.1 مللتر من T_3 HRPO Conjugated المركز إلى 2.0 مللتر من T_3 HRPO Conjugated المخفف و بنسبة 20 :1 ومزجت جيدا. المحلول الناتج مستقر بدرجة حرارة 4 درجة مئوية لمدة أسبوعين.

3-8-1-2- ج. طريقة العمل

1- تستعمل جفنه خاصة microtiter وأخذت ثلاث مجاميع من الحفر المطلية بالأجسام المضادة لـT_3 (Anti t_3).

2 - وضعت على حامل (Holder) وعلمت. المجموعة الأولى تكون مخصصة لوضع النماذج (Samples)، والمجموعة الثانية خصصت لمجموعة السيطرة (control)، والمجموعة الثالثة خصصت للنماذج القياسية (Standard).

3 - تم أضافت 50 مللتر من المحلول القياسي، 50 مللتر من العينة ، 50 مللتر من نموذج السيطرة الى الحفر المطلية بالأجسام المضادة.

4- خلط المزيج في الحفر ولمدة 10 ثوانَ،بعدها أضيف له 100مللتر من الإنزيم المرتبط الكاشف enzyme conjugate reagent في كل حفرة.

5- تم مزج المحتويات لمدة 30 ثانية ويراعى المزج الجيد في هذه المرحلة.

6- تم حضنها بدرجة حرارة الغرفة 25–18 درجة مئوية لمدة 60 دقيقة.

7- سكب خليط الحضن بعدها غسلت الحفر جميعها 5 مرات بوساطة الماء المقطر.

8- جففت الحفر بورق امتصاص للتخلص من الماء المتبقي.

9- أضيف 200 مللتر من TMBفي كل حفرة وحرك لمدة 5 ثواني

10- تحضن بدرجة حرارة الغرفة وفي مكان مظلم ولمدة 20دقيقة من غير تحريك.

11- توقف التفاعل من خلال بإضافة 50 مللتر من HCL (2N)

12- رج المزيج بهدوء لمدة 5ثوانَ لحين تغير اللون من الأزرق إلى الأصفر كليا.

13- تقرئ الكثافة الضوئية له بجهاز Microtiter well reader وبطول موجي 450 نانوميتر

3-8-1-3. تقدير تركيز الهرمون المحفز للغدة الدرقية TSH

3-8-1-3-أ. اساس الفحص

تم قياس تركيزهرمون TSH باستعمال عدة الفحص الجاهزة Kit وباستعمال تقنية الاليزا حيث يعتمد الفحص على التفاعل بين الاجسام المضادة في الانزيم الكاشف ومستضدات هرمون TSH في المصل .

- **طريقة عمل الاختبار Test procedure**

عدد الحفر	كمية المادة في الحفرة	المادة
1	(50)µl من كل محلول قياسي يوضع في الحفرة المخصصة له	Standard solution A
2		Standard solution B
3		Standard solution C
4		Standard solution D
5		Standard solution E
6		Standard solution F
7		Standard solution G
8	(50) µl	Control
9	(50) µl	Serum
تم اضافت الإنزيم الكاشف بمقدار µl (100) لكل الحفر، ثم تخلط المكونات لمدة (20 – 30) ثانية ثم يتم تغطية الحفر وحضنها في درجة حرارة الغرفة ولمدة (60) دقيقة بعد ذلك يتم سكب او شفط مكونات الحفرة و تغسل الحفر بإضافة µl (350) من wash solution وتكرر عملية		

الغسل للحفر ثلاثة مرات، و يضاف µl (100) من محلول العمل في كل الحفر، ثم تحضن الحفر في درجة حرارة الغرفة لمدة (15) دقيقة، ويضاف µl (50) من محلول التوقف في كل الحفر بعد إضافة محلول التوقف تحرك المكونات و لمدة (15 -20) ثانية من اجل خلطها ثم تترك (30) دقيقة بعد ذلك تقرأ الامتصاصية للحفر عند طول موجيnm (450) ويرسم خط لمقدار الامتصاصية على المنحنى البياني لمعرفة تركيز ال(TSH) .

3-8-2. قياس تركيز المالون ثنائي الالديهايد في مصل الدم (MDA) Malondialdehyde

تم تقدير مستوى المالون ثنائي الالديهايد بالاعتماد على طريقة الباحثين (Schmedes and Holmer,1989) حيث تعتمد هذه الطريقة على التفاعل بين بيروكسيدات الدهن وبشكل اساسي MDA وبين حامض الثايوباربيوتريك (TBA)Thiobarbituricويتم التفاعل بوسط حامضي ويكون الناتج ملوناً وتقاس شدة الامتصاص له على طول موجي 532 نانوميتر .

3-8-2-6- أ. طريقة العمل

Reagent	Test	Blank
Serum	150 µl	----
Distill water	----	150 µl
TCA (17.5%)	1 ml	1 ml
TBA (0.6%)	1ml	1 ml
يمزج بشكل جيد ثم يوضع في الحمام المائي و بدرجة الغليان لمدة ١٥ دقيقة بعدها يترك ليبرد		
TCA (70%)	1 ml	1 ml
يتم ترك الانابيب بدرجة حرارة الغرفة ولمدة ٢٠ دقيقة بعدها تجري عملية الطرد المركزي عند سرعة 2000 rpm لمدة ربع ساعة ثم تقرأ شدة الامتصاص للراشح المتكون عند ٥٣٢ نانوميتر.		

3-8-3.الدراسة النسيجية Histological study

3-8-3-1 .تحضير المقاطع النسجية Histological section preparation

بعد استئصال الغدة الدرقية تم حفظها في محلول الفورمالين بتركيز 10% مدة 48 ساعة ثم تحضير المقاطع النسجية باتباع الخطوات بحسب طريقة (Luna,1968) :

1-الانكاز Dehydration

تمرر العينات بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70, 80, 90, 95 ,100%) لساعة ونصف لكل تركيز .

2-الترويق Cleaning

تروق العينات بالزايلين Xylene مرتين لساعة ونصف لكل مرة .

3-التشرب Inflitration

تشرب العينات بشمع البرافين المنصهر بدرجة حرارة 55-60 درجة مئوية مرتين ولمدة ساعة ونصف لكل مرة.

4-الطمر Embedding

طمرت العينات في قوالب نحاسية تحوي على شمع البرافين تعلم وتترك لتتصلب الى اليوم التالي.

5-التقطيع Sectioning

تم التقطيع بجهاز المشراح الدوار وبسمك 5 مايكرومتر ثم تنشر وتوضع المقاطع في حمام مائي بدرجة حرارة 50 درجة مئوية وتثبت على شرائح زجاجية slides ثم توضع بالفرن وعند درجة حرارة 56-65 درجة مئوية لازالة الشمع مدة 15 دقيقة .

6-تصبيغ المقاطع Staining of histological sections

تصبغ المقاطع باستعمال صبغة الهيماتوكسلين-الايوسين بحسب طريقة (Wood and Ellis,1994) وكالتالي:

1-ازالة الشمع من الشرائح deparaffinization من الشرائح الزجاجية وذلك بوضعها بالفرن بدرجة 65 مئوية مدة نصف ساعة ثم توضع في الزايلين مدة نصف ساعة للتخلص من كافة الشمع .

2-تجفيف الشرائح الزجاجية من الزايلين ثم يعاد اليها الماء rehydration بتمريرها بسلسلة من الكحول التنازلي وهي 100%, 90%, 80%, 70%, 50% مدة 32 دقيقة لكل تركيز ثم توضع بالماء الجاري مدة 5 دقائق.

3- توضع الشرائح في صبغة الهيماتوكسلين (Harris-Hematoxylin) مدة 15 دقيقة.

4- تغسل الشرائح بالماء الجاري جيدا .

5- تغمر الشرائح بماء الكحول المحمض Acid-Alcohol لثوانٍ قليلة لمنع زيادة التصبيغ.

6- تغسل الشرائح بالماء الجاري مدة 5 دقائق حتى يرجع اللون الازرق.

7- توضع الشرائح في صبغة الايوسين مدة 10 ثوانٍ .

8-تغسل الشرائح بالماء الجاري .

9- تجرى عملية الانكاز وازالة الماء من الشرائح بتمريرها بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%, 90%,100%, 100%) مدة 2-3 دقيقة لكل تركيز وبعدها تجفف الشرائح .

10- توضع الشرائح في الزايلين مدة لاتقل عن نصف ساعة .

11-تحمل الشرائح Mounting بمادة D.P.X وتغطى cover slipping باغطية زجاجية وتترك لتجف وتكون جاهزة للفحص .

2-3-8-3 .القياسات النسجية للغدة الدرقية Histophysiological study of the Thyroid gland

تم فحص المقاطع النسيجية للغدة الدرقية بوساطة المجهر الضوئي Olympus Microscope وتم تسجيل القياسات بوساطة المقياس العيني الدقيق Ocular Micrometer(O.M) بعد المعايرة بالمقياس المنضدي الدقيق(S.M) Stage Micrometer باتباع الخطوات بطريقة (Galigher and Kozloff,1964) وبقوة تكبير (400X) بحسب المعادلة :

قيمة كل خط من (O.M)= **رقم الخط المطابق من (SM)× 10مايكرون ×قوة التكبير التي تم التصفير عليها**

رقم الخط المطابق من (O.M)×قوة التكبير التي تم التصفير عليها

ثم قمنا باختيار اربع شرائح زجاجية عشوائية لكل حيوان وتم تحديد فعاليتها بحسب طريقة (السلامي ،2007 ;Rashid,1984) وكالاتي:

1-ارتفاع الخلايا الظهارية (مايكرومتر) The Height of Epithelial cell

تم فحص 20 جريباً على الاقل من كل مقطع في كل حيوان من حيوانات التجربة ثم حسب ارتفاع الخلايا الظهارية لكل جريب في اربع نقاط في جدار الجريب وبزاوية 90 بين نقطة واخرى ثم

استخرجت معدل القراءات الاربعة التي تمثل ارتفاع الخلايا الظهارية لكل جريب ثم احتساب ارتفاع الخلايا الظهارية في الجرذ الواحد ثم استخرج المعدل لحيوانات المجموعة وذلك لحساب معدل ارتفاع الخلايا الظهارية للعينة .

2- حساب حجم الجريبات (مايكرومتر) Estimation of Follicl Diameter

حسب اقطار جريبات الغدة الدرقية و لعشرة جريبات من كل شريحة ثم استخرج معدل اقطار الجريبات .

3-حساب حجم الغروان Estimation of Coloid Diameter

حسبت اقطار الغروان داخل الجريبات ثم استخرج معدل حجم المادة الغروانية .

3-3-8-3 .الفحص المجهري والتصوير Microscopic Examination and Photomicrography

فحصت وصورت الشرائح باستعمال المجهرالضوئي (Olympus) وكاميرا رقمية Digitalمن نوع (MC500)وعلى قوى مختلفة لملاحظة التغيرات النسيجية المرضية .

3-8-4. الدراسة الجزيئية Molecalar Study

3-8-4-1. فحص سلسلة البلمرة في الوقت الحقيقي الكمي (الاستنساخ العكسي) Quantitative Reverse Transcription Real- Time PCR (RT-qPCR)

تم اجراء فحص تفاعل سلسلة البلمرة في الوقت الحقيقي الكمي (الاستنساخ العكسي) وذلك لقياس المستويات الكمية للحمض النووي المرسل (MRNA transcript levels) لدلالة على مقدار التعبير الجيني Gene expression لجينات (TSH , TPO) وكذلك استخدام جين الـ(GAPDH) كجين منظم قياسي لحساب التعبير الجيني.

تم اجراء هذا الفحص بحسب طريقة (Mygene Bioneer Korea) كما في الخطوات الاتية :-

3-8-4-1-1. استخلاص الاحماض النووية الكلي Total RNA Extraction

تم استخلاص الحمض النووي Total RNA وذلك باستعمال عدة الـ Trizol kit المجهز من قبل شركة بايونير الكورية وتم العمل بهذا الكت بحسب تعليمات الشركة المصنعة كما في الخطوات الاتية :-

1- اخذ 50mg من نماذج الغدة الدرقية والنخامية للجرذان وسحقت جيدا باستعمال النتروجين السائل ومن ثم وضعت في انبوبة قياس 1.5 مل ثم تم اضافة 1 مل من محلول الـTrizol ومزجت جيدا مدة دقيقتين.

2 - اضيف 200 مايكرولتر من كحول الـ chloroform لكل عينة من العينات ونعمل لها رج مدة 15 دقيقة بوساطة vortex .

3- يحضن الخليط في الثلج مدة 10 دقائق

4- توضع العينات في جهاز الطرد المركزي مدة 10 دقيقة بسرعة 12000 دورة/دقيقة.

5 - تنقل الطبقة العليا (الشفافة) الى انبوبة ابندروف جديدة بوساطة Micropipette ونضيف اليها كمية متساوية من isoprobanol alcohol ونقلب الانبوبة 4 – 5 مرات باليد.

6- تحضن العينات بدرجة حرارة 20 م مدة 10 دقائق.

7 - توضع العينات في جهاز الطرد المركزي بسرعة 12000 دورة/دقيقة مدة 10 دقيقة ثم نتخلص من الطافي ونأخذ المترسب pellet .

8 - نضيف المترسب 1 مل من ethanol alcohol بتركيز 80% ونعمل له رج مستمر بجهاز vortex ثم نضع الخليط بجهاز الطرد المركزي بسرعة 12000 دورة/دقيقة مدة 5 دقيقة ونتخلص من الطافي ونأخذ المترسب pellet.

9- يجفف المترسب بتركه بدرجة حرارة الغرفة (60 – 55)م˚ ولمدة 10 دقائق بعد ذلك يحفظ الحمض النووي RNA المستخلص بدرجة حرارة 70 م.

3-8-4-1-2. قياس تركيز ونقاوة الحامض النووي الرايبوسومي الكلي Assessing RNA Yield and quality

تم الكشف عن الحمض النووي RNA المستخلص وذلك من خلال استعمال جهاز خاص nanodrop spectrophotometer وذلك من تحديد تركيز الحمض النووي الريبوسي RNA ng/ml وقياس نقاوة الحمض النووي RNA من خلال قراءة الامتصاصية بدرجة (260/280 nm) على النحو الاتي :-

1- بعد تشغيل جهاز Nanodrop تم اختيار برنامج قياس الحمض النووي نوع RNA.

2- نقوم بتصفير الجهاز وذلك بوضع 2 مايكرولتر من free nuclease water باستخدام مايكروبايبيت معقمة على سطح ركيزة المقياس واجراء التصفير وبعدها نقوم بتنظيف الركيزة باستعمال اوراق تنشيف لقياس العينات.

3- نقوم بالضغط على زر ok لبدء عملية قياس تركيز الـ RNA المستخلص ومن ثم نقوم بتنظيف ركيزة المقياس للجهاز مدة اخرى لقياس العينة الاخرى.

4 - وكذلك تم تحديد نقاوة عينات الـ RNA المستخلص بقراءة الامتصاصية بجهاز Nanodrop spectrophotometer على طولين موجيين (260/280 nm) حيث ان الحمض النووي RNA المستخلص يعد نقياً عندما تكون نسبة الامتصاصية هي (1.8)

3-8-4-1-3. المعاملة بأنزيم DNase I Treatment

تم معاملة مستخلص الحمض النووي الريبوسومي RNA باستعمال DNase I treatment وذلك للتخلص من بقايا الحمض النووي DNA في عملية الاستخلاص وذلك بالاعتماد على طريقة عمل عدة الانزيم كما في الجدول الاتي :-

Mix	Volume
Total RNA 100 ng/ul	10 ul
DNase I enzyme	1 ul
10x buffer	4 ul
DEPC water	5 ul
Total	20 ul

بعد ذلك تم حضن المزيج في الحاضنة بدرجة حرارة 37° م مدة 30 دقيقة وبعدها اضيف 1 مايكرولتر من مادة EDTA وحضنت ايضا بالحمام المائي بدرجة حرارة 65° م ومدة 10 دقائق وذلك لتنشيط فعل الانزيم.

3-8-4-1-4. طريقة تصنيع cDNA synthesis

تم استخدام طريقة تصنيع الحمض النووي cDNA المكمل للـ DNA من عينات الحمض النووي الـ RNA المستخلص باستعمال عدة Accupower Rockscript RT Premix kit المجهزة من قبل شركة بايونير الكورية وتم اجراء هذه العملية بحسب طريقة عمل العدة كما في الجدول الاتي :-

RT master mix	Volume
Total RNA 100 ng/ul	10 ul
Random Hexamer priner 10 pmol	1 ul
DEPC water	9 ul

Total	20 ul

بعد ذلك تم اضافة مكونات مزيج RT master mix التي ذكرت في الجدول اعلاه الى انابيب cDNA synthesis والحاوية على انزيم الاستنساخ العكسي Reverse transcription ومن ثم وضع جميع الانابيب في جهاز الطرد المركزي المازج vortex centrifuge بسرعة 3000 rpm مدة ثلاث دقائق بعد ذلك تم نقل الانابيب الى جهاز الدوار الحراري thermocycler (Mygene Korea)

وتم تطبيق الظروف الحرارية لعملية تصنيع الـ cDNA بحسب طريقة عمل العدة كما في الجدول التالي :-

Step	Temperature	Time
cDNA synthesis (RT step)	50˚ c	1 hour
Heat inactivation	95˚ c	5 minutes

بعد ذلك نقلت العينات للحفظ بدرجة -20 م لحين استخدامها في فحص (Real-Time PCR)

3-8-4-1-5. فحص Quantitative Real-Time PCR (qPCR)

تم اجراء فحص (qPCR) لعينات cDNA لمجاميع التجربة وكذلك باستعمال عدة Accupower 2x Green star qPCR kit المجهزة من قبل شركة بايونير الكورية، لاجراء هذا الفحص والحاوي على صبغة السايبر الخضراء والتي تتفاعل مع الجينات المتضخمة في جهاز Real-Time PCR كما يأتي :-

أ- تحضير مزيج تفاعل qPCR لجينات الهدف (TPO , TSH)

qPCR master mix		Volume
cDNA template		2.5 ml
Primers (10 pmol)	For ward primer	1.25 ml
	Reverse primer	1.25 ml
2x green star master mix		25
DEPC water		20 ml
Total		50 ml

ب- تحضير مزيج من تفاعل qPCR جين المحافظ القياسي GAPDH genes

qPCR master mix		Volume
cDNA template		2.5 ml
Primers (10 pmol)	Forward primer	1.25 ml
	Reverse primer	1.25 ml
2x green star master mix		25

DEPC water	20 ml
Total	50 ml

بعد ذلك تم اضافة هذه المكونات التي ذكرت في الجدول اعلاه الى انابيب qPCR الخاصة ومن ثم وضعت الانابيب جميعها في جهاز الطرد المركزي المازج centrifuge (exispin) بسرعة 3000 rpm مدة ثلاثة دقائق وبعدها نقلت صفيحة الى جهاز (Miniopticon Real-Time PCR. BioRad. USA) وتم تطبيق الظروف الحرارية (qPCR Thermocycler condition لكل الجينات بحسب طريقة عمل العدة كما في الجدول الاتي :-

qPCR step	Temperature	Time	Repeat cycle
Initial denaturation	95˚ C	3 min	1
Denaturation	95˚ C	20 sec	45
Annealing / Extension Detection (scan)	60˚ C	30 sec	
Melting	60˚ - 95˚ C	0.5 sec	1

3-8-4-1-6. طريقة تحليل البيانات Real-Time PCR data analysis

نقوم بتحليل البيانات الناتجة من تفاعل السلسة المتبلمر في الوقت الحقيقي الكمي من خلال استعمال طريقة Livak and schmittgen, (2001) والتي تعتمد على استخراج الكمية النسبية (Relative Quantitive) والكمية المطلقة (Absolute Quantitive) من خلال عملية تصحيح ومعادلة الجينات الهدف مع عينات السيطرة حتى تكون النتائج ذات معنى بايلوجي لكل عينة من عينات الهدف تصحح مع عينة السيطرة لينتج مستوى محدد من التغيير النسبي وكما في المعادلات الاتية :-

1- ΔCT(test)=CT(target , test) – CT (ref , test)
2- ΔCT(control)=CT(target , control) – CT (ref , control)
3- ΔDCT(test)=DCT(test) – Δ CT (control)
4- Gene expression Ratio = 2 - CTΔΔCT

3-8-5. دراسة الكيمياء النسيجية المناعية Immunohistochemistry (IHC)

يشير مصطلح كيمياء المناعة النسيبجية الى عملية الكشف عن مستضدات معينة في الانسجة البيولوجية مثل البروتينات وصبغها بأضداد معلمة بالاعتماد على مبدا الارتباط بين الاجسام المضادة والمستضدات الهدف وبذلك يتم الكشف عن البروتين المطلوب وطبقاً لتعليمات الشركة المصنعة (Dako ™ EnVision FLEX ,Denmark) تم اجراء التصبيغ المناعي

Immunostaining مع الاجسام المضادة التي تتعرف على البروتين الهدف (انزيم الثايروبد بيروكسيديز TPO)في انسجة الغدة الدرقية .

3-8-5-1.تحضير المحاليل والكواشف المستعملة في تقنية Immunohistochemical:

1-تحضير (PB) (0.1ml من PB لغرض التصبيغ المناعي)

-$Na_2HPO_{4\ 12}H_2O$ 28.7g

-$Na_2HPO_{4\ 2}H_2O$ 3,3g

-D.W(distilled water) 1.0Liter

2-تحضير PBS(0.01ml PBS)

-PB 100ml

-D.W 900ml

3-تحضير Antigen Retrival solution

يحضر 0.01 مل من محلول سترات الصوديوم ،PH له (6.0) (Stock Solution)

-محلول A :(0.1 مل من محلول حامض الستريك) ويحضر بأذابة 21 غم من حامض الستريك مونوهيدريت ($C_6H_8O_7.H_2O$) في 100 مل ماء مقطر.

-محلول B :(0.1 مل من محلول سترات بالصوديوم) ويحضر بأذابة 29.4 غم من سترات الصوديوم الثلاثية ($C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$) في 100مل ماء مقطر .

-محلول العمل :اضافة 9 مل من محلول (Stock solution A) و41 مل من (Stock solution B) الى 450 مل ماء مقطر .

4-تحضير الجسم المضاد الاولي المخفف

-Dilution of primary antibody :Monoclonal mouse antithyroid peroxidase used at adilution range of 1:100 in formalin-fixed ,embedded sections.

3-8-5-2.طريقة العمل

و باتباع تعليمات الشركة المصنعة طريقة العمل تقسم الى جزأين :-

-الجزء الاول :تحضير مقاطع نسيجية مطمورة بالبرافين ومثبتة بالفورمالين وبحسب الخطوات التالية :

1- تثبت الانسجة التي تم تشريحها حديثاً بالفورمالين وبتركيز 10% مدة (72-48) ساعة وبدرجة حرارة الغرفة .

2- تغسل الانسجة بماء الحنفية الجاري مدة ساعة واحدة .

3-يسحب الماء من الانسجة (تجفيف الانسجة)وذلك بأمرارها بسلسلة من التراكيز من الكحول الاثيلي (الايثانول المطلق) مدة 45 دقيقة لكل تركيز ثم يتم امرارها مرتين بتركيز 100%من الكحول ولمدة ساعة واحدة في كل تركيز .

4-تروق الانسجة من خلال امرارها بالزايلين مرتين مدة ساعة واحدة في كل مرة.

5-يغمر النسيج ثلاث مرات في البرافين مدة ساعة واحدة لكل منها .

6-تطمر الانسجة في قوالب البارافين ويمكن خزن هذه القوالب عدة سنوات بدرجة حرارة الغرفة .

7-تقطع مقاطع الانسجة المغمورة بالبرافين بسمك (4-5*M*m) باستعمال جهاز المشراح (التقطيع) microtome وتغمر في حمام مائي بدرجة حرارة 40درجة مئوية ويحوي على الماء المقطر .

8-تنقل المقاطع الى شرائح زجاجية (سلايدات) ثم يسمح للشرائح بان تجف طوال الليل وتخزن السلايدات بدرجة حرارة الغرفة حتى تصبح جاهزة للاستعمال .

-الجزء الثاني :تحضير المقاطع النسيجية المغمورة بالبرافين والمثبتة بالفورمالين ومصبغة مناعياً وبحسب الخطوات التالية :

9-ازالة البرافين من المقاطع بأمرارها مرتين في الزايلين مدة خمس دقائق لكل مرة .

10-تمرر الشرائح في الكحول (تركيز 100%)مرتين مدة 3 دقائق في كل مرة ثم تمرر بسلسلة من التراكيز (95% و70% و50%)من الكحول على التوالي مدة 3 دقائق لكل تركيز.

11-تحضن المقاطع في 3% من محلول H_2O_2 والميثانول وبدرجة حرارة الغرفة مدة 10 دقائق لمنع الفعالية الذاتية للبيروكسيديز .

12-تغسل المقاطع ب 300ml من PBS مرتين مدة 5 دقائق في كل مرة .

13-(اختياري) ترتب المقاطع في حاويات التصبيغ ويصب عليها 300ml من (citrate buffer)10mM وpH له 6.0 وتحضن بدرجة حرارة (100-95)درجة مئوية مدة 10 دقائق لغرض استرجاع المستضد للكشف عن (antigen epitope) ثم تزال الحاويات وتوضع بدرجة حرارة الغرفة ثم تبر د المقاطع مدة 20 دقيقة .

14-تغسل المقاطع في 300mlمن PBS مرتين مدة 5 دقائق في كل مرة .

15-(اختياري)اضافة 100mlمن blocking buffer(مثل 10% mouse serum in PBS)الى المقاطع وتحضن في غرفة رطبة (الحاضنة نفسها)وبدرجة حرارة الغرفة ولمدة ساعة واحدة .

16- تجفف المقاطع من blocking buffer.

17-يوضع 100mlمن الاجسام المضادة الاولية المخففة والمناسبة (بحسب الشركة المصنعة داكو /دنمارك)وهو الجسم المضاد لانزيم TPO الى المقاطع وتحضن بدرجة حرارة الغرفة وبغرفة رطبة مدة ساعة واحدة .

18-تغسل المقاطع ب 300mlمن PBS مرتين مدة 5 دقائق في كل مرة .

19-يوضع 100mlمن الاجسام المضادة الثانوية المخففة والمعزولة بشكل مناسب بحسب تعليمات الشركة المصنعة باستعمال (antibody dilution buffer) الى المقاطع وتحضن بدرجة حرارة الغرفة وبغرفة رطبة مدة 30 دقيقة .

20-تغسل المقاطع ب 300ml من PBS مرتين مدة 5 دقائق في كل مرة .

21-يوضع 100ml من محلول DAB الى المقاطع للكشف عن الاجسام المضادة بتلوينها مدة 5 دقائق حتى يتم الوصول الى كثافة اللون المطلوب.

22-تغسل السلايدات ب 300ml من PBS ثلاث مرات مدة 2 دقيقة في كل مرة .

23-توضع المقاطع المقاومة للصبغة بغمرها بالهيماتوكسيلين مدة 2-1 دقيقة .

24-تغسل المقاطع بماء الحنفية الجاري مدة 15 دقيقة .

25-يزال الماء من الانسجة في المقاطع وذلك بأمرارها بالكحول اربع مرات وبتراكيز (95% و95% و100% و100%) مدة 5 دقائق لكل تركيز .

26-تروق المقاطع بامرارها بالزايلين ثلاث مرات ولمدة 5 دقائق في كل مرة .

27-تفحص المقاطع تحت المجهر الضوئي باستعمال العدسة الزيتية لملاحظة تصبيغ الاجسام المضادة وتحديد المستضد المطلوب (انزيم TPO)في المقطع النسيجي .

3-9.التحليل الاحصائي Statistical Analysis

أخضعت النتائج للتحليل الاحصائي لمعرفة الفروق المعنوية بين معدلات المعايير المدروسة في المجاميع وقد حددت الفروق المعنوية على مستوى احتمال ($P<0.05$) باستعمال البرنامج الاحصائي(SPSS 2010) كما وشمل التحليل الاحصائي استخراج المعدل Mean والخطأ

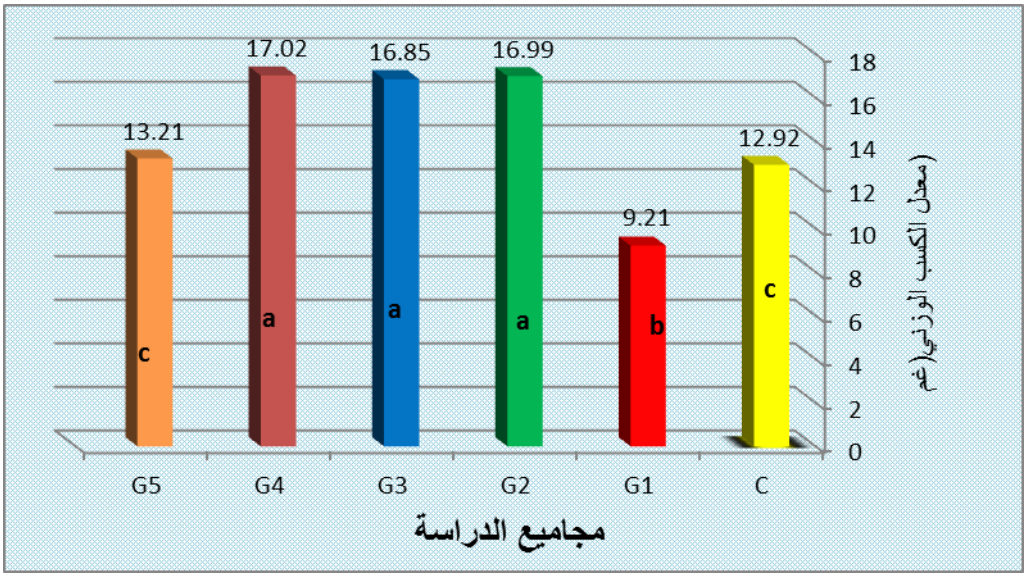
القياسي Standard Error والفروقات المعنوية بين المجاميع حددت بوساطة تحليل التباين الاحادي One-Way Analysis of Variance (ANOVA) (Schefler,1980).

- النتائج

4-1- التغيرات الوزنية

4-1-1.معدل الكسب الوزني للجسم

يوضح الشكل (4-1) وبعد تحليل النتائج احصائيا وجود انخفاض معنوي ($p< 0.05$) في وزن الجسم لذكور الجرذان المعاملة بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) فقط وبتركيز 35 ملغم /كغم من وزن الجسم في المجموعة الاولى(G1)) في حين وجد ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في المجموعة التي تمت معاملتها بمضاد الدرقية (البروبيل ثايوراسيل) فقط وبتركيز 15ملغم/كغم من وزن الجسم في المجموعة الثانية (G2) وكذلك في المجموعة الثالثة (G3) التي تمت معاملتها بالعشبة البحرية مدة ثلاثة اسابيع ثم PTU للأسابيع الثلاثة المتبقية وكذلك المجموعة الرابعة (G4) التي تمت معاملتها بـPTU مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للأسابيع الثلاثة المتبقية في حين لم يكن هناك فرق معنوي في المجموعة الخامسة (G5) التي تمت معاملتها بالعشبة والدواء بالتزامن عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة في حين كان هناك ارتفاع معنوي($P<0.05$) في المجاميع الثانية والثالثة والرابعة والخامسة(G2,G3,G4,G5) عند المقارنة مع المجموعة الاولى (G1) .



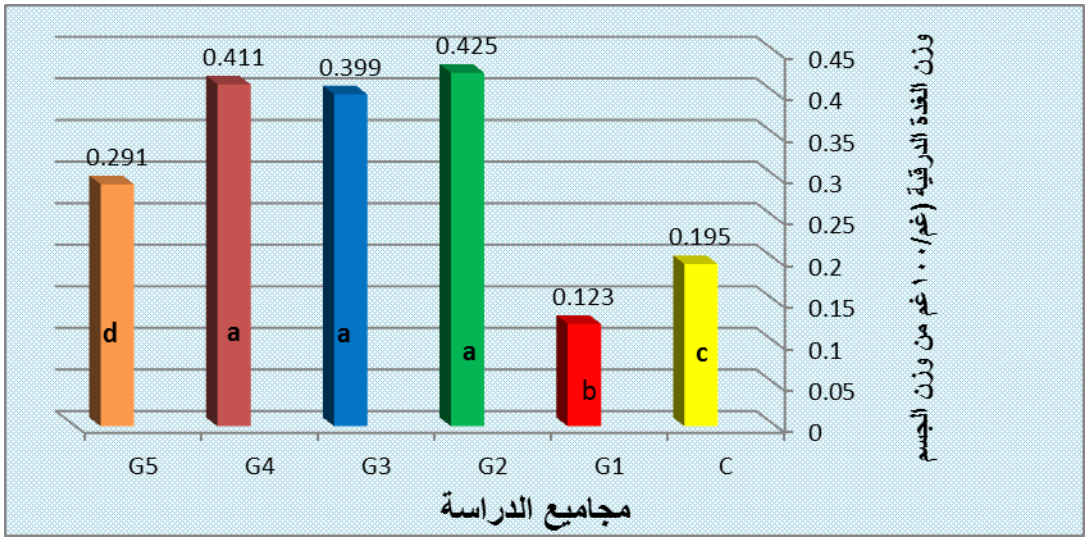
قيمة L.S.D. لمعدل الكسب الوزني للجسم :(3.025)

الشكل (4-1): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على معدل الكسب الوزني (غم) في ذكور الجرذان البالغة.

*** C :مجموعة الجرذان البالغة التي تم تجريعها Normal saline(السيطرة).**
***G1:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة البحرية .**
***G2:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بمضاد الدرقية .**
***G3:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة 3 اسابيع ثم الدواء للاسابيع الثلاثة المتبقية .**
***G4:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالدواء 3 اسابيع ثم العشبة للاسابيع الثلاثة المتبقية .**
***G5:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة والدواء سوية .**

4-1-2 .النسبة المئوية لوزن الغدة الدرقية

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي($P< 0.05$) في وزن الغدة الدرقية لذكور الجرذان البيضاء المعاملة بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) وبتركيز 35 ملغم /كغم من وزن الجسم في المجموعة الاولى (G1) نسبة الى وزن الجسم في مجموعة السيطرة في حين كان هناك ارتفاع معنوي($P<0.05$) في وزن الغدة الدرقية في المجموعة الثانية (G2) التي تمت معاملتها بمضاد الدرقية Propylthiouracil فقط وبتركيز 15 ملغم /كغم من وزن الجسم كما كان هناك ارتفاع معنوي($P<0.05$) في وزن الدرقية في المجاميع التي تمت معاملتها بالعشبة البحرية مدة ثلاثة اسابيع ثم Propylthiouracil للأسابيع الثلاثة المتبقية (G3) وكذلك المجموعة التي تمت معاملتها بـPTU مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للأسابيع الثلاثة المتبقية والمجموعة عوملت بالعشبة البحرية و PTU بالتزامن (G5) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة في حين لا توجد فروقات معنوية($P>0.05$) بين المجاميع الثانية والثالثة والرابعة(G2,G3,G4)عند مقارنتها مع بعضها كما في الشكل (4-2).

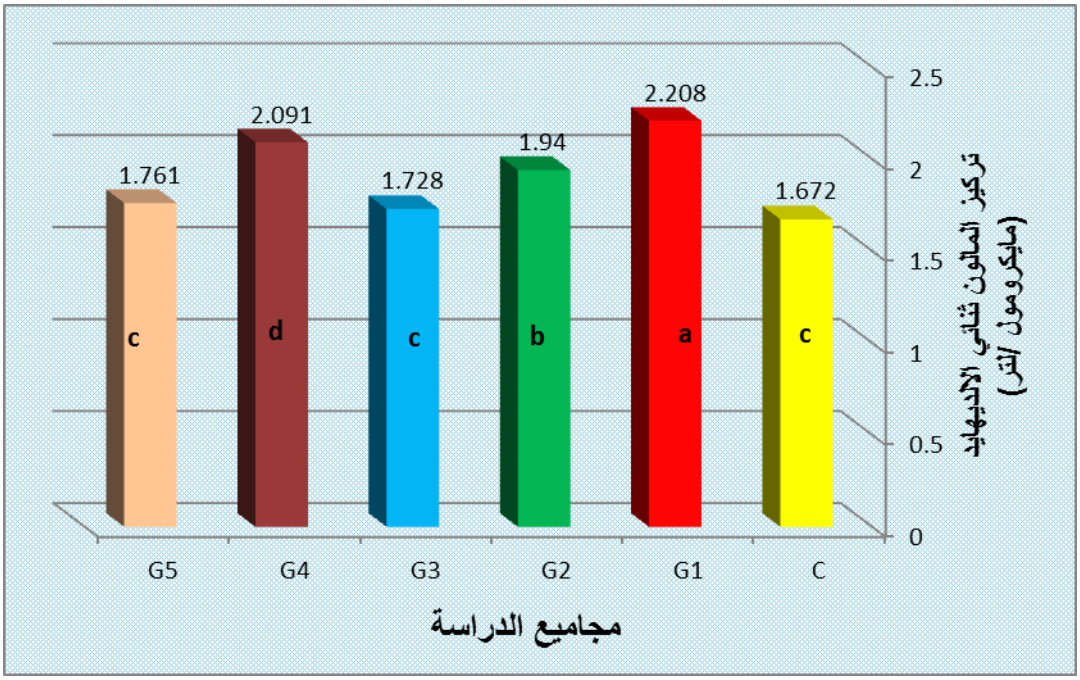


قيمة L.S.D. لوزن الغدة الدرقية (غم/١٠٠ غم من وزن الجسم):(0.065)

الشكل (4-2): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على وزن الغدة الدرقية (غم/100 غم من وزن الجسم) في ذكور الجرذان البالغة.

4-2.مستوى MDA في مصل الدم

سجلت نتائج الدراسة الحالية كما في الشكل (4-3) وجود ارتفاع معنوي ($P< 0.05$) في مستوى المالون ثنائي الالديهايد (ملي مول/لتر) لذكور الجرذان في المجموعة الاولى (G1) التي جرعت بالعشبة البحرية Fucus vesiculosus المجموعة الثانية (G2) التي تم تجريعها بالبروبيل ثايوراسيل و المجموعة الرابعة (G4) التي جرعت بـPTU مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للأسابيع الثلاثة المتبقية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة في حين لم تكن هناك فروقات معنوية ($P> 0.05$)في المجموعة الثالثة (G3) التي جرعت بالعشبة البحرية مدة ثلاثة اسابيع ثم PTU للأسابيع الثلاثة المتبقية والمجموعة الخامسة (G5) التي جرعت بالعشبة البحرية والعلاج PTU سوية مدة 42 يوماً، كما كان هناك ارتفاع معنوي($P< 0.05$) في المجموعة الاولى والثانية والرابعة (G1,G2,G4)عند مقارنتها مع المجموعة الثالثة والخامسة (G3,G5)واللتان لم يكن بينهما فرق معنوي عند المقارنة بينهما.



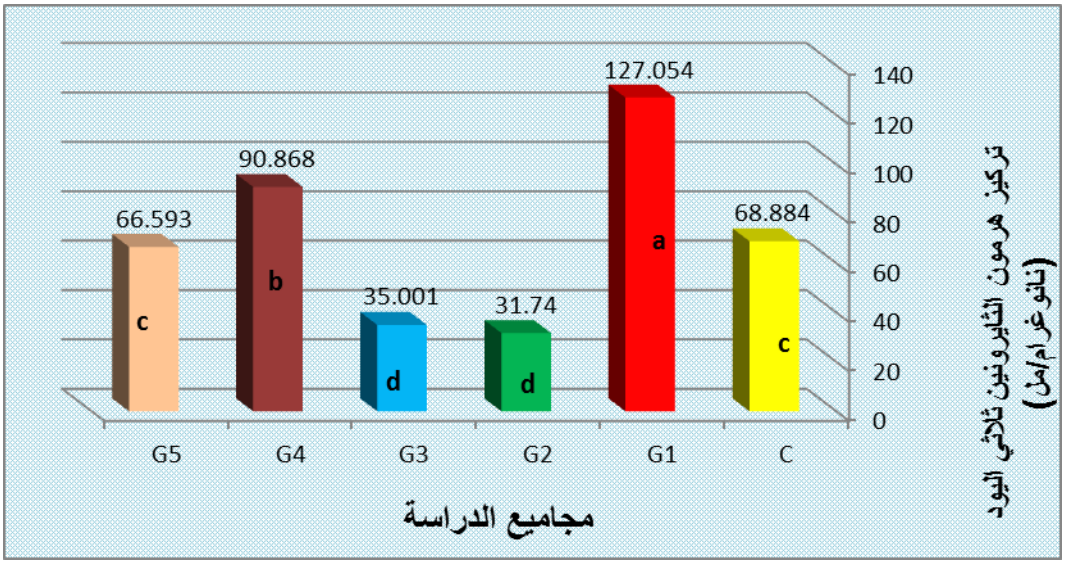
قيمة L.S.D: (0.25)

الشكل (4-3): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على مستوى MDA (مايكرومول/لتر) في ذكور الجرذان البالغة

4-3.الدراسة الهرمونية

4-3-1- تركيز هرمون T3 في مصل الدم

اظهرت نتائج الدراسة الحالية كما في الشكل (4-4) الى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في تركيز هرمون T3 (نانوغرام/مل) لذكور الجرذان في المجموعة الاولى (G1) التي تم تجريعها بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) والمجموعة الرابعة (G4) التي تم تجريعها بالروبيل ثايوراسيل مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للأسابيع المتبقية في حين كان هناك انخفاض معنوي($P < 0.05$) في المجموعة الثانية (G2) التي تم تجريعها بالبروبيل ثايوراسيل فقط المجموعة الثالثة (G3) التي جرعت بالعشبة البحرية مدة ثلاث اسابيع ثم PTU للأسابيع المتبقية في حين لم يكن هناك فرق معنوي في المجموعة الخامسة (G5) التي جرعت بالعشبة و PTU بالتزامن عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة، كما كان هناك ارتفاع معنوي($P < 0.05$) في المجموعة الاولى والرابعة والخامسة(G1,G4,G5) عند مقارنتها مع المجموعة الثانية والثالثة (G2,G3)في حين لم يكن هناك فرق معنوي بين المجموعتين الثانية والثالثة عند المقارنة بينهما.

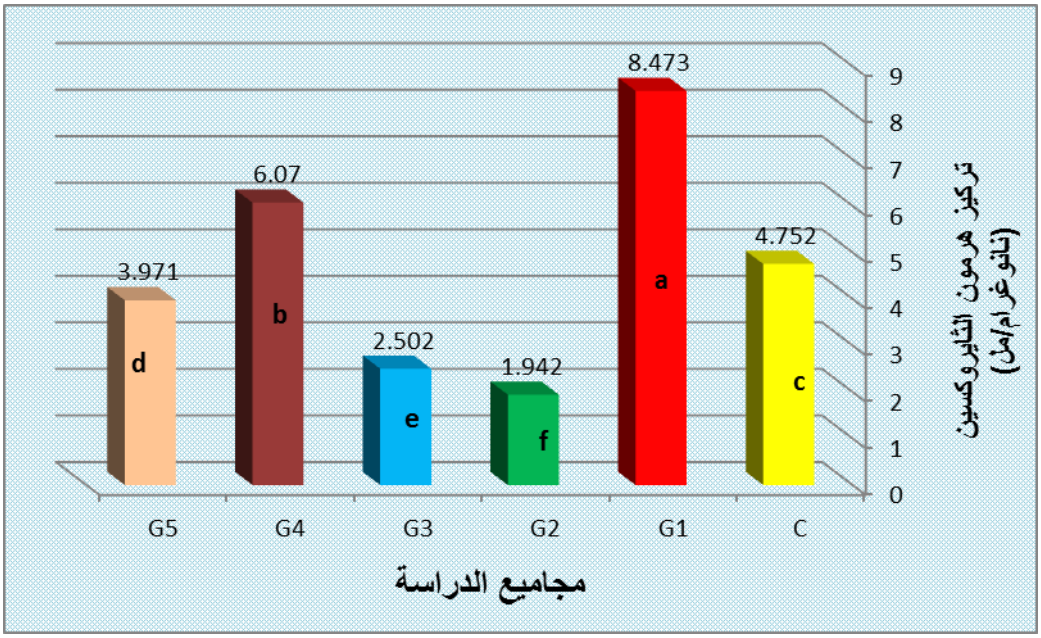


قيمة L.S.D: (6.041)

الشكل (4-4): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على تركيز هرمون T3 (نانوغرام/مل) في ذكور الجرذان البالغة

4-3-2.تركيز هرمون T4 في مصل الدم

بينت نتائج التحليل الاحصائي كما في الشكل (4-5) وجود ارتفاع معنوي($P< 0.05$) في تركيز T4 (نانوغرام/مل) في مصل الدم في المجموعة الاولى (G1) التي جرعت بالعشبة البحرية الفوقس الحويصلي المجموعة الر ابعة (G4) التي جرعت بالبروبيل ثايوراسيل مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للأسابيع المتبقية عند مقارنتها مع السيطرة في حين كان هناك انخفاض معنوي ($P< 0.05$) في المجموعة الثانية (G2) التي جرعت بالبروبيل ثايوراسيل فقط والمجموعة الثالثة(G3) التي جرعت بالعشبة مدة ثلاثة اسابيع ثم PTU للأسابيع المتبقية الثالثة والمجموعة الخامسة (G5) التي جرعت بالعشبة و PTU بالتزامن عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة،كما كان هناك انخفاض معنوي($P< 0.05$) في المجاميع الثانية والثالثة والرابعة والخامسة(G2,G3,G4,G5) عند مقارنتها مع السيطرة في حين كان هناك ارتفاع معنوي($P< 0.05$) في المجموعة الرابعة (G4)والمجموعة الخامسة (G5)عند مقارنتها مع المجموعتين الثانية والثالثة(G2,G3).



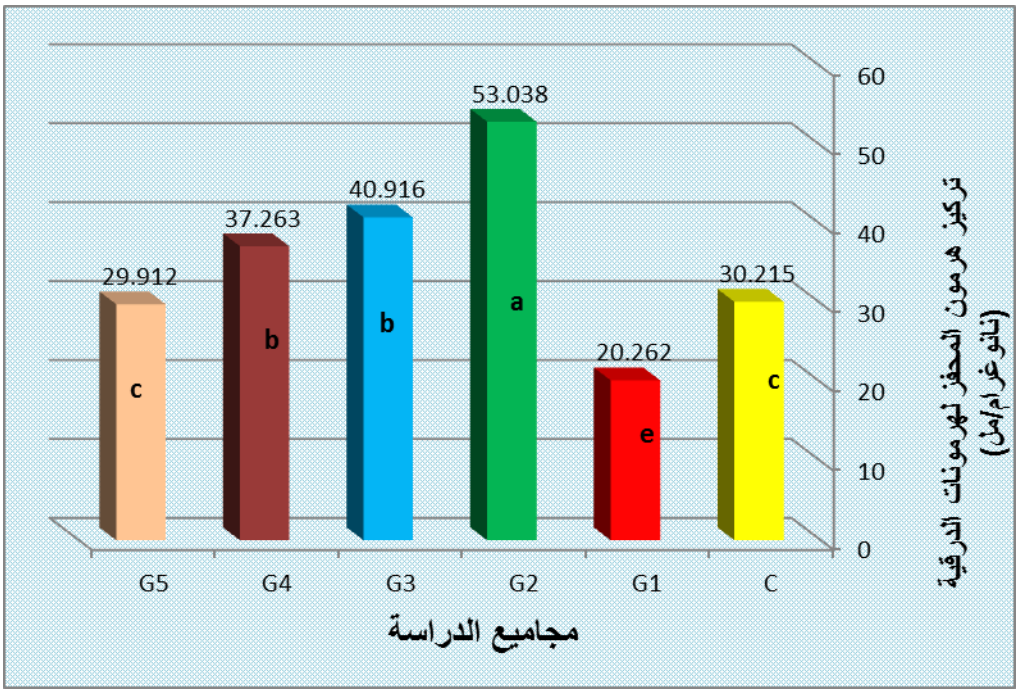
قيمة L.S.D: (0.45)

الشكل (4-5): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على تركيز هرمون T4 (نانوغرام/مل) في ذكور الجرذان البالغة

4-3-3.تركيز هرمون TSH في مصل الدم

بينت نتائج الدراسة الحالية كما في الشكل (4-6) حصول انخفاض معنوي($P<0.05$) في تركيز TSH (نانوغرام/مل) في المجموعة الاولى (G1) التي جرعت بالعشبة البحرية فقط عند

المقارنة مع السيطرة،في حين كان هناك ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز TSH في المجموعة الثانية (G2) التي جرعت بالبروبيل ثايوراسيل فقط والمجموعة الثالثة (G3) التي جرعت بالعشبة البحرية مدة ثلاثة اسابيع ثم PTU للأسابيع المتبقية والمجموعة الرابعة (G4) التي جرعت بـPTU للأسابيع الثلاثة الاولى ثم العشبة البحرية للأسابيع الثلاثة المتبقية عند المقارنة مع السيطرة ومع المجموعة الاولى في حين لم يكن هناك فرق معنوي في المجموعة الخامسة (G5) التي جرعت بالعشبة والبروبيل ثايوراسيل بالتزامن عند مقارنتها مع السيطرة لكن كان هناك زيادة معنوي في هذه المجموعة عند مقارنتها مع المجموعة الاولى.



قيمة L.S.D: (1.24)

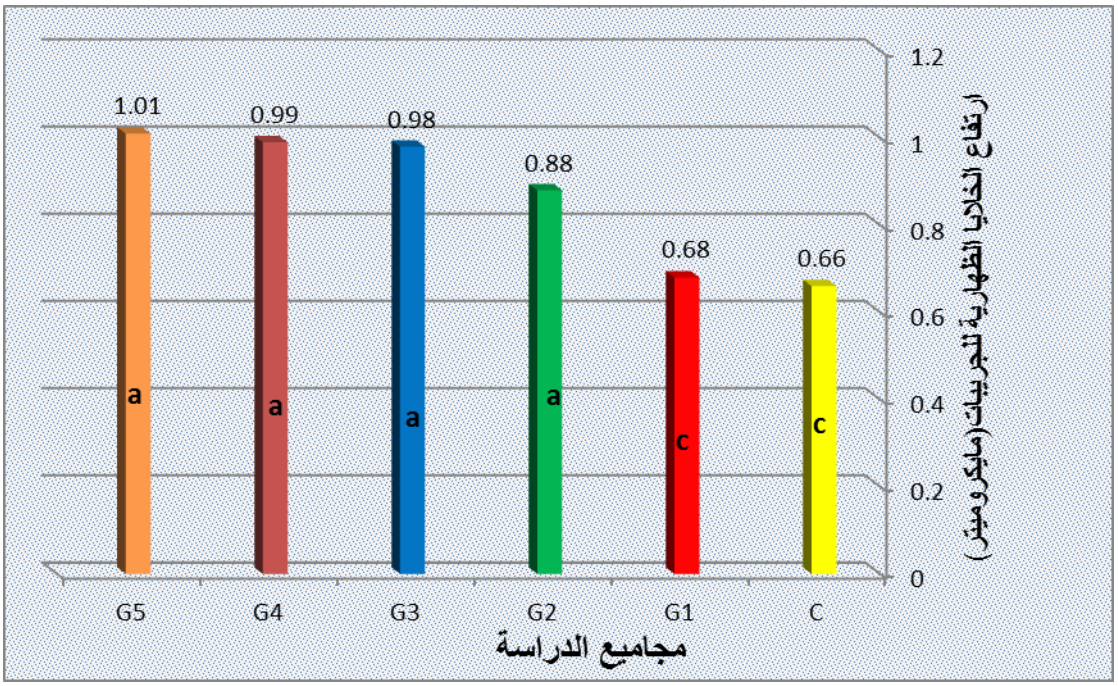
الشكل (4-6): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على تركيز هرمون TSH (نانوغرام/مل) في ذكور الجرذان البالغة.

4-4. الدراسة النسيجية

4-4-1. القياسات النسجية

4-4-1-أ.ارتفاع الخلايا الظهارية High of Epithelial cells

يوضح الشكل (4-7) وجود ارتفاع P<0.05 في الخلايا الظهارية في المجاميع (G3,G4,G5) وكانت معدلاتها (0.98) و(0.99) و(1.01)على التوالي عند مقارنتها مع السيطرة (0.66) في حين لم يكن هناك فرق معنوي في ارتفاع الخلايا الظهارية في المجموعة الاولى (G1) حيث بلغت (0.68) والتي تم تجريعها بالعشبة البحرية مدة 42 يوماً والمجموعة الثانية حيث بلغت (0.88) والتي تم تجريعها بمضاد الدرقية PTUعند المقارنة مع السيطرة في حين لم يكن هناك فرق معنوي في ارتفاع الخلايا الظهارية بين المجاميع الثانية والثالثة والرابعة والخامسة عند مقارنتها مع بعضها.



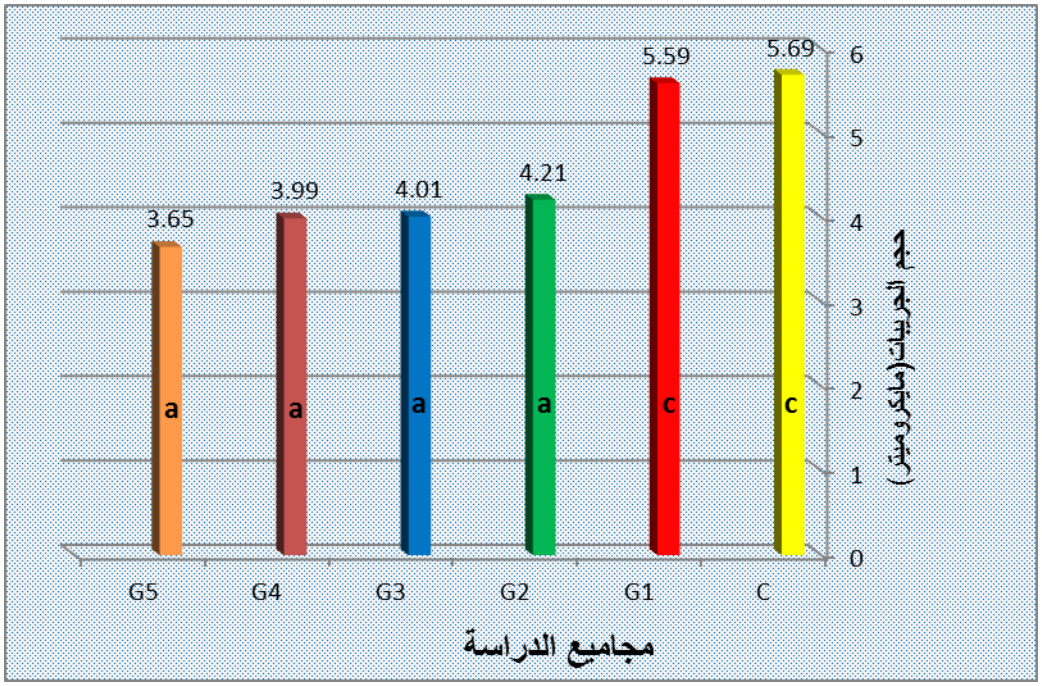
قيم L.S.D. لارتفاع الخلايا الظهارية :(0.26)

الشكل (4-7): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على ارتفاع الخلايا الظهارية (مايكروميتر) في ذكور الجرذان البالغة

4-4-1- ب. حجم الجريبات Follicle size

يبين الشكل (4-8) بعد تحليل النتائج احصائياً وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في حجم الجريبات في المجاميع (G2, G3, G4, G5) اذ بلغت معدلاتها (4.21) و (4.01) و(3.99) و(3.65) على التوالي عند المقارنة مع السيطرة (5.69) ، لكن لم يكن هناك فرق معنوي (P>0.05) في المجموعة الاولى (G1) التي جرعت بالعشبة البحرية الفوقس

الحويصلي وبتركيز 35 ملغم/كغم من وزن الجسم عند المقارنة مع السيطرة اذ بلغ معدل حجم الجريبات فيها (5.59) كما لم يكن هناك فرق معنوي(P>0.05) بين المجاميع (G2,G3,G4,G5) عند مقارنتها مع بعضها.

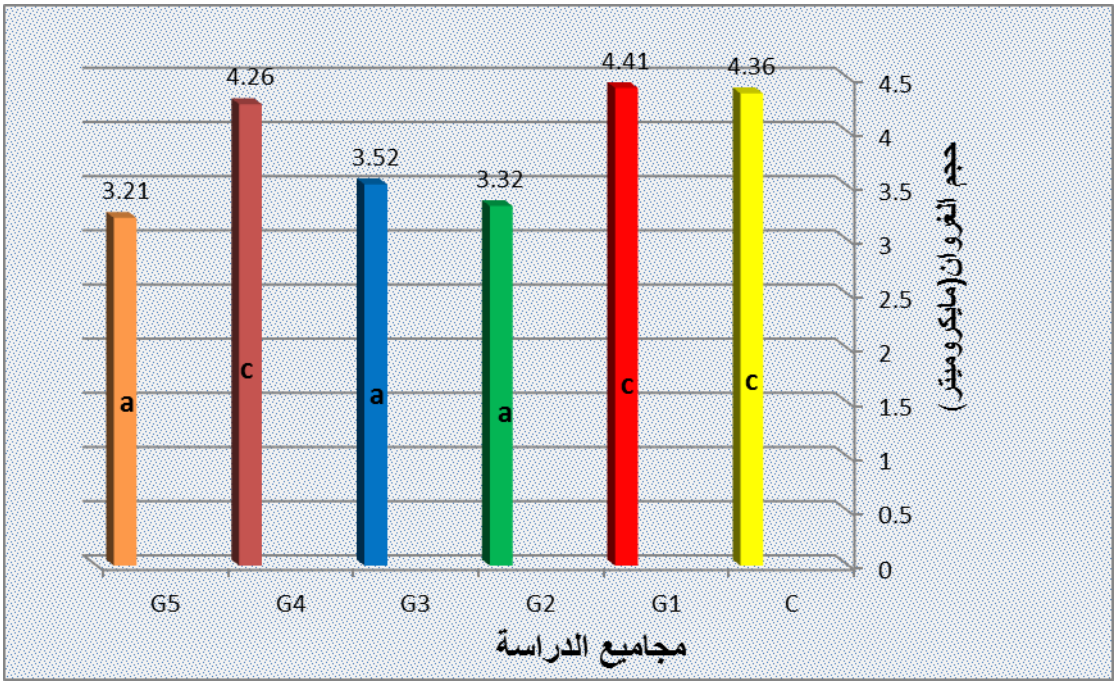


قيم L.S.D. لحجم الجريبات :(0.42)

الشكل (4-8): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على حجم الجريبات (مايكروميتر) في ذكور الجرذان البالغة

4-4-1- ج. حجم الغروان (مايكروميتر) Colloid volume

النتائج في الشكل (4-9) توضح وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في حجم الغروان في المجموعة الثانية (G2) التي تم تجريعها بمضاد الدرقية (PTU)و المجموعة الثالثة (G3) التي تم تجريعها بالعشبة ثلاثة اسابيع ثم مضاد الدرقية للاسابيع الثلاث المتبقية والمجموعة الخامسة (G5) التي تم تجريعها بالعشبة وPTU سوية طوال مدة التجربة والبالغة ستة اسابيع والتي بلغت معدلاتها (3.32) و(3.52) و(3.21) على التوالي عند المقارنة مع السيطرة ومع المجموعتين الاولى(G1) والرابعة (G4)في حين لم يكن هناك فرق معنوي في المجموعة الاولى (G1) التي تم تجريعها بالعشبة البحرية والمجموعة الرابعة (G4) التي تم تجريعها ب PTU مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة للاسابيع الثلاث المتبقية حيث كانت معدلاتها G1 (4.41) و G4(4.26) ،عند مقارنتها مع السيطرة(4.36) .



قيم L.S.D. لحجم الغروان :(0.37)

الشكل (4-9): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (Propylthiouracil) والتداخل بينهما على حجم الغروان (مايكروميتر)في ذكور الجرذان البالغة

4-4-2 .التغيرات النسجية المرضية

اظهرت الدراسة الحالية العديد من التغيرات المرضية –النسجية في الغدة الدرقية في ذكور الجرذان البالغة والمعاملة بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي Fucus vesiculosus) ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل Propylthiouracil(PTU) فعند فحص المقاطع النسجية في نسيج الغدة الدرقية لمجموعة السيطرة والمصبوغة بصبغة الهيماتوكسيلين والايوسين وأوضح التركيب الطبيعي لانسجة الغدة الدرقية أحتوائها على عدد من الجريبات مستديرة الشكل وبأحجام مختلفة ومبطنة بطبقة واحدة من الخلايا الظهارية المكعبة كما تتميز هذه الجريبات بأمتلائها بالغروان Colloid الذي يبين الفعالية الطبيعية لها (الشكل 4-10).

اما الحيوانات في المجموعة الاولى(G1) التي تم تجريعها بالعشبة البحرية وبتركيز 35 ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 42 يوماً فعند فحص المقاطع النسجية للغدة الدرقية لم تظهر اية تشوهات نسيجية مع ظهور استجابة جيدة للعشبة التي سببت نمو العديد من الجريبات والتي عادة ماتكون بأحجام مختلفة وخاصة الجريبات الحديثة التكوين الفاقدة للغروان بالاضافة للجريبات

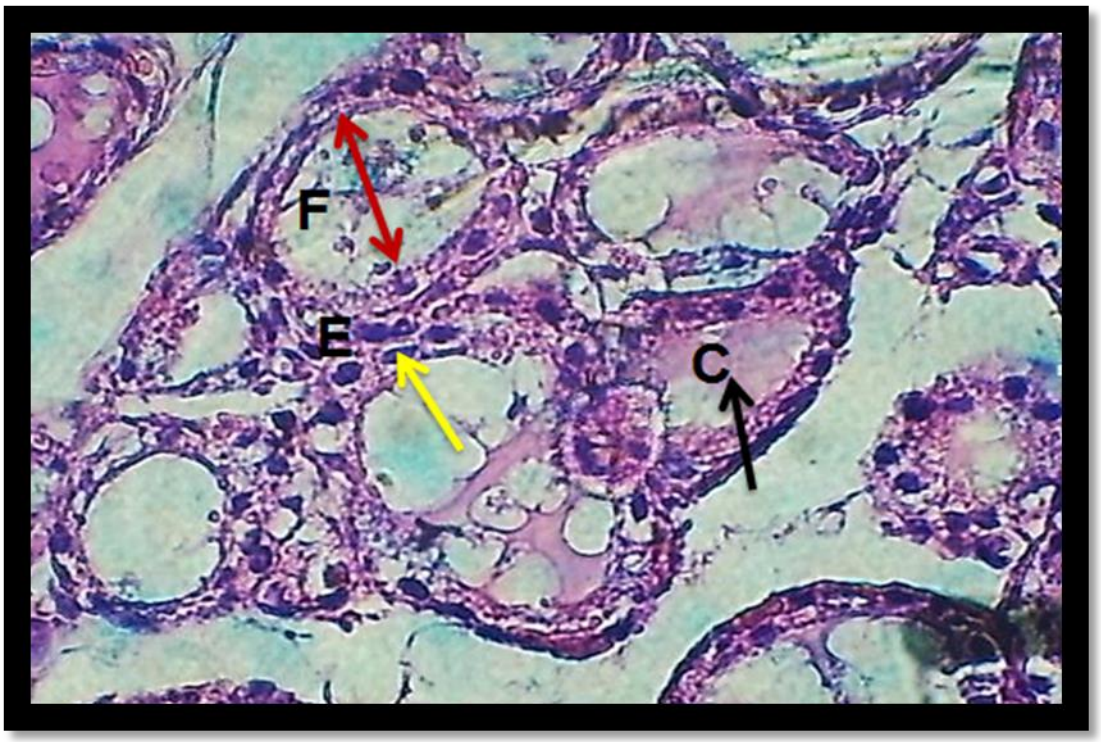
المحتوية على الغروان وهذا ما يؤكد الفعالية الطبيعية للغدة الدرقية ومن خلال الفحص تم ملاحظة ان التركيب النسيجي للمقاطع المأخوذة من الغدة الدرقية في هذه المجموعة متقاربة في شكلها وترتيبها مع مقاطع السيطرة (الشكل 4-11).

اما الحيوانات التي تمت معاملتها بمضاد الدرقية (PTU) في المجموعة الثانية (G2) بتركيز 15 ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة 42 يوماً اظهر الفحص للمقاطع النسجية تشوه واضح في التركيب الجريبي وقلة حجم الجريبات حيث كان هناك تضخم واضح في بطانة الخلايا الجريبية وارتفاع الخلايا الظهارية كما كان هناك انخفاض في حجم الغروان كما يمكن ملاحظة وجود نزف دموي وملاحظة وجود تنخر Necrosis (الشكل 4-12).

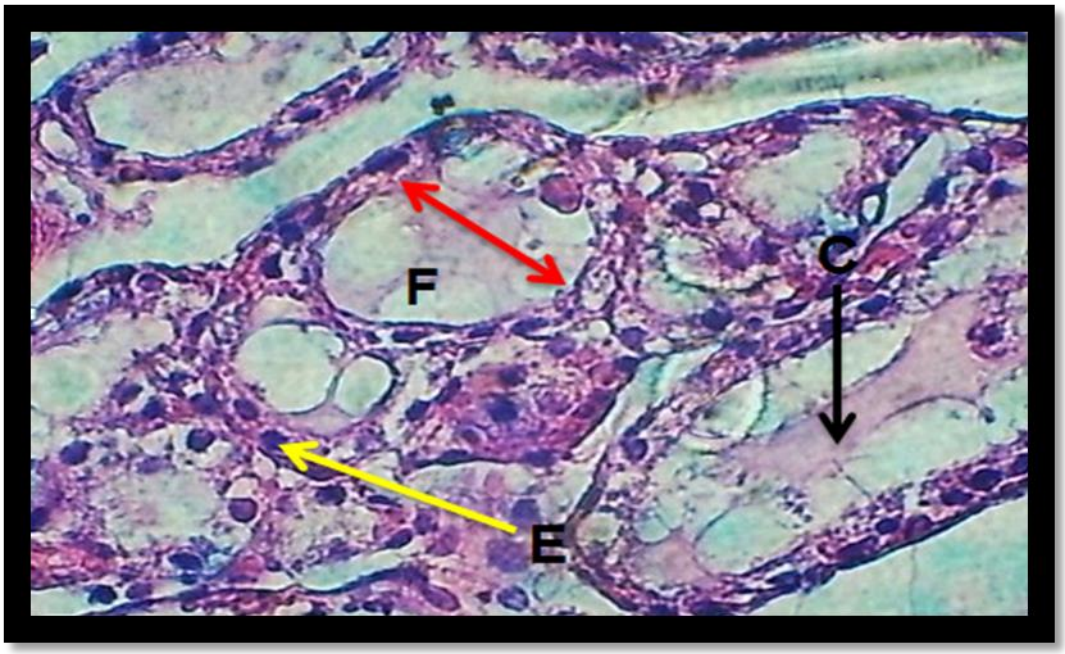
اما فيما يخص المجموعة الثالثة (G3) التي تم فيها تجريع الحيوانات بالعشبة مدة ثلاثة اسابيع ثم العلاج (PTU) للاسابيع الثلاث المتبقية فقد لوحظ وجود تنخر وتنكس وتغيير قليل في حجم الجريبات وارتفاع في الخلايا الظهارية وقلة في حجم الغروان (الشكل 4-13).

اما الحيوانات في المجموعة الرابعة (G4) التي تم تجريعها بالعلاج (PTU) مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للاسابيع الثلاث المتبقية فقد اظهر الفحص النسيجي اختفاء في معالم الغدة الدرقية اذ يمكن ملاحظة اختزال في حجم بعض الجريبات مع وجود فجوات واضحة ونزف دموي وارتفاع في الخلايا الظهارية كما يمكن ملاحظة وجود تنخر (الشكل 4-14).

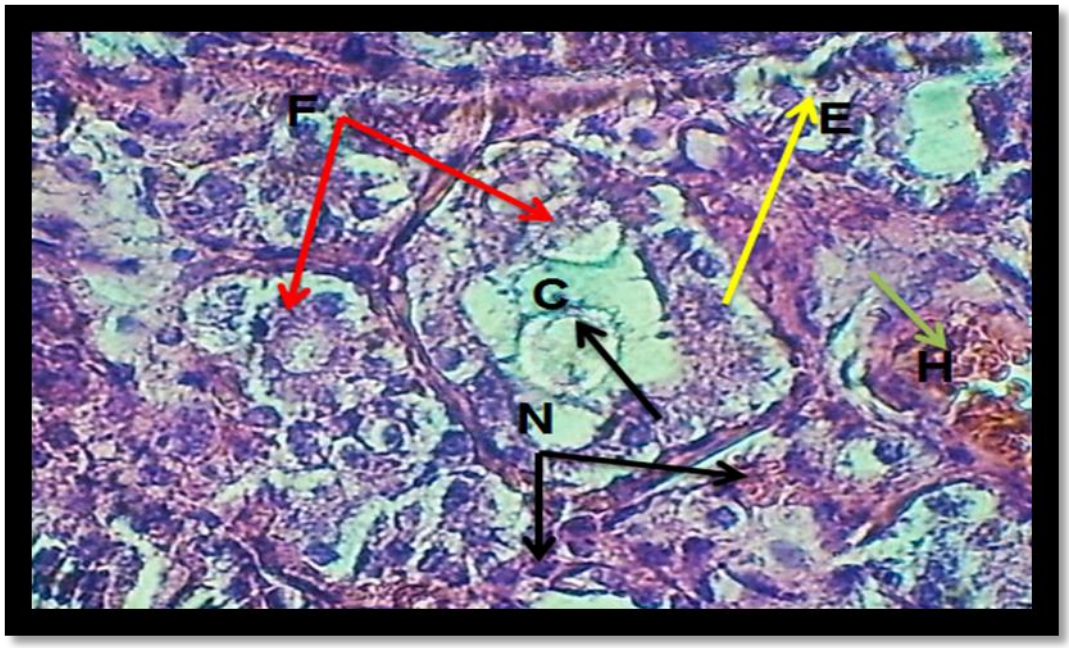
كما اظهر الفحص المجهري للمقاطع المأخوذة من مجموعة الحيوانات في المجموعة الخامسة (G5) التي تم تجريعها بالعشبة البحرية والعلاج سوية مدة 42 يوماً وجود صغر في حجم الجريبات مع خلوها من الغروان وارتفاع في حجم الخلايا الظهارية كما تم ملاحظة وجود نزف دموي وتنخر (الشكل 4-15).



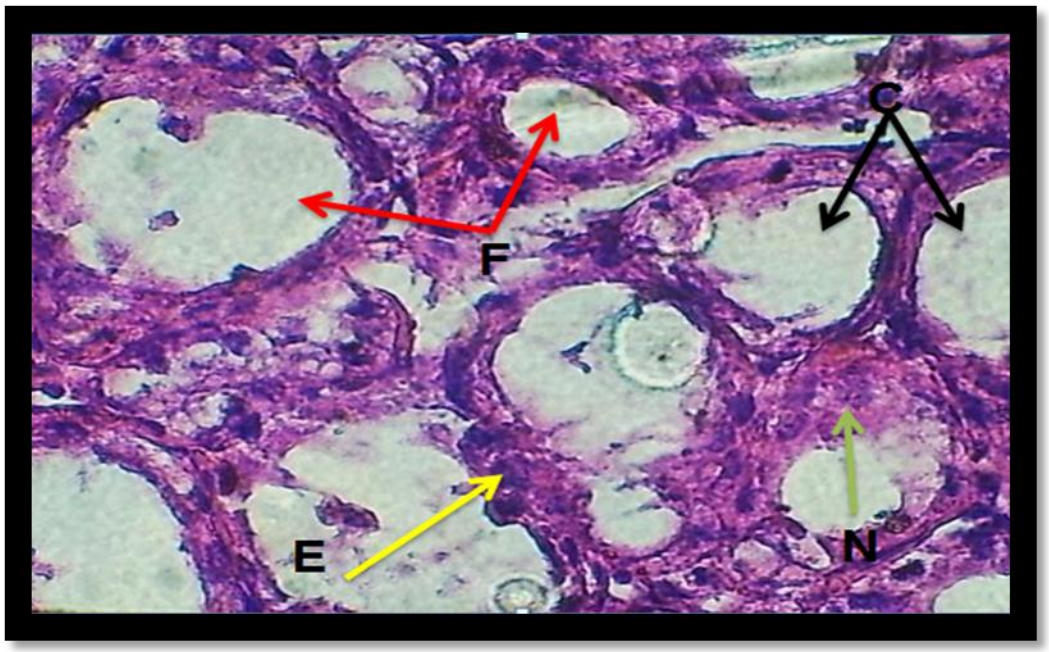
الشكل (4-10):مقطع عرضي للغدة الدرقية في مجموعة السيطرة يوضح حجم الجريبات (F) ، الغروان (C) والخلايا الظهارية للجريبات (E) (هيماتوكسيلين والايوسين 400X)



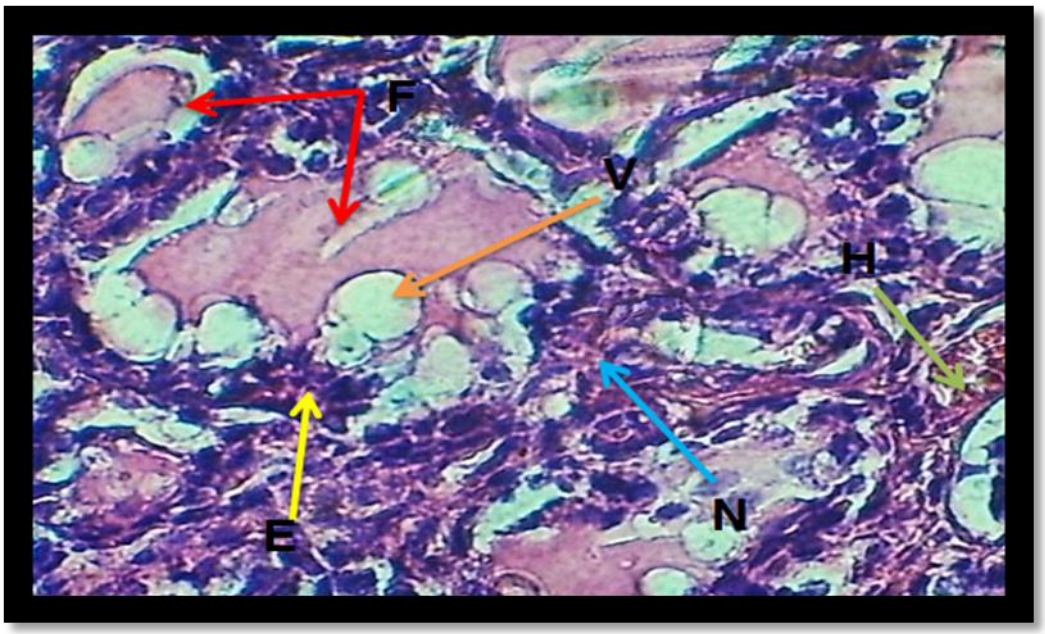
الشكل (4-11): مقطع عرضي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) يوضح حجم الجريبات (F) وارتفاع الخلايا الظهارية (E) وحجم الغروان (C) (هيماتوكسيلين والايوسين (400X



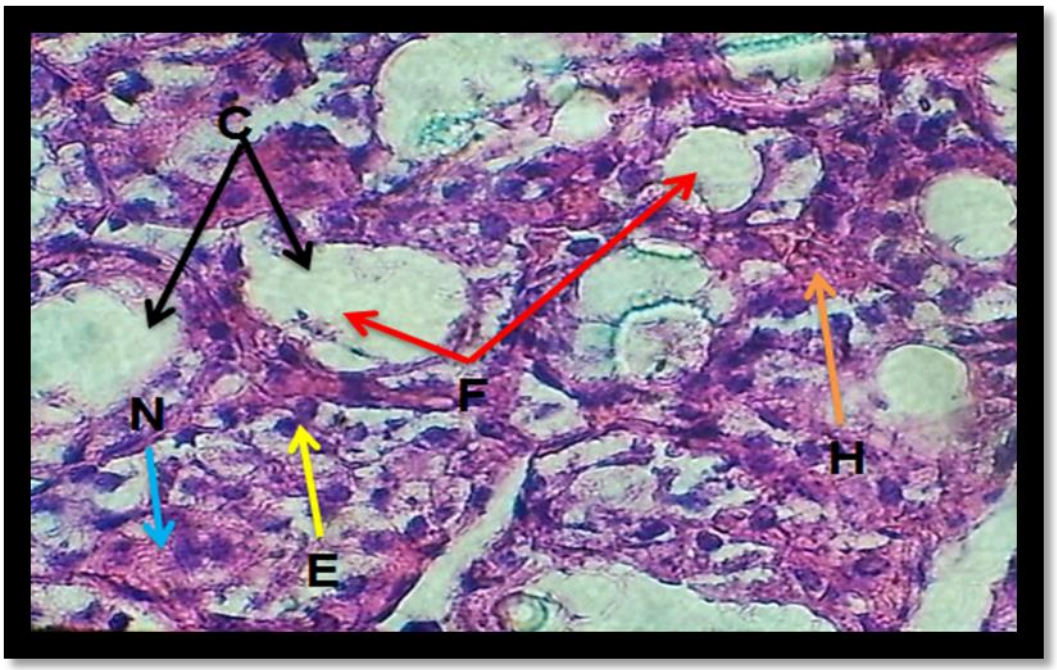
الشكل (4-12):مقطع عرضي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة بمضاد الدرقية (البروبيل ثايوراسيل) يوضح قلة في حجم بعض الجريبات (F) وارتفاع في الخلايا الظهارية (E) وقلة في حجم الغروان (C) ووجود نزف دموي (H) مع ملاحظة وجود تنخر (N) (هيماتوكسيلين وايوسين 400X)



الشكل (4-13) :مقطع عرضي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة بالعشبة ثلاث اسابيع ثم PTU للاسابيع الثلاث المتبقية يوضح تغيير قليل في الجريبات (F) وارتفاع في الخلايا الظهارية (E) وقلة في حجم الغروان (C) مع وجود تنخر (N) (هيماتوكسيلين وايوسين 400X)



الشكل (4-14): مقطع عرضي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة بمضاد الدرقية (PTU)ثلاث اسابيع ثم العشبة البحرية للاسابيع الثلاث المتبقية يوضح اختزال في حجم بعض الجريبات (F) وارتفاع في الخلايا الظهارية (E) مع وجود فجوات واضحة (V) مع نزف دموي (H) وتنخر (N) (هيماتوكسيلين وايوسين 400X)



الشكل (4-15): مقطع عرضي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة بالعشبة ومضاد الدرقية سوية يوضح صغر حجم الجريبات (F) وخلوها من الغروان (C) وارتفاع في حجم الخلايا الظهارية (E) مع وجود نزف دموي (H) وتنخر (N) (هيماتوكسيلين وايوسين 400X)

4-5.الدراسة الجزيئية

4-5-1. تركيز الـ RNA الكلي ونقاوته

اظهرت تراكيز الحامض النووي الرايبوزي الكلي Total RNA ونقاوته في انسجة الغدة النخامية (الجدول 4-1) وانسجة الغدة الدرقية (الجدول 4-2) تراكيز عالية وكمياتها كافية لبدء فحص تفاعل سلسلة البلمرة، كما بينت النتائج الحالية ان النسبة بين الكثافة البصرية Optical density عند الطوليين الموجيين 260 و 280 نانومتر كانت تنحصر ما بين (1,8 و2,1) وهي بذلك تعد دليلا على نقاوة الـRNA الكلي للعينات التي تضمنتها الدراسة.

الجدول (4-1): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus)على تركيز RNA الكلي ونقاوته في انسجة الغدة النخامية في ذكور الجرذان البالغة

Gr0.	C		G1		G2		G3		G4		G5	
No.	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)
1	1.951	326.70	1.851	300.70	1.954	409.70	1.954	346.70	1.951	336.70	1.851	326.70
2	1.998	255.30	1.898	255.30	1.846	396.30	1.946	376.30	1.998	275.30	1.898	376.30
3	1.974	375.30	2.114	320.30	2.009	406.10	1.966	386.10	1.974	475.30	2.114	286.10
4	1.885	286.50	1.985	286.50	1.988	426.50	1.888	366.50	2.085	296.50	1.985	326.50
5	1.839	291.00	1.879	291.00	1.884	436.40	1.984	336.40	1.879	291.00	1.879	336.40

6	1.944	341.00	1.864	310.00	1.892	416.40	2.102	336.40	1.964	341.00	1.864	336.40
Mean± S.E	-	312.63± 13.688 c	-	293.96± 13.688 a	-	415.23±4. 580 b	-	358.06+_ 6.711 d	-	335.96± 11.972 e		331.4±9.1 26 e

*قيمة L.S.D (14,26)
*القيم تمثل المتوسطات ± الخطأ القياسي
*الاحرف الصغيرة تشير الى وجود فروق معنوية (P<0.05)بين المجاميع.
* C :مجموعة الجرذان البالغة التي تم تجريعها Normal saline(السيطرة).
*G1:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة البحرية .
*G2:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بمضاد الدرقية .
*G3:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة 3 اسابيع ثم الدواء للاسابيع الثلاثة المتبقية .
*G4:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالدواء 3 اسابيع ثم العشبة للاسابيع الثلاثة المتبقية .
*G5:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة والدواء سوية .

الجدول (4-2): تأثير عشبة الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) على تركيز RNA الكلي ونقاوته في انسجة الغدة الدرقية في ذكور الجرذان البالغة

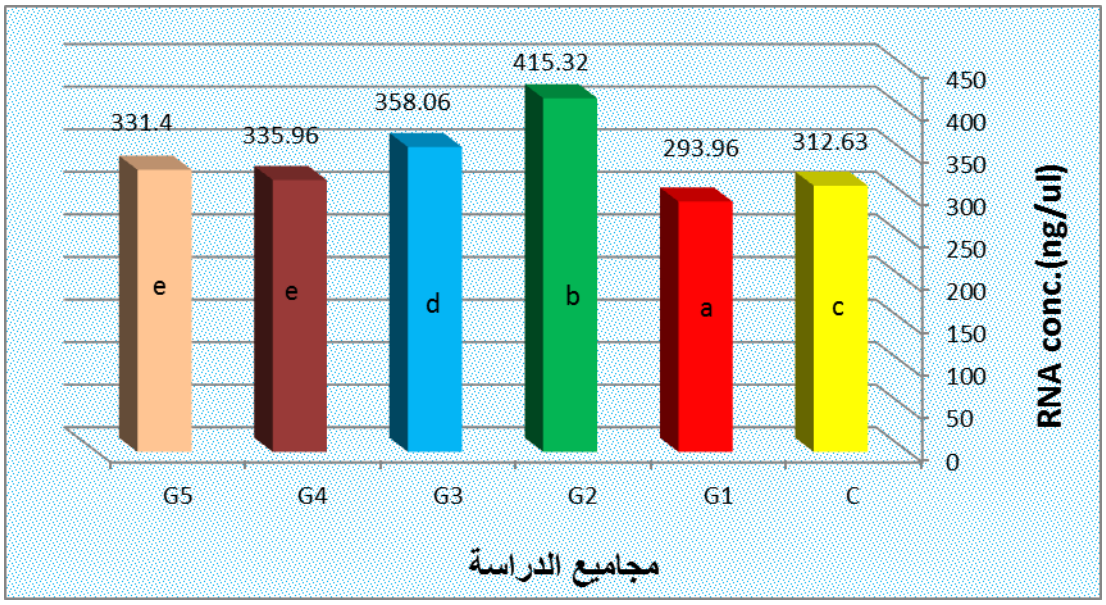
Gro.	C		G1		G2		G3		G4		G5	
No.	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)	260/280R (Purity)	RNA conc. (ng/ul)
1	1.944	336.10	1.863	400.70	1.884	298.10	2.102	388.60	1.964	336.10	1.876	345.11
2	1.839	290.66	1.785	341.30	1.891	230.54	1.984	367.50	1.876	285.11	1.897	300.55
3	1.885	291.88	2.100	399.13	2.780	212.30	1.899	299.80	1.889	388.21	2.588	299.11
4	1.956	341.00	1.987	430.55	1.899	300.00	1.879	400.10	2.145	339.44	1.977	378.50
5	1.932	276.30	1.678	425.35	1.951	221.10	1.855	326.40	1.886	271.10	1.899	300.40
6	1.998	323.30	1.851	498.40	1.898	303.20	1.976	356.30	1.985	320.00	1.864	366.45
Mean± S.E	1.92±0.0 1	309.87±1 5.8 c	1.87±0. 03	415.90±1 3.4 a	2.05±0. 2	260.87±1 7.8 b	1.94±0. 0	356.45±1 5.45 d	1.95±0. 04	323.32±17. 15 e	2.01±0. 1	331.68±14.8 e

*قيمة L.S.D(13,06)

*القيم تمثل المتوسطات ± الخطأ القياسي
*الاحرف الصغيرة تشير الى وجود فروق معنوية (P<0.05)بين المجاميع.
* C :مجموعة الجرذان البالغة التي تم تجريعها Normal saline(السيطرة).
*G1:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة البحرية .
*G2:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بمضاد الدرقية .
*G3:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة 3 اسابيع ثم الدواء للاسابيع الثلاثة المتبقية .
*G4:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالدواء 3 اسابيع ثم العشبة للاسابيع الثلاثة المتبقية .
*G5:مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة والدواء سوية .

4-5-1-1.تركيز الحامض RNA في انسجة النخامية

بينت نتائج الدراسة الحالية كما في الشكل (4-16) وجود انخفاض معنوي ($P< 0.05$) في مستوى تركيز RNA الكلي (نانوغرام/مايكرولتر)في انسجة الغدة النخامية في المجموعة الاولى G1 لكن كان هناك ارتفاع معنوي (P<0.05)في المجاميع الثانية والثالثة والرابعة والخامسة (G2,G3,G4,G5)،عند المقارنة مع مجموعة السيطرة في حين كان هناك ارتفاع معنوي في المجموعة الثانية والثالثة(G2,G3) عند مقارنتها مع المجاميع (G1,G4,G5) ولم يكن هناك فرق معنوي بين المجموعتين الرابعة والخامسة.

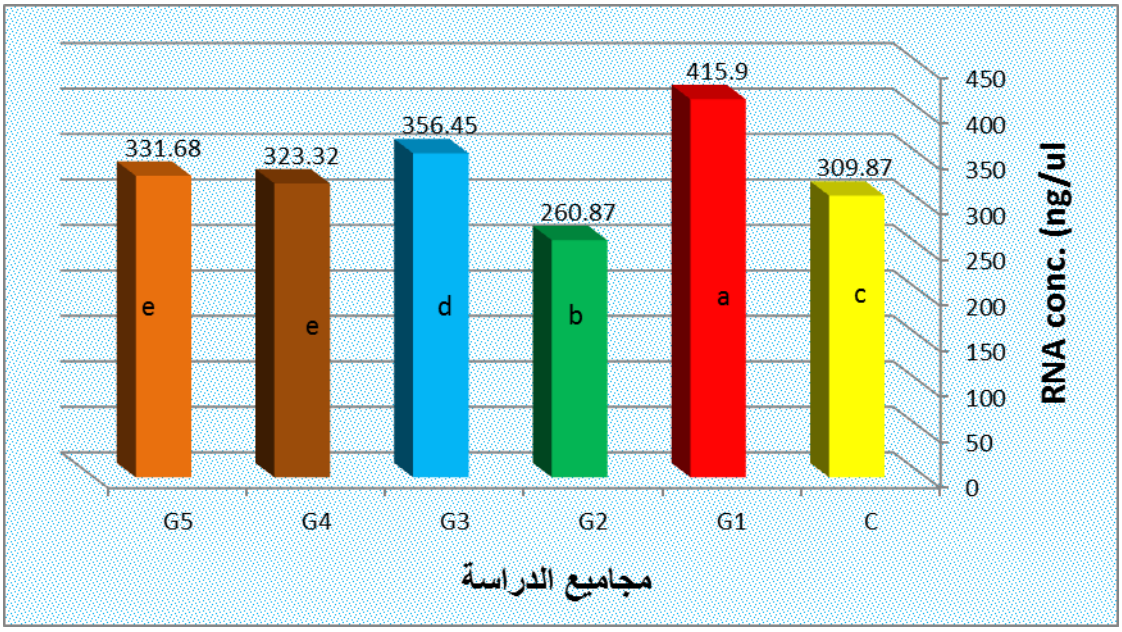


قيمة L.S.D (14,26)

الشكل (4-16): تركيز RNA الكلي في انسجة الغدة النخامية في ذكور الجرذان البالغة

4-5-1-2.تركيز الحامض RNA في انسجة الدرقية

اظهرت نتائج الدراسة الحالية كما في الشكل (4-17) وجود ارتفاع معنوي($P<0.05$)في تركيز RNA الكلي (نانوغرام/مايكرولتر)في المجاميع الاولى والثالثة والرابعة والخامسة (G1,G3,G4,G5) في حين كان هناك انخفاض معنوي في المجموعة الثانية G2 عند المقارنة مع مجموعة السيطرة في حين كان هناك انخفاض معنوي في المجموعة الثانية بالنسبة لبقية المجاميع.



قيمة L.S.D(13,06)

الشكل (4-17): تركيز RNA الكلي في انسجة الغدة الدرقية في ذكور الجرذان البالغة

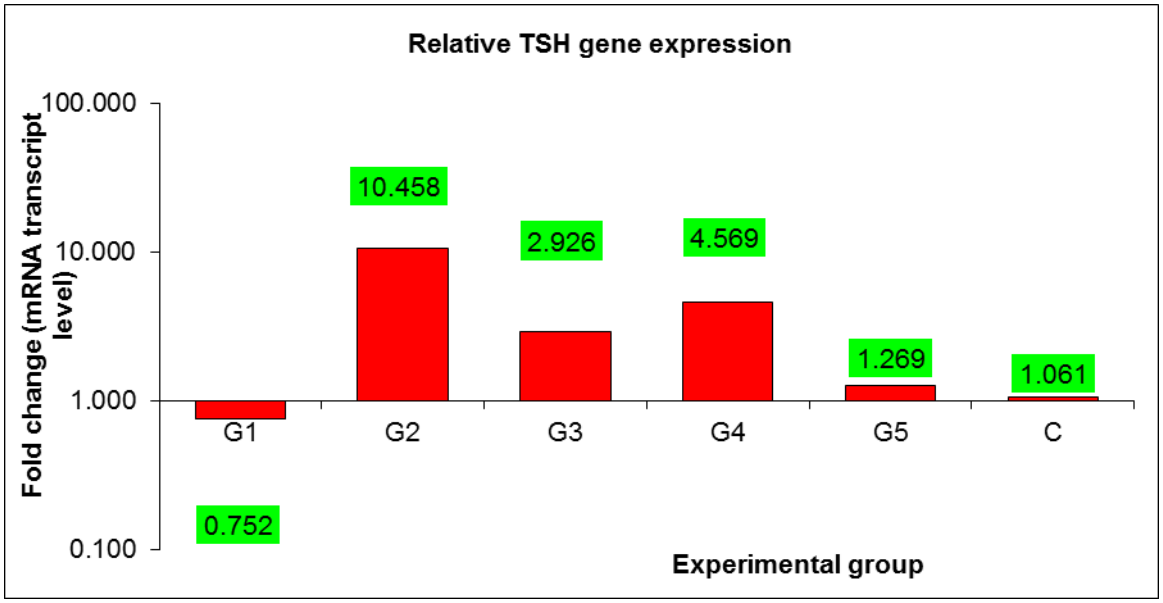
4-5-2.تفاعل سلسلة البلمرة للاستنساخ العكسي في الوقت الحقيقي الكمي (qPCR)

يشمل تحليل بيانات فحص تفاعل (qPCR) الذي اعتمد على صبغة السايبر الخضراء(SYBR® green) قسمين وهما تقدير كفاءة البادئ Primer كما ويشمل تقدير الكمية

النسبية لمستويات التعبير الجيني لجينات TSH و TPO التي تم تصحيحها بوساطة التعبير الجيني للجنين المحافظ Glyceraldehyde phosphate dehyrogenease(GapdH).

4-5-2-1.الكمية النسبية لتعبير جينات TSH في انسجة النخامية

بينت نتائج فحص تفاعل الاستنساخ العكسي في الوقت الحقيقي الكمي المبينة في الشكل (4-18) ان مستويات التعبير الجيني للجين TSH في انسجة النخامية في المجموعة الاولى G1 قد انخفضت بمقدار(0.752) عن مجموعة السيطرة (1.061) بينما المجموعة الثانية G2 قد ازدادت بمقدار عشرة اضعاف (10.458) عند مقارنتها مع السيطرة لكن المجاميع الثالثة والرابعة G3 و G4 قد ازدادت بمقدار (2.926) و (4.569) على التوالي عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة في حين لم يكن هناك فرق معنوي في المجموعة الخامسة G5 الذي كان بمقدار (1.269) .

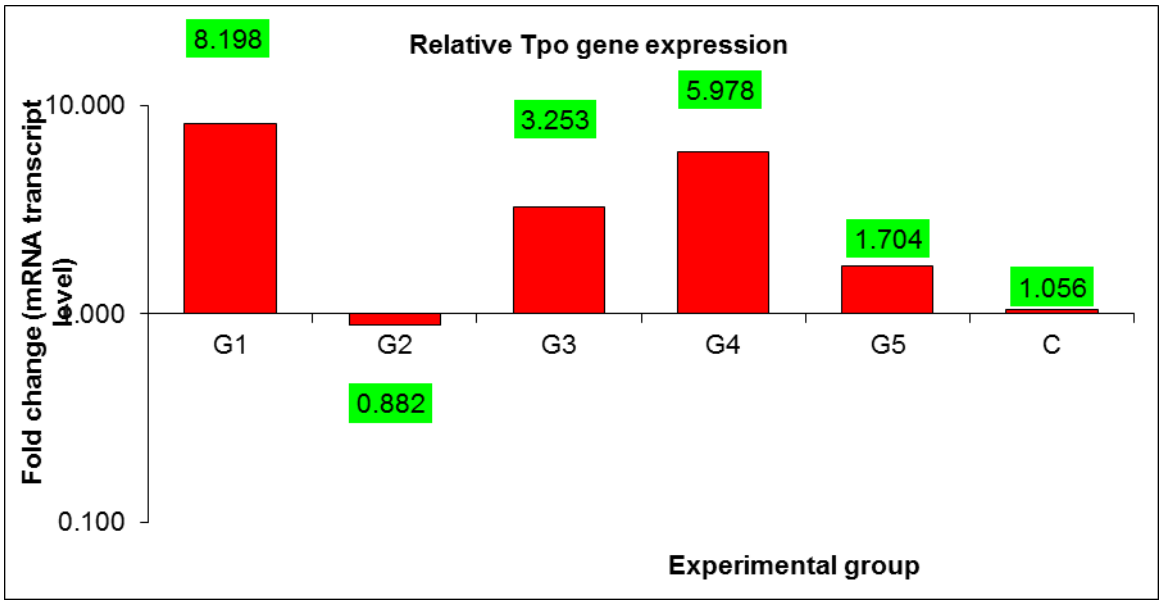


الشكل (4-18): الكمية النسبية لجين TSH في انسجة الغدة النخامية في ذكور الجرذان المعاملة بالعشبة البحرية ومضاد الدرقية ومجموعة السيطرة .

4-5-2-2-2. الكمية النسبية لتعبير جينات TPO في انسجة الدرقية

اظهرت النتائج (الشكل 4-19) الى حصول زيادة بمقدار ثمانية اضعاف (8.198) في المجموعة الاولى G1 عند المقارنة مع السيطرة (1.056) في حين كانت هناك انخفاض بمقدار(0.882)

في المجموعة الثانية (G2) وزيادة بمقدارثلاثة اضعاف (3.253) وخمسة اضعاف (5.978) في المجاميع الثالثة والرابعة (G3 وG4)على التوالي عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة كما كان هناك زيادة في المجموعة الخامسة G5 بمقدار (1.704) لكنها لم تصل الى درجة المعنوية عند مقارنتها مع السيطرة.



الشكل (4-19): الكمية النسبية لجين TPO في انسجة الغدة الدرقية في ذكور الجرذان المعاملة بالعشبة البحرية ومضاد الدرقية ومجموعة السيطرة .

6-4 .الدراسة الكيميائية النسجية المناعية

1-6-4 .تعبير انزيم الثايروويد بيروكسيديز (Thyroid peroxidase, TPO)في انسجة الغدة الدرقية

بينت نتائج التفاعل المناعي لدراسة الكيمياء النسجية المناعية لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في مجموعة السيطرة ان هذا الانزيم يقع على قمم اغشية الخلايا الجريبية في الغدة الدرقية حبث كانت شدة التصبيغ المناعي لأنزيم TPO قوية في هذه المواقع كما يمكن ملاحظة الخلايا الجريبية بشكلها الطبيعي مع انويتها (الشكل 4-20).

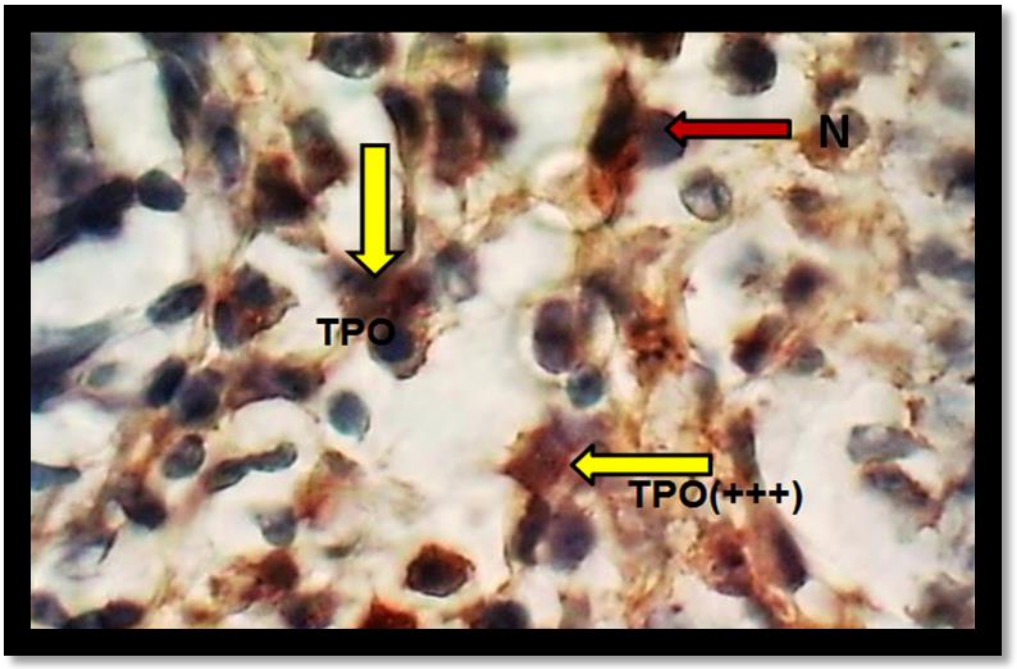
كما أشارت نتائج دراسة الكيمياء النسجية المناعية لأنزيم TPO في انسجة الدرقية في ذكور الجرذان المعاملة بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) في المجموعة الاولى (G1)بأحتفاظها بالصبغة اي ان قوة التصبيغ المناعي لأنزيم (TPO) كانت كثيفة في قمة اغشية الخلايا

الجريبية اي انه لم يكن هناك تغيرات واضحة بين حيوانات هذه المجموعة عند مقارنتها مع حيوانات مجموعة السيطرة (الشكل 4-21).

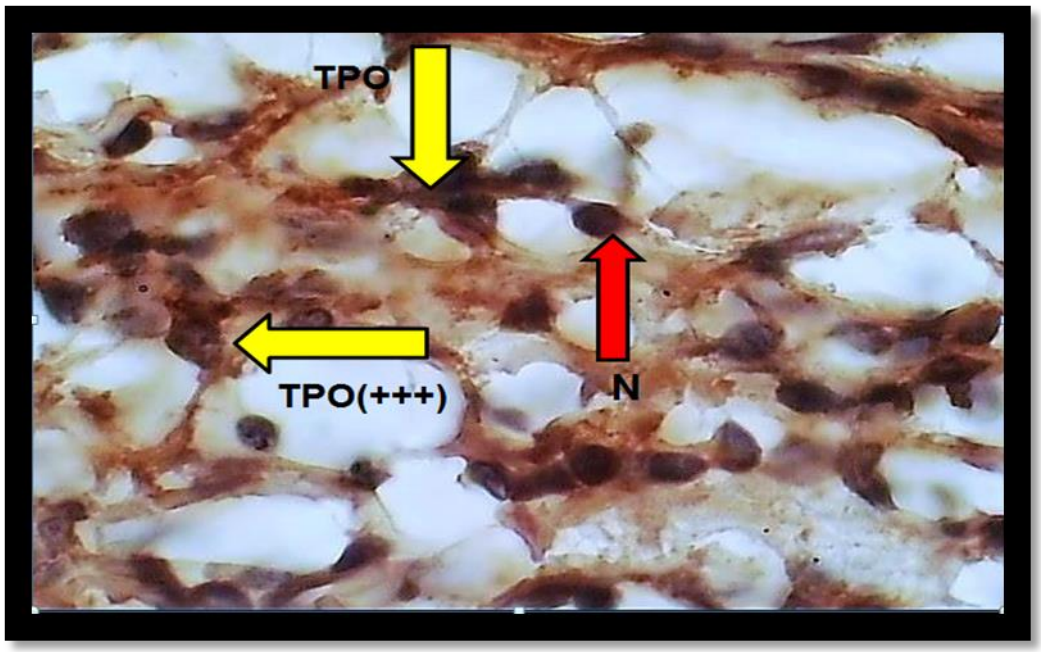
اما حيوانات المجموعة الثانية(G2) التي تم تجريعها بمضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (PTU) فبينت نتائج التفاعل المناعي اختفاء الصبغة اي ان التصبيغ المناعي لانزيم TPO كان غير موجود اي اختفاء التعبير عن هذا الانزيم في قمم اغشية جريبات الدرقية وكانت الجريبات غير منتظمة الحجم كما نشاهد وجود تغييرات في انوية الخلايا الجريبية مع ظهور اكثر من شكل (pleomorphism) كما يمكن ان نلحظ وجود اخاديد (groove) (الشكل 4-22).

كما أشارت نتائج دراسة الكيمياء النسجية المناعية لانزيم TPO في المجموعة الثالثة (G3) التي تم تجريعها بالعشبة البحرية مدة ثلاثة اسابيع ثم مضاد الدرقية PTU للاسابيع الثلاثة المتبقية والمجموعة الرابعة (G4) حيث تمت معاملتها بمضاد الدرقية ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للاسابيع الثلاثة المتبقية حيث كانت كثافة التصبيغ المناعي ضعيفة ولكن لم يكن هناك تغيير في انوية الخلايا الجريبية (انويتها طبيعية) (الشكل 4-23) و (الشكل 4-24).

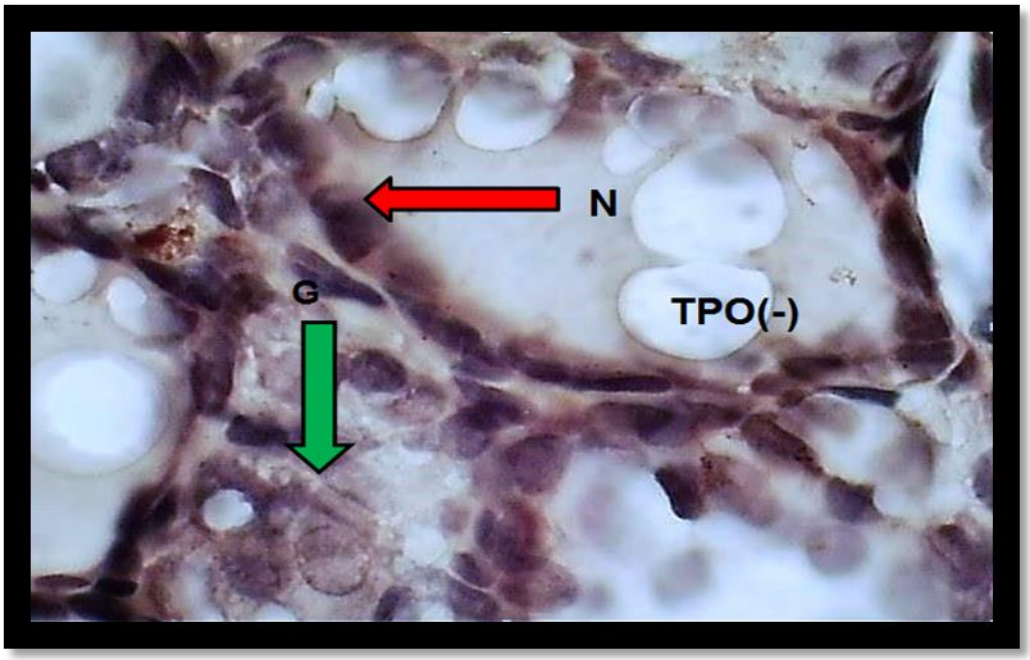
اما حيوانات المجموعة الخامسة (G5) التي تم تجريعها بالعشبة البحرية وPTU سوية طوال مدة التجربة والبالغة 42 يوماً فكانت نتائج التفاعل المناعي لدراسة الكيمياء النسجية المناعية لانزيم TPO في انسجة الدرقية سالبة(negative)تمثلت بفقدان الصبغة اي عدم وجود تفاعل مناعي بين انزيم TPO والاجسام المضادة (الشكل 4-25).



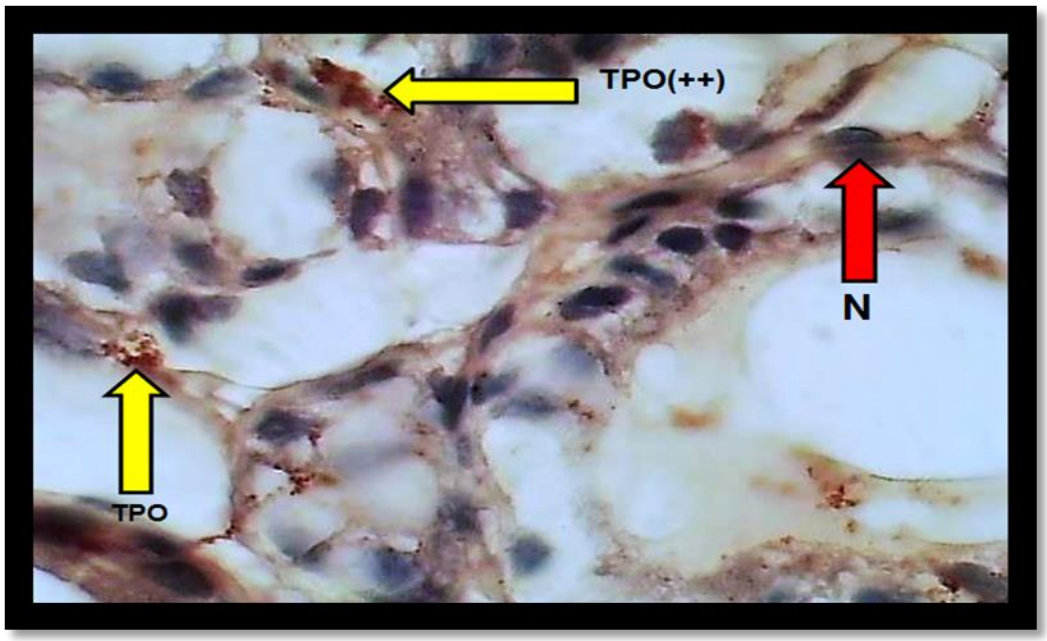
الشكل (4-20):التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في مجموعة السيطرة يوضح وجود التفاعل المناعي لل TPOعلى قمم اغشية الخلايا الجريبية (TPO+++) كما يوضح انوية الخلايا الطبيعية (N) (IHC 500X)



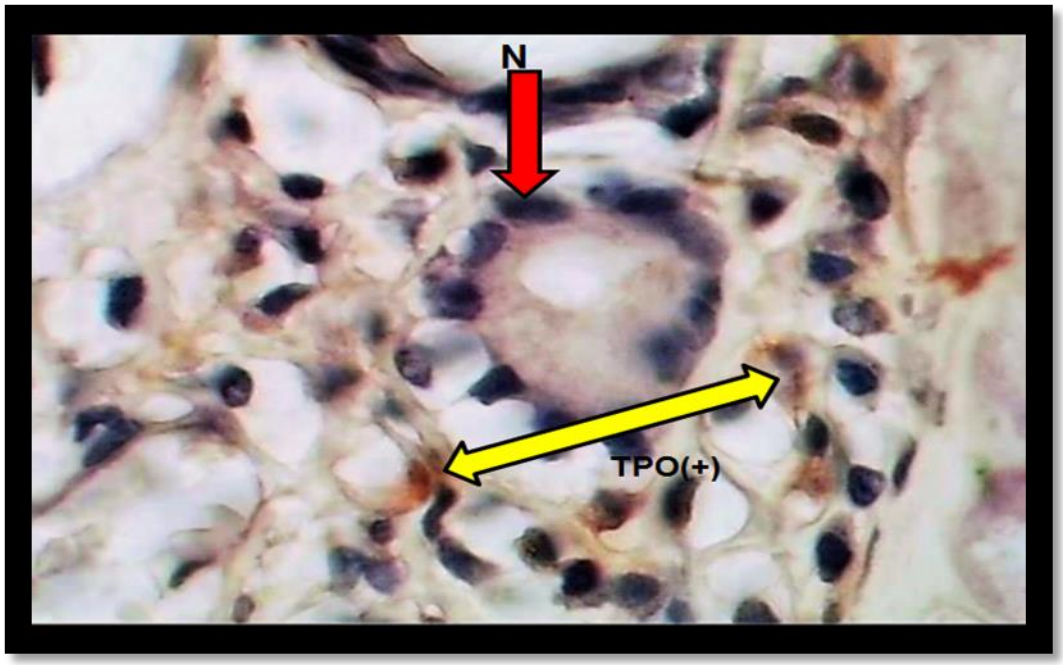
الشكل (4-21):التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في المجموعة المعاملة بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) يوضح وجود التفاعل المناعي لل TPOعلى قمم اغشية الخلايا الجريبية (TPO+++) كما يوضح انوية الخلايا الطبيعية (N) (IHC 500X)



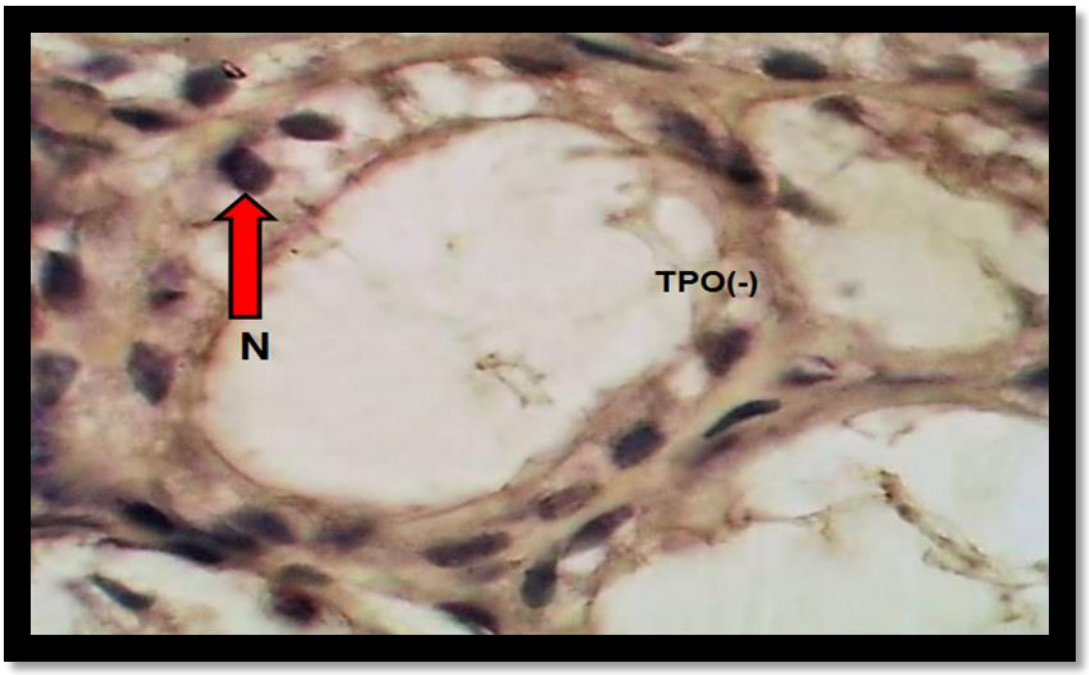
الشكل (4-22):التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في المجموعة المعاملة بمضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (PTU)يوضح عدم وجود التفاعل المناعي لل TPOعلى قمم اغشية الخلايا الجريبية(- TPO) كما يوضح وجود تغيير في انوية الخلايا (متعددة الاشكال) Pleomorphis (N) كما يمكن مشاهدة الاخاديد(G) (IHC 500X)



الشكل (4-23):التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في المجموعة المعاملة بالعشبة البحرية لمدة 3 اسابيع ثم PTU للاسابيع 3 المتبقية يوضح وجود التفاعل المناعي ضعيف لل TPOعلى قمم اغشية الخلايا الجريبية(++TPO) كما يمكن مشاهدة انوية الخلايا بشكلها الطبيعي (N) (IHC 500X)



الشكل (4-24):التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في المجموعة المعاملة ب PTU لمدة(3)اسبوع ثم العشبة البحرية للاسابيع (3) المتبقية يوضح وجود التفاعل المناعي ضعيف لل TPOعلى قمم اغشية الخلايا الجريبية(+TPO) كما يمكن مشاهدة انوية الخلايا بشكلها الطبيعي (N) (IHC 500X)



الشكل (4-25):التفاعل المناعي لأنزيم TPO في انسجة الغدة الدرقية لذكور الجرذان في المجموعة المعاملة بالعشبة البحرية وPTU يوضح عدم وجود التفاعل المناعي لل TPOعلى قمم اغشية الخلايا الجريبية(-TPO)كما يمكن مشاهدة انوية الخلايا بشكلها الطبيعي (N) (IHC 500X)

ـ المناقشة

5-1.التغيرات الوزنية

يعد وزن الجسم من المعايير التي عادة ما يتم دراستها عند تعريض الحيوان المختبري لأي مادة كيميائية لان وزن الجسم من المؤشرات التي تكون اكثر حساسية لتلك المواد (Hayes, 2001) ،حيث اوضحت نتائج الدراسة الحالية الى وجود انخفاض معنوي في معدل الكسب الوزني لذكور الجرذان المعاملة بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) فقط (المجموعة الاولى G1) حيث يعود سبب انخفاض وزن الجسم في الجرذان المعاملة بالعشبة البحرية الى ان هذه العشبة تحتوي على مركبات نشطة بايولوجياً وتكون مضادة للسمنة مثل Fucoxanthin و Alginates و Fucoidans و Phlorotannis حيث تعزى اثار مكافحة السمنة لهذه المركبات وبعدة اليات منها تثبيط امتصاص الدهون والتمثيل الغذائي (Fucoxanthin و Fucoidans) او عن طريق الشعور بالشبع (Alignates) او تثبيط تمايز الخلايا الشحمية (Fucoxanthins) او قد يكون فقدان الوزن بسبب مكونات اخرى منها وجود الالياف في العشبة مثل (EPA) (Eicosapentaenoic acid) وغيرها (Brown *etal*., 2014 ; Wang-Loy and Siew-Moi, 2016)

كما ان الاعشاب البحرية ذات قيمة مغذية عالية نظرا لمحتواها العالي من الالياف والمعادن والاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة (Mac Artain *etal*., 2007 ; Hall *etal*., 2012) وكذلك الاعشاب البحرية التي تستخدم كمساعد للنظام الغذائي لأنها تحتوي على اليود وهذا يتفق مع ما توصل اليه Chater وجماعته (2015) ومع الباحث Kang وجماعته (2016) الذين اشاروا الى ان الاعشاب البحرية تسبب اختزال في وزن الجسم وبالتالي تستعمل كعوامل مضادة للسمنة.

في حين كان هناك ارتفاع في معدل الكسب الوزني للجسم في ذكورالجرذان المعاملة بعقار (PTU) فقط ولمدة ستة اسابيع (المجموعة الثانية G2) وكذلك المجموعة التي جرعت بالعشبة مدة ثلاثة اسابيع ثم البروبيل ثايوراسيل للأسابيع الثلاثة المتبقية (المجموعة الثالثة G3) وكذلك في الجرذان المعاملة بالبروبيل ثايوراسيل مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة للأسابيع المتبقية (المجموعة الرابعة G4)في حين لم يكن هناك فرق معنوي في معدل وزن الجسم في مجموعة الجرذان التي جرعت بالعشبة البحرية و PTU بالتزامن (المجموعة الخامسة G5) وقد يكون هذا الارتفاع في معدل وزن الجسم بسبب المعاملة بعقار (PTU) والذي بدوره يحفز على Hypothyrodism مما يؤدي الى انخفاض في كفاءة التحويل الغذائي مما يترتب عليه انخفاض بالطاقة وانخفاض في معد الايض القاعدي وبالتالي يسبب زيادة في وزن الجسم (Badaue-Passos *etal*.,2001;Liu *etal*.,2006) او بسبب اختلال وظائف الغدة الدرقية بسبب المعاملة بالعشبة ومضاد الدرقية والتداخل بينهما يؤدي الى اضطراب في عمل الدرقية وبالتالي يؤثر على عمليات الايض الغذائي ووزن الجسم او النمو من خلال التاثير على هرمونات الغدة الدرقية (Mc Cardle *etal*.,1998;Ferreira *etal*.,2003;Khotimchenko and Sergushchenko,2003;Silva *etal*.,2004) ،او تغيرات في ايض الكاربوهيدرات والبروتينات ومن ثم وزن الجسم وكذلك التأثير على تنظيم ايض الدهون (chopra, 1986) او قد يكون بسبب اضطراب بعملية التمثيل الغذائي التي عادة ما ترتبط مع اضطراب في تناول الطعام والماء وبالتالي تنعكس على وزن الجسم (Cadnapaphornchal *etal*. 2003;Golden *etal*.,2009) ،او قد يكون الوزن الزائد بسبب تراكم الدهون والماء والاملاح بسبب العلاقة بين معدل الايض القاعدي ومستوى TSHوهذه العلاقة سببت السمنة (Nymes *etal*.,2006).

اما فيما يخص وزن الغدة الدرقية فكان هناك انخفاض في وزن الغدة الدرقية في مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) (المجموعة الاولى) ويمكن ان

يعود هذا الانخفاض في وزن الدرقية الى دورالعشبة التي حافظت على وظيفة الغدة الدرقية حيث نظمت مستوى افرازها لهرموناتها وبالتالي قللت من وزن الغدة الدرقية كما ان عشبة الفوقس الحويصلي غنية باليود الذي له دور في تنظيم عمليات التمثيل الغذائي عن طريق هرمونات الدرقية (Ruperez *etal*.,2002) كما اشارت الكثير من الدراسات الى ان عشبة الفوقس الحويصلي تحتوي على Fucoidan وهومن السكريات المتعددة والتي لها دور في تثبيط بيروكسيد الدهن التي تسبب العديد من التغيرات النسجية (Zhao *etal*.,2004;De Souza *etal*.,2007;Parys *etal*.,2010)ولذلك كل المركبات التي تم ذكرها يكون لها دور في التأثير على خلايا الغدة الدرقية واستجابتها للهرمون المحفز للدرقية TSH نتيجة لذلك انخفض وزن الغدة الدرقية حفاظاً على وظيفتها .

اما مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالبروبيل ثايوراسيل فقط (المجموعة الثانية) فكان هناك ارتفاع معنوي في وزن الغدة الدرقية و كذلك كان هناك ارتفاع معنوي في وزن درقية الجرذان التي تم تجريعها بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) مدة ثلاثة اسابيع ثم PTU للأسابيع المتبقية (المجموعة الثالثة) وكذلك مجموعة الجرذان التي جرعت بـPTU مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للأسابيع المتبقية (المجموعة الرابعة) وكذلك مجموعة الجرذان التي جرعت بالعشبة و PTU بالتزامن (المجموعة الخامسة) وهذا التضخم في وزن الدرقية قد يعود الى الاجهاد التأكسدي الذي يؤدي الى تلف الانسجة وموت الخلايا حيث ان الاجهاد التأكسدي يحث خلايا الغدة الدرقية على التكاثر مما يؤدي الى تضخمها وبالتالي يسبب مرض جويترGoiter (Zubucki *etal*., 2007; Poncin *etal*., 2010) وتتفق هذه النتيجة مع ما لاحظه Haiying وجماعته (2006) والباحث Stelios وجماعته (2007) او بسبب تثبيط تخليق هرمونات الدرقية وزيادة مستوى TSH الذي يعرف بتنظيمه لنمو الغدة الدرقية وهذه الزيادة تسبب تضخم الجريبات تعرف بالتضخم العقدي (جويتر) (Zbucki *etal*.,2007) او يعزى الى التغير الحاصل في تركيز عنصر اليود الذي يعد من العناصر الضرورية واللازمة لاداء وظيفة الغدة الدرقية (NHMRC, 2006) كما ان التعرض الى مستويات اليود الزائدة او غير الكافية يمكن ان يؤدي الى خلل في الغدة الدرقية مثل فرط او نقص نشاط الغدة الدرقية (Topliss and Estaman, 2004) وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Tajiri وجماعته (1986) والباحث Kasagi وجماعته (2003) .

2-5. مستوى MDA في مصل الدم

يعد MDA احد المؤشرات التي يتم استعمالها للكشف عن وجود فرط اكسدة في انسجة الجسم وذلك لأنه يتم من خلال اكسدة الدهون غير المشبعة وبالأخص التي تحتوي على آصرتين مزدوجة او ثلاثة (Demir *etal*., 2003) ويعد المالون ثنائي الالديهايد داخلي المنشأ حيث ينتج من عملية بيروكسيد الدهن Lipid Peroxidation بصورة تلقائية في خلايا الجسم (Laura *etal*., 2003 ; Atip *etal*., 2010)

وبعد قياس مستوى MDA في مصل دم ذكور الجرذان في المجاميع المعاملة وبعد مقارنتها مع مجموعة السيطرة اظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي في مستوى MDA في مجموعة الجرذان في المجموعة الاولى (G1) التي جرعت بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) المجموعة الثانية (G2) التي جرعت بالبروبيل ثايوراسيل فقط وكذلك كان هناك ارتفاع معنوي في المجموعة الرابعة (G4) التي جرعت بالبروبيل ثايوراسيل مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للأسابيع المتبقية في حين لم يكن هناك فرق معنوي في المجموعتين الثالثة والخامسة (G3,G5) عند المقارنة مع السيطرة فقد يكون سبب الارتفاع في مستوى MDA في المجاميع الاولى والرابعة الى تولد الجذور الحرة التي لها دور في اكسدة الدهون في اغشية الخلايا لان الحوامض الدهنية غير المشبعة والموجودة في اغشية الخلايا هي الاجزاء الاكثر تعرضا لتفاعلات الجذور الحرة وبالتالي تنتج MDA نتيجة اكسدة هذه الحوامض الدهنية من خلال تفاعلات الجذور الحرة نتيجة عملية بيروكسيد الدهن (الحسني ، 2004)، وتتفق نتيجة البحث الحالية مع كل من السامرائي (2013) والباحث Jabbar وجماعته (2013)، لكن هذه النتيجة لم تتفق مع ما لاحظه Abdelkadder وجماعته (2015) الذين اشاروا الى ان فوكويدان Fucoidan المستخلص من الطحالب البنية هو من مضادات الالتهابات له دور في خفض نسبة MDA في مصل الجرذان ، اما نتيجة البحث الحالية التي تبين ارتفاع مستوى MDA في المعاملة الثانية التي جرعت ب PTU وهذه النتيجة تتفق مع ما لاحظه Guerra وجماعته (2001) والباحث Aliciguzel وجماعته (2001) والباحث Sakr وجماعته (2011) والباحث Chakrabarti وجماعته (2016)،الذين اشاروا الى الارتفاع في مستوى MDA الذي يعود الى اثر عقار الكاربيمازول وهو من مضادات الدرقية في احداث الاجهاد التاكسدي حيث اشار كل من Dumitriu وجماعته (1988) وCostantinie وجماعته (1998) الى وجود ارتفاع في مستوى MDA في مصل مرضى قصور وفرط نشاط الدرقية (Hypothyrodisim وHyperthyrodisim) ففي فرط نشاط الدرقية يزداد تركيز هرموناتها (T4, T3) مما يؤدي الى زيادة معدل الايض القاعدي وزيادة كمية الاوكسجين المستهلك وانتاج كميات كبيرة من انواع الاوكسجين التفاعلي بالتالي يؤدي

الى زيادة الاجهاد التأكسدي (Venditti *etal*.,1997) اما في قصور الغدة الدرقية زيادة بيروكسيد الدهن يؤدي الى زيادة تركيز TSH وعندما يرتفع تركيزTSH يزداد بيروكسيد الهيدروجين وهو عامل مهم لتصنيع هرمونات الدرقية ومستوى بيروكسيد الهيدروجين المرتفع يؤدي الى زيادة نسبة الجذور الحرة وزيادة الجذور الحرة تؤدي الى زيادة المؤكسدات التي تؤدي الى الاجهاد التأكسدي وبالتالي تسهم في تطوير امراض الدرقية (Venditti *etal*.,1997) اذ اشارت العديد من الدراسات الى الارتباط ما بين فرط الاكسدة وهرمونات الغدة الدرقية اذ اشار Alfallouji وجماعته (2012) حدوث ارتفاع معنوي في مستوى المالون ثنائي الالديهايد في الاشخاص المصابين بالغدة الدرقية . كما اشار ان الاضطراب في نشاط الغدة الدرقية يتسبب بإحداث تغييرات في التفاعلات الحيوية في الأنسجة ويرفع من مستوى المالون ثنائي الالديهايد مما يؤدي إلى زيادة الضرر الناتج عن الأكسدة (Ali etal.,2013).

3-5. الدراسة الهرمونية

اثبتت نتائج الدراسة الحالية ارتفاعا معنويا في مستوى هرمون T3 و T4 في مصل دم الجرذان في المجموعة الاولى (G1) التي تم تجريعها بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) ، كما كان هناك ارتفاع في مستوى T3 و T4 في مصل دم الجرذان في المجموعة الرابعة (G4) التي جرعت بالبروبيل ثايوراسيل مدة ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للأسابيع المتبقية، بالمقارنة مع السيطرة، لذا فان الزيادة في مستوى هرمون T3 في هذه المجاميع قد يكون بسبب العشبة التي زادت من تحول T4 الى T3 في الدم بعد فقدان ذرة يود بعملية (Deiodenate) او لأنه T3 يعد الهرمون الاكثر فعالية في الدم من T4 بحوالي (٣-٥) مرات كما انه يتميز بكونه واطئ الالفة مع بروتينات البلازما وبذلك فهو ينتشر بسهولة خارج الاوعية الدموية اكثر من T4 (Guytn and Hall, 2000; Ermakova, 2010) كما ان Jabbar وجماعته (2013)لاحظوا وجود ارتفاع معنوي في مستوى هرمون T4 في المرضى الذين تمت معاملتهم بالثايروكسين في حين Dehghan وجماعته (2010) لاحظوا حصول زياده معنوية في تركيز T3 و T4 في اناث الجرذان التي تمت معاملتها بـ (caraway) وهذه النتائج تتفق مع نتيجة البحث الحالية لكن لم تتفق نتيجة البحث مع ما لاحظه كل من El-Mosry (1986) والباحثان Ibrahim and Kienawey (1991) والباحثان Rezk and Abd El-Azime (2013) الذين لاحظوا انخفاض في قيمة T3 و T4 وقد تعزى الزيادة في مستوى T3 وT4 في الدراسة الحالية الى وجود العديد من العوامل التي تؤثر على تركيز T3 و T4 منها الادوية التي تؤثر على هيكل ووظيفة هرمونات الغدة الدرقية (Steinmaus *etal*., 2007) او الاضطراب بعملية

التمثيل الغذائي ، كذلك اوضحت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي في مستوى TSH في مصل دم الجرذان التي جرعت بالعشبة البحرية والجرذان التي جرعت بالعشبة وPTU بالتزامن وربما يعود سبب الانخفاض في مستوى هرمون TSH الى التثبيط بوساطة التغذية الراجعة السالبة لأن التراكيز العالية لهرمونات الدرقية T3 و T4 التي بينتها نتائج الدراسة الحالية تعمل على ايقاف تحرير وافراز هرمون TSH من الغدة النخامية وتتفق هذه النتيجة مع السامرائي (2013) حيث لاحظت انخفاضاً في مستوى TSH في مجاميع الجرذان التي تمت معاملتها بمستخلصات طحلب الفوقس الحويصلي كذلك تتفق مع ما لاحظه الباحث Dehghaniوجماعته (2010) حيث لاحظوا ارتفاع نسب معدل T3 و T4 وانخفاض في مستوى TSH لكن الدوري (2012) لاحظ حدوث ارتفاع معنوي في مستوى TSH عند المعاملة بالمستخلص المائي لنبات اللهانة.

كذلك اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي في مستوى T3 و T4 في مصل دم الجرذان في المجموعة الثانية (G2) التي جرعت بالبروبيل ثايوراسيل المجموعة الثالثة (G3) والتي جرعت بالعشبة مدة ثلاثة اسابيع ثم PTU للأسابيع المتبقية ولم يكن هناك فرق معنوي في المجموعة الخامسة (G5) التي جرعت بالعشبة و PTU بالتزامن وقد يكون سبب هذا الانخفاض في مستوى T3 و T4 الى ان PTU يؤدي الى اضطراب الغدة الدرقية وبالتالي يثبط انزيم البيروكسيديزThyroid peroxidase وانزيم (deiodinase -5') وهي الانزيمات الرئيسة التي لها دور رئيس في تصنيع هرمونات الدرقية (Udgata and Naik, 2007;Manna *etal*.,2013;Ilyas *etal*.,2015) ويؤدي تثبيط تصنيع هذه الانزيمات الى انخفاض مستويات انتشار هرمونات الغدة الدرقية وبالتالي زيادة هرمون TSH وبذلك توفر حافز لنمو الغدة الدرقية وبالنتيجة تسبب تضخمها وهذه النتيجة تتفق ما لاحظه Droe and Sheehan(2002) كما ان Scanlon and Toft(1996) لاحظوا ان الميثمازول MMI هو من الادوية المضادة للدرقية قد خففت تركيز T3 و T4 كما تتفق نتيجة البحث الحالية مع الباحث Haiying وجماعته (2006) والباحث Stelios وجماعته (2007) والباحث Zubuck وجماعته (2007).

كما اوضحت النتائج وجود ارتفاع معنوي في مستوى TSH في مصل دم الجرذان التي تمت معاملتها بالبروبيل ثايوراسيل والجرذان التي جرعت بالعشبة مدة ثلاثة اسابيع والبروبيل للأسابيع المتبقية والمجموعة التي جرعت بـPTU ثم العشبة وربما يعود سبب ارتفاع TSH الى ان PTU يشارك في تحرير TRH من تحت المهاد وبالتالي TRH يحفز الفص الامامي للغدة

النخامية وبالتالي تحرير TSH بمستويات عالية (Bucci *etal*., 1999) وبالتالي فان مستوى هرمون TSH المرتفع سبب انخفاضاً في مستوى T3 و T4 في مصل الدم وهذه النتيجة تتفق مع الباحث Stockight (2003) والباحث Buimer وجماعته (2008) او لان PTU يؤثر على الانزيمات الاساسية لتصنيع هرمونات الدرقية (Udgata and Naik,2007) وتثبيط هذه الانزيمات تقلل من مستوى هرمونات الدرقية وبالتالي تسبب زيادة في مستوى TSH وتتفق هذه نتيجة الباحثين Droe and Sheehan (2002) والباحثين Udgata and Naik (2007).

4-5 .التغيرات النسجية – المرضية

أظهرت نتائج الفحص النسيجي للمقاطع المأخوذة من الغدة الدرقية في حيوانات المجموعة الاولى (G1) التي تم تجريعها بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) استجابة للعشبة المستخدمة بحيث لم يكن هناك اي تشوهات اوتغيرات نسجية ملحوظة وتتفق نتيجة البحث الحالية مع الباحث Conti وجماعته (1978) والباحثين Kumar and Hagler (1996) والباحثين Rezk and Abd El-Azim (2013) والسامرائي (2013) ،ويعزى السبب في ذلك الى ان عشبة (الفوقس الحويصلي)من الاعشاب البحرية الغنية بالمركبات النشطة بيولوجياً مثل السكريات المتعددة (Polysacchraide) والفينولات المتعددة Polyphenolic والفلورتانينات Phlorotannis بالاضافة الى المكونات الحية (Mannitol,Algin,Iodine,Fucoidan وزيوت طيارة ومعادن) التي تعود اليها التأثيرات البيولوجية (Patankar *etal*.,1993;Ruperez *etal*.,2002;De Souza *etal*.,2007;Zaragoza *etal*.,2008) ،كما ذكر كل من Bradley (1992)والباحث Ruperez وجماعته (2002) والباحثان Gupta and Abu- Ghannam (2002) ان الفوقس الحويصلي غني باليود الذي له دور في تنظيم عمليات التمثيل الغذائي عن طريق هرمونات الدرقية .

كما اشارت الكثير من الدراسات الى ان عشبة الفوقس الحويصلي تحتوي على Fucoidan وهومن السكريات المتعددة والتي لها دور في تثبيط بيروكسيد الدهن التي تسبب العديد من التغيرات النسجية (Zhao *etal*.,2004;De Souza *etal*.,2007;Parys *etal*.,2010)ولذلك كل المركبات التي تم ذكرها يكون لها دور في التأثير على خلايا الغدة الدرقية واستجابتها للهرمون المحفز للدرقية TSH التي تتمثل بزيادة نشاط الغدة والمتمثلة بنمو الجريبات وانتاج الغروان .

اما عند فحص المقاطع النسجية المأخوذة من الغدة الدرقية في المجاميع الثانية والثالثة والرابعة والخامسة (G2,G3,G4,G5) فكان هناك تغيرات واضحة في انسجة الدرقية والتي تمثلت بتغير في حجم الجريبات وكمية الغروان كما كان هناك تنخر واضح ونزف دموي ووجود فجوات واضحة في بعض المقاطع وتتفق نتيجة البحث الحالية مع الباحث Haiying وجماعته (2006) والباحث Zubucki وجماعته (2007) والباحث Khalawi وجماعته (2013) حيث لاحظوا ان PTU يسبب تشوه في انسجة الدرقية حيث كان هناك تضخماً واضحاً في بطانة الخلايا الجريبية وانخفاضاً ملحوظاً في حجم الغروان كما ان PTU من مركبات الثيونااميد thionamide المضادة لعمل الغدة الدرقية وذلك من خلال منع اليود من الارتباط مع الحامض الاميني (التايروسين) وبالتالي يثبط ارتباطهما بالثايروغلوبيولين مما يؤدي الى تثبيط تصنيع هرمونات الدرقية وقلة افرازها في الدم وتثبيط تحويل T4 الى T3 في الانسجة الطرفية وزيادة في انتاج TSH مما يؤدي الى تضخم الخلايا الجريبية مسبباً مرض جويتر (Stelios *etal*.,2007;Nayak and Burman,2006) على الرغم من استخدام العشبة البحرية في المجاميع (G3,G4,G5)الا أن مضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل كان أكثر تأثيراًعلى انسجة الدرقية ،او ربما يعود سبب الاضرار الحاصلة في تركيب الغدة الدرقية الى فعل الاجهاد التأكسدي لان PTU يحث على الاجهاد التأكسدي حيث اوضح (Bhanjo and Chainy,2010) ان العلاج بPTU يحث على الاجهاد التأكسدي بمخيخ الجرذان مما يؤدي الى تلف الانسجة والموت المبرمج للخلايا ،كما ان الاجهاد التأكسدي يحث الخلايا في الغدة الدرقية على التكاثر مما يؤدي الى تضخمها وبالتالي تسبب مرض جويتر وكذلك تسبب انخفاضاً في مستوى هرمونات الدرقية (T4,T3) وزيادة في مستوى TSH (Poncin *etal*.,2010) ، حيث اشار كل من McCord(2000) و Mahadik وجماعته (2001) الى ان تكون الجذور الحرة واضطراب نظام الدفاع المتمثل بمضادات الاكسدة لها تأثير ممرض على الانسجة وبالتالي تعد عوامل مهمة في تطور الامراض المختلفة لان التركيز المفرط للجذور الحرة في بيئة الخلية يؤدي الى تلف الخلايا وموتها ويمكن منع هذا الضرر او تخفيفه من خلال وجود جزيئات مضادة للاكسدة (Patil *etal*.,2006) كما اوضح كل من Mahera وجماعته (2014) و Ranjan وجماعته (2015) ان الكاربيمازول Carbimazole وهو احد مضادات الدرقية يعمل على خفض انتاج هرمونات الدرقية (T4,T3) وزيادة تركيز (TSH) ونتيجة لحثه المستمر على الجريبات يعمل على احداث تغيرات نسيجية –مرضية في الغدة الدرقية ،لذلك تعود التغيرات النسيجية في المقاطع المأخوذة من الغدة الدرقية للمجاميع (G2,G3,G4,G5)الى فعل مضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (PTU).

5-5 . الدراسة الجزيئية

5-5-1 .التركيز الكلي لل RNA في انسجة الغدة النخامية والغدة الدرقية

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود تغير في مستوى التركيز الكلي لل RNA في كل من انسجة الغدة النخامية والغدة الدرقية حيث كان هناك انخفاض معنوي في مستوى RNA الكلي في المجموعة الاولى (G1) والتي تمت معاملتها بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) في حين كان هناك ارتفاع معنوي في مستوى RNA الكلي في المجاميع الثانية والثالثة والخامسة (G2,G3,G5) اما المجموعة الرابعة (G4) فلم يكن هناك فرق معنوي عند المقارنة مع السيطرة ، في انسجة الغدة النخامية وقد تعود هذه التغيرات التي تكون مابين ارتفاع وانخفاض الى نشاط الخلايا العصبية وافرازها للهرمونات المثبطة والمحررة وكذلك الى نشاط الفص الامامي للغدة النخامية الذي يقوم بأفراز الهرمونات المحفزة المختلفة تحت سيطرة التغذية الراجعة السلبية Negative feed back mechanism والدراسة الحالية تختص بدراسة الهرمون المحفز للدرقية (الثايروتروبين) Thyroid Stimulatig Hormone(TSH) الذي يعد العامل الرئيس لتحفيز عمل الغدة الدرقية وتنظيمها وافراز هرموناتها (Yen,2001 ; Andersson,2010) او ربما يعزى السبب الى تأثير اليود على مستوى RNA الكلي لان العشبة تتميز بمحتواها العالي من اليود وبالتالي سوف تؤثر على تكوين هرمونات الغدة الدرقية ووظيفتها (Steinmaus *etal*.,2007) ونتيجة لذلك يرتفع معدل تكوين هرمونات الدرقية (T3,T4) وهذا الارتفاع سوف يؤثر على تخليق الهرمون المحفز للدرقية (TSH) (Ladenson *etal*.,2000) ،حيث ان تركيزTSH يعد مؤشراً حساساً للخلل في وظيفة الغدة الدرقية (Fatourchi,2009) او بسبب المعاملة بمضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل (PTU) وهو من الادوية التي تسبب تضخم بالغدة الدرقية ويرجع السبب في ذلك الى تحفيز الغدة الدرقية من قبل الغدة النخامية وبالتالي يثبط (PTU)انتاج هرمونات الدرقية (Doerge and Sheehan,2002;Udgat and Naik,2007) وهذا بدوره يؤثر على التركيز الكلي لل RNA لان مضادات الدرقية ومنها (PTU)تؤثر على الجينات وتعبيرها ووظائف بعض انواع الخلايا (Bandyopadhyay *etal*.,2002) .

كما سجلت نتائج الدراسة الحالية وجود زيادة معنوية في تركيز RNA في المجاميع الاولى والثالثة والخامسة (G1,G3,G5) في حين كان هناك انخفاض معنوي في المجموعة الثانية (G2) التي تمت معاملتها بالبروبيل ثايوراسيل (PTU) في انسجة الغدة الدرقية في حين لم يكن هناك

فرق معنوي في المجموعة الرابعة (G4)،وقد يعود السبب في تغير تراكيز RNA الكلي في هذه المجاميع الى التغير في بناء البروتين وتكاثر الخلايا وتمايزها او انخفاض او ارتفاع في التعبير عن البروتينات المختصة بتصنيع هرمونات الغدة الدرقية او اضطراب في انزيم Thyroid peroxidase(TPO)او الهرمون المحفز للدرقية (TSH) فمن المعروف ان TSH هو المنظم الاساسي للتعبير الجيني لل TPO في خلايا الدرقية (Damante *etal*.,1989;Zarrilli *etal*.,1990).

2-5-5 ٠الكمية النسبية لتعبير جينات (TPO,TSH) في انسجة الغدة النخامية والغدة الدرقية

بينت النتائج في الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي في مستوى التعبير الجيني لجينات TSH في انسجة الغدة النخامية لكن كان هناك ارتفاع معنوي في مستوى التعبير الجيني لجينات TPO في انسجة الغدة الدرقية في المجموعة الاولى (G1) التي تمت معاملتها بالعشبة البحرية Fucus vesiculosus وقد يعزى السبب في انخفاض هرمون TSHوارتفاع انزيم TPO نتيجة استعمال عشبة الفوقس الحويصلي والتي تكون غنية بالعديد من المركبات ومنها اليود والذي يعتبر من العناصر الاساسية التي لها دورمركزي في فسيولوجيا الدرقية وهو يعمل كركيزة لتكوين هرمونات الدرقية (T4, T3)وتنظيم وظائفها (Saller *etal*.,1998)وبالتالي يساعد في عملية تصنيع هرمونات الدرقية مما يؤدي الى ارتفاع مستوى هرمونات الدرقية و انخفاض مستوى هرمون TSH نتيجة ميكانيكية التغذية الراجعة السالبة (Junqueira *etal* .,2002) اذ يعود ذلك الى تنشيط الية اقتناص اليود الموجود بالدم من الخلايا الجريبية واعادة تنشيط انزيم (TPO) وتحرير هرمونات الدرقية التي بتوافرها تعمل على تنشيط الالية الاسترجاعية السالبة والمثبطة لافراز TSH في النخامية الامامية (Saladin,1998) اذ ان زيادة مستوى هرمونات الدرقية (T3,T4) يؤثر في خلايا الفص الامامي للغدة النخامية فيخفز خلايا Thyrotrophs cells على خفض انتاج مستوى هرمون TSH مثلما تؤثر هرمونات الدرقية في خلايا تحت المهاد فيقلل من افراز الهرمون المحرر للهرمون المحفز للدرقية TRH من خلال تقليل عدد

المستلمات للهرمون TRH الموجودة على غشاء الخلايا المفرزة لهرمون TSH(Junquaira &Carneiro,2003)الذي بدوره يقلل من افراز TSH (Inzucchi &Burrow,1999) ، وتتفق نتيجة البحث الحالية مع كل من(Ladenson *etai.*,200;,Fatourchi,2009; Calil-Silveira,2016) كما بينت نتائج الدراسة الحالية ارتفاعا معنوياً في مستويات التعبير الجيني لجين TSH في انسجة النخامية في المجموعة الثانية (G2) والتي تمت معاملتها بالبروبيل ثايوراسيل (PTU) في حين قل التعبير الجيني لجينات TPO في انسجة الدرقية في نفس المجموعة(G2)عند المقارنة مع السيطرة ،بما ان PTU يعد من مضادات الدرقية Antithyroid وهي مركبات تستخدم بشكل اساسي لعلاج مرض غريفز حيث تسبب تضخم الدرقية (Moriyama *etal.*,2007;Manna *etal.*,2013) وتتمثل تأثيراتها الرئيسة داخل الخلية بتثبيط تخليق هرمونات الدرقية (T4,T3) عن طريق تثبيط عمل انزيم Thyroid peroxidase (TPO) الذي يقوم بربط اليود مع الحامض الاميني Tyrosin وبعدها يربطهم مع Thyroglobulin(Tg) وهي خطوة مهمة في انتاج هرمونات الدرقية وبالتالي سينخفض مستوى انزيم TPO ويرتفع مستوى هرمون TSH وتتفق نتيجة البحث الحالية مع (Stelios etal.,2007;Manna *etal.*,2013;Ilas *etal.*,2015) .

كما بينت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع معنوي في مستويات التعبير الجيني لجينات (TSH,TPO)في المجاميع الثالثة والرابعة (G3,G4) في حين لم يكن هناك فرق معنوي في مستويات التعبير الجيني (TSH,TPO) في المجموعة الخامسة(G) ،بما انه يتم تنظيم التعبير الجيني لجينات (Tg,TPO,NIS,TSHR) اساساً على مستوى عوامل النسخ Thyroid Transcription Factors(TTF) ويشكل TSH المنظم الرئيس لتعبير جين TPO (Aza-Blanc *etal.*,1993;Ohno *etal.*,1997;Postiglione *etal.*,2002) حيث ان الحافزPromoter في TPO يحتوي على عدة مواقع للارتباط مع عوامل النسخ في الدرقية ،حيث ان عوامل النسخ على نوعين TTF-1 وتسمى كذلك (NKX2-1) وهو عبارة عن بروتين يؤدي دوراً مهماً في تكوين الاعضاء وخاصة الدرقية والرئة (Guazzi *etal.*,1990;Kimura *etal.*,1996;Parlato *etal.*,2004) اما العامل الثاني يسمى Forhead box E1(FOXE1) وهو بروتين له القدرة على التعرف والارتباط مع تسلسل DNA الموجود في Promoter في كل من (Tg,TPO) كذلك له القدرة في تنظيم عملية النسخ لبعض الجينات المختلفة والخاصة بالغدة الدرقية التي تؤدي الى تنظيم تصنيع هرمونات الدرقية (Damante and Di Lauro,1994;Gudmundsson *etal.*,2009) وبذلك ربما يكون

الارتفاع في التعبير الجيني لل TSH و TPO في الحيوانات التي تمت معاملتها بالعشبة البحرية والعلاج الى حدوث طفرة في عوامل النسخ وهذه الطفرة بدورها تسبب اضطراب في عمل الغدة الدرقية (Castanet *etal*.,2002;Castanet and Polak,2010;Rastogi and LaFranchi,2010) ، ونتيجة البحث الحالية تتفق مع ما لاحظه Maenhautوأخرون (1992) حيث لاحظوا ان المعاملة بمضادات الدرقية سببت زيادة في مستويات الثايروغلوبيولين Tg وانزيم الثايروريد بيروكسيديز TPO كما وتتفق نتيجة البحث مع الباحث Leer وجماعته (1991) والباحث Isozaki وجماعته (1991) والباحث Sugawara وجماعته (1999) حيث ذكروا ان الادوية المضادة للدرقية سببت تغير في تعبير بعض الجينات حيث سبب كل من MMI و PTU زيادة في تعبير Tg وكذلك زيادة في تعبير جينات اخرى خاصة بالدرقية او ربما يعزى السبب الى تغيير مستوى التعبير الجيني لجينات TSH و TPO الى وجود بعض السايتوكينات Cytokines في النخامية وتحت المهاد او تتأثر بهرمونات اخرى في الجسم مثل هرمون الاستروجين Oestrogenes و Glucocorticoids وهرمونات النمو Growth hormones (Jackson,1982) ،او بسبب حدوث اضطراب بتوازن الاكسدة ومضادات الاكسدة نتيجة المعاملة بالعشبة و PTU مما يسبب زيادة انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS)وهذه الجزيئات التفاعلية تتواجد في الخلايا والانسجة جميعها لكن بنسب منخفضة لكن عند تواجدها بنسب عالية تسبب تلف خلوي شديد وتلف في الجزيئات الحيوية مثل البروتينات والدهون والحوامض النووية (Halliwell,2007) ،كما اثبتت العديد من الدراسات ان TSH عن طريق مسار Cyclic adenosine monophosphate(cAMP) يزيد من نسخ mRNA لعدد من الجينات مثل Tg و TPO(Gbrard *etal*.,1989;Pohl *etal*.,1990) او ربما تكون هذه التغيرات في جينات الهرمون المحفز للدرقية وانزيم الثايروريد بيروكسيدز بسبب أليات غير معروفة مثل العوامل اللاجينية .

5-6.الدراسة الكيميائية النسجية المناعية

5-6-1. تعبير انزيم الثايروريد بيروكسيديز TPO في انسجة الغدة الدرقية

اظهرت نتائج التفاعل المناعي وجود انزيم الثايروريد بيروكسيديز (TPO)في انسجة الغدة الدرقية في حيوانات مجموعة السيطرة حيث تركزت قوة التصبيغ المناعي على النهاية القمية لأغشية الخلايا الجريبية للغدة الدرقية ،اذ اشار كل من الباحث Kuliawat وجماعته (1995)

والباحث Taurog وجماعته (1996) و الباحثان McLachlan and Rapoport (2007) ان هذا الانزيم عبارة عن بروتين سكري Glycoprotein يحتوي على مجموعة الهيم heme وله الدور الاساسي في تصنيع هرمونات الدرقية وهذا الانزيم يعكس الوظيفة الطبيعية للدرقية ويقع على السطح القمي لأغشية الخلايا الجريبية وهذه النتيجة تتفق مع الباحث Kessler وجماعته (2008) والباحث Vander Deur وجماعته (2010) اما التشوهات والاضطرابات في التصنيع الحيوي لهرمونات الدرقية واضرار الغدة الدرقية لها علاقة بالتغييرات الكمية والنوعية لفعالية TPO الذي يزداد في مرض غريفز ويختزل في قصور الغدة الدرقية والسرطانات (Takamatsu *etal*.,1992;Savin *etal*.,2006).

كما اشارت نتائج الدراسة ان قوة التصبيغ المناعي كانت كثيفة في قمة اغشية الخلايا الجريبية في الحيوانات التي تمت معاملتها بالعشبة البحرية (الفوقس الحويصلي) اي انه لم يكن هناك تغيير في انزيم TPO في حيوانات هذه المجموعة عند مقارنتها مع السيطرة وذلك لان عشبة الفوقس الحويصلي واحدة من اهم الاعشاب البحرية المستخدمة لمعالجة اضطرابات الغدة الدرقية وذلك لانها تحتوي على العديد من المواد التي تساعدها على استعادة الوظيفة الطبيعية للدرقية كما تتميز بأمتلاكها العديد من المكونات التي تمتلك فعالية مضادة للالتهابات وتمتلك خصائص مضادة للاورام السرطانية (Garg,2005;Mary Bove,2012)،ومنها Fucoidan الذي يمتاز بقدرته في القضاء على الخلايا السرطانية عن طريق توجيهها بقتل نفسها وهو ما يعرف بالتخلص الذاتي (Mary Bove,2012;Rodriguz-jasso *etal*.,2014)كما ان للاحماض الدهنية fatty acid وهي من مكونات العشبة البحرية(Guiry,2011) دور في قمع الالتهابات التي تصاحب امراض المناعة الذاتية في الدرقية وذلك من خلال تنظيم السايتوكينات الموالية للالتهابات لذلك فالاحماض الدهنية ذات المنشأ النباتي تقمع انتاج اجسام مضادة لانزيم TPO (Allen *etal*.,2014;Pestka *etal*.,2014) او ربما يعود السبب الى تواجد بعض الفيتامينات مثل C وEوB في العشبة التي لها دور في حماية المكونات الداخلية للخلية والاغشية من التعرض لل H_2O_2 و ROS وبما انه بيروكسيد الهيدروجين ضروري لتصنيع هرمونات الدرقية وبعدة خطوات بوساطة انزيم TPO وتحت سيطرة TSH (Caillou *etal*.,2001;DeDeken *etal*.,2002)،الا ان بيروكسيد الهيدروجين مركب يتميز بقدرته على اختراق الاغشية الخلوية والدخول الى الخلايا وهومادة مؤكسدة ضعيفة وسامة للخلايا لانه يرفع من جذر الهيدروكسيل الذي له تاثيرات سامة كما له القابلية على تثبيط عدد من الانزيمات عن طريق اكسدة مجاميع الثايول SH– وهي مهمة في التحكم بكمية بيروكسيد الهيدروجين

(Pracheta *etal*.,2011) لذلك فلا بد من اقتناص وازالة بيروكسيد الهيدروجين الزائد عن حاجة الخلية لان بيروكسيد الهيدروجين الفائض يأخذ مكانه داخل تجويف الجريبات وعلى السطح القمي للاغشية الخلوية بأتجاه المواقع الفعالة وذلك بالتكامل مع انزيم TPO اذن فالوقاية من H_2O_2 وما ينتج عنها من جذور حرة تكون مضمونة عن طريق الفيتامينات والانزيمات ومركبات اخرى في العشبة البحرية (Bjorkman and Ekholm,1995; السامرائي ،2013) ،كما ان التأثير الوقائي للاعشاب البحرية يعود الى اليود وهو احد العناصر الاساسية التي لها دورمركزي في فسيولوجيا الدرقية وهو يعمل كركيزة لتكوين هرمونات الدرقية (T4, T3)وتنظيم وظائفها (Saller *etal*.,1998) حيث ذكرالباحث Funahashi وجماعته (1999) ان اليود الموجود في الاعشاب البحرية الصالحة للاكل له أثار قمعية على خلايا الورم ،اما الباحثان Moro and Basil (2000) فقد ذكروا ان اليود هو اهم عنصر موجود في الفوقس الحويصلي بالاضافة الى السكريات المتعددة والستيرولات والمعادن الاخرى حيث ان اليود له دور مهم في معالجة السمنة واضطرابات الغدة الدرقية الاخرى ونتيجة البحث الحالي تتفق مع الباحث Jimenez-Escrig (2001) والباحث Ruperez وجماعته (2002) والباحث Mori وجماعته (2003).

كما اوضحت نتائج التفاعل المناعي لدراسة الكيمياء النسجية المناعية لانزيم TPO في انسجة الدرقية في المجموعة الثانية (G2) التي تم تجريعها بمضاد الدرقية (PTU) والمجموعة الخامسة (G5) التي تم تجريعها بالعشبة البحرية ومضاد الدرقية بالتزامن تمثلت باختفاء الصبغة (سالبة) اي اختفاء التعبير لأنزيم TPO في انسجة الدرقية كما تم ملاحظة تغيير اشكال انوية الخلايا (متعددة الاشكال)مع ظهور اخاديد groove،بما ان الية عمل TPO تتمثل بأكسدة اليود الغيرعضوي Iodide الى يود عضوي Iodine في الخلايا الجريبية والفعالية الرئيسة لمضادات الدرقية (PTU,MMI) في داخل الدرقية تتمثل بارتباطها مع TPO وبالتالي تعطل الفعالية الاساسية لل TPO التي تتمثل بتصنيع هرمونات الغدة الدرقية (T3, T4) وهذا من شأنه ان يؤدي الى افراز مفرط لل TSH وتضخم غدي اما فعاليتها خارج الغدة الدرقية(PTU فقط) فتتمثل بتثبيط تحويل T4 الى T3 (Bandyopadhyay *etal*.,2002;Cooper,2005) ،كذلك تؤثر مضادات الدرقية على استهلاك الاوكسجين وتثبيط عمليات الايض المحيطي (Bray and Hildrethy,1967) حيث تؤثر مضادات الدرقية على تكوين الجينات وتعبيرها ووظائف بعض انواع الخلايا (Bandyopadhyay *etal*.,2002) بالرغم من ان هذه الادوية تستعمل بشكل اساسي في علاج مرض غريفز (فرط نشاط الغدة الدرقية)لكن لها تأثيرات ضد الدرقية

تتمثل بشكل رئيس بتثبيط (TPO-catalyzed iodination) (Cooper,2005) و يتم تحفيزانزيم TPO بوساطة الهرمون المحفز للدرقية TSH الذي ينظم التعبير الجيني للانزيم ويثبط هذا الانزيم بوساطة مضادات الدرقية (Thionamide(PTU ,MMI (Roy and Mugesh,2008) حيث اشارت عدة دراسات(Bjoro *etal*.,2000;Hollowell,2002;Bulow *etal*.,2005;Degitz *etal*.,2005;O ' Leary *etal*.,2006) نتيجة العلاج ب PTU توجد علاقة بين مستوى TSH المرتفعة ووجود اجسام مضادة لانزيم TPO وهذا بدوره يشير الى وجود خطر كبير في المستقبل بحدوث قصور في عمل الغدة الدرقية ((Hypothyrodisim Cooper,1987;Parle *etal*.,1991;Vanderpum *etal*.,1995).

ويعد انخفاض فعالية التفاعل المناعي لل TPO هو حدث مبكر في نشأة الاورام الجريبية مع تسارع في نمو الخلايا وظهور خلايا شاذة (Garcia *etal*.,1998) لذلك يعد TPO واحداً من العلامات المستخدمة لتشخيص اورام الغدة الدرقية (Christensen *etal*.,2000) ونتيجة الدراسة الحالية التي تبين اختفاء التصبيغ المناعي لانزيم TPO و ملاحظة ظهور الاخاديد بين انوية خلايا الدرقية في المجاميع (G2,G5) فهذه ربما تكون علامة لظهور اورام خبيثة ، ونتيجة البحث الحالية تتفق مع الباحث Savin وجماعته (2008) والباحث Jenna وجماعته (2013) والباحث Rossi وجماعته (2013).

كما كانت كثافة التصبيغ المناعي لانزيم TPO في المجموعة الثالثة (G3) التي تم تجريع حيواناتها بالعشبة مدة ثلاثة اسابيع ثم مضاد الدرقية PTU للاسابيع الثلاثة المتبقية وكذلك المجموعة الرابعة (G4) والتي تم تجريعها بمضاد الدرقية PTU ثلاثة اسابيع ثم العشبة البحرية للاسابيع الثلاثة المتبقية (ضعيفة)اي انخفاض قوة التصبيغ المناعي للانزيم في المجموعتين بسبب التداخل مابين العشبة البحرية ومضاد الدرقية البروبيل ثايوراسيل ،بما ان مضادات الدرقية تعمل كركيزة زائفة لانزيم TPO وبالتالي تمنع اكسدة اليود واضافته الى الثايروغلوبيولين مما يؤثر على تصنيع هرمونات الدرقية (Cooper *etal*.,1984;Farwell and Braverman,1996) فلربما يعزى السبب في انخفاض قوة التصبيغ المناعي (ضعيفة)لانزيم TPO في انسجة الدرقية في المجموعتين (G3,G4) الى دور البروبيل ثايوراسيل الذي يعمل على منع اليود من اداء وظيفته الطبيعية بتصنيع هرمونات الدرقية تحت سيطرة انزيم الثايروويد بيروكسيديز بالرغم من استخدام العشبة البحرية الفوقس الحويصلي التي تعد من اهم الاعشاب البحرية المستخدمة لمعالجة اضطرابات الغدة الدرقية التي تمتلك العديد من المكونات

التي لها فعالية مضادة للالتهابات ومضادة للاورام السرطانية التي تساعدها على استعادة الوظيفة الطبيعية للغدة الدرقية (Garg,2005;Mary and Bove,2012) وبذلك فمضاد الدرقية اثر على كمية اليود الازمة لتصنيع هرمونات الدرقية لان فائض اليود اونقص اليود يؤدي الى زيادة انتشار اضطرابات الدرقية ((Laurberg *etal*.,2010;Sun etal.,2014 وبالتالي يؤثر على انزيم TPO لان التخليق الحيوي لهرمونات الغدة الدرقية يعتمد على تعبير ووظيفة العديد من الجينات الخاصة بالدرقية ومنها TPO،كما اشار كل من Rodriguues وجماعته (2005) و Avbely وجماعته (2007)ان العديد من المرضى الذين لديهم خلل في تصنيع اليود لديهم خلل في جين TPO وبالتالي نستنتج من ذلك ان مضاد الدرقية (PTU) اكثر تأثيراً على انزيم TPO من العشبة البحرية .

6٠الاستنتاجات والتوصيات

6-1.الاستنتاجات Conclusions

استنتجت الدراسة الحالية ما يلي:

1- اثبتت الدراسة ان هناك دوراً ايجابياً للعشبة البحرية في تركيب ووظيفة الغدة الدرقية حيث نظمت مستوى هرموناتها وحافظت على تركيبتها النسيجية وحسنت وظيفتها .

2- اوضحت الدراسة ان تناول العشبة البحرية يحافظ على وزن الغدة الدرقية ويؤدي الى انخفاض معنوي في وزن الجسم .

3- كما اثبتت الدراسة ان تناول العشبة البحرية يقلل من الاثار الجانبية لعقار PTU في الحفاظ على وزن الغدة الدرقية ومنع تضخمها.

4- كما لوحظ ان تناول العشبة البحرية يقلل من التأثيرات السلبية النسيجية في خلايا الغدة الدرقية المتمثلة (بتعدد اشكال النوى Nuclear pleomorphism وظهور الاخاديد groove) وتمنع من تطورها في

المستقبل مما يفتح المجال لاستخدام هذه العشبة كخط دفاعي وعلاجي لاورام الغدة الدرقية .

2-6 .التوصيات Recommendations

من اهم توصيات هذه الدراسة ما يلي :

1-**دراسة تأثير انواع اخرى من الاعشاب البحرية على وظيفة الغدة الدرقية وتركيبها .**

2-اجراء دراسة كيميائية ونسيجية مناعية وجزيئية لجينات اخرى مثل (Tg,NIS) في الغدة الدرقية .

3- التعرف على المزيد من الخصائص الحيوية التي تمتلكها العشبة البحرية عن طريق فصل المركبات الفعالة في العشبة وتنقيتها.

4- دراسة الخصائص الدوائية والية عمل مضاد الدرقية (PTU) ومقارنتها مع عقاقير اخرى مستخدمة لعلاج قصور الغدة الدرقية .

5- اجراء المزيد من الدراسات لمعرفة تاثير العشبة البحرية و البروبيل ثايوراسيل على فعالية اعضاء اخرى في الجسم مثل الجهاز التناسلي والبولي والعصبي .....الخ.

6- اجراء دراسة كيميائية نسيجية مناعية لمتابعة تأثير العشبة البحرية ومضاد الدرقية على الغدة الدرقية في مراحل عمرية مختلفة .

7-عمل دراسة مستفيضة لمعرفة تأثير هذه العشبة على مكونات الدم والكبد والكلى والتنفس وكذلك معرفة تأثيرها على مستوى سكر الدم وضغط الدم وبعض الهرمونات الاخرى .

8 –دراسة تأثيرها على المكونات المناعية بشكل اوسع لتشمل الخلايا اللمفاوية والكلوبيولينات المناعية والسايتوكينات .....الخ.

المصادر العربية

-**الحسني، أويس موفق حامد** .تأثير الإصابة بعدد من الأورام السرطانية في بيروكسدة الدهن ومستوى الكلوتاثايون وعدد من المتغيرات في مكونات الدم. جامعة الموصل ،كلية العلوم،رسالة ماجستير،(٢٠٠٤).

-**الدوري ، بشرى اسماعيل ابراهيم** ." تاثير المستخلص المائي لحشيشة الليمون في بعض المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية للدم والكبد المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين في ذكور الجرذان "، جامعة تكريت،كلية التربية ،رسالة ماجستير،(٢٠١٢).

-**السامرائي ،مها عطية محمد** .دراسة كيموحيوية نسيجية لطحلب الفوقس الحويصلي (Fucus vesiculosus) وتأثيره على مستوى هرمونات الغدة الدرقية ومضادات الاكسدة في امصال دم الارانب البيض البالغة .جامعة سامراء،كلية التربية،رسالة ماجستير،(٢٠١٣).

-**السلامي ،نجاة مطر عريبي** .دراسة نسيجية وفسلجية لتأثير التراكيز العالية لفلوريد الصوديوم في الاعضاء التكاثرية والغدة الدرقية لذكور الجرذان .جامعة بابل،كلية العلوم ،اطروحة دكتوراه،(٢٠٠٧). .

المصادر الأجنبية References

Abdelkadder, H. S.; Fathi, A. M.; and Adail, A. S. (2015). Protective and therapeutic effects of fucoidan, brown algae extract, against methotrexate hepatic toxicosis in albino rats. International Journal., 3(1): 504-514.

Agustin , S.A.;and Babu , S.S.(2013). Areview of thyroid disorder detection segmentation and classification on medical images. IJEAT., 2(3): 88 – 93.

Aksenov,D.V.;Kaplun,V.V.;Tertov,V.V.;Sobenin,I.A.:and Orekhov,A.N.(2007).Effect of plant extracts on trans-sialidase activity in human blood plasma .Bull Exp Biol Med .,143(1):46-50.

Algaebase.(2016).Algaebase.Available,at:WWW.algaebase.org[Accessed March 3,2012].

Al-Fallouji , S.R. ;Ali, W.J. ;Ali , H .(2012). The correlation between oxidative stress and thyroid hormones in serum and tissue homogenized of hypothyroidism potiens . Med. J. Babylon . , (4); 849-843 .

Aliciguzel ,Y.; Ozdem, S.N.; Ozdem ,S.S.; Karayalcin, U.; Siedlak,S.L.; Perry, G.;and et al.(2001). Erythrocyte, plasma and serum antioxidant activities in untreated toxic multinodular goiter patients. Free Radic. Biol .Med.,30:665– 70.

Ali , S.; Frak , A. and Haider , H .(2013) Biochemical study on the association of Selenium with hormone of thyroid disorder . Kerbala Journal of pharmaceutical sciences ., 5 : 100-5 .

Allain, T. J.; Thomas, M. R.; McGregor, A. M.; and Salisbury, J. R. (1995). A histomorphometric study of bone changes in thyroid dysfunction in rats. Bone., *16*(5): 505-509.

Allen, M.J.; Fan, Y.Y.; Monk, J.M.; Hou, T.Y.; Barhoumi, R.; McMurray, D.N.; and Chapkin, R.S.(2014). n-3 PUFAs reduce T-helper 17 cell differentiation by decreasing responsiveness to interleukin-6 in isolated mouse splenic CD4(+) T cells. J. Nutr., 144:1306–1313.

Andersson, L. (2010). Embryonic origin and development of thyroid progenitor cells. An experimental study focused on endoderm, EphA4

and Foxa2. Institute of Biomedicine. Department of Medical Biochemistry and Cell Biology.

Araujo,A.S.R.;Riibeiro,M.F.M.;Enzveiler,A.;Schenkel,P.;Femandez, T.R.G.;Partata,W.A.Irigoyn,M.C.and Bello-Klein,A.(2006).Myocardial antioxidant enzyme activities and concentration and glutathione metabolism in experimental hyperthyroidism.J.Mol.Cell Endocrino.249:133-139.

Arbaizar,B.; and Llorca, J.(2011). *Fucus vesiculosus* induced hyperthyroidism in a patient undergoing concomitant treatment with lithium . Actas Esp Psiquiatr.,39(6):401-3.

Atip, L.P.; Natchai, P. T.; and Charn, S.(2010). Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in erythrocytes of type 2 diabetic patients. J. Med. Associ. Thailand., 93(6):187-190.

Avbelj,M.;Husref,Y.;Marusa,D.; and et al.(2007). European J. of Endocrinology.,156:511-519.

Aza-Blanc, P.; Di Lauro, R.; and Santisteban, P .(1993). Identification of acis-regulatory element and a thyroid-specific nuclear factor mediating the hormonal regulation of rat thyroid peroxidase promoter activity. Mol .Endocrinol., 7:1297–1306.

Badauê-Passos, D. J.; Ventura, R. R.; Silva, L. F. S.; Olivares, E. L.; Ramalho, M. J.; Rodrigues, J. A.; and Reis, L. C. (2001). Effect of losartan on sodium appetite of hypothyroid rats subjected to water and sodium depletion and water, sodium and food deprivation. *Experimental physiology*., *86*(5): 621-628.

Bahn,R.S.;Burch,H.S.;Cooper,D.S.;Garber,J.R.;Greenlee,C.M.;Klein ,I.L.;Laurberg,P.;McDougall,I.R.;Rivkees,S.A.;Ross,D.;Sosa,J.A.; and Stan,M.N.(2009).The role of propylthiouracil in the management of Graves disease in adults:report of a joint meeting lointly sponsored by the American Thyroid Association and the Food and Drug Administration.Thyroid.,7:673-674.

Bandyopadhyay, U.; Biswas, K.; and Banerjee, R.K. (2002). Extrathyroidal actions of antithyroid thionamides. Toxicol Lett., 128:117–127.

Bartalena,L.;Bogazzi,F.;and Martino,E.(1996).Adverse effects of thyroid hormone preparations and antithyroid drugs.Drug Safety.,15:53-63.

Berry, M.J.; Banu , L.; and Larsen, P.R .(1991).Type I iodothyronine 5-deiodinase is a selenocysteine-containing enzyme. Nature., 349: 438-440.

Bhanja, S.; and Chainy, G. B. N. (2010). PTU-induced hypothyroidism modulates antioxidant defence status in the developing cerebellum. *International Journal of Developmental Neuroscience*., *28*(3): 251-262.

Bianco,A.C.;Anderson,G.;Forrest,D.;and et al.(2014).American Thyroid Association Guide to investigating thyroid hormone economy and action in rodent and cell models.Thyroid.,24,88-168. Biophys., 330:24–32.

Björkman, U.; and Ekholm, R. (1995).Hydrogen peroxide degradation and glutathione peroxidase activity in cultures of thyroid cells .Mol.Cell Endocrinol.,111(1):99-107.

Bjoro, T.; Holmen ,J.; Kruger ,O.; Midthjell ,K.; Hunstad, K.; Schreiner, T.; Sandnes, L.; and Brochmann H.(2000). Prevalence of thyroid disease, thyroid dysfunction and thyroid peroxidase antibodies in a large, unselected population. The Health Study of Nord-Trondelag (HUNT). European Journal of Endocrinology. , 143: 639–647.

Block, C.; Dietrich, M.; Norkus, E.; Morrw, J and Poker, L, (2002). Factors associated with oxidative stress in human populations. Amer. J. Epidermal. 156(3): 274-278.

Bradley, P.R. (1992) : British Herbal Compendium. 1. Bournemouth, England: British Herbal Medicine Association. ISBN 0-903032-09-0.

Bray, G.A.; and Hildreth, S .(1967). Effect of propylthiouracil and methimazole on the oxygen consumption of hypothyroid rats receiving thyroxine or triiodothyronine. Endocrinology .,81:1018–1020.

Brent , G .(2012). Mechanisms of thyroid hormone action . J. Clin . invest ., 122 (9) : 3035 – 43 .

Brown,E.M.;Allsopp.P.J.;Magee,P.J.Gill,C.I.;Nitecki,S.;Strain,C.R.; and McSorley,E.M.(2014).Seaweed and human health .Nutr.Rev.,72:205-216.

Bucci,I.;Napolitano,G.;Giulian,C.;Lio,S.;Minnucci,A.;Di Giacomo,F.;Calabrese,G.;Sabation,G.;Palka,G.;and Monaco,F.(1999).Zinc sulfate supplementation improves thyroid function in hypozincemia Down Children.Biol,trace Elem Res.,67:257-68.

Budavari,S.,ed.(2000).*The Merk Index*,12th Ed.,Version 12:3,Whitehouse Station,NJ,Merk &Co.&Boca Raton,FL,Chapman&Hall/CRC[CD-ROM].

Bulow Pedersen ,I.; Laurberg, P.; Knudsen, N.;Jorgensen, T.; Perrild, H.; Ovesen, L .;and Rasmussen ,L.B.(2005). A population study of the association betweenthyroid autoantibodies inserumand abnormalities inthyroid function and structure. Clinical Endocrinology., 62: 713–720.

Bumier,M.;Van wassenaer,A.G.;and Kok,J.H.(2008).Postnatal administration of dexamethasone for weaning off the ventilator affects thyroid function .Neonat .33.Burrow,G.N.,(1994).Thyroid dysifuction in the recent pregnant :postpartum thyroiditis.Thyroid .Fall.,4(3):363-365.

Cadnapaphornchai, M. A.; Kim, Y. W.; Gurevich, A. K.; Summer, S. N.; Falk, S.; Thurman, J. M.; and Schrier, R. W. (2003). Urinary concentrating defect in hypothyroid rats: role of sodium, potassium, 2-chloride co-transporter, and aquaporins. *Journal of the American Society of Nephrology*., *14*(3): 566-574.

Caillou, B.; Dupuy, C.; Lacroix, L.; Nocera, M.; Talbot, M.; Ohayon, R.; Deme, D.; Bidart, J.M.; Schlumberger, M.; and Virion, A. (2001). Expression of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (ThoX, LNOX, Duox) genes and proteins in human thyroid tissues. *J. Clin. Endocrinol. Metab.,* **86**(7): 3351-3358.

Calil-Silveira, J.; Serrano-Nascimento, C.; Laconca, R. C.;Schmiedecke, L.; Salgueiro, R. B.; Kondo, A. K.; and Nunes, M. T. (2016). Underlying Mechanisms of Pituitary–Thyroid Axis Function Disruption by Chronic Iodine Excess in Rats. *Thyroid*., *26*(10): 1488-1498.

Castanet, M.; Park, S.M.; Smith, A.; and et al.(2002). A novel loss-of-function mutation in TTF-2 is associated with congenital hypothyroidism, thyroid agenesis and cleft palate. Hum Mol Genet.,11(17):2051–2059.

Castanet, M.;and Polak, M. (2010).Spectrum of human Foxe1/TTF2 mutations. Horm Res Paediatr.,73(6):423–429.

Chakrabarti,S.K.;Ghosh,S.;Banrjee,S.;Mukherjee,S.;and Chowdhury,S.(2016).Oxidative stress in hypothyroid patientsand the role of antioxidant supplementation .Indian journal of endocrinology and metabolism. ,20(5):674-678.

Chater, P. I.; Wilcox, M. D.; Houghton, D.; and Pearson, J. P. (2015). The role of seaweed bioactives in the control of digestion: implications for obesity treatments. *Food & function*., *6*(11): 3420-3427.

Chiao ,C.Y.;Lin,H.; Wang ,W.S. ;and Wang ,S.P.(2000).Direct effects of propylthiouracil on testosterone secretion in rat testicular interstitial cells.Br.J.Pharmacol.,130:1477-1482.

Chopra,R.N.;Nayar,S.L.; and Chopra,I.C.(1986) Glossary of Indian medicinal plants(including the supplement).Council of Scientific and Industrial research .New Delhi.

Christensen, L.; Blichert-Toft ,M.; Brandt, M.; and et al.(2000). Thyroperoxidase (TPO) immunostaining of the solitary cold thyroid nodule. Clin. Endocrinol (Oxf)., 53:161–169.

Chung,H.R.(2014).Iodine and thyroid function .Annals of pediatric endocrinology and metabolism.,19(1):8-12.cis-regulatory element and a thyroid-specific nuclear factor mediating.

Clark, F.; Grimley, E.J.; Hasan, D.M.; Rodgers, H.; and Tunbridge ,F.(1995). The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year followup of theWhickham Survey. Clinical Endocrinology., 43: 55–68.

Conti , A.; Studer ,H.; Kenenbuehl ,F .; and Kohler , H.(1978).Regulation of thyroidal deiodinase activity .Endocrind ., 102:321-329 .

Cooper, D.S .(1984). Antithyroid drugs. N. Engl. J. Med., 311:1353–1362.

Cooper, D.S.(1987). Subclinical hypothyroidism. JAMA.,258(2):246-7.

Cooper,D.S.(1999).The side effects of antithyroid drugs(Abstract).*Endocrinologist*. ,9:457.

Cooper,D.S.(2005).Antithyroid drugs.N .Engl .J. Med.,352:905917.

Cooper,D.S.;and Rivkees,S.A.(2009).Putting propylthiouracil in perspective.J Clin Endocrinol Metab.,94:1881-1882.

Costantini,F.,Pierdomenico,S.D.;De Cesare,D.;and et al.(1998). *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol*.,18:732-737 .

Damante, G.; Chazenbalk, G.; Russo, D.; Rapoport, B.; Foti, D.; and Filetti S (1989). Thyrotropin regulation of thyroid peroxidase messenger ribonucleic acid levels in cultured rat thyroid cells: evidence for the involvement of a nontranscriptional mechanism. Endocrinology., 124:2889–2894.

Damante, G.; Di Lauro, R.(1994). Thyroid-specific gene expression. Biochim. Biophys. Acta.,1218(3):255–266.

De Deken, X.; Wang, D.; Dumont, J.E.; and Miot, F. (2002) .Characterization of ThOX proteins as components of the thyroid H(2)O(2)-generating system. *Exp. Cell Res.*, **273**(2): 187-196.

De Diego-Otero,Y.;Romero-Zerbo,Y.;el Bekay,R.;Decara,J.;Sanchez,L.;Rodriguez-defonseca,F.and del Arco-Herrera,I.(2009).Alphatocopherol protects against Oxidative stress in the fragil X Knockout mouse.J.Neuropsychopharmcol.34:1011-1026.

- Defeng , W.U. and Cederbaum , A.I.(2003). Alcohol oxidative stress and radical damage. Alcoh . Res. Heal . 27 (4) : 277-281.

- **Demir , S .; Yilmaz , m.; Akalin , N .; and Aslan , D**.(2003). Role of free radicals in peptic unclear and gastritis . Turk J. Gastroenterol .,14 (1) : 39-43.

De Ruiter, J, (2004). Thyroid summery sheet , endocrine module,1-24. Beato M.; Herrlich,P. and Schutz,G. (1995) Steroid hormone receptors: many actors in search of a plot. Cell. 83: 851-857.

De Souza, M.C.R.; Marques, C.T.; Dore, C.M.G.; De Silva, F.F.; Rocha, H.A.O.; and Leite, E.L. (2007) : J .Appl. Phycol .,19 (2): 153-160.

Degitz, S.J.; Holcombe, G.W.; Flynn, K.M.; Kosian, P.A.; Korte, J.; and Tietge, J.E. (2005).Progress towards development of an amphibian-based thyroid screening assay using *Xenopus laevis*. Organismal and thyroidal responses to the model compounds 6-propylthiouracil, methimazole, and thyroxine. *Toxicological Sciences*.,87(2):353–364.

Dehghani, F.; Panjehshahin, M. R.; and Vojdani, Z. (2010). Effect of hydroalcoholic extract of caraway on thyroid gland structure and hormones in female rat. *iranian Journal of Veterinary research*., *11*(4): 337-341.

Delbert,A.(2009).Fisher Rudolphs pediatrics 21 st Ed.G:124.The Endocrine system 124.The Endocrine system 124.6 the thyroid .MhtMc Graw-Hill.

Dockal,M.3353.(2012). Structure – Activity relation ship of Pro and Anticoagulant activity effect of Fucus Vesiculosus fucoidan , Blood coagulation and Fibriolytic factors., 10 : 1-8 .

Dohert,G.M.; and Way,L.W.(2005).Current Surgical diagnosis and treatment,20 th ed.Edited by Clark,O.H.;McGraw-Hill professional – United State .Honkog .,pp:284,276,277.

Droe,W.; and Sheehan,F.(2002).Free radicals in the physiological control of cell function .Physiol.Rev.,82:47-95.

Dumitriu,L.; Bartoc,R.;and Ursu,H.(1988). *Endocrinologie.*,26**:** 35-38.

Dumont, J. E.; and Vassart, G. (1989) Mol. Endocrinol., 3:2110-2118.

El-Masry, F. S. H. (1989). Ph.D Thesis presented to woman's Coll. Ain Shams Univ.

Eric,F.;Unga,A.U.;Anneke,A.(2006).Functional heuroanatomy of thyroid hormone feedback in the human hypothalamus and pituitary gland molecular and cellular endocrinology.,251:1-8.

Ermakova, O .V. (2010) . Radiats Bio. Radioecol., 50 (4):391-7.

Eroschenko , V. P.(2008). Atlas of histology with Functional Correlations . 11th ed.Lippincott Williams and Wilkins . USA . PP .,349,395,382 et cytobiologica.,45(2):115-21.

European medicines agency – Science medicines health : Assess Ment report on Fucus Vesiculosus L . thallus . 2013 www.ema.europa.eu/docs/ en-GB/document – Library .

Farwell, A.P.; Braverman, L.E.(1996). Thyroid and Antithyroid Drugs. In: Hardman JG, Limbird LE, eds. Goodman &Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th ed. McGraw-Hill, USA., 1383: 410.

Fatourechi, V. (2009). Subclinical hypothyroidism: an update for primary care physicians.*Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic*, Vol.84, No1, pp., 65-71, ISSN 1942-5546.

Ferreira, E.,;Serakides, R.; Nunes, V. A.; Gomes, M. G.;'Silva, C. M.; Ocarino, N. M.; and Ribeiro, A. F. C. (2003). Morfologia e histoquímica da pele de ratas hipotireóideas castradas e não castradas Morfology and histochemistry of the skin in hypothyroid castrated and intact rats. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*., *55*(1): 51-60.

Fonseca, V. A.; Stone, A.; Munshi , M. and Baliga , B.S.(1997). Oxidative stress in diabetic macrovas cular disease: Dose homocystine play a role. Free radic.Biol. Med. 20: 1-27**.**

Fujimura,T.;Tsukahara,K.;Moriwaki,S.; and et al .(2002).Treatment of human skin with an extract of Fucus vesiculosus changes its thickness and mechanical properties,J .Cosmet. Sci.,53(1):1-9.

Funahashi, H.; Imai, T.; Tanaka, Y.; Tsukamura, K.; Hayakawa, Y.; Kikumori, T.; Mase ,T.; Itoh, T.; Nishikawa, M.; Hayashi, H.; Shibata, A.; Hibi ,Y.; TakahashiMand Narita, T. (1999). Wakame seaweed suppress the proliferation of 7, 12- dimethylbenz(*a*)- anthracene-induced mammary tumors in rats. Jpn. J. Cancer. Res .,90:922-927.

Galigher,A.E.;and Kozloff,E.N.(1964).Essentials of practical micro technique. 1 st ed.Lea and Febiger.Philadelphia.P:40-44.

Ganong ,W.F.(2001). The thyroid gland: Review of Medical Physiology . 20thed , McGraw –Hill Companies , New York ,USA . pp., 307 – 317 .

Ganong,W.F.(2003). Review of medical physiology .21 th ed.McGraw-Hill Companies;Inc.

Garcia ,S.; Vassko, V.; Henry, J.F.; and De Micco, C.(1998).Comparison of thyroid peroxidase expression with cellular proliferation in thyroid follicular tumors. Thyroid., 8:745–749.

Garg ,S.C.(2005). Essential oils as therapeutics ; Natural product Radiance ; year ; volume 4(1) : page no., 18-26 .

Garrett , R.H.; and Grisham , C.M.(2013). Biochemistry . 4th ed . Mary Finch . USA . , P . 1013 .

Gbrard, C.; Lefort, A.; Christophe, D.; Libert, F.; Van Sande, J.;Dumont,J.E.; and Vassart,G.(1989).Mol.Endocrinol.,3:2110-2118**.**

Gennaro,A.R.(1995).Remington: The Science and Practce of Pharmacy,19Ed.,Vol.II,Eston,PA,Mack Publishing Co.,P.1987.

Germann,W.J.;and Stanfield ,C.L.(2002).Principles of human physiology.Benjamin cumming ,San Francisco .Boston. New york.

Gilmour, J.; Brownlee ,Y .; and Foster P .(2000). The quantitative measurement of autoantibodies to thyroglobulin and thyroid peroxidase by automated microparticle based immunoassays in Hashimoto disease , Grave's disease and a follow up study on postpartum thyroid disease . clin., 46 (1) : 57 – 61

Glinoer , D .(1998). Thyroid hyperfunction during pregnancy . Thyroid ., 8: 859 .

Golden ,S. H.; Robinson, K. A.; Saldanha, I.; Anton, B.; and Ladenson ,P. W.(2009). Clinical review: Prevalence and incidence of endocrine and metabolic disorders in theUnited States: a comprehensive review. J. Clin. Endocrinol .Metab .,94:1853-78.

Granner, D.K.(2000).Thyroid hormones, In: Harper's Biochemistry. Edited by Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A. and Rodwell V.W., 25th ed., McGraw-Hill Companies, New York.USA., Pp. ,561-66.

Grauffel,V.;Kloareg,B.;Mabeau,S.; and et al.(1989).New natural polysaccharides with potent antithrombic activity:fucans from brown algae .Biomaterials.,10(6):363-368.

Gregkelly,N.D.(2000).Peripheral metabolism of thyroid hormone.Altem.Med.Rev., 5(4):306-333.

Grund, H.; Nilsen, D. W.; Mansoon, M. A. and Nordog, A.(2003). Increased lipid peroxidation during long term intervention with high doses of n-3 fatty acids (PUFAs)following an acute myocardial infarction. Eur. J. Clin. Nutr., 57(6): 793-800 .

Guazzi, S.; Price, M.; De Felice, M.; Damante ,G.; Mattei, M.G.; and Di Lauro ,R.(1990).Thyroid nuclear factor 1 (TTF-1) contains a homeodomain and displays a novel DNA binding specificity. EMBO J. .,9(11):3631–3639.

Gudmundsson ,J.; Sulem, P.; Gudbjartsson, D.F.; and et al.(2009). Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations. Nat Genet.,41(4):460–464.

Guerra, L.N.; Moiguer, S.; Karner, M.; Rios de Molina, M.C.;Sreider, C.M.; and Burdman JA.(2001). Antioxidants in the treatment of Graves' disease. IUBMB Life.,51:105– 9.

Guiry , G.M.(2011). Fucus vesiculosus linnaeus .,3: 253-262 www.algea base.org/search/species/detail.

Guiry,M.D.(2012).World Register of Marine Species .Nati.Uni.Ire.,3:150-58.

Guyton, A., & Hall, J. (2006). Thyroid Metabolic Hormones. In Textbook of Medical Physiology. 11th edition. Philadelphia, Pennsylvania. Elsevier
Inc, 931-943.

Gupta, S.; and Abu-Ghannam, N. (2011): Trends in Food Science and Technology ., 22: 315-326.

- **Guyton, A. C.; and Hall, J. F**. (2000).Textbook Medical Physiology. 10th ed., W.B. Saunders .Company. Philadelphia.,858-868.

Haiying ,Y.u.; Yan ,Y.; Muxun ,Z.; Huiling, Lu.; Jianhua ,Z.; Hongwei ,W.; and Katherine, C.(2006). Thyroid status influence on

adiponectin, acylation stimulating protein (ASP) and complement C3 in hyperthyroid and hypothyroid subjects. Nutr. Metab.,3 (13):1-8.

Hall, A. C.; Fairclough, A. C.; Mahadevan, K.; and Paxman, J. R. (2012). Ascophyllum nodosum enriched bread reduces subsequent energy intake with no effect on post-prandial glucose and cholesterol in healthy, overweight males. A pilot study. *Appetite*., *58*(1): 379-386.

Halliwell,B. (2007).*Biochem .Soc. Trans*.**,** 35: 147–50.

Hardy, F. G.; and Guiry, M. D.(2003). A Check-list and Atlas of the Seaweeds of Britain and Ireland. London: British Phycological Society., 15-6.

Harris, R. B. (2014). Direct and indirect effects of leptin on adipocyte metabolism. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of
Disease, 1842(3), 414-423.

Hassan,W.A.;Aly,M.S,;Abdel Rahman,T.;and Shahat,A.S.(2013).Impact of experimental hypothyroidism on monoamines level in discrete brain regions other peripheral tissues of young and adult male rats.Int.J.Dev1. Neuroscience., 31 :225-233.

Hayes, A.W. (2001). Principles and methods of toxicology. 4th ed. Taylor&Francis. Philadelphia. Vol.,1. P: 349.

Hegedus,L.(2009).Treatment of Graves hyperthyroidism:evidence-based and emerging modalities.Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.,38:355-371.

Herbrand,K.G.(2000).Parmaceutical Specialties for the treatment of ThyroidDiseases(Hyperthyroidism),Gengenbach,Germany[WWW.herbrand-pharma.de].

Hollowell ,J.G.; Staehling, N.W.; Flanders ,W.D.; Hannon, W.H.;Gunter, E.W.; Spencer, C.A.; and Braverman, L.E.(2002). Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey

(NHANES III). Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism., 87: 489–499.

Ibrahim, M. S.; and Kenaway, M.A.M.(1991). J. Egypt. G. Soc. Zool., (6) C :245-255.

Ilyas,A.;Ishaque,I.;Qamar,N.; and Parveen,K.(2015).Effect of Expermentally Induced Hypothyrodisim and its Treatment by Thyroxine on the Number of Folliclesin an Overy of Wistar Rats.Journal of Rawalpindi Merdical Collage (JRMC).,19(1):84-88.

Inzucchi, S. and Burrow, G. (1999). The thyroid gland and reproduction by: S. Yen ; R. Jaffe and R. Barbieri (eds.). in: Reproductive Endocrinology, Physiology Pathology and Clinical Management. 4th. edn., W.B. Saunders Company, Philadelphia. pp: 314- 318.

Ishizuki, Y.;Yamauchi ,K.; and Miura, Y.(1989). Transient thyrotoxicosis induced by Japanese kombu. Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi., 65:91–98.

Isozaki, O.;Tsushima ,T.; Emoto, N.; Saji, M.; Tsuchiya ,Y.; Demura, H.; Sato, Y.; Shizume, K.; Kimura, S.; and Kohn, L.D.(1991). Methimazole regulation of thyroglobulin biosynthesis and gene transcription in rat FRTL-5 thyroid cells. Endocrinology .,128:3113–3121.

Jabbar ,Z.S .; Al-Shamma , K.J .;and Taher ,M.A(2013). . Some Hormonal Changes in Women with Primary Hypothyroidism under the Effect of Thyroid Hormone Replacement Therapy . Iraq. J.Phar.Sci ., 22 : 56-64.

Jackson, I.M.(1982). Thyrotropin-releasing hormone. N. Engl. J. Med.,306(3):145-55.

Jameson,J.L.;and Weetman,A.P.(2010).Disorders of the thyroid gland .in harrisons endocrinology.,62-69.

Jeena, E.J.;Malathi, M.; and Sudeep K. A.(2013). hospital-based study of anti-TPO titer in patients with thyroid disease. J. Med. Sci .Res.,4:74-7.

Jiménez-Escrig, A.; Jiménez-Jiménez, I.; Pulido, R.; and Saura-Calixto, F. (2001). Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. J .Sci. Food. Agric., 81:530-534.

Jones Jones ,A.L.; and Harwood ,J.L.(1992). Lipid composition of the brown algae Fucus vesiculosus phytochemistry., 31 (10) :3397-3403.

Junqueira, L. C.; Carneiro, J. and Kelly, R. O. (2002). Basic Histology. 9th. ed., Appleton and Lang, Asimon and Schuster Company, USA. pp: 218-230.

Junqueira, L.C. and Carneiro , J. (2003). Basic histology , 10th ed. Lange medical books McGraw- Hill , New York .pp:423 - 456 .

Kale , M.K .; umathe, S.N. and bhusari,K.P .(2007).oxidative stress and the Thyroid.PositIve Health .

Kang, M. C.; Kang, N.; Kim, S. Y.; Lima, I. S.; Ko, S. C.; Kim, Y. T.; and Jeon, Y. J. (2016). Popular edible seaweed, Gelidium amansii prevents against diet-induced obesity. *Food and Chemical Toxicology*., *90*: 181-187.

Kasagi, K.; Iwata ,M.; Misaki ,T.;Konishi ,J.(2003). Effect of iodine restriction on thyroid function in patients with primary hypothyroidism. Thyroid.,13:561–567.

Kent , L.D .(2010). The side effects of Fucus Vesiculosus , BMC complementary and Alternative medicine ., 10: 1186-272 .

Kessler, J.; Obinger, C.; and Eales, G .(2008). "Factors influencing the study of peroxidase-generated iodine species and implications for thyroglobulin synthesis". Thyroid., **18** (7): 769–74.

Khalawi, A. A.; Al-Robai, A. A.; Khoja, S. M.; and Shaker, A. S. (2013). Can Nigella Sativa oil (NSO) reverse hypothyroid status induced by PTU in rat? biochemical and histological studies. *Life. Sci. J*., *10*(2): 1-5.

Khotimchenko, Y. S.; and Sergushchenko, I. S. (2003). Comparative efficiency of low-esterified pectin and antistrumin during experimental hypofunction of the thyroid gland. *Bulletin of experimental biology and medicine*., *136*(6): 566-568.

Kim,H.J.;Kim,B.H.;Han,Y.S.; and et al .(2001).The incidence and clinical characteristics of symptomatic propylthiouracil-induced hepatic injury in patients with hyperthyroidism:asingle-center retrospective study.Am. J. Gastroenterol .,96:165-169.

Kimura, S.; Hara, Y.; Pineau, T.; and et al.(1996). The T/ebp null mouse: thyroid-specific enhancer-binding protein is essential for the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain, and pituitary. Genes Dev.,10(1):60–69.

Kitamura,K.;Matsuo,M.;and Yasui,T.(1991).Fucoidan from brown seaweed Laminaria angustata var.Longissima.Agric.Bio1.Chem.,55:615-616.

Knuiman, M.; Kaye, J.; and Walsh, J.P.(2006). Investigations of thyroid hormones and antibodies based on a community health survey: the Busselton thyroid study. Clinical Endocrinology., 64 :97–104.

Kubanek, S. E ; Lester, W.; Fenical, M.; and Hay, E .(2004). Ambiguous role of phlorotannins as chemical defenses in the brown alga Fucus vesiculosus. Mar. Ecol. Prog. Ser., 277: 79–93.

Kuliawat ,R.; Lisanti, M.P.; and Arvan, P.(1995). Polarized distribution and delivery of plasma membrane proteins of in thyroid follicular epithelial cells .J. Biol. Chem., 270:2478-2482.

Kuliawat, R.; Ramos-Castañeda, J.;Liu ,Y.; and Arvan ,P.(2005). Intracellular trafficking of thyroid peroxidase to the cell surface. J .Biol. Chem., 280:27713–27718.

Kumar ,V. ;and Hagler ,H.(1996). Pathologic (Basis of Discase) .6th ed. W.B.Saunders Company ,Philadephia .

Ladenson, P. W.; Singer, P. A.; Ain, K. B.; Bagchi, N.; Bigos, S. T.; Levy, E. G.; Smith, S. A.;Daniels, G. H.; and Cohen, H. D. (2000). American Thyroid Association guidelines for detection of thyroid

dysfunction. *Archives of internal medicine*, Vol.160, No.11, pp.,1573-1575, ISSN 0003-9926.

Laura, J. N; J. Scott, D.; Carol, A. R.; Rachel, E. G.; and Lawrence, J. M.(2003). Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, mutagenic in human cell.J.Biol. Chem., 278 (33):31426-31433.

Laurberg, P.; Cerqueira, C.; Ovesen ,L.; Rasmussen, L.B.; Perrild, H.;Andersen, S.; and et al.(2010). Iodine intake as a determinant of thyroid disorders in populations. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab., 24(1):13–27.

Lee, J.; Kim, J.; Moon, C.; Kim, S.H.; Hyum, J.W.; Park ,J.W.; and Shin ,T.(2008): Phytother. Res., 22(12): 1677-81.

Leer, L.M.; Cammenga, M.;van der Vorm, E.R.; and de Vijlder, J.J.(1991). Methimazole increases thyroid-specific mRNA concentration in human thyroid cells and FRTL-5 cells. Mol. Cell. Endocrinol .,78:221–228.

Lian,X.L.;Bai,Y.;Dai,W.X.;Jin,Z.M.;Zeng,Z.P.;and Guo,Z.S.(2004).The clinical characteristics of symptomatic propylthiouracil –induced hepatic injury in patients with hyperthyroidism.Zhonghua Nei Ke Za Zhi., 43:442-446.

Liu, J. S.; Chen, Y. Q.; and Li, M. (2006). Thyroid hormones increase liver and muscle thermogenic capacity in the little buntings (Emberiza pusilla). *Journal of Thermal Biology*., *31*(5): 386-393.

Livak, K.J.; and Schmittgen, T.D. (2001). Analsis of relative gene expression data using real time quantitative PCR and the 2(- Delta Delta C(T)) Method. Methods., 25: 402-410.

Livolsi , V.A.(1994).Thyroid and Parathyroid . In ; Diagnostic Surgical Pathology . Edited by Stenberg S.S , 2nd ed . Raven press , New York , USA ., pp . 523- 559 .

Lobo, V. ; Phatak, A. and Chandra, N.(2010). Free radicals and functional foods: impact on human health. Pharmacogn. Rev. 4, 118 – 126.

Luna,L.G.(1968).Manual of Histological Staining Methods of The Armed Force Institute of Pathology .3 ed ., McGraw.Hill book Co.London.

MacArtain, P.; Gill, C. I.; Brooks, M.; Campbell, R.; and Rowland, I. R. (2007). Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition reviews*., *65*(12): 535-543.

Maenhaut, C.; Brabant, G.; Vassart, G.; and Dumont, J. E. (1992). In vitro and in vivo regulation of thyrotropin receptor mRNA levels in dog and human thyroid cells. *Journal of Biological Chemistry*., *267*(5): 3000-3007.

Mahadik ,S.P.; Evans, D.;and Lal ,H .(2001). Oxidative stress and role of antioxidant and omega-3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. Prog Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry., 25:463-93.

Mahera,N.A.;Tala,A.A.; and Sahar,H.A.(2014).Hypothyrodisim induced by carbimazole in diabetic mice and its Management Using Parsley and Eruca sativa oil.IOSR-JPBS.,9(1): 24-27.

Manna,D.;Roy,G.; and Mugesh,G.(2013).Antithyroid drugsand their analogues:synthesis,structure,and mechanism of action .Accounts of chemical research .,46(11):2706-2715.

Mary Bove.(2012). Botanical Insights into Autoimmune Thyroid Disease ; copyright Diversified Business Communications .,page no-1.

Mayer,A.M.S.;Rodriguez,A.D.;Berlinck,R.G.S.; and Fusetani,N.(2011).Marine pharmacology in 2007-8:Marine compounds with antibactrial,anticoagulant,antifungal ,anti-inflammatory,antimalarial,antiprotozoal,antituberculosis,and other antiviral activites; affecting the immune and nervous system ,and other miscellaneous mechanisms ofaction.Comp.Biochem.Physiol.C Toxicol.Pharmacol.,13:191-222.

Mc Ardle, A.; Helliwell, T. R.; Beckett, G. J.; Cataoano, M.; Davis, A.; and Jackson, M. J. (1998). Effect of propylthiouracil-induced hypothyroidism on the onset of skeletal muscle necrosis in dystrophin-deficient mdx mice. *Clinical Science*., *95*(1): 83-89.

McCord, J.M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress.Am. J. Med., 108(8): 652–9.

McLachlan, S.M. ;& Rapoport, B.(2007). "Thyroid peroxidase as an autoantigen", Thyroid : official journal of the American Thyroid Association., 17(10): 939-948.

Mishra , S.(2012). Endocrine system with special reference to thyroid gland . Odisha. Rev ., LXIX (5) : 54-60 .

Mitsiades,N.;Poulaki,V.;Tseleni-Balafouta,S.;Chrousos,G.P.;and Koutras,D.A.(2000).Fas ligand expression in thyroid follicular cells from patients with thionamid-treated Graves disease.Thyroid., 10:527-532.

Mizukami, Y.; Michigishi, T.; Kawato, M. and et al.(1992). Thyroiditis: thyroid function and histologic correlations in 601 case. Hum.pathol., 23 : 980 -1013 .

Mori, J.; Matsunaga ,T.; Takahashi, S.; Hasegawa, C .;and Saito, H.(2003). Inhibitory activity on lipid peroxidation of extracts from marine brown alga. Phytotherapy. Res., 17:549-551.

Moriyama,K.;Tagami.T.;Usui,T.;and etal.(2007).Antithyroid drugs inhibit thyroid hormone recepetor-mediated transcription.J.Clin.Endocrinol.Metab.,92:1066-1072.

Moro, C.O.; and Basile, G. (2000). Obesity and medicinal plants.Fitoterapia., 71:573-582.

MOORE, R., & MILLS, I. H. (1979). Serum T3 and T4 levels in patients with anorexia nervosa showing transient hyperthyroidism during weight gain. Clinical endocrinology, 10(5), 443-449.

Nagataki,S.(2008).The average of dietary iodine intake due to the ingestion of seaweeds is 1.2 mg/day in Japan .Thyroid .,18(6):667-668.

National Health and Medical Research Council (NHMRC), (2006) Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand including Recommended Dietary Intakes. Commonwealth of Australia, Canberra. Available at: http://www.nhmrc.gov.au/_files_nhmrc/file/publications/synopses/n35.pdf, Accessed 21 April 2010.

Nayak Bindu, M.D.;and Burman Kenneth,M.D.(2006).Thyrotoxicosis and Thyroid Storm. Endocrinol .Metab. Clin. N .Am.,35 : 663–86.

Nishiyama ,S.; Mikeda, T.; Okada, T.; Nakamura, K.; Kotani, T.; and Hishinuma.(2004). Transient hypothyroidism or persistent hyperthyrotropinemia in neonates born to mothers with excessive iodine intake. Thyroid.,14:1077–1083.

Nymes,A.;Jorde,R;.and Sudsfjord,J.(2006).Serum TSH is Positively associated with BMI.Inter.J.of obesity.,30:100-105.

O'Leary ,P.C.; Feddema, P.H.; Michelangeli, V.P.; Leedman, P.J.; Chew, G.T.;Knuiman, M.; Kaye, J.; and Walsh J.P.(2006). Investigations of thyroid hormones and antibodies based on a community health survey: the Busselton thyroid study. Clinical Endocrinology., 64: 97–104.

Ohno, M.; Zannini, M.; Dai, G.; Levy, O.; Carrasco, N.; and Di Lauro,R.(1997). Thyroid 7,Suppl,S112**.**

Ovesen ,L.; and Rasmussen, L.B.(2005). A population study of the association betweenthyroid autoantibodies inserumand abnormalities inthyroid function and structure. Clinical Endocrinology., 62: 713–720.

Parlato, R.; Rosica,A.; Rodriguez-Mallon,A.; Affuso,A.; Postiglione,M.P.; Arra,C.; Mansouri,A.; and et al. (2004). "An integrated regulatory network controlling survival and migration in thyroid organogenesis." Developmental biology .,**276**(2): 464-475.

Parle, J.; Franklyn, J.A.; Cross, K.W.; Jones, S.C.; and Sheppard, M.C.(1991). Prevalence and follow-up of abnormal thyrotrophin (TSH)

concentrations in the elderly in the United Kingdom. Clinical Endocrinology .,1991(34): 77–83.

Parys, S.; Kehraus ,S.; Krick, A.; Glomitza, K.W.; Germali, S.; Klimo, K.; Gerhauser, C .; and Kong ,G. M. (2010): phytochemistry., 71 (2-3): 221-9.

Patankar, M.S.; Oehninger ,l.; Barnett ,T.;Williams, R.L.; Clark, G.F. (1993): J .Biol .Chem., 268: 21770-21776 .

Patil, S.B.; Kodliwadmath, M.V.; and Kodliwadmat, M.V. (2006). Lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidants in normal pregnancy. J. Obstes. Gynecol. Indian., 56(5): 399-401.

Pearce, E. N. (2006). Diagnosis and management of thyrotoxicosis. Bmj, 332(7554), 1369.

Pestka, J.J.; Vines, L.L.; Bates, M.A.; He, K.; and Langohr, I.(2014). Comparative effects of n-3, n-6 and n-9 unsaturated fatty acid-rich diet consumption on lupus nephritis, autoantibody production and CD4+ T cell-related gene responses in the autoimmune NZBWF1 mouse. PLoS ONE., 9: e0100255.

Peterman , W.(2010). Bladder wrack side effets.University of Michigan.Health system ., www.livestrong.com /article . bladderwrach.*Pharmacy*,19Ed.,Vol.II,Easton,PA,Mack Publishing Co.,p.1987.

Pham-Huy, L. A. ; He, H. and Pham-Huy, C.(2008). Free radicals, antioxidants in disease and health.Int. J. Biomed. Sci. 4(2): 89-99.

Pielesz,A.; and Kulec, J.(2010). Electrophoretic identification of Fucoidan in Fucus vesiculosus L. Herba Polonica., 56 (1) : 28-34.

Pohl, V.; Roger, P.; Christophe, D.; Pattyn, G.; Vassart, G.; and Dumont, J. E. (1990) *J.* Cell. *Biol.*, 11(1):663-672.

Poncin ,S.; Van Eeckoudt, S.; Humblet, K.; Colin, I.M.; and Gérard, A.C. (2010) Oxidative stress: a required condition for thyroid cell proliferation. *Am. J. Pathol.*,176(3):1355-63.

Postiglione ,M.P.; Parlato, R.; Rodriguez-Mallon, A.; Rosica, A.; Mithbaokar, P.; Maresca ,M.; Marians ,R.C.; Davies, T.F.; Zannini, M.S.; De Felice, M.; and Di Lauro,R.(2002).Role of the thyroid-stimulating hormone receptor signaling in development and differentiation of the thyroid gland.Proc. Natl .Acad. Sci .USA., 99:15462-15467.

Pracheta, VeenaSh ,Ritu, P .;and SadhanaSh .(2011). "Preliminary Phytochemical Screening and in vitro Antioxidant Potential of Hydro-Ethanolic extract of Euphorbia neriifolia Linn". International Journal of PharmTech Research., 3(1): 124-132.

Pu, H.F.; Lin, C.W.; Lee, H.W.; and Wang, P.S.(2012). Effects of propylthiouracil on the production of aldosterone in rat zona glomerulosa cells. Adapt. Med.,4: 245–250.

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. Clin. Interv. Aging. 2(2): 219 – 236.

Ranjan,D.S.;Rao,B.R.M.; and Rao,E.S.(2015).Carbimazole-induced histomorphological changes simulating malignancy in toxic goiter.Thyoid Research and Practice.,12(1):29.

Rashid,K.H.(1984).Physiology of reproductive cycle of pown of loch Lomond,Caregomus Lavartus(L) (Euteleostei samonidas) in relation to the deposition and modilization of the storage products. Ph.D thesis Universityof st.Andrews.U.K.

Rastogi, M. V.; and LaFranchi,**S.H.** (2010). "Congenital hypothyroidism." Orphanet journal of rare diseases., **5**: 17.

Ravichand,D.M.;Sheshaymma,V.;Kumshwari,V.L.; and Chakardhar ,T.(2005).Tyroid hormones and antithyroid drugs .Cal.Med.J.,3:348-53.

Rezk, R. G.; and Abd, E. A. (2013). Fucus Vesiculosus Ameliorates Histological and Biochemical Changes in Thyroid Gland and Ovary of Irradiates Rats. *Arab. J. Nucl .Sci. and Appl*., *46*(3): 286-296.

Rodrigues ,C.; Paula ,J.; Jose,P.S.; and et al.(2005). European journal of Endocrinology ., 152:193-198 .

Rodriguez – Jasso , R.M ; Mussatto , S.I ; Pastrana , L ; Aguilar C.N .; and Teixeira , J.A.(2014). Chemical composition and antioxidant activity of sulpated polysaccharides extracted form Fucus Vesiculosus using different hydrothermal Processes ,chemical papers ., 68(2) : 203-209 .

Rossi, E.D.; Straccia, P.; Palumbo, M.; et al.(2013). Diagnostic and prognostic role of HBME-1, galectin-3, and b-catenin in poorly differentiated and anaplastic thyroid carcinomas. Appl Immunohistochem Mol Morphol.,21(3):237–241.

Roy, G.; and Mugesh G. (2008). Selenium analogues of antithyroid drugs–recent developments.Chem Biodevers .,5(3):414-439.

Ruf, J.; and Carayon P.(2006). Structural and functional aspects of thyroid peroxidase .Arch Biochem Biophys .,445:269-277.

Rupérez, P.; Ahrazem, O.; and Leal, J.A .(2002). Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. J .Agric. Food. Chem .,50:840-845.

Safran, M.; Farwell, A.P.; and Leonards, J.L.(1991). Evidence that type II 5-deiodinase is not a selenoprotein. J. Biol. Chem., 266: 13477-80.

Sakar,S.A.R.;Mahran,H.A.h.; and Nofal,A.E.(2011).Effect of selenium on carbimazole-induced testicular damage and oxidative stress in albino rats .Journal of Trace in Medicine and Biology. ,25(10):59-66.

Saladin, K.S. (1998). Anatomy Physiology, McGraw-Hill Company, New York,
pp. 607-623.

Saller, B.; Fink, H. ; and Mann, K. (1998). "Kinetics of acute and chronic iodine excess", Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association., 106(Suppl 3) : S34-8.

Salvi,M.;Girasole,G.;Pedrazzoni,M.;Passeri,M.;Giuliani,N.;Minelli,R.;Braverman,L.E.;and Roti,E.(1996).Increased serum concentrations of interleukin-6(IL-6)and soluble IL-6 receptor in patients with Graves disease.J. Clin. Endocrinol. Metab.,81:2976-2979.

Sandnes, L.; and Brochmann, H.(2000). Prevalence of thyroid disease, thyroid dysfunction and thyroid peroxidase antibodies in a large, unselected population. The Health Study of Nord-Trondelag (HUNT). European Journal of Endocrinology. , 143: 639–647.

Savin, S.; Dubravka, C.; Tijana, I.; and et al. (2008): Thyroid peroxidase and galectin-3 immunostaining in differentiated thyroid carcinoma with clinicopathologic correlation. Human Pathology., 39: 1656–63.

Scanlon,M.F.;and Toft,A.(1996).Regulation of thyrotropin secretion .In Werner and Ingbars The Thyroid :A Fundamental and Clinical Text(L.Braverman ,and R.D.Utiger,Eds.),pp.220-240.J.B.Lippincott,NewYork.

Schefler, W. C. (1980). Statistics for biological science.2nd edition. Addison ,Wesley, Pub. Co., London, Amesterdam . PP. 121.

Schmedes, A.; and Hølmer, G.(1989). A new thiobarbituric acid (TBA) method for determining free malondialdehyde (MDA) and hydroperoxides selectively as a measure of lipid peroxidation. J. Am. Oil Chem Soc., 66(6): 813-817.

Sener,G.;Kabasakal,I.;Atasoy,B.M.;Erzik,C.;Velioglu,O.A.;Cetinel,S.;Cotuk,G.;Gedik,N.; and Yegen,B.C.(2006).Propylthiouracil induced hypothyroidism protects ionizing radiation –induced multiple organ damage in rats .j. Endocrinol.,189(2):16-70.

Serrao , E.A.; Pearson, G. ; Kautsky, L.; and Brawley, S. H.(1996). Successful external fertilization in turbulent environments. Proceedings of the National Academy of Sciences ., 93: (11): 5286–90.

Sewerynek , J.; Wiktorska, J.; Nowak , D. and Lewinski, M.(2000)Methimazole protection against oxidative stress induced by hyperthyrodism in graves disease . Endocrine Regulations. 34:83-89.

Silva, C. M.; Serakides, R.; Oliveira, T. S.; Ocarino, N. M.; Nascimento, E. F.; and Nunes, V. A. (2004). Histomorfometria e histoquímica dos ovários, tubas e útero de ratas hipotireóideas em metaestro-diestro Histomorphometry and histochemistry of the ovaries, oviduct and uterus in hypothyroid rats in the metaestrus-diestrus. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*., *56*(5): 628-639.

Singh, P.P. ; Chandra, A. ; Mahdi, F. ; Ray, A. and Sharma, P.(2010). Reconvene and reconnect the antioxidant hypothesis in Human health and disease. Ind, J. Clin. Biochem. 25(3): 225-243.

Skibola,C.F.(2004).The effect of Fucus vesiculosus,an edible brown seaweed,upon menstrual cycle length and hormonal status in three pre-menopasual women :a case report.BMC Complement Altern Med., 4-8;4:10.

Song,J.Q.;Xu,Y.T.; and Zhang,H.K.(2000).Immunomodulation action of sulfate polysaccharide of Laminaria Japonica on pertitonneal macrophages of mice .Chin.J.Immunol.,16,70.

Sonnet,E.;Massart,C.;Gibassier,J.;Allannic,H.; and Maugendre,D.(1999).Longitudinal study of soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in sera of patients with Graves disease.J. Endocrinol. Invest .,22:430-435.

Stahl, W. and Sies, H. (1997). Antioxidant defense: Vitamins E and C and corotenoids. Diabetes, 46: S14-S18.

Stanely, P.; Prince, M.; Menon,V.; and Pari L. (1998). Hypoglycemic activity of syzigiumcumini seeds : effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. J. Ethno. Pharmacol., 61: 1 – 7.

Stanbury, I.B .; Eerman, A .E.; and Bourdou , P.C(1998) . Iodine – induced hyperthyroidism occurrence . and epidemiology . Thyroid ., 8 - 83 .

Stegenga , J. ; Bolton , J ; and Anderson R. J.(1997). Seaweeds of the South African West Coast. Contributions from the Bolus Herbarium. Rondebosch: Bolus Herbarium , University of Cape Town., 18 : 793-96 .

Steinmaus, C.; Miller, M.D.; and Howd, R. (2007).Impact of smoking and Thiocyanate on perchlorate and thyroid hormone associations in the 2001-2002 national health and nutrition examination survey. Environ. Health Perspect., 115: 1333-1338.

Stelios, F.; George, P. ; and Agathocles, T.(2007). The role of iodine in the evolution of thyroid disease in Greece: from endemic goiter to thyroid autoimmunity. Horm .,6 (1): 25-35.

Stockigt, J .(2003). Assessement of thyroid function: towards an integrated laboratory-clinical approach. Clin. Biochem. Rev., 24(4):109-22.

Streetman, D. D., & Khanderia, U. (2003). Diagnosis and treatment of Graves disease. Annals of Pharmacotherapy, 37(7-8), 1100-1109.

Suleyman, D., Mustafa,Y., Mchmet, K., Natan, A., Diveler, A. and Ahmet, A.(2003). Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. Turk J.Gastroenterol., 14 (1): 39-43.

Sugawara, M.; Sugawara ,Y.; and Wen, K .(1999). Methimazole and propylthiouracil increase cellular thyroid peroxidase activity and thyroid peroxidase mRNA in cultured porcine thyroid follicles. Thyroid., 9:513–518.

Sun, X.; Shan, Z.; and Teng ,W.(2014). Effects of increased iodine intake on thyroid disorders. Endocrinol Metab (Seoul)., 29(3):240–7.

Suzuki M, O'neal R.(1967). Effects of therapeutic and toxic doses of propylthiouracil in rats. JPET .,155(2):345-51.

Tajiri ,J.; Higashi ,K.; Morita, M.; Umeda, T.;and Sato, T.(1986). Studies of hypothyroidism in patients with high iodine intake. J. Clin. Endocrinol. Metab,.63:412–417. doi: 10.1210/jcem-63-2-412.

Tajiri, J., & Noguchi, S. (2005). Antithyroid drug-induced agranulocytosis: how has granulocyte colony-stimulating factor changed therapy?. Thyroid, 15(3), 292-297.

Takata,K.;Kubota,S.;Fukata,S.;Kudo,T.;Nishihara,E.;Ito,M.;Amino, N.; and Miyauchi,A.(2009).Methimazole-induced agranulocytosis in patients with GGraves disease is more frequent with an initial dose of 30 mg daily than with 15 mg daily.Thyroid.,19:559-563.

Teas,j.;Pino,S.;Critchley,A.; and Braverman,L.E.(2004).Varibility of iodine in common commercially available seaweeds .Thyroid .,14(10):836-841.

Thibodeau/Pattons:The Human Body in Health and Disease,3rd edition,2002.

Topliss, D.J.; and Eastman, C.J. (2004) Diagnosis and management of hyperthyroidism and hypothyroidism. The Medical Jornal of Australia.,180(4):188-193.

Tsatsoulis,A.;Vlachoyiannopoulos,P.G.;Dalekos,G.N.,Johnson,E.O.; and Moutsopoulos,H.M.(1995).Increased serum interleukin-1 beta during treatment of hyperthyroidism with antithyroid drugs .Eur. J. Clin Invest.,25:654-658.

Udgata,J.R.; and Naik,S.N.(2007).Soybean isoflavonesi Remdial nutraceuticals in India perspective.J.Sci.India.Res.,66:11-8.

Van der Deur,W.M. ; Marco,M.; Robin,P.P.; and Theo,J.V.(2010) . J. of Clinical Endocrinology and Metabolism ., DOI 10.

Vandernoot , I ; Sartelet , H ; Abu-Khudir , R . ; Chanoine , J.P.; and Deladoey J .(2012). Evidence for Calcitonin – Producing Cells in human Lingual thyroids . J.Clin . Endocrin Metab ., 97 (3): 1-6 .

Vanderpump, M.P.; Tunbridge, W.M.; French, J.M.; Appleton, D.; Bates, D.;Clark, F.; Grimley, E.J.; Hasan, D.M.; Rodgers, H.; and Tunbridge ,F.(1995). The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year followup of theWhickham Survey. Clinical Endocrinology**.**

Venditti,P.; Balestrieri,M.; Di Meo,S;, and DLeo,T.J.(1997).*Endocrinol* ., 155**:** 151-157,.14.

Visuthikosol, V.;Chowchuen, B.;Sukwanarat, Y.;Sriuratana, S.; and BoonPucknaving, V. (1995). Effect of Aloe Vera gel to healing of burn wound a clinical and histological study. J. Med. Assoc. Thai., 78: 403 – 409 .

Volpé, R. (2001). The Immunomodulatory Effects of Anti-thyroid Drugs are Mediated via Actions on Thyroid Cells, Affecting Thyrocyte-immunocyte Signalling A Review. Current Pharmaceutical Design, 7(6), 451-460.

Wada, L.; & King, J. C. (1986). Effect of low zinc intakes on basal metabolic rate, thyroid hormones and protein utilization in adult men. *The Journal of nutrition*., *116*(6): 1045-1053.

Walash,J.p.;Brwmner,A.P.;Bulsara,M.K.;OLeary,P.;Leedman,P.J.; Feddema,P.; and Michelangeli,V.(2005).Thyroid dysfunction and serum lipid :acommunity-based study.Clin .Endocrinol.,63(3):670-675.
Wan-Loy, C.; and Siew-Moi, P. (2016). Marine algae as a potential source for anti-obesity agents. *Marine drugs*., *14*(12): 222.

Wang, P. W.; Luo, S. F.; Huang, B. Y.; Lin, J. D.; & Huang, M. J. (1988). Deoressed natural Killar activity in Graves disease and during antithyroid medication. A Clinical endocrinology, 28(2), 205-214

Ward,R.J.(1970).The vitamins requirmenets of labrotory animals.In:Nutritional and Disease in Experimental Animals.Tavernor,W.D.(ed.)Bailliere.

Weetman,A.P.(1992).How antithyroid drugs works in Graves disease.Clin Endocrinol(Oxf).,37:317-318.

White, N.(2000). Fucusvesiculosus Bladder wrack. Marine Life Information Network: Biology and Sensitivity Key Information Sub-programme. Plymouth:Marine Biological Association of the United Kingdom.

Wood,J.; and Ellis,M. (1994).Lab0ratory histopathology :a complete references.Churchill Living Stone.pp., 321-322.

Yen, P.M. (2001) Physiological and molecular basis of thyroid hormone action.Physiol.Rev.,81(3):1097-1142.

Zaragoza, M.C.; Lopez, D.; Psaiz, M.; Poquet, M.; Perez, J.; Puig-Parellada, P.; Marmol ,F.; Simonetti, P.; Gardana, C.; Lerat ,Y.; Burtin, P.; Inisan, C.;ousseau, I.; Besnad, M.; and Mitjavila, M.T. (2008) . Toxicity and antioxidant activity in vitro and in vivo of two Fucus vesiculosus extracts.J. Agric. Food. Chem .,56(17):7773-7780.

Zarrilli, R.; Formisano ,S.; and Di Jeso ,B.(1990). Hormonal regulation of thyroid peroxidase in normal and transformed rat thyroid cells. Mol. Endocrinol., 4:39–45.

Zbucki Robert £ukasz.; Winnicka Maria Malgorzata.;Sawicki Boguslaw.; Szynaka Beata.; AndrzejewskaAnna.; and Puchalski Zbigniew.(2007). Alteration of parafollicular (C) cells activity in the experimental model of hypothyroidism in rats. folia histochemica et cytobiologica.,45(2):115-21.

Zhao, X.; Xue, C. H.; Li, Z. J.; Cai ,Y. P .; and Zi, H .T.(2004) : J .Appl. Phycol., 16:111-115.

Zoller,R.T.; and Rovet,J.(2007).Timing of thyroid hormone action in the developing brain clinical observation and experimental findings.

Summary

The study is conducted to recognize the preventive role and the side effects of seaweed (Fucus vesiculosus), and its role to decrease the side effects of antithyroidal medication (Propylthiouracil) in the function and structure of thyroid gland. This effect is evaluated depending on the parameters included in this study.

The study involved (60) mature males of laboratory white rats used,Whites aged(3-4)monthes and weight (200-250) gm. They are

divided into five groups in addition to control group. All groups are equally divided; ten rats in each. The control group drank Normal saline: the first group (G1): A dose of seaweed (Fucus vesiculosus) of (35 mg./kg) concentration of the body weight is given, the second group (G2): A dose of antithyroidal (Propylthiouracil) (PTU) of (15 mg./kg/) concentration of the body weight is given, third group: (G3): they were given seaweed of (35 mg./kg) concentration of the body weight for three weeks then they were given (PTU) of (15 mg./kg) concentration of the body weight for the rest of three weeks, the fourth group (G4): They were given (PTU) of (15 mg./kg) concentration of the body weight for three weeks then seaweed of (35 mg./kg) concentration of the body weight for the rest of three weeks, the fifth group (G5): they were given seaweed in combined with (PTU) conjunctions and the same concentrations. Dosing continues for 42 days.

In the end of the experiment, the rats were anaesthetized using (chloroform) taking into consideration body weight for each rat befor and after procedure experiment. Also, blood samples were taken to make hormone tests including thyroid hormones (T3, T4) in addition to thyroid-stimulating hormone (TSH) by Eliza techniqu. Concentration (MDA) were measured. Thyroid gland and pituitary gland are removed then thyroid gland weight is taken and samples are taken to study them histologically in addition to molecular study to evaluate (mRNA) of (TSH, TPO) of genes using qRT-PCR qualitative and immunohistochemical technique.

The study results showed that dosing seaweed leads to a significant decrease of ($P<0.05$) in body weight and thyroid gland weight while there is decrease in body weight but there is an increase in the weight of thyroid gland in the group of rats treated with(Propylthiouracil). Also,

there is a significant increase($P<0.05$) in the in body weight and thyroid gland in (G3,G4) groups. But there is no significant difference in the body weight and gland weight in group (G5).

The MDA measures showed that there is a significant increase ($P<0.05$) in the group treated with the seaweed(G1) and the group treated with PTU (G2) and (G4) while (G3 ,G5) groups no significant difference in the MDA level. Moreover, the results of hormone tests showed that there is an increase ($P<0.05$) in the level of T3 and T4 hormones, decrease in TSH hormone for the groups treated with seaweed. There is a decrease in the thyroid gland hormones and increase in THS in the group treated with (Propylthiouracil) and G3. But G4 showed an increase in the level of three hormones. G5 group showed no significant in T3 hormone and significant decrease($P<0.05$) in T4 and TSH hormones.

Thyroid gland histological examination taken from rats in G1 shows that there is no histological malformations with good response to seaweed, which causes follicles growth of different sizes. For the rest of treatments (G2, G3, G4, G5), there are morbid in the thyroid gland tissue as malformations and small size of follicles, increase of epithelial cells and low of colloid in addition to hemorrhage and necrosis.

The results of molecular study showed that there is an increase in the level of TSH in the pituitary gland tissues of G1 by ten times (10.458) when compared to control group (1.061). There is a significant increase in gene expression in G3 (2.926) and G4 (4.569). But gene expression TSH decreased in G2 while there is no significant difference in G5 (1.269). For gene expression (TPO) in thyroid gland tissues, there is a decrease in gene expression in G1 (0.882) in comparison to the control

group (1.056). There is a decrease in gene expression TPO in (G2, G3, G4) (8.198), (3.253) and (5.978) respectively. Also, there is an increase of gene expression in G5 by (1.704) when compared to the control group.

The immunohistochemical study of TPO enzyme in thyroid gland tissues shows that there is a immunological positive reaction of the enzyme in thyroid gland tissues in G1, which means that immunocytochemistry strength was concentrated on the tops of follicle cells. Immune reaction of TPO enzyme of the rats in G2 and G5 was negative; there is no expression of the enzyme on the tops of thyroid gland follicles. Also, there are clear changes the follicles size and nuclei have several forms with grooves. Other treatments (G3 and G4), there is decrease in immune reaction for TPO enzyme in thyroid gland tissues.

It is concluded from the study that dosing rats with seaweed (Fucus vesiculosus) of (35 mg./kg) concentration of body weight in G1and G5 groups has a positive effect on to improve the performance and composition of thyroid gland on the contrary to the action of (PTU) of (15 mg./ kg) concentration of body weight which has negative effect on the function and composition of thyroid gland

Role of Seaweeds(*Fucus vesciculosus*) in thyroid gland structure and function of propylthiouracil treated male rats

Athesis

Submitted to the Council of the Collage of Education University of Al-Qadisiya In Partial Fulfillment of the Requirements For The Degree of Phylosophy Doctor in Biology/Zoology

By

Rasha Muzahim Hatem

Histology and Anatomy 2012

Supervisor by

Prof.Dr.Hussein Khudair Aubaies AL-Mayali

1440 A.H **2019 A.D**