Iraqi Journal of Science

دراسة مقارنة لتأثير مادة بين إبيضاض-6 وعقار الكاربيمازول في وظيفة الغدة الدرقية في الجرذ

[١] شيماء رزاق ابراهيم * و [٢]خالد ابراهيم اللهيبي و[٣] صباح ناصر العلوجي
[١] قسم التقنيات الاحيائية، كلية العلوم، جامعة بغداد، [٢] مركز الغدد الصم و السكري، وزارة الصحة، [٣] قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بغداد

الخلاصة

نظراً للدور المهم الذي يؤديه العامل الالتهابي مادة بين إبيضاض-6 (IL-6) في العمليات الأيضية المختلفة في الجسم ؛ لذلك وجدنا إنه من الضروري دراسة تأثيره في وظيفة الغدة الدرقية و فعاليات أخرى و مقارنته مع تأثير عقار الكاربيمازول. وقد تم ذلك عن طريق حقن ثلاث مجاميع من الجرذان ، الأولى بمادة بين إبيضاض-6 ، و الثانية بعقار الكاربيمازول ، و الثالثة بالمحلول الملحي الفسيولوجي بوصفها سيطرة. بينت هذه التجربة إن كل من مادة بين إبيضاض-6 و الكاربيمازول يسببان إنخفاض مستويات هرمونات الدرقية (T4,T3) في مصل الدم عند حقنها في الحيوانات ، كما و يسببان إنخفاضاً معنوياً في وزن الجسم في حين لم يكن لهما تأثير في وزن الكبد. و لوحظ إنخفاض مستوى الكلوكوز في الدم لدى الحيوانات المحقونة بعقار الكاربيمازول ، بينما لم يحدث تغير في مستواه بتأثير مادة بين إبيضاض-6.أما بالنسبة لأنواع الدهون فقد لوحظ إرتفاع معنوي لمستوى كل من Triglyceride(T.G) و Very low density lipoprotein cholesterol (VLDL-C) في مصل دم الحيوانات المعاملة بـ مادة بين إبيضاض-6 ، في حين لم تتأثر مستويات الدهون في الحيوانات المعاملة بالكاربيمازول. وأدى حقن الحيوانات بمادة بين إبيضاض-6 و الكاربيمازول أيضاً إلى زيادة موت الخلايا اللمفية المبرمج في الدم المحيطي .

Comparison Study for the Effect of Interleukin -6 and Carbimazole Drug in Rat Thyroid Gland Functions

Shaima Razaq[1], Khalid I.Al-Lehibi[2] , Sabah N.Alwachi[3]
[1]Department of Biotechnology. College of Science, University of Baghdad, [2] Diabetic & Endocrine gland center, Ministry of Health; [3]Department of Biology, College of Science, University of Baghdad, Baghdad, Iraq.

Abstract

Since the inflammatory factor IL-6 known by its critical role in different metabolic reactions in the body, therefore, this study was designed to detect it is effect in the thyroid gland function by injecting three groups of rats, the first with IL-6 , the second with carbimazole (antithyroid drug) and the third with normal saline (Control).The experiment included three groups of rat; each was injected with recombinant human interleukin-6 (rhIL-6), Carbimazole, or normal saline (Control). The results of experiments showed that both IL-6 and carbimazole caused a decrease in the levels of thyroid hormones (T3 and T4) in animal sera, and a significant decrease in animal body weight, but had no effect on the liver weight.There was a significant decrease in glucose level in the animals injected with carbimazole, while in the IL-6 treated animals there was no change in glucose level. There was a significant increase in serum level of triglyceride and very low density lipoprotein cholesterol in the animals treated with IL-6, while in the animals treated with carbimazole, there was no such change. Additionally, injection of the animals with IL-6 or carbimazole caused a significant increase in lymphocyte apoptosis of peripheral blood.

Keywords: Interleukin -6, Thyroid gland, Carbimazol, lipids.

*Email: rsc_res2012@yahoo.com

المقدمة

مادة بين إبيضاض-6 هو ببتيد متعدد يبلغ وزنه الجزيئي 22-27 كيلو دالتون، يفرز بوساطة الخلايا الوحيدة المفعلة Activated monocytes، والبلاعم الكبيرة Macrophages ، والأورمات الليفية Fibroblasts ،والخلايا الدهنية Adipocytes ، والخلايا الاندوثيلية Endothelial cells إستجابةً لحوافز متنوعة منها: TNF-α و IL-1β ، والذيفانات البكتيرية ، والتمارين الرياضية ، والكبت التأكسدي Oxidative stress .

تدعم الدراسات الحديثة الدور الأساس الذي يؤديه IL-6 في العمليات الأيضية Metabolism في الجسم والسمنة Obesity ، كما برز دوره في مجال الغدد الصم والجهاز العصبي والعضلي والمناعي ؛ لذلك يعد IL-6 من الحركيات الخلوية المتعددة الأدوار الوظيفية والمرضية Multipathophysiological role [1] . فعلى سبيل المثال وفيما يخص دوره في أيض الدهون ،وجد أن فعّالية مادة بين إبيضاض-6 ترتبط بإرتفاع مستوى الأحماض الشحمية الحرة Free fatty acids في البلازما [2] في الانسان ،ووجد أيضاً إنه يثبط فعّالية الأنزيم المحلل للدهون في الخلايا الدهنية Adipose lipoprotein lipase [3] . أما عن تأثير IL-6 في الهرمونات والغدد فقد لوحظ أن الإرتفاع المستمر في مستوى IL-6 يسبب إرتفاع مستوى بعض الهرمونات مثل Epinephrine و Glucagon و Cortisol [2].

يرتبط IL-6 بشدة بالإستجابة المناعية ؛ إذ يعمل على حث تمايز و إنقسام خلايا T و B اللمفية و إنتاج الكلوبيولينات المناعية بوساطة خلايا B [4] . وقد أشارت الدراسات كذلك إلى دوره في حث عملية إنقسام الخلايا حيث وجد إنه يعمل على تثبيط عملية الموت المبرمج أو الذويّ الخلوي Cellular apoptosis عن طريق كبت فعّالية جزيئة Transforming growth factor-β (TGF- β) المسؤولة عن تنشيط أنزيم Caspase-3 وبالنتيجة يثبط ذويّ خلايا الكبد و الحفاظ على حيويتها [5] . لوحظت التغيرات المظهرية المرافقة لعملية الذويّ الخلوي في خلايا الغدة الدرقية الطبيعية ، و تزداد التغيرات في نسيج الغدة في حالة مرض إلتهاب الدرقية المناعي الذاتي Autoimmune Thyroiditis . وعملية الذويّ الخلوي هي إحدى الآليات التي تعمل بوساطتها الخلايا اللمفية التائية السامة Cytotoxic T lymphocytes على تدمير الخلايا الدرقية Thyrocytes في حالة مرض إلتهاب الدرقية Thyroiditis. تهدف تجارب البحث إلى دراسة تأثير مادة بين إبيضاض–6 في وظيفة الغدّة الدرقيّة والمضاعفات والإختلالات الأخرى المرافقة لها ، وقد تم ذلك عن طريق حقن مجموعة من الحيوانات بمادة بين إبيضاض–6 المركب للجرذان (Rat rIL- 6) وقد تم مقارنة التأثيرات التي يحدثها IL-6 مع التأثيرات التي يمكن أن يحدثها عقار الكاربيمازول وهو من العقاقير المضادة للدرقية Antithyroid drug والمستخدمة في علاج فرط الدرقيّة .و كذلك تستخدم في التجارب المختبرية لحث حالة قصور الدرقيّة لدى حيوانات التجارب .

المواد و طرائق العمل

حيوانات التجربة The Experimental animals

استخدم في هذه الدراسة 15 من الجرذ البيض البالغة 3 أشهر من العمر، تراوحت أوزانها بين 200-300 غم ، قسمت على 3 مجاميع إحتوت كل مجموعة على 5 حيوانات. وكل مجموعة وضعت في قفص مفرد وزودت بالماء والعليقة بشكل مستمر وبكميات كافية يومياً لحين إنتهاء التجارب.

تصميم التجربة Experimental Design

قسمت الحيوانات إلى 3 مجاميع ، كل مجموعة عوملت بشكل مختلف وتضمنت المجاميع ما يأتي :

المجموعة الأولى : أعطيت محلول مادة بين إبيضاض-6 المحضر عن طريق الحقن تحت الجلد Subcutaneously وبجرعة مقدارها 2 مايكروغرام/ كيلوغرام من وزن الجسم ، وبمقدار جرعة واحدة يومياً لمدة 7 أيام ومقدار الجرعة الواحدة 0.1 مليلتر تحتوي على 0.4 مايكروغرام من مادة بين إبيضاض-6.تم تحضير المحلول بإذابة 20 مايكروغرام من الـ rIL-6 في 5 مليلتر من المحلول الملحي الفسيولوجي المعقم وأضيف للمزيج 0.1 مليلتر من 2 % من مصل الجرذ (غير الفعال Unactivated) [6] .

المجموعة الثانية : أعطيت محلول الكاربيمازول المحضر عن طريق الحقن تحت الجلد وبجرعة مقدارها 6 مايكروغرام/ كيلوغرام من وزن الجسم ، وبمقدار جرعة واحدة يومياً لمدة 20 يوماً ، مقدار الجرعة الواحدة 0.1 مليلتر تحتوي على 12 مليغرام من مادة الكاربيمازول ، تم تحضير المحلول بطحن حبوب الكاربيمازول و وزن ما مقداره 168 مليغرام وأذيب في 14 مليلتر من المحلول الملحي الفسيولوجي المعقم [7] .

المجموعة الثالثة : وهي مجموعة السيطرة وأعطيت المحلول الملحي الفسيولوجي عن طريق الحقن تحت الجلد ولمدة 7 أيام وبواقع جرعة واحدة يومياً. حضر المحلول بإذابة 0.9 غم من

NaCl النقي بـ 100 مليلتر من الماء المقطر Distilled water ثم عقم بالموصدة.

جمع نماذج الدم

جمعت نماذج الدم من حيوانات التجربة (بعد انتهاء مدة المعاملة) من القلب مباشرة بطريقة طعنة القلب (Cardiac puncture) ، قسم الدم على قسمين القسم الأول وضع في أنابيب مانعة للتخثر لإجراء حساب النسبة المئوية للخلايا اللمفية الذاوية، والقسم الثاني ترك ليتخثر ، حيث فصل المصل عن الخثرة بجهاز الطرد المركزي وبسرعة 500 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق و حفظت بدرجة حرارة −20 مْ لحين الاستعمال.

المعايير المدروسة

بعد إنهاء مدة المعاملة ، وزنت حيوانات التجربة ، ثم شُرِحت ، وتم استئصال الكبد Liver وسجل وزنه نسبة إلى 100 غم من وزن الجسم. تضمنت الإختبارات المصلية: قياس مستوى الهرمونات T4 , T3 , TSH ، وقياس مستوى الكلوكوز في مصل الدم و قياس نمط الدهون. كذلك تم حساب النسبة المئوية للخلايا اللمفية الذاوية.

قياس نسبة الخلايا اللمفية الذاوية Apoptotic lymphocyte cell:

المحاليل و الصبغات المستخدمة:

1-محلول هانك الملحي المتوازن Hank's balanced Salts Solution (HBSS) :المكون من: Cu-chloride/ 0.139g، Mg-sulfate/0.098g، KCl/0.4g ، NaCl/8g، K-phosphate monobasic/0.06 ، Na-phosphate dibasic/0.048g، D-Glucose/1g، Phenol red/0.011g، Distilled water/400ml. وزنت المكونات وأضيف إليها نصف كمية الماء ثم مزجت جيداً وأكمل الحجم إلى 1000 مليلتر ، عدل الرقم الهيدروجيني إلى المتعادل (pH = 7.4) ، عقم المحلول باستخدام ورق الترشيح الدقيق Millipore filter بحجم 0.45 مايكروميتر.

2- محلول الداريء الملحي Phosphate buffer saline (PBS) : المكون من : NaCl/8g، KCl/0.2g، KH_2PO_4 /0.2g، Na_2HO_4P/1.15g، Distilled Water/1000ml. وزنت المكونات ثم اضيف إليها الماء ومزجت جيداً وعقم بالموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 م ولمدة 15 دقيقة.

3- محلول ملون الاكردين البرتقالي Acridine orange solution (AO) :حضر بإضافة 100 مايكروغرام من مسحوق الملون إلى مليلترمن الـ PBS ومزج بشكل جيد باستخدام المازج المغناطيسي Magnetic Stirrer لمدة ساعة وحفظ في قنينة زجاجية غامقة اللون.

4- محلول ملون بروميد الاثيديوم Ethidium bromide solution (EB) :حضرت بإضافة 100 مايكروغرام من مسحوق الملون إلى 1 مليلتر من الـ PBS ، مزجت وحفظت في قنينة زجاجية غامقة اللون.

5- محلول ملون الـ (AO-EB) :حضر بمزج كل من الصبغتين 3 و 4 بنسبة 1:1 وحفظت في قنينة زجاجية غامقة اللون.

طريقة العمل Procedure

A – فصل الخلايا اللمفيةSeparation of lymphocyte:

الخطوة الأولى هو فصل الخلايا اللمفية بإتباع ما يأتي [8] :

1- جمع الدم من الحيوانات بطعنة القلب بمقدار 2-3 مليلتر في أنابيب تحتوي مادة الهيبارين المانعة للتخثر.

2- حضر أنبوبين يحتوي كل منهما على 3 مليلترمن مادة الفصل (Lymphprep).

3- أضيف 1 مليلترمن محلول التخفيف(Hank's solution) إلى الدم ومزج جيداً باستخدام ماصة باستور.

4- سحب المزيج ووزع على الأنبوبين الحاويين على مادة الفصل ، وذلك بتمرير الدم على الجدران برفق إلى أن تتكون طبقتان العليا تمثل الدم والسفلى تمثل سائل الفصل.

5- نبذت بجهاز الطرد المركزي المبردCooled centrifuge وبسرعة 3000 دورة/ دقيقة ولمدة 2-3 دقيقة.

6- بعد انتهاء النبذ لوحظ تكون 3 طبقات ، السفلى تمثل كريات الدم ، و الوسطى رقيقة جداً وتمثل الخلايا اللمفية ، والعليا تمثل سائل الفصل.

7- سحبت الخلايا اللمفية باستخدام ماصة باستور ووضعت في أنبوب نظيف حيث تم غسلها مرتين باستخدام الداريء (Hank's solution) بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة ولمدة (2-3) دقيقة في كل مرة لأجل التخلص من الصفيحات وباقي مكونات الدم ، وأخيرا حضر عالق الخلايا بإضافة 1 مل من الداريء (PBS) إلى الخلايا المترسبة.

B- اختبار قياس ذوي الخلايا Apoptosis test :

أستعملت طريقتان لقياس ذوي الخلايا اللمفية :

الطريقة الأولى [9] : وهي الطريقة التقليدية Classical البسيطة و تعتمد على ملاحظة التغيرات في الصفات المظهرية للخلايا الذاوية Apoptotic cells ، وتتضمن إعادة ترسيب

الخلايا اللمفية ومن ثم تعليقها بـ 25 مايكرولترمن مزيج الملون (AO+EB) المحضر مسبقاً ويراعى العمل في مكان مظلم ، ثم سحب 10 مايكرولتر من العالق ويفحص تحت العدسة الزيتية (100 X) للمجهر الفلورسيني حيث تصنف الخلايا اللمفية إلى 3 أصناف إعتماداً على تأثير الملون وتشمل :

1-الخلايا اللمفية الحية Live cells (L) : وهي الخلايا التي تعطي تألقاً باللون الأخضر وتمتاز بمادة كروماتينية متجانسة.

2-الخلايا اللمفية الذاوية Apoptotic cells (A) : وهي الخلايا التي تعطي تألقاً باللون الأخضر ، وتمتاز بتكثف المادة النووية الكروماتينية على المحيط الداخلي للنواة.

3-الخلايا اللمفية المتنخرة Necrotic cells (N) : وهي الخلايا التي تعطي تألقاً باللون الأحمر وتمتاز بشكل موحد واصطباغ متجانس .

الطريقة الثانية : تضمنت استخدام العدة التشخيصية المجهزة من شركة Biosource Europe S.A و المكونة من :

Mito Capture reagent	1 vial(100 µl)
Incubation buffer	2 vial(100 ml)

وأتبعت التعليمات المرافقة مع العدد التشخيصية و تم الفحص تحت المجهر الفلورسيني Fluorescent Microscope ، إذ تلاحظ الخلايا الصحية Healthy cells الحاوية على المايتوكوندريا المتألقة باللون الأحمر و الخلايا الذاوية Apoptotic cells المتألقة باللون الأخضر.

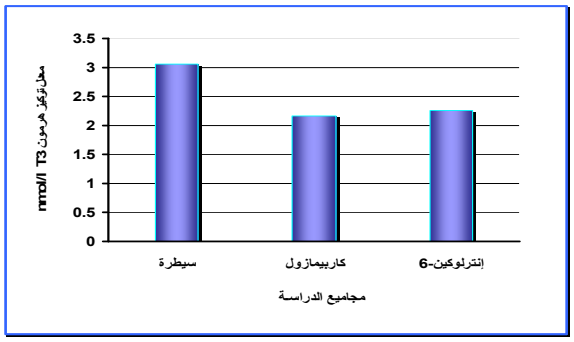
التحليل الإحصائي (Statistical analysis) :

تم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام إختبار تحليل التباين Analysis of Variance test (ANOVA) متبوعاً بالاختبار F-test والاختبار Kruskal wallis test ، وتم اختبار المعنوية للمعادلات ومعرفة معامل الارتباط Person Correlation Coefficient (r) وتم ذلك باستخدام البرنامج Statistical Package of Social Science (SPSS) .[10]

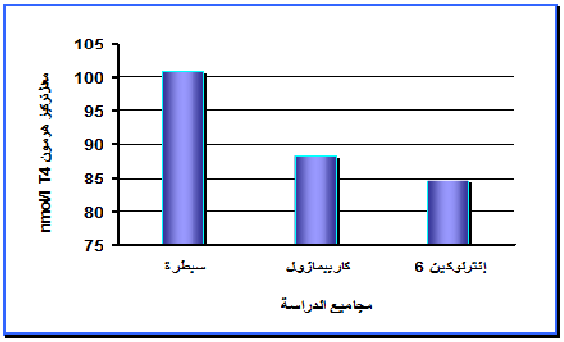
النتائج و المناقشة

هرمونات الغدّة الدرقيّة (TSH, T4, T3)

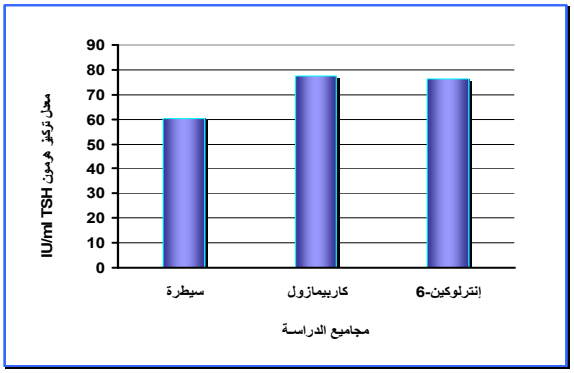
لوحظ بشكل عام إنخفاض مستوى هرمون T3 في مصل حيوانات مجموعتي الكاربيمازول و مادة بين إيبيضاض-6 ؛ إذ بلغ 2.16 ±0.51 نانومول/ لتر و 2.26 ±0.59 نانومول/ لترعلى التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة التي بلغ فيها مستوى الهرمون 3.06 ±0.5 نانومول/ لتر (الشكل 1) ، وينطبق الحال على مستوى هرمون T4 ، إذ لوحظ إنخفاض مستواه في الحيوانات المحقونة بالكاربيمازول ومادة بين إيبيضاض-6 بالمقارنة مع مستواه في مصل حيوانات السيطرة . وقد بلغ مستوى T4 لدى مجموعة السيطرة 100.8±7.91 نانومول/ لتر وكان أعلى من مستواه لدى الكاربيمازول و مادة بين إيبيضاض-6 ، إذ بلغ 88.2 ±4.36 نانومول/ لتر و 84.5 ±53.77 نانومول/ لتر على التوالي (الشكل 2) . أما مستوى هرمون TSH في الحيوانات المحقونة بالكاربيمازول و مادة بين إيبيضاض-6 فقد بلغ 77.6 ±6.66 مايكرو وحدة دولية/ مليلتر و76.33 ±9.6 مايكرو وحدة دولية/ مليلتر على التوالي وقد كان أعلى من مستواه لدى مجموعة السيطرة 60.3 ±11.5 مايكرو وحدة دولية/ مليلتر، (الشكل 3).



الشكل 1 - توزيع معدل تركيز هرمون (T3) (نانومول/لتر) في مصول الجرذان حسب مجاميع الدراسة.



الشكل 2 - توزيع معدل تركيز هرمون (T4) (نانومول/لتر) في مصول الجرذان حسب مجاميع الدراسة.



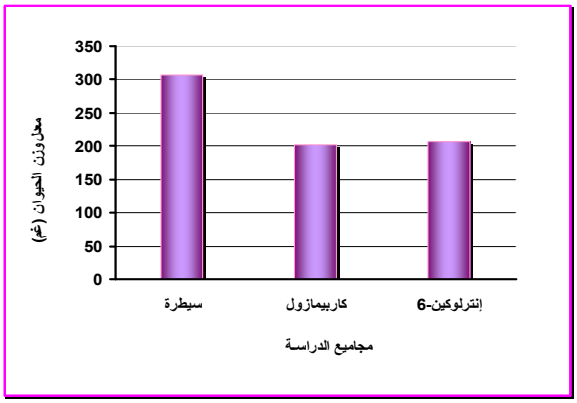
الشكل 3 - توزيع معدل تركيز هرمون (TSH) (مايكرو وحدة دولية/ مليلتر) في مصول الجرذان حسب مجاميع الدراسة.

بينت التحليلات الإحصائية عدم وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في مستوى هرمونات T3وT4 بين المجاميع الثلاث الذي قد يعزى الى قِصَرْ مدة الحقن أو عدم كفاية الجرعات المستخدمة وعدم قدرتها على إحداث تأثيرات واضحة . أظهرت بعض الدراسات أن المواد المضادة للدرقية مثل: الكاربيمازول ، والميثيمازول ، والبروبيل ثايويوراسيل (PTU) تؤدي الى خفض مستويات هرمونات الدرقيّة (T3وT4) في المصل [11]. كما لاحظت هذا التأثير نفسه الشيبي [12]. تتداخل العقاقير المضادة للدرقية مع خطوات تخليق هرموني (T3وT4) مؤدية الى هبوط تراكيزها في مصل الدم ، كما وتقلل من إرتباطها مع البروتينات الناقلة للهرمونات (TBG و TBPA) [13]. فقد وجد أن عقار الكاربيمازول يثبط عملية تحول T4 الى الشكل الفعّال له داخل الخلايا وهو T3 [14]. كما أن لهرمونات الغدة الدرقيّة دوراً أساساً في زيادة معدل الأيض في الجسم ، فعند حصول إنخفاض في مستوياتها نتيجة تناول مادة الكاربيمازول أو مادة PTU فإن ذلك يؤدي الى حدوث هبوط نسبي في معدل الأيض الأساس قد يصل الى النصف تقريباً [15].

أما في تجربة الحيوانات المحقونة بمادة بين إيبضاض-6 فقد لوحظ أن له تأثيراً في مستوى هرموني T3و T4 ؛ إذ حصل إنخفاض في مستواهما بالمقارنة مع مجموعة السيطرة . وتتوافق هذه النتيجة مع الدراسة التي أجراها Bartalena و جماعته [16]، إذ لاحظوا إنخفاض في مستوى هرمون T3 بعد 48 ساعة من حقن الجرذان بجرعة مقدارها 2.5 مايكروغرام من rIL-6 ، وكذلك إنخفض مستوى هرمون T4 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. كما ولوحظ أن تعريض جسم الإنسان لمستوى مرتفع من IL-6 لمدة قصيرة لا يؤدي الى حدوث تغيرات في تراكيز هرمونات T4 و fT4 ولا يؤثر في معامل إرتباطها بالبروتينات الناقلة. أما عند تعريض الجسم لمستوى مرتفع من IL-6 لمدة طويلة فقد لوحظ حدوث إنخفاض في تركيز هرمون rT3 و fT4 ، بينما لم يتغير تركيز هرمون TSH عن مستواه الطبيعي [6] .

وزن الجسم Body Weight

لوحظ إنخفاض معدل وزن جسم الحيوانات المحقونة بالكاربيمازول و IL-6 والبالغ 201.46 ±25.81 غم و 206.3 ±34.5 غم على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة التي بلغ فيها معدل وزن الجسم 307.33 ±2.51 غم . وقد أظهر التحليل الإحصائي وجود فرق معنوي عالٍ ($P<0.01$) بين كل من مجموعتي الكاربيمازول و مادة بين إيبضاض-6 وبالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، في حين لا يوجد فرق معنوي عند المقارنة بين معدل وزن الجسم لحيوانات المجموعة الثانية والثالثة ، (الشكل 4) .



الشكل 4 - توزيع معدل وزن الحيوان حسب مجاميع الدراسة.

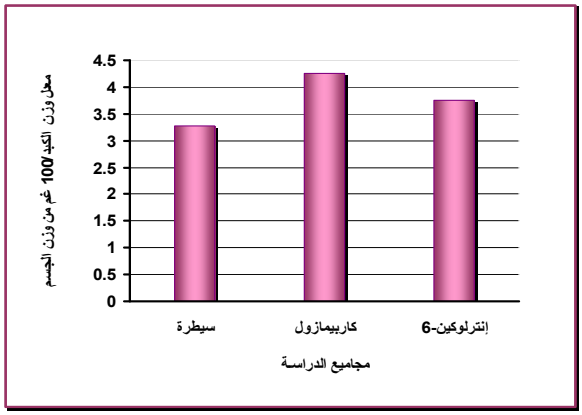
أشارت النعيمي [17] الى حصول إنخفاض غير معنوي في معدل وزن الحيوانات التي أعطيت مادة الكاربيمازول ، وقد أعزت ذلك إلى تأثير هبوط هرمونات الدرقيّة في معدل الأيض الأساس . في حين ذكر محي الدين وجماعته [18] إلى إن إنخفاض مستوى هرمونات T3 و T4 في الجسم يؤدي الى إنخفاض إفراز هرمون النمو (GH). إذ إن لهرمونات الدرقيّة دوراً معززاً في إفراز هذا الهرمون وبالنتيجة تأثيره في أنسجة الجسم وبناءها . وقد أكدت بحوث عديدة حصول إنخفاض في وزن الجسم عند إستعمال مواد مثبطة للغدة الدرقيّة منها دراسة أجريت على ذكور الجرذان البالغة أستخدمت فيها مادة PTU ، وقد سببّت هذه المادة إنخفاضاً في معدل وزن الجسم [19] في حين أشارت دراسة الشيبي [12] الى حصول إرتفاع معنوي في وزن جسم الحيوانات المعاملة بمادة الكاربيمازول ، وما يؤخذ بنظر الاعتبار الى أن النعيمي [17] قامت بتجريع حيوانات التجربة بجرعة مقدارها 0.1 ملغم / كيلوغرام ؛ أي ما يعادل 100 مايكروغرام من مادة الكاربيمازول يومياً ولمدة إسبوعين، بينما قامت الشيبي [12] بحقن الحيوانات بجرعة مقدارها 600 مايكروغرام/كيلوغرام من وزن الجسم من مادة الكاربيمازول كل 48 ساعة ولمدة 4 أسابيع ؛ هذا ما قد يفسر الإختلاف في النتائج ، إذ إن لحجم الجرعة ومدة العلاج دوراً في شدة التأثير . وقد لوحظ أيضاً أن مرضى فرط الدرقيّة يكتسبون وزناً إضافياً بعد مدة من العلاج بالكاربيمازول نتيجة لإنخفاض تراكيز هرموني T3 و T4 ومعدل الأيض [20].

وجد أن الفئران التي ينقصها مادة بين إبيضاض-6 تصاب بالسمنة وأن معاملة هذه الفئران بـ IL-6 لمدة 18 يوماً يؤدي الى حصول إنخفاض معنوي في أوزانها [21] . وربما يعود السبب في ذلك الى كون IL-6 من العوامل التي تؤثر في أيض الدهون ؛ لذلك فكلما زاد تركيزه كلما زادت نسبة الأحماض الشحمية الحرة في مصل الدم [22] ، فضلاً عن فقدان واضح في النسيج الدهني دون التأثير في محتواه المائي [23]. وقد ذكرت بعض البحوث أن تعريض أجسام الأشخاص الأصحاء لمادة بين إبيضاض-6 يسبب تنشيط عمليات تحلل الدهون وزيادة مستوى الأحماض الشحمية وعمليات أكسدة الدهون [24] . من ناحية أخرى أشار Janssen و جماعته [25] الى أن IL-6 يسبب ضموراً في عضلات الجسم وعضلات التنفس حتى بعد مدة قصيرة من التعرض له مؤديا الى بطء في جريان الدم وإختلال في وظيفة عضلات القلب.

نسبة وزن الكبد بالغرام لكل 100غرام من وزن الجسم (Liver wt.per 100 g of body weight)

أظهرت الحيوانات إرتفاعاً في نسبة وزن الكبد لكل 100 غم من وزن الجسم في كل من مجموعتي الكاربيمازول ومادة بين إبيضاض–6 عن النسبة في مجموعة السيطرة ، وقد وجد إحصائياً عدم وجود فرق معنوي في نسبة وزن الكبد ما بين مجموعتي الكاربيمازول ومادة بين إبيضاض–6 والبالغة ±0.88 4.26 و3.75 ±1.28 على التوالي ومجموعة السيطرة التي بلغت النسبة فيها 3.27 ±0.22 ، (الشكل 5).

أن الإنخفاض الحاصل في مستوى هرمونات الدرقيّة نتيجة حقن الحيونات بمادة الكاربيمازول قد يكون السبب الذي أدّى الى زيادة نسبة وزن الكبد. وقد جاءت هذه النتيجة متوافقة مع نتائج كل من [١٧ و ١٢] ، التي أشارت الى أن إنخفاض تركيز الهرمونات T3 و T4 يؤدي الى حدوث زيادة في وزن الكبد ؛ وقد يعود ذلك الى تضخم خلايا الكبد في حالة قصور الدرقيّة نتيجة تجمع الدهون داخلها بسبب إنخفاض الإستجابة لعملية تحلل الدهون [26] . كما عزى الحبيب [27] هذه الزيادة في وزن الكبد الى إن الإنخفاض الحاصل في إستهلاك الكلوكوز بسبب إنخفاض هرمونات الدرقيّة مما يؤدي الى زيادة وزن الكبد نتيجة تجمع الكلايكوجين فيه.



الشكل 5 - توزيع معدل وزن الكبد لكل 100 غرام من وزن الجسم حسب مجاميع الدراسة.

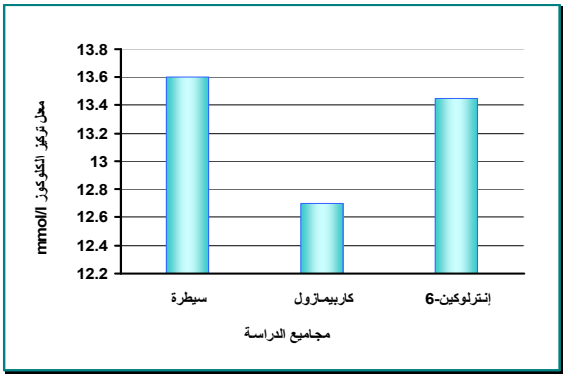
أظهرت نتائج البحث الحالي عدم حدوث تغيُّر في وزن الكبد في الحيوانات المعاملة بمادة بين إبيضاض-6 ، وربما يعود ذلك إلى أن حجم الجرعة المعطاة كانت أقل من أن تحدِث تأثيراً واضحاً في وزن الأعضاء. وقد عَمَد العديد من الباحثين في العديد من الدراسات والبحوث التجريبية الى إختيار حجم الجرعة إعتماداً على تركيز IL-6 لدى الأفراد من البشر الذين يعانون من عارض أو حالة مرضية معينة . وفي إحدى الدراسات [23] وجد أن التعرُّض المزمن لإرتفاع مستوى IL-6 في جسم الفئران البيض يؤدي الى زيادة في وزن الكبد والطحال ، وقد أظهرت الدراسة النسجية تسارعاً في إنقسام خلايا الكبد مؤدياً بالنتيجة الى زيادة حجمه. و أشار الباحث الى أن خلايا الكبد تستخدم الكليسيريدات الثلاثية (TG) المتحررة من النسيج الدهني لغرض إنقسام خلايا الكبد . ومن ناحية أخرى وجد أن IL-6 يحافظ على خلايا الكبد عن طريق كبت فعّالية جزيئة Transforming growth factor –β (TGF- β) المسؤولة عن تنشيط أنزيم Caspase-3 مما يؤدي الى تثبيط ذويّ خلايا الكبد والحفاظ على حيويتها [5].

إختبار الكلوكوز Glucose test

أشارت نتائج البحث الى حصول إنخفاض في معدل تركيز الكلوكوز في المصل لدى المجموعة المحقونة بالكاربيمازول ، إذ بلغ التركيز 12.7± 0.31 مليمول/ لتر ، وقد لوحظ إحصائياً وجود فرق معنوي عالٍ ($P< 0.01$) في معدل تركيز الكلوكوز في هذه المجموعة وبالمقارنة مع مجموعة السيطرة التي بلغ فيها معدل التركيز 13.6± 0.18 مليمول/لتر، في حين إنخفض معدل تركيز الكلوكوز في مجموعة مادة بين إبيضاض–6 والبالغ 13.45±0.05 مليمول/لتر قليلاً عن مستواه في

مجموعة السيطرة . و لم يلاحظ إحصائياً وجود فروقات معنوية ما بين المجموعتين في معدل تركيز الكلوكوز، (الشكل 6).

لوحظ إنخفاض مستوى الكلوكوز لدى مجموعة الحيوانات المعاملة بعقار الكاربيمازول عن مستواه لدى مجموعة السيطرة ، وقد جاءت هذه النتيجة متوافقة مع نتائج باحثين آخرين [28]، فقد أشاروا الى أن العقاقير المضادة للدرقية التي يصطلح عليها Thioura ومنها عقار PTU تحفز خلايا β في البنكرياس على زيادة إفراز الأنسولين ، فتؤدي بالنتيجة الى إنخفاض مستويات الكلوكوز بسبب زيادة عمليات إزالته من جهاز الدوران . كما دُرِسَتْ التأثيرات التي تحدثها مختلف أنواع العقاقير المضادة للدرقية مثل: (PTU) ،و (MTM) Methimazol ،و(ABL) Abouthiouline في مختلف المؤشرات الكيموحيوية مثل: الكلوكوز ولوحظ إن حقن مجاميع من الجرذان بهذه العقاقير لمدة 30 يوماً أدت الى إنخفاض مستوى الكلوكوز [29]. و قد يعود السبب في إنخفاض مستوى الكلوكوز الى تأثير هذه العقاقير في حث حالة قصور الدرقية الناتجة من إنخفاض مستوى هرمونات الدرقية (T3وT4) التي لها دور في مختلف عمليات الأيض في الجسم.

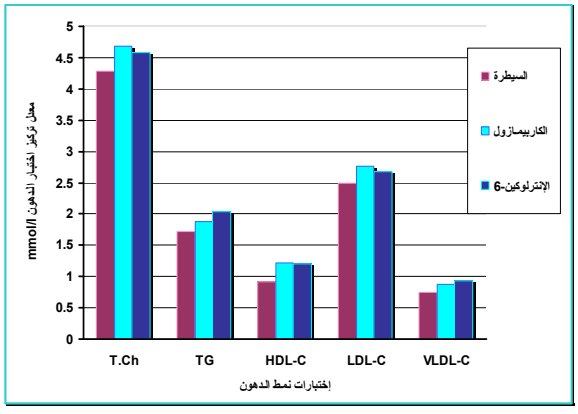


الشكل 6 – توزيع معدل تركيز الكلوكوز (ملي مول/لتر) في مصل الدم حسب مجاميع الدراسة.

في حين وجد أن IL-6 المنتج من النسيج الدهني يعمل على تحفيز أو تنشيط محور تحت المهاد–النخامية–الكظرية Hypothalamus–pituitary–adrenal axis الذي يتواسط الإستجابة الأيضية والمناعية [30] . و يتضمن هذا المحور إفراز هرمونات القشرانيات الكلوكوزية Glucocorticoids ومنها Cortisol من قشرة الغدة الكظرية التي تسهم في تنظيم عمليات الأيض في الجسم،إذ تحفز عمليات إنتاج الكلوكوز Gluconeogenesis من الأحماض الامينية وحامض اللبنيك Lactic acid ، وتثبط إستهلاك الكلوكوز ؛ و بذلك تسهم في رفع مستواه في الدم فضلاً عن تنشيط عمليات تحلل الدهون ورفع مستوى الأحماض الشحمية في الدم [31] . كذلك وجد أن IL-6 يحفز الغدة النخامية على إنتاج هرمونات مثل: ACTH و FSH و LH ، إذ لوحظ وجود مستقبلات لـ IL-6 على سطوح الخلايا الفارزة لهذه الهرمونات ضمن نسيج الغدة النخامية [32].

إختبار نمط الدهون Lipid profile test

أظهرت نتائج البحث أن معدل تركيز الكولسترول الكلي (T.Ch) لدى مجموعتي الكاربيمازول ومادة بين إبيضاض–6 بلغت 4.68 ±0.08 مليمول/ لتر و4.58± 0.58 مليمول/ لترعلى التوالي، كان أعلى من مستواه لدى مجموعة السيطرة و البالغ 4.29 ±0.34 مليمول/ لتر. وقد أظهرت الدراسة الإحصائية عدم وجود فروقات معنوية بين المجاميع الثلاث في معدل تركيز الكولسترول الكلي. كما أن أعلى معدل لتركيز الكليسيريدات الثلاثية (TG) بلغ 2.04 ±0.173 مليمول/لتر في مجموعة مادة بين إبيضاض–6 ،وقد ظهرت إحصائياً فروقات معنوية ($P < 0.05$) بين هذا المعدل ومعدل تركيزها في مجموعة السيطرة التي بلغ معدل تركيزها فيها 1.72 ±0.08 مليمول/ لتر ، في حين لم توجد فروقات معنوية في معدل تركيز TG في مجموعة الكاربيمازول التي بلغت 1.88 ±0.077 مليمول/ لتر وبالمقارنة مع مجموعة السيطرة . كما لوحظ عدم وجود فروق معنوية في معدل تركيز كل من HDL-C و LDL-C في المجاميع الثلاثة ، (الشكل 7).



الشكل 7 – توزيع معدل تركيز أنواع الدهون (ملي مول/لتر) في مصل دم الحيوانات حسب مجاميع الدراسة.

أظهرت النتائج أيضاً عدم وجود فرق معنوي في معدل تركيز VLDL-C بين مجموعة الكاربيمازول ومجموعة السيطرة ، في حين وجدت فروقات معنوية ($P<0.05$) بين معدل تركيز VLDL-C في مجموعة مادة بين إبيضاض–6 التي بلغت 0.93 ± 0.085 مليمول/لتر وبالمقارنة مع مجموعة السيطرة التي بلغ فيها معدل تركيز VLDL-C (0.75 ± 0.06) مليمول/لتر.

فيما يخص إختبارات نمط الدهون فلم تلاحظ أية تغُيرات في مستوياتها لدى الحيوانات المعاملة بالكاربيمازول عند مقارنتها مع تراكيزها لدى حيوانات السيطرة، وربما يعود السبب في ذلك الى إنخفاض شدة تأثير قصورالدرقيّة. خاصة وإن إنخفاضها كان غير معنوي ذلك إن مدة التعرض لعقار الكاربيمازول لم تكن كافية لإحداث تأثيرات شديدة ، وقد أظهرت دراسة الشيبي [12] إرتفاع مستويات الدهون (VLDL-C, LDL-C, HDL-C, TG, T.Ch) في مصل الجرذان المعاملة بعقار الكاربيمازول ؛إذ أدّى الحقن لمدة طويلة بهذا العقار الى إنخفاض معنوي في مستويات هرمونات الدرقيّة محدثاً بذلك حالة قصور واضح في الدرقيّة.

أما في مجموعة الحيوانات المحقونة بالانترولوكين-6 ، فقد لوحظ أن له تأثيراً واضحاً في نمط الدهون ، إذ حصل إرتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى كل من TG و VLDL-C لدى الحيوانات المعاملة بـ IL-6 ، وقد جاءت النتائج متوافقة مع الدراسة [33] ،حيث لاحظ إرتفاع مستوى TG في مصل الجرذان بعد ساعة واحدة من حقنها بمادة بين إبيضاض-6 وبلغ أعلى مستوى له بعد ساعتين من الحقن و بمعدل مرتين ضعفي التركيز الأول ، فضلاً عن إرتفاع مستوى الكولسترول الكلي T.Ch بعد أربع ساعات من الحقن و بلوغه أعلى تركيز بعد ثمان ساعات من الحقن وبمعدل ضعف تركيزه الأول ، وقد عزى الباحث هذا الإرتفاع في مستوى الدهون الى التأثيرات التي يحدثها IL-6 عن طريق تحفيز الكبد على إنتاج الكليسيريدات الثلاثية وتحررها وتحفيز عملية تحلل الدهون في الخلايا الدهنية.

كما أن لـ IL-6 دوراً مهماً في أيض الدهون العام ، فقد أشارت العديد من الدراسات الى أن تعرُّض الجسم لإرتفاع مستوى IL-6 يسبب زيادة في عملية تحلل الدهون وزيادة مستوى الأحماض الشحمية وعمليات أكسدة الدهون ، كما لوحظ أن IL-6 يسبب زيادة تركيز الأحماض الشحمية FA والكليسيريدات الثلاثية TG عند حقنه بجرع معينة في الجرذان و وجد كذلك أن لحجم الجرعة أهمية في شدّة التأثير فقد ظهر أنه كلما زاد حجم الجرعة المعطاة للإنسان من rhIL-6 كلما زاد تركيز الأحماض الشحمية ومعدل ظهورها في المصل [٢٤ و ٣٤]. كما ظهر في إحدى الدراسات أن IL-6 يثبط فعاليّة أنزيم Lipoprotein lipase الذي يحلل الدهون في الخلايا الدهنية [3] .

حساب النسبة المئوية للخلايا اللمفية الذاويّة Apoptotic lymphocytes في دم الحيوانات

أظهرت نتائج الدراسة وجود إرتفاع معنوي عالٍ ($P<0.01$) في النسبة المئوية للخلايا اللمفية الذاويّة في دم الحيوانات في مجموعتي الكاربيمازول و مادة بين إبيضاض–6 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. كما لوحظ عدم وجود فرق معنوي عند المقارنة ما بين مجموعتي الكاربيمازول ومادة بين إبيضاض–6 في نسبة الخلايا اللمفية الذاويّة والمقاسة على وفق الطريقة الأولى ،(الجدول 1) .

أظهرت الدراسة الإحصائية أيضاً وجود إرتفاع معنوي عالٍ ($P< 0.01$) في النسبة المئوية للخلايا اللمفية الذاويّة والمقاسة على وفق الطريقة الثانية (Apoptotic kit) عند المقارنة ما بين مجموعتي الكاربيمازول و مادة بين إبيضاض–6 ، مما يشير الى الدقة العالية التي تتميز فيها هذه الطريقة التي تتحرى عن التغيرات المبكرة في غشاء المايتوكوندريا.

ذكرت صالح (2006), [35] أن نسبة ذويّ الخلايا اللمفية لدى المرضى المصابين بمرض كريفز Graves' disease ازدادت بعد العلاج بالكاربيمازول بشكل ملحوظ عن نسبتها قبل العلاج ، وقد أكدت نتائج البحث دور الكاربيمازول في إضعاف التفاعل المناعي الذاتي لدى مرضى كريفز ، وذلك عن طريق زيادة تحفيز ذويّ الخلايا اللمفية وتقليل فعلها المحفز لخلايا B اللمفية. من ناحية أخرى قد يكون لهرمون TSH دور في حثّ ذويّ الخلايا اللمفية ، إذ يرتفع مستواه عند حدوث قصور الدرقيّة أو عند استعمال أحد العقاقير المضادة للدرقية في الحيوانات المختبرية ، وقد لوحظ وجود ارتباط إيجابي معنوي بين مستوى TSH و مستقبلات الموت في مصل الدم Serum Fas receptors (sfas) التي بدورها ترتبط إرتباط إيجابي معنوي مع الأجسام المضادة للدرقية لدى مرضى هاشموتو [36].

الجدول 1- توزيع معدل نسبة الخلايا اللمفية الذاويّة Apoptosis lymphocytes و المقاسة على وفق الطريقتين في دم حيوانات مجاميع الدراسة.

مجاميع الدراسة (الجرذان)	العدد	الطريقة الأولى		الطريقة الثانية	
		M±S.D	المعنوية	M±S.D	المعنوية
السيطرة	3	10±4	-	42± 2.65	-
الحقن بالكاربيمازول	3	19.67± 1.53	0.004 HS	54.67± 3.21	0.001 HS
الحقن بـ مادة بين إيبيضاض-6	3	24.67± 1.15	0.001 HS	67.67± 1.53	0.001 HS
المجموع	9				
الحقن بالكاربيمازول VS الحقن بمادة بين إيبيضاض-6		0.054 NS		0.001 HS	
فحص التباين (ANOVA)		0.001 HS		0.001 HS	

S.D±M : المعدل±الانحراف المعياري

أظهرت نتائج البحث الحالي أن مستوى ذويّ الخلايا اللمفية كان مرتفعاً لدى الحيوانات المعاملة بـ IL-6 سواء كان مقاساً على وفق الطريقة الأولى أو الثانية ، إذ لوحظ وجود فرق معنوي عالٍ ($P<0.01$) في نسبة الخلايا اللمفية الذاوية بين هذه المجموعة ونسبتها لدى حيوانات السيطرة. وهذا يؤكد ما أشارت إليه بعض البحوث ، إذ وجد إن IL-6 يسبب إلتهاب الكبد نتيجة تحفيز إنتاج الخلايا الإلتهابية التي تؤدي الى زيادة مستوى Amyloid-A في المصل عشرة أضعاف مستواه [37]. فضلاً عن زيادة إنتاج CRP الذي يشارك بشكل غير مباشر في عملية الذويّ الخلوي للخلايا اللمفية عن طريق إلتصاقه بها ومساعدة عامل المتمم Complement ومكوناته، وكذلك يعزز عملية طهيّ Opsonization وبلعمة الخلايا وبالنتيجة التخلص من الخلايا الذاويّة [38].

يحفز الـ IL-6 الكبد على إنتاج بروتينات الطور الحاد ومنها : CRP و Amyoid A و Fibrinogen ، كما ويحفز إنقسام ونضج خلايا T و B اللمفية وإنتاج الكلوبيولينات المناعية بوساطة خلايا B اللمفية [39] و قد يكون لعوامل أخرى دوراً في زيادة حثّ ذويّ الخلايا اللمفية منها إفراز الجسم لبعض الحركيات الخلوية التي تحث الذويّ الخلوي ومنها TNF–α و IL-1 و INF–γ، وذلك بالعمل على إحداث تغيرات في الجينات الوراثية أو إنتاج الجذور الحرة [٤٠، ٤١ و ٤٢] .

الاستنتاجات

يسهم IL-6 في إدامة قصور الدرقية وإنخفاض مستوى هرمونات الدرقية (T3 و T4) فضلاً عن دوره في حث إضطرابات أيضية أخرى منها: إنخفاض مستوى الكلوكوز ، وإرتفاع مستوى TG ، و VLDL-C ، كما تبين ذلك من نتائج تجارب الحيوانات المختبرية.

١- أحدَثَ كل من IL-6 وعقار الكاريمازول إنخفاضاً في مستوى هرمونات الدرقية وإنخفاض وزن الجسم وزيادة وزن الكبد إلا إن عقار الكاربيمازول كان أكثر شدةً في التأثير وأسرع ، كما ويلاحظ أن عقار الكاربيمازول أحدَثَ إنخفاضاً في حين لم يتأثر مستوى الكلوكوز في المجموعة المحقونة بـ IL-6 ، والأخير أثَر في مستوى الدهون بشكل فعَّال.

المصادر:

1. Dimitris, A. and Papanicolaou, M.P. **2000.** Interleukin–6: the Endocrine cytokine. *J. Clin. Endocinol. Metab.*; **85**, pp: 1331-1333.
2. Stouthard, J.M.; Romijn, J.A.; VanderPoll, T.; Endert.; E.; Klein, S.; Bakker, P.Y.; Veenhof, C.H. and Sauerwein, H.P. **1995.** Endocrinologic and metabolic effect of interleuKin–6 in humans. *Am. J. Physiol.* ; **268**, pp: 813–819.
3. Greenberg, A.S.; Nordan, R.P.; Mclntosh, J.; Calvo, J.C.; Scow, R.O. and Jablons, D**. 1992.** InterleuKine–6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice *in vivo* and in 3T3–L2 adipocytes: a possible role for interleuKine–6 in cancer cochexia. *Cancer Ros.*; **52**, , pp: 4113–4116
4. Steven, M.; Opal, M. D.; Vera, A. and Depalo, M.D.**2000.** Anti-inflammatory cytokines.*Chest.***117**, , pp:1162-1172.
5. Chen, R.; Chang, M.C; Su, Y.H ; Tsai, Y.T and Kuo, M.L. **1999** . Interleukin-6 inhibits transforming growth factor-β induced apoptosis through the phosphatidylinositol 3- kinase / Akt and signal transduces and activators of transcription pathways. *J. Biol. Chem;* **274**, , pp: 23013- 23019.
6. Stouthard , J.M. ; VanderPoll , T. ; Endert ,E. ; Bakker,P.J. ; Veenhof, C.H. ; Sauerwein , H.P. and Romijn , J.A. **1994.** Effects of acute and chronic interleukin-6 administration on thyroid hormone

metabolism in hormones .*J. Clin. Endocrinol. Metab*. **79**, pp:1342–1346.

7. Sarwar,G. and Parveen,S. **2005.** Carbimazole–induced hypothyroidism causes the adrenal atrophy in 10 days prenatally treated albino rats . *JCPSP* ; **15**, , pp: 383-386.

8. Strasser, A. ;Kalmar, E. and Niedermuller, H**. 1998.**A simple method for the simultaneous separation of peripheral blood mononuclear and polymorphonuclear cells in the dog .*Vet. Immunol and Immunopathol* . **62**, , pp: 29–35.

9. Ribble, D. ; Goldstein , M.B. ; Norris , D.A. and Shellman, Y. G. **2005.** A simple technique for quantifying apoptosis in 96-wel plates. *BMC Biotechnology*. **5**, pp: 1–7.

10. Sorlie , DE. **1995** . Medical biostatistics and epidemiolog: Examination and board review. First ed .Norwalk,Connecticut, Appleton and Lange , pp: 47-88.

11. Geiger, P.C.; Cody, M.J.; Han, Y.; Hunter, L.W.; Zhan, W. and Sieck, G.C. **2002.** Effects of hypothyroidism on maximum specific force in rat diaphragm muscle fibers. J. Appl. Physiol. 12, pp: 1506–1514.

12. الشيبي ، عبير عثمان موسى محمود ٢٠٠٧. دراسة تأثير القصور الدرقي والفرط الدرقي Hypothyroidism and Hyperthyroidism في أيض الكوليسترول في ذكور الجرذان. رسالة ماجستير، كلية العلوم ، جامعة بغداد.

13. Pruett, H.E.; Thompson, D.L.; Cartmill, J.A.; Williams, C.C. and Centry, L.R. **2003**. Thyrotropin releasing hormone interaction with growth hormone secretion in horse's. *J. Anim. Sci.;* **81**, pp: 2343–2351.

14. Dahlen, R. **2002.** Managing patients with acute thyrotoxicosis. *Critical Care Nurse.* **22**, pp: 61-68.

15. Guyton, A.C. **1997.** The thyroid metabolic hormones. In: Text book of medical physiology.

16. Bartalena, L.; Grasso, L.; Brogion, S.; Aghini-lombardi, F.; Braveman, L.E. and Martin, E. **1994.** Serum interleukin-6 in amiodarone– induced thyrotoxicosis.*J. Clin. Endocrinol. Metab.* **78**, pp: 423-427.

17. النعيمي ، هيل محمد قاسم محمد أمين. ٢٠٠٥ دراسة تأثير مادتي الحلبة والكاربيمازول في المناسل الذكرية والغدة الكظرية في الفئران البيض. رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

18. محي الدين ، خير الدين ، وليد ، حميد يوسف وسعد ، حسين توحلة **١٩٩٠.** فسلجة الغدد الصم التكاثر في الثديات والطيور. دار الحكمة للطباعة والنشر . الموصل ص : 133-146.

19. Ghoudhary, S . ; Chainy , G . and Mishro, M **2003**. Experimentally induced hypo- and hyper- thyroidism influence on the antioxidant defense system in adult rat testis . *Andrologia* ; **35**, , pp:131-140.

20. Abid,M.;Billington,C.J. and Nuttal, F.Q. **1999.** Thyroid function and energy intake during weight gain following treatment of hyperthyroidism. J. Am. Coll. Nut.; 18, pp:189–193.

21. Wallenius, V.; Wallenius, K.; Ahren, B.; Rudling, M.; Carlsten, H.; Dickson, S.L.; Ohlsson, G. and Jansson, J.O. **2002**. Interleukin–6 deficient mice develop mature–onset obesity. *Nat. Med*.; **8**, pp: 75–79.

22. Petersen, E.W.; Carey, A.L.; Sacchetti, M.; Steinberg, G.R.; Macaulay, S.L.; Eebbraio, M.A. and Pedersen, B.K**. 2005.** Acute IL-6 treatment increases fatty acid turnover in elderly humans *in vivo* and in tissue culture *in vitro*. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*.; **288**, pp: 155-162.

23. Metzger, S.; Hassin, T.; Barash, V.; Pappo, O. and Chajek–Shaul, T**. 2001**. Reduced body fat and increased hepatic lipid synthesis in mice bearing interleukin -6 secreting tumor. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.;* **281**, pp: 957–965.

24. VanHall, G.; Steenberg, A.; Sacchetti, M.; Fischer, C.; Keller, C.; Schjerling, P.; Hiscock, N.; Moller, K.; Saltin, B.; Febbraio, M.A. and Pedersen, B.K. **2003.** Interleukin–6 stimulates lypolysis and fat oxidation in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, pp: 3005-3010.

25. Janssen , S. ; Gayan –Ramirez , G. ; Bergh , A . ; Herijgers , p . ; Maes, K. ; Verbeken , E . and Decramer , M. **2005** . Interleukin- 6 causes myocardial failure and skeletal muscles atrophy in rats . *Circulation* ; **111**, pp: 996-1005.

26. Rubio ,A.; Raasmaja, A. and Silva, J. E. **1995**.Thyroid hormone and nor-epinephrine signaling in brown adipose tissue.

II:Differential effects of thyroid hormone on β_3–adrengic receptors in brown and white adipose tissue . *Endocrinol.* ;**136**, pp:3277-3284.

27. الحبيب ، عمر عبد الجيد محمد **١٩٩١** علم االفسلجة الحيوانية . دار الكتب للطباعة و النشر . الموصل. ص 417-413.

28. Ammon,H.P.; Melien,M.C. and Pfaffle **1984.** Potentiation of glucose induced insulin release by Thiourea and Thiourea derivatives. Naunyn - Schmiedebergs *Archives of pharmacology*; **327**, pp:234-237.

29. Abou–Auda, H.S. and Abou–Shaaban, R.R. **2006.** Effect of Abouthiouline, A novel drug with therapeutic potential as antithyroid, on some biochemical parameters in mice and rats. *Saudi Pharmaceutical Journal* ; **14**, pp: 34–41.

30. Rogge,M.M. **2002.** The case for an immunologic cause of obesity. *Biol. Res. Nurs.;***4**, pp:43-53.

31. Greenspan , F.S. and Gardner, D.G. **2001**. *Basic and clinical Endocrinology*. (6th ed.) McGraw Hill companies. , New York , U.S.A.

32. Kurotani, R.; Yasuda, M.; Oyama, K.; Egashira, N.; Sugaya, M.; Teramoto, A. and Osamura, R. **2001.** Expression of Interleukin–6, Interleukin–6 receptor (gp80), and the receptors signal–transducing subunit (gp130) in human normal pituitary glands and pituitary adenoma. *Mod. Pathol.;* **14**, pp: 791–797.

33. Nonogaki, K.; Fuller, G.M.; Fuentes, N.L.; Moser, A.H.; Staprans, I.; Grunfeld, C. and Feirgold, K.R. **1995.** Interleukin–6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. *Endocrinol.*; **136**, pp: 2143–2149.

34. Yip, R.G. and Goodman, H.M. **1999**. Growth hormone and dexamethasone stimulate lipolysis and activate adenylyl cyclase in rat adipocytes by selectively shifting $G_{1\&2}$ to lower density membrane fractions .*Endocrinol* .; **140**, pp: 1219-1227.

35. Salih, S.F. **2006.** Iymphocytes apoptosis in Grave's disease patients. Ms.c thesis. College of Medicine, Al–Nahrain University.

36. Mysliwiee, J.; Oklota, M.; Nikolajuk, A. and Gorska, M. **2006**. Soluble fas, fas ligand and Bcl–2 in autoimmune thyroid diseases: relation to humoral immune response markers. *Advanc.Med, Sci.;* **51**, pp: 119–122.

37. Frankhouser, S.; Elias, I.; Sopasakis, V.; Ferre, T.; Nagaev, I.; Andersson, C.; Agudo, J.; Ruberte, J.; Bosch, F. and Smith, U. **2008.** Overexpression of IL-6 leads to hyperinsulinemia, liver inflammation and reduced body weight in mice. *Diabetobgia* ,**51**, pp: 1306-1316.

38. Gerckov, D. ; Kim, S. ; Brot, N. and Elkon, K. **2000** . C- reactive protein Binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains on antinflammatory innate immune response: Implications for systemic autoimmunity. *J. Exp. Med.* ; **192**, pp:1353-1363.

39. Papanicolaou,D.A.;Wilder,R.L.;Manolagas, S.C.; Chrousos,C.P.**1998**.The patho-physiologic roles of interleukin-6 in human disease. *Ann. Intern. Med.;* **128**, pp: 127-137.

40. Schroder, K. ; Hertzog ,P. ;Ravasi, T. ; and Hume ,D. **2004.** lnterferon-gamma : An overview of signals, Mechanism and functions. *J. Leukocyte Biol.* **; 75**, pp:163-189.

41. Hock, J. and Pastorino **2002** . Ethanol oxidative stress, and cytokine- induced liver cell injury . *Alcohol* ; **27** , pp: 63-68.

42. Aggarwal, S.; Gollapudi, S. and Gupta, S. 1999. Increased TNF-α induced apoptosis in lymphocytes from aged humans: changes in TNF-α receptors expression and activation of Caspases. J. Immunol, 162, pp: 2154–2161.