الجمهورية العربية السورية
جامعة حماة
كلية الطب البيطري
قسم الجراحة والولادة

" تأثير الاستخدام المديد لمركبات البروجسترون في بطانة الرحم عند الأرانب"

رسالة أعدت لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية باختصاص

(الولادة والتناسل وأمراضها)

طالب الدراسات العليا

محمد باسل البرازي

بإشراف

أ. د. محمد سعيد موسى

الفهرس:

المقدمة (INTRODUCTION)..... 1

الدراسة المرجعية (BIBLIOGRAPHY)..... 4

١.الأرانب كحيوانات تجربة:.....5

٢.لمحة عن الجهاز التناسلي الأنثوي عند الأرانب:.....6

٣.الشبق والإباضة عند الأرانب:.....8

٤.البروجستينات:.....8

٤-١التطور التاريخي للمركبات بروجستيرونية المفعول:.....9

٤-٢الأنشطة البيولوجية للمركبات بروجستيرونية المفعول:.....11

٤-٣ استقلاب وإطراح البروجسترون:.....11

٤-٤تطوير وتصنيف المركبات بروجستيرونية المفعول:.....12

٥.التصنيف التاريخي للبروجستينات:.....13

٥-١ حسب وقت الإنتشار في السوق.....13

٥-٢ حسب التركيب الجزيئي.....13

٥-٣ حسب التفاعل مع مستقبلات الستيروئيد:.....13

٦.آلية تأثير البروجسترون:.....15

٧. طرق إعطاء البروجستينات:.....15

٧.١عن طريق الفم:.....16

٧.٢عن طريق الحقن:.....17

٧.٣ الغروسات:.....18

أ.الغروس الهرمونية (Implants):.....18

ب.الغروس الهرمونية(Implanon):.....19

٧.٤ عن طريق المهبل:.....19

أ.جهاز التحرر الداخلي المتحكم به للمادة الدوائية (CIDR):.....19

ب.جهاز الـ PRID:.....21

ج.الإسفنجات المهبلية:.....21

٨- الآثار الجانبية للاستخدام الخارجي للبروجستينات:.....22

أ- التأثيرات على الرحم:.....22

ب- زيادة إفراز هرمون النمو (GH) وحدوث تغيرات ضخامية:.....23

ج- الداء السكري (Diabetes Mellitus) :.....24

المواد وطرائق العمل (MATERIAL AND METHODS):.....25

١.تصميم التجربة:..... 26

٢.وزن الأرحام:..... 28

٣.التحضير النسيجي:.....29

الدراسة الاحصائية (STATISTICAL STUDY):.....31

النتائج (RESULTS) 32

١.النتائج العيانية والأوزان:.....33

٢.التغيرات النسيجية:.....34

١.٢ التغيرات النسيجية الحاصلة في الظهارة:.....٣٥.

١.١.٢ التغيرات في الظهارة اللمعية:.....٣٥

٢.١.٢ التغيرات في الظهارة الغدية:.....٣٦.

المناقشة (DISCUSSION) 37

الاستنتاجات (CONCLUSIONS)..... 41

التوصيات (RECOMMENDATIONS) 43

الملخص(ABSTRACT) 45

المراجع (REFERENCES): 49

فهرس الجداول:

الرقم	الموضوع	الصفحة
١	الجدول الزمن لإدخال وتصنيع البروجستينات	١٠
٢	الأوزان المختلفة مقدرة بالـ (غ) والتي تم الحصول عليها للأرحام المستأصلة بين مجموعة الشاهد ومجموعة لتجربة، حيث يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين عند مستوى ($p<0.05$).	٣٣
٣	سماكة بطانة الرحم مقدرة بالـ (ملم) بين مجموعة الشاهد ومجموعة التجربة، حيث يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين عند مستوى ($p<0.05$).	٣٤

فهرس الصور:

الرقم	الموضوع	الصفحة
١	أقسام الجهاز التناسلي الأنثوي عند الأرنبة	٦
٢	أشكال جهازCIDRعند الماشية	٢٠
٣	تجهيز الأرانب من أجل القيام بعملية استئصال الأرحام	٢٧
٤	بطن أرنب بعد القيام بالشق الجراحي واستخراج الرحم الطبيعي الذي يظهر بشكل واضح (مجموعة الشاهد)	٢٧
٥	عملية اجراء الوزن لكل من الأرحام التي تم استئصالها بعد نزع المبايض عنها	٢٨
٦	عينات المجموعات المختلفة بعد وضعها ضمن شمع البرافين	٢٩
٧	العينات بعد تحضيرها نسيجياً وصباغتها بصبغة الأيوزين والهيماتوكسيلين: (PR-) مجموعة الشاهد،(PR+) مجموعة التجربة	٣٠
٨	مقطع نسيجي في الظهارة اللمعية (LE) لمجموعة التجربة	٣٥
٩	مقطع نسيجي في الظهارة اللمعية (LE) لمجموعة الشاهد	٣٥
١٠	مقطع نسيجي في الظهارة الغدية(GE) لمجموعة التجربة	٣٦
١١	مقطع نسيجي في الظهارة الغدية(GE) لمجموعة الشاهد	٣٦

فهرس المصطلحات:

الاختصار	المصطلح باللغة الإنكليزية	المصطلح باللغة العربية
GnRH	Gonadotropin releasing hormone	الهرمون المحفز لموجهات القند
LH	Luteinizing hormone	الهرمون اللوتيئيني
FSH	Follicles stimulating hormone	الهرمون لمحفز لنمو الجريبات
CIDR	Controlled Internal Drug Release	جهاز التحرر الداخلي المتحكم به للمادة الدوائية
HCG	human Chronic Gonadotropin	الهرمون المشيمائي البشري
P4	Progesterone	البروجسترون
PGF2α	Prostaglandin F2α	البروستاغلاندين
MPA	Medroxy Acetate Progesterone	الميدروكسي بروجسترون أسيتات
NET	Norethynodrel	نورثينودريل
NETA	Norethisteron acetate	نوريثيستيرون أسيتات
LNG	Levonorgestrel	ليفونورجستريل
GEST	Gestodene	جيستودين
DES	Desogestrel	ديسوجيستريل
NGM	Norgestimate	نورجيستوميت
DROSP	Drospirenone	دروسبيرينون
CPA	Cyproterone acetate	سيبروتيرون أسيتات
CMA	Chlormadinone acetate	كلورماديوني أسيتات
SSBG	Sex steroid-binding globulin	الجلوبيولين المرتبط بالستيرويد الجنسي
CBG	Corticosteroid-binding globulin	الغلوبولين المرتبط بالستيرويد القشري

المقدمة
Introduction

المقدمة (Introduction)

تعد البروجستينات أحد أشهر الهرمونات الأنثوية التي كثيراً ما يتم تداول اسمها عند الحديث عما يخص الصحة التناسلية عند إناث الحيوانات، ومشاكل الخصوبة، وعمليات الحمل والولادة والرضاعة، حيث أن هرمون البروجسترون يعتبر الهرمون الفاعل والأهم في عمليات الخصوبة وحدوث الحمل لدى الإناث، وإذا ما حدثت أية اضطرابات في مستويات هذا الهرمون فإن ذلك يسبب مشاكل ومخاطر عدم حدوث الحمل أو عدم ثباته (اجهاض) (Al-Asmakh, 2007). يتم إفراز الهرمون عند الإناث من الخلايا اللوتيئينية الحبيبية في الجسم الأصفر والمشيمة خلال المراحل الأخيرة من الحمل (Graham and Clarke, 1997)، حيث تتزايد الكمية التي تفرز من هرمون البروجسترون كلما تقدم الحمل، ولكن مع اقتراب موعد الولادة تتناقص تلك الكمية التي يفرزها الجسم من البروجستيرون مما يدل على اقتراب موعد الولادة (Pfeifer and Strauss, 1996).

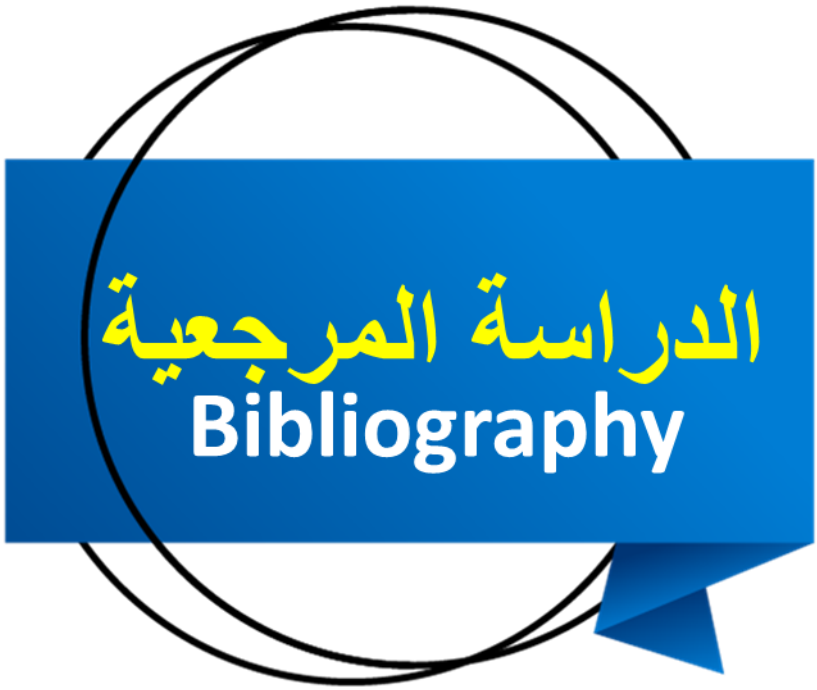
تمتلك البروجستينات العديد من التأثيرات في مختلف أجزاء الجهاز التناسلي حيث تساهم بصورة اساسيه في عملية غرس وتعشيش الجنين والمساعدة في استمرارية الحمل من خلال تعزيز نمو الغدد الرحمية، وتثبيط الخلايا العضلية الرحمية لتثبيط معدل التقلصات الإنقباضية الرحمية، وتثبيط تفاعلات خلايا اللمفاوية التائية(T) (Lydon *et al.*, 1995). كما يساهم في إفراز اللبن الرحمي من الغدد الرحمية عبر ازدياد تشعبها، إضافة لدوره في منع تكون حليب الأم في اثناء فترة الحمل (Graham, 1997) كما أنه يمتلك تأثير في كلاً من عنق الرحم والمهبل حيث يعمل على تحفيز نشاط الخلايا المخاطية المبطنة لهذين العضوين لإفراز السائل المخاطي الذي يظهر عادةً على الفتحة التناسلية عقب التلقيح وكذلك يقوم بجعل مخاط عنق الرحم والنسيج الظهاري للمهبل أكثر سماكة، ليبطئ من سرعة ومرور النطاف، وذلك لكي يسمح بأن يحدث الحمل مع وجود نطاف قوية (Graham and Clarke, 1997).

تعمل المعاملة الطويلة بالبروجستاجين على منع نمو الجريبات بشكل مستمر حيث تظهر تأثيرات ضارة في البويضة وعلى بطانة الرحم مما يؤدي الى انخفاض الخصوبة (Kinder *et al.*, 1996). وقد أشار (Kennelly and Foote, 1965) بأن التركيز العالي للبروجستيرون في الدم عند الأرانب يؤدي إلى فرط تنسج في بطانة الرحم مما يؤدي إلى انخفاض في الخصوبة. كما وجد في المقاطع النسيجية لعينات من بطانة الرحم عند المرأة أن التعرض لجرعة عالية من البروجستاجين يزيد من كثافة الأوعية الدموية المجهرية (Song *et al.*, 1995). وقد لوحظ أيضاً أن المعالجة الطويلة بالبروجستيرون لمدة ٢٨ يوماً عند خنزيرات تم استئصال المبايض منها خلال فترة السكون قد أدت إلى زيادة وزن وطول قرني الرحم وسماكة بطانة الرحم والطبقة العضلية وبالنتيجة وجدوا أن البروجسترون يؤثر على الظهارة اللمعية والظهارة الغدية وتطور الأوعية الدموية ضمن البطانة. و لكن وعند غياب كل من الهرمونات المبيضية والمشيمية وجد أن البروجسترون لوحده غير قادر على دعم تطور الظهارة الغدية مقارنةً بما يحدث في الحمل في حين أن الظهارة اللمعية والأوعية الدموية قد كانت حساسة جداً لتأثير البروجسترون (Bailey *et al.*, 2010).

ونظراً لأهمية استخدام البروجستينات في مجال الطب البيطري وقلة الأبحاث التي تطرقت لتأثيراته الجانبية السلبية بسبب استخدامه طويل الأمد على الأعضاء التناسلية عند الإناث، فقد تم اقتراح هذه الدراسة للإجابة على الأهداف الآتية:

١. معرفة تأثير الاستخدام المتكرر والطويل لمركبات البروجسترون في بطانة الرحم عند الأرانب وعند الحيوانات الوالدة.

٢. دراسة تأثير الاستخدام المتكرر والمديد لمركبات البروجسترون في بطانة لرحم من خلال دراسة التغيرات النسيجية في الظهارة الغدية والظهارة اللمعية لبطانة الرحم.


الدراسة المرجعية
Bibliography

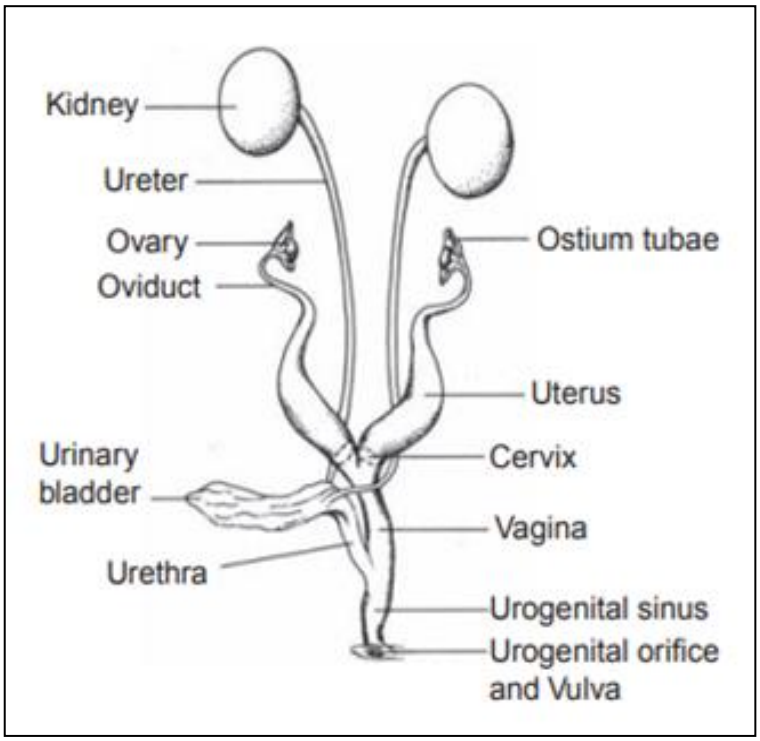
الدراسة المرجعية (Bibliography)

١ – الأرانب كحيوانات تجارب:

تاريخياً، كانت الحيوانات هدفاً للتحقيقات والملاحظات على البشر. يعود تاريخ أقدم السجلات إلى حوالي ٥٠٠ قبل الميلاد، عندما أجرى Alcmaeon تشريحاً على الحيوانات لمعرفة المزيد عن تشريحها (Paixão and Schramm, 1999). وفي أوائل القرن التاسع عشر كانت هناك زيادة كبيرة في استخدام الحيوانات في التجارب العلمية (Miziara *et al.*, 2012) بسبب نشر مبادئ استخدام الحيوانات كنماذج دراسة من قبل كلود برنارد (Fagundes and Taha, 2004) ، حيث يتم اجراء البحوث الطبية الحيوية باستخدام الحيوانات المخبرية في مختلف المجالات الطبية، وعادة ما تتعلق باختبار سمية الأدوية، وإنتاج اللقاحات والآليات البيولوجية والجزيئية للأمراض والنتائج في مجال الهندسة الوراثية المتطورة (Paixão and Schramm, 1999)، وفي العديد من مجالات العلوم الطبية يتم إجراء معظم الدراسات باستخدام الحيوانات وأظهرت دراسة إحصائية حديثة أن الحيوانات الأكثر استخدامًا كحيوانات تجارب هي الكلاب والقرود والأرانب والأغنام والخنازير الصغيرة والجرذان والقطط والماعز (Faggion, 2012)، كما و يعتمد اختيار نوع الحيوان حسب نوع الدراسة وأسبابها وأهدافها، التي تشمل عدة معايير من تكلفة اقتناء الحيوانات والعناية بها، والتوافر، والقبول في المجتمع، وسهولة التربية (Schimandle and Boden, 1994)، كما تعتبر الأرانب من أبرز حيوانات التجربة المستخدمة في العلوم الطبية(Faggion,2012)

٢- لمحة عن الجهاز التناسلي الأنثوي عند الأرانب:

تشمل أعضاء التكاثر عند أنثى الأرنب كلاً من المبيض وقناة البيض والرحم والعنق والمهبل والأعضاء التناسلية الخارجية. ويعتبر المبيضان هما الأعضاء الأساسية للتكاثر عند الأنثى حيث ينتجان الأعراس الأنثوية (البويضات) والهرمونات الجنسية الأنثوية (الأستروجين والبروجسترون)، تقع المبايض داخل تجويف البطن بالقرب من الكلى. والمبايض عبارة عن هياكل بيضاوية يتغير حجمها اعتماداً على نشاط مكونات المبيض ويتكون الجزء المركزي من كل مبيض من نسيج ضام يحتوي على أعصاب وأوعية دموية. تحتوي الطبقة الخارجية أو القشرة على الجريبات وبداخلها البويضات في مراحل مختلفة من التطور بالإضافة إلى أنواع أخرى من الأنسجة بما في ذلك الأوعية الدموية والأعصاب والألياف العضلية (McNitt *et al.*, 2013)



الصورة رقم (١): تظهر أقسام الجهاز التناسلي الأنثوي عند الأرنبة.

يلي المبيض قناة البيض وتعد هي موقع الإخصاب ولها دور أيضاً في عملية نضوج النطاف. تنتهي قناة البيض بالرحم وهو العضو الذي يحدث فيه معظم النمو الجنيني كما يوفر القوة العضلية لطرد الأجنة عند الولادة. يتكون رحم الأرنب من قرنين مختلفين لا يلتقيان ليشكلو جسماً، ويتصل كل قرن من قرون الرحم بقناة عنق رحم فردية والتي تفتح في المهبل المشترك. يعمل عنق الرحم كسدادات عضلية لإبقاء قرون الرحم مغلقة إلا في وقت التزاوج والولادة. أما المهبل فهو موقع قذف النطاف عند التزاوج ويعمل كقناة عبور للمواليد عند الولادة (McNitt *et al.*, 2013).

٣- الشبق والإباضة عند الأرانب:

تبدأ الإناث بتقبل الذكور في عمر حوالي (٣.٥) أشهر وتصبح قادرة على الحمل في عمر (٤-٤.٥) أشهر. ويمكن أن يختلف ذلك باختلاف السلالة، حيث تصل السلالات الأصغر عموماً إلى سن البلوغ قبل السلالات الكبيرة. لا تمتلك الأرانب دورة شبق محددة كما هو موجود في العديد من الحيوانات الأخرى، إذ أنه وعند البلوغ يبدأ افراز الهرمون المحفز لنمو الجريب (FSH) من الفحص الأمامي للغدة النخامية الموجودة في قاعدة الدماغ ويبدأ بتحفيز نمو الجريبات على سطح المبيض (Myers *et al.*, 1962).

يحدث التطور الجريبي بشكل عام على شكل موجات وباستمرار، مع وجود (٥-١٠) جريبات على كل مبيض في نفس المرحلة من التطور في أي وقت. تبدأ البويضات ضمن الجريبات بالتطور بطبقة واحدة من الخلايا الحويصلية المحيطة بها. يزداد عدد الخلايا الجريبية تدريجياً حتى تتشكل منها عدة طبقات، ويتشكل مع تطور الجريب بشكل أكبر تجويف مملوء بالسائل تتوسطه البويضة في المركز. تتمزق الطبقة الخارجية من الجريب عند الإباضة وتُطرد البويضة مع السائل (McNitt *et al.*, 2013).

ينتج هرمون الإستروجين من الجريبات الناضجة لمدة تتراوح من (١٢-١٤) يوماً، وفي حال لم تحدث الإباضة بعد هذه الفترة فإن هذه الجريبات تبدأ بالتقهقر، مع انخفاض موازي في مستوى هرمون الإستروجين. بعد حوالي (٤) أيام تبدأ موجة جديدة من الجريبات في إنتاج هرمون الأستروجين وتعود الأنثى لتقبل الذكر. وهكذا فإن دورة أنثى الأرنب تستمر من (١٦-١٨) يوماً (McNitt *et al.*, 2013).

تحدث الإباضة في الأرنبة فقط بعد تحريضها بمحفز خارجي مثل الجماع وهذا يشمل تحفيز المهبل الأمامي من قبل القضيب وكذلك الضغط على المؤخرة من قبل الذكر. ويؤدي هذا التنبيه إلى إطلاق الهرمون اللوتيئيني (LH) من الفص الأمامي للغدة النخامية. يتسبب هذا الهرمون في تمزق عدد من الجريبات الناضجة في أحد المبيضين أو كليهما بعد حوالي ١٠ ساعات من حدوث التحفيز (McNitt *et al.*, 2013).

عند خروج البويضة من المبيض يحفز الهرمون اللوتيئيني (LH) بداية التغيرات في الخلايا الحويصلية التي تتطور بسرعة إلى الجسم الأصفر (Corpus Luteum) الذي يقوم بإفراز البروجسترون الضروري طوال فترة الحمل لنمو الجنين حيث يتمثل الإجراء الأساسي للبروجسترون في إيقاف التقلصات العضلية للرحم وتحفيز إنتاج المغذيات للجنين (لبن الرحم)، ويمنع البروجسترون أيضاً التقبل الجنسي لدى الأنثى الحامل، على الرغم من أن الجريبات تستمر في التطور وتنتج الإستروجين طوال فترة الحمل (McNitt *et al.*, 2013).

يستمر الحمل في الأرانب في المتوسط من (٣١-٣٢) ويمكن أن يصل إلى (٢٩-٣٥) يوماً حسب السلالة.

٤- البروجستينات:

تمتلك البروجستينات تأثيرات بيولوجية متعددة داخل الرحم، حيث يلعب بعضها دوراً أساسياً في منع الحمل في حين أن البعض الآخر ثانوي. بالنسبة لموانع الحمل الفموية المركبة والطرق المعتمدة على البروجستين فقط فإن الآليات الرئيسية هي تثبيط الإباضة وإحداث تغيرات في مخاطية عنق الرحم التي تمنع تغلغل النطاف

(Rivera *et al.*, 1999) تمتلك الطرق الهرمونية وخاصة المنتجات ذات الجرعات المنخفضة من البروجستين وحبوب منع الحمل طارئة المفعول تأثيرات على بطانة الرحم والتي يمكن من الناحية النظرية أن تؤثر على الانغراس.

٤-١ التطور التاريخي للمركبات بروجسترونية المفعول:

قام كل من (C. Djerassi) و (L. Miramontes) في عام ١٩٥١ بتحويل مشتق (3-methoxy-estradiol) إلى (19-nortestosterone) والذي يتحول وفق عمليات كيميائية إلى (17α-ethinyl-19-nortestosterone) (norethisterone) (Djerassi,1992). وقد كانت فعالية (norethisterone) البروجسترونية أعلى بحوالي ٢٠ ضعفاً من (Ethisterone) .

تم تصنيع (19-Norprogesterone) أيضاً في عام ١٩٥١ بواسطة (G. Rosenkranz) و (C.). كانت هذه المادة غير فعالة عن طريق الفم ، لكنها مثلت بروجسترون قوي بعد الإعطاء بالحقن (Djerassi, 1992)،هذا البروجستيرون هو المادة الأساسية لسلسلة من مشتقات (19-nor) التي تم تطبيقها حتى بداية هذا القرن (على سبيل المثال، norhydroxy progesterone caproate) أو لا تزال تستخدم حتى اليوم لمنع الحمل و / أو العلاج الهرموني كمواد بروجستيرونية فعالة (على سبيل المثال، trimegestone ، segesterone acetate ، NOMAC). (Regidor *et al.*, 2018)

قام (Junkermann) عام١٩٥٤بتطوير أول مشتق من البروجسترون (١٧α-acetoxyprogesterone). وتبع ذلك تطوير كل من (Medroxyprogesterone acetate) و (megestrol acetate) و (chlormadinone acetate) في السنوات ١٩٥٧ و١٩٥٩ على التوالي.

فيما تم تصنيع العقاقير الأولية من (norethisterone lynestrenol) و (ethynodioltediacetat) مثل (norethynodrel) في الستينيات (Djerassi, 1992).

يوضح الجدول رقم (١) مجموعات البروجستيرون المختلفة فيما يتعلق بتركيبها الكيميائي وسنة تطورها.

Structural groups		Progestogen	Year of synthetization and/or market introduction
Progesterone		Progesterone	1933/1997
Retroprogesterone		Dydrogesterone	1959
Progesterone derivate		Medrogestone	1964
17a-Hydroxyprogesterone derivates	Pregnanes (C21)	Medroxyprogesterone acetate	1957
		Megestrol	1959
		Chlormadinone acetate	1959
		Cyproteroneacetate	1961
17a-Hydroxynorprogesterone derivates	Norpregnanes (C20)	Nomegestrol acetate	1986
		Gestenoron caproate	1973
19-Norprogesterone derivates	Norpregnanes (C19)	Demegestone	1974
		Promegestone	1983
		Nestorone	2001
		Trimegestone	2001
19-Nortestosterone derivates	Estranes (C18)	Norethindrone	1951
		Norethisterone acetate	1951
		Lynestrenol	1961
		Norethinodrel	1957
		Ethynodiol acetat	1967
19-Nortestosterone derivates	Gonanes (C17)	Norgestrel	1966
		Levonorgestrel	1966
		Desogestrel	1981
		Etonogestrel	1998
		Gestoden	1986
		Norgestimate	1986
		Dienogest	1978
Spirolonactone derivate		Drospirenone	1976

الجدول رقم (١): يظهر الجدول الزمن لإدخال وتصنيع البروجستينات. (Regidor *et al.*, 2018)

٤-٢ الأنشطة البيولوجية للمركبات بروجسترونية المفعول:

نظراً للاختلاف الكبير في التركيب الكيميائي للستيروئيدات مع نشاط البروجسترون، يصبح من الصعب استنتاج العديد من الإجراءات والأنشطة البيولوجية من التركيب الكيميائي وحده (De Lignieres *et al.*, 1995).

بالطبع فإن أحد المتطلبات الأساسية لأي مركب يتوفر به مثل هذا النشاط هو القدرة على الارتباط بمستقبلات البروجسترون وبالتالي تم تطوير بعض المعرفة حول البنية ثلاثية الأبعاد المطلوبة لربط الستيروئيد. وفي الواقع يبدو أن هناك عدة أشكال مختلفة من مستقبلات البروجسترون (PRs) تسمى عادةً PR-A و PR-B ، والفرق هو سلسلة من الأحماض الأمينية في شكل B غير موجود في النموذج A .

يمكن اعتبار الشكل B كمستقبل شاد (agonistic) في العديد من الأعضاء وهو قادر على تثبيط التأثيرات المحفزة بواسطة الشكل A المنشط (Ganellin,2006; Graham and Clarke, 1997).

٤-٣ استقلاب وإطراح البروجسترون:

عندما يطرح هرمون البروجسترون في الدم يرتبط معظمه بشكل قوي مع الجلوبيولين الرابط للاستيروئيدات القشرية (CBG) بدلاً من البروتين الرابط للهرمونات الستيروئيديه الجنسية (SSBG) كما هو الحال مع الإستروجين، مع ارتباطه بدرجة أقل مع البومين البلازما.

يتم استقلاب هرمون البروجسترون بشكل سريع عند كل من البشر وبعض الأنواع الحيوانية حيث يتم استقلاب مايقارب ثلثي هرمون البروجسترون بواسطة الكبد (Simon,1995;Little *et al.*, 1975)

حيث تشمل المستقلبات (٦-٢٧%) بريغناندیول وهو المستقلب الاساسي (B-pregnane3-a,20a-diol) والمستقلب الاخر (20a-hydroxypregn-4-en-3-one)-(20a-pregnan-3,20-dione) إن عملية امتصاص البروجسترون الخارجي تتم بشكل سريع في جميع مناطق التعرض بما في ذلك الغشاء المخاطي

المهبلي (Archer *et al.*, 1995) كما يتم امتصاص البروجسترون الفموي من خلال الغشاء المخاطي المعوي والكبد(Simon, 1995)

بعد الانتهاء من وظيفته يتم تحويله إلى العديد من المتأيضات خاصة في الكبد لتجد طريقها إلى الحوصلة الصفراء حيث يمكن الاستفادة منها ثانيه أوالتخلص منها عن طريق البول أو البراز.

٤-٤ تطوير وتصنيف المركبات بروجسترونية المفعول:

تتميز المركبات بروجستيرونية المفعول كيميائياً مثل جميع الهرمونات الستيروئيدية بهيكل جزيئي كربوني (C21)، تم تطوير المركبات البروجسترونية المفعول المختلفة من هذا الهيكل الأساسي (C21) .

وجد أن إستبدال (Ethinyl) من هرمون التستوستيرون يؤدي إلى نشوء مركب نشط عن طريق الفم (ethisterone). أدت إزالة الكربون في موضع (C-19) من (ethisterone) إلى تغييره من الأندروجين إلى البروجستين، مما أدى إلى تطوير فئة من البروجستين يشار إليها باسم مشتقات (19-nortestosterone). وتعتبر البروجستينات المدرجة في هذه الفئة من الأنواع الأكثر استخداماً مثل (norethindrone) و (norethindrone acetate) و (levonorgestrel) و (ethynodiol diacetate). كانت المركبات بروجستيرونية المفعول الأولى الفعالة عن طريق الفم المستخدمة في موانع الحمل الهرمونية المركبة هي كل من (norethynodrel) و (Norethisterone) (Kuhl,2011; Schindler *et al.*, 2008).

يمكن تصنيف المركبات بروجستيرونية المفعول المستخدمة في موانع الحمل الهرمونية المركبة وفقًا لمعايير مختلفة على النحو الآتي:

٥- التصنيف التاريخي للبروجستينات:

٥-١ حسب وقت الإنتشار في السوق:

لقد أصبح استخداماً شائعاً لتطبيق هذا التصنيف "التاريخي". وفقًا لهذا الجيل الأول والثاني والثالث والرابع، يمكن تمييز موانع الحمل الهرمونية المركبة (Regidor and Schindler,2017):

- ✓ الجيل الأول: (norethynodrel) (norethisteron acetate) (NETA,NET).
- ✓ الجيل الثاني: (levonorgestrel) (LNG).
- ✓ الجيل الثالث: (gestodene) (desogestrel) (norgestimate) (NGM, DES, GEST).
- ✓ الجيل الرابع: (drospirenone) (DROSP).

٥_٢ حسب التركيب الجزيئي:

يعطي التركيب الجزيئي مؤشراً غير مباشر عن العمل البيولوجي للستيروئيد. يمكن التمييز بين مجموعات مختلفة من المركبات بروجسترونية المفعول (Regidor and Schindler, 2017)

٥_٣ حسب التفاعل مع مستقبلات الستيروئيد:

تمتلك المركبات بروجستيرونية المفعول اعتماداً على التركيب تفاعلات مختلفة مع مستقبلات الستيروئيد المختلفة في الجسم. توجد مستقبلات الستيروئيد على غشاء الخلايا المستهدفة وترتبط بإنتاج البروتين من (DNA/RNA) عبر أنظمة مرسال مختلفة. يمكن أن تكون المستقبلات التي ترتبط بها المركبات بروجستيرونية المفعول كما يأتي (Schindler *et al.*, 2008) :

١. مستقبلات البروجستيرون: أهم مستقبلات للحث على التأثير المطلوب.

٢. مستقبلات الأندروجين: يؤدي تنشيط مستقبلات الأندروجين إلى إحداث تأثيرات منشط الذكورة على نمو الشعر ونشاط الغدد الدهنية. ترتبط بعض المركبات بروجستيرونية المفعول بهذا المستقبل ويمكن أن تمنعه أو تنشطه.

٣. مستقبل الإستروجين: يتوسط هذا المستقبل التأثيرات في العديد من الأنسجة ولاسيما في خلايا بطانة الرحم.

٤. مستقبل (Glucocorticoid) الجلوكوكورتيكوئيد: يرتبط تأثير (Glucocorticoid) الجلوكوكورتيكوئيد بتنشيط نظام التخثر.

٥. مستقبل القشرانيات المعدنية (Mineralocorticoid): تلعب دوراً في توازن الكهارل والسوائل وأهمها الألدوسترون الذي ينتج من قشرة الكظر ويعمل على المحافظة على تركيز الصوديوم في السائل خارج خلوي بينما يساعد على إطراح البوتاسيوم في البول.

بناءً على هذا التصنيف لأنشطة المستقبلات، يمكن التمييز بين عدة مجموعات من المركبات بروجستيرونية المفعول (Schindler *et al.*, 2008):

- ✓ المركبات بروجستيرونية المفعول الأندروجينية (NET, LNG , NGM) :لها خصائص أندروجينية. يبدو أن (LNG) ليس له تأثير منشط الذكورة فحسب، بل له أيضاً تأثير مضاد للإستروجين.
- ✓ المركبات بروجستيرونية المفعول المضادة للأندروجين: أهم المركبات هي مشتقات البروجسترون (CPA) (CMA) (DROSP) وترتبط هذه الجزيئات بالمستقبل وتمارس تثبيطاً تنافسياً.
- ✓ المركبات بروجستيرونية المفعول بشكل معتدل أو مضادات الأندروجين: تتفاعل (GEST) (DES)، بشكل أساسي مع مستقبلات البروجستيرون وحده. يمتلك (DNG) تأثير مضاد للأندروجين خفيف إلى معتدل.
- ✓ المركبات بروجستيرونية المفعول المضادة للقشرانيات المعدنية: فقط (DROSP) له تأثير مضاد للقشرانيات المعدنية.

٦- آلية تأثير البروجسترون:

يؤثر هرمون البروجسترون وغيره من البروجستينات المصنعة بنفس آلية تأثير البروجسترون الطبيعي المفرز من الجسم، ففي معظم الأنسجة الهدف، إن لم يكن جميعها، يقوم البروجسترون بالانتشار من خلال الغشاء الخلوي ويرتبط بمستقبلات البروجسترون، هذا الارتباط يسمح لمستقبلات البروجسترون بأن ترتبط فيما بعد بالعنصر المستجيب للبروجسترون (Progesterone response element) الموجود ضمن المادة الوراثية للخلية الهدف مما ينجم عنه تثبيط أو تفعيل عملية النسخ والترجمة النهائية للسلاسل الوراثية المعدلة بفعل البروجسترون. وتشمل نواتج الترجمة الأنزيمات والبروتينات البنيوية والإفرازية وغيرها من البروتينات المعدلة، ومن الممكن أن يرتبط البروجسترون (كما الأستروجين) في بعض الأنسجة بمستقبلات الغشاء الخلوي ويسبب تأثيرات خلوية كاستجابة لارتباطه بمستقبلات الغشاء (Romagnoli and Concannon, 2007).

٧- طرق إعطاء البروجستينات:

إن الطلب المتزايد للبحث عن مواد ذات تأثير مشابه للبروجسترون في التحكم بالتناسل تلاه توجه لتصنيع العديد من البروجستينات كوسائل لمنع الحمل، مثل أسيتات ميدروكسي بروجسترون Medroxyprogesterone acetate (MPA) ، وأسيتات الميلينجسترول (MGA) Melengesterol acetate، وأسيتات الميجسترول Megestrol acetate (MA) وغيرها.

حيث تعد طرق التحكم في تكاثر الحيوانات الأليفة (قطط-كلاب) شرطا لمربي واصحاب الحيوانات الاليفة لمواجهة معدل الخصوبة المرتفع ومواجهة سلوك الشبق الذي قد يسبب مشاكل عند المربين حيث يتم اللجوء الى الطرق الهرمونية لتجنب التأثيرات السلبية التي قد تنتج عن الطرق الجراحية (Johnston *et al.*, 2001)

يوجد العديد من الطرق التي يتم من خلالها استخدام البروجستينات ومنها:

٧-١ عن طريق الفم:

يستخدم أسيتات الميجسترول عند القطط بهدف كبح سلوك الشبق حيث يعتمد على آليتين رئيسيتين الأولى وهي التأثير المباشر على الغدة النخامية ومنع تحرير الهرمونات الجونادوتروبينية ، والثانية هي التأثير المباشر في بطانة الرحم وتحويلها للنمط الإفرازي وبالتالي خلق بيئة ضارة لا تسمح بتعشيش الجنين ، أما عند الذكور فيسبب حظر اصطناع التستوستيرون وبالتالي كبح الرغبة الجنسية (Romagnoli, 2015) وتعتبر جرعة ١مل/كغ مع الطعام كافية لكبح سلوك الشبق لمده١٤ يوماً حيث تعود الحيوانات للشبق بعد هذه الفترة.

كما يمكن استخدام البروجستينات الصنعية في حالات العلاج التعويضي الناتج عن نقص هرمون البروجسترون (حالات الإجهاض بسبب نقص البروجسترون) حيث أنه عند الخيول يتم استخدام مركب Altrenogest من بداية فترة الحمل ولغاية ١٢٠ يوماً (يتم بعد هذه الفترة إنتاج كميات كافية من البروجسترون من المشيمه تضمن استمرارية الحمل) عند الخيول التي تعاني من حالات الإجهاض بسبب نقص البروجسترون حيث يتم اعطائه فموياً بجرعة ٤٤ملغ/يوم. (Daels, 2006)

أما عند البشر فيوجد نوعين من موانع الحمل

النوع الأول : والتي تعرف بموانع الحمل المركبة حيث تعمل على تثبيط نمو الجريبات والإباضة ، ونتيجة لذلك تمنع تكون الجسم الأصفر(Corpus Luteum) وينعكس هذا في انخفاض ملحوظ في انتاج الإستراديول(estradiol) من المبيض وغياب انتاج هرمون البروجسترون ترجع هذه التأثيرات نتيجة التأثير المثبط لموانع الحمل المركبة على إنتاج الغدة لنخامية وإفراز كل من الهرمون المحفز لنمو الجريبات(FSH) والهرمون اللوتيئيني (LH) (Mishell *et al.*, 1977)

في الوقت الحالي يتم استخدام كل من نورجيستيمات (norgestimate)، ديسوجيسترين (desogestrel)، جيستودين (gestoden) بجرعات يومية (0.04, 0.06, 0.02) مجم للنورجيستمات والديسوجيسترين والجيستودين (Kuhl, 1996)

النوع الثاني: وهي موانع الحمل التي تتعتمد على البروجسترون فقط حيث تعمل من خلال مجموعة من الإجراءات تتمثل إحدى الأليات الرئيسية في تشتيت وظيفة المحور النخامي تحت المهاد بما في ذلك قمع الإباضة الجزئي (Landgren and Diczfalusy., 1980) أما الآلية الثانية فهي إحداث تغيرات في مخاطية عنق الرحم حيث تقلل بشكل كبير من حجم المخاط وتزيد من لزوجته ومحتواه الخلوي وتغير في تركيبته الجزيئية، تؤدي هذه التغيرات الى تغلغل ضئيل أو معدوم للنطاف حتى وفي الحالات النادرة التي يحدث فيها الاختراق تقل حركة النطاف ومن غير المحتمل حدوث الإخصاب (Kesserü-Koos., 1971) يكشف التحليل المورفومتري (Morphometric) لبطانة الرحم عن حدوث انخفاض كبير في عدد وقطر غدد بطانة الرحم وفي معظم الحالات تصبح بطانة الرحم أرق حيث تقلل هذه التغيرات من احتمالية الإنغراس(Moghissi and Marks, 1971)

٧-٢ عن طريق الحقن:

تستخدم حقن البروجستينات لحالات منع الشبق طويل الأمد حيث يستخدم البرولايجستون (14a,17a-propylidene-dioxy progesterone) والذي يسوق له في اوروبا (Delvosteron, Intervet) عند كل من الكلاب والقطط حيث انه يعطى للكلاب بجرعة اولية ١٠-٣٠مجم/كجم/SQ مع تكرار الجرعة بعد ٣/٧ اشهر كما أنه يعطى عند إناث القطط بجرعة (١مل) تحت الجلد لمنع الشبق لمدة ٥-٦ أشهر.

أما عند البشر يعد Depot medroxyprogesterone acetate(DMPA)، أكثر موانع الحمل القابلة للحقن استخداماً وهو بروجستين طويل المفعول. ينبع تأثير موانع الحمل الخاصة بـ (DMPA) بشكل أساسي من عملها

على مستوى الغدة النخامية والوطاء. وعلى وجه التحديد يمنع DMPA اندفاع (ذروة) LH في منتصف الدورة الأمر الذي يعد ضرورياً لحدوث الإباضة (Mishell, 1967)، وبالتالي فإن تثبيط الإباضة يعتبر الآلية الرئيسة للعمل.

كما يمتلك الـ (DMPA) أيضاً تأثيراً في مخاطية عنق الرحم، إذ يصبح المخاط قليلاً وسميكاً مما يجعل اختراق النطاف أمراً غير محتمل (Kesserü-Koos, 1971)، عادةً ما تحدث التغييرات في مخاط عنق الرحم في غضون ٢٤ ساعة من الحقن ولكن في بعض الحالات قد تستغرق ما يصل ٣ إلى ٧ أيام (Petta *et al.*, 1998)، كما تعمل حقن (DMPA) على إحداث تضاؤل في تكاثر بطانة الرحم وتصبح بطانة الرحم رقيقة وضامرة.

ومن البروجستينات المستخدمة حقناً هناك النوريثيندرون إينونثات (Norethindrone enanthate) والذي يتم إعطاؤه كل شهرين. تتشابه آلية عمل نوريثيندرون إينونثات مع تلك الخاصة بـ DMPA لكنها تكون فعالة لفترة زمنية أقصر (Fotherby *et al.*, 1978).

٧-٣ الغروسات:

أ- الغروسات (Implants):

مثل (Norplant®) وهي غرسات تحت الجلد من ستة قضبان، يحتوي كل قضيب على ٣٦ ملغ من (levonorgestrel). (Schering AG, Berlin) ، وهي شكل آخر من وسائل منع الحمل التي تحتوي على البروجستين فقط. إن تأثير موانع الحمل لغروسات (levonorgestrel) مشابه لتأثير موانع الحمل الفموية المقتصرة على البروجستين، ويعتبر تثبيط الإباضة الجزئي هو إحدى آليات منع الحمل، حيث تم العثور على دليل على حدوث الإباضة في حوالي ١٠٪ من الدورات في السنة الأولى. تنخفض مع مرور الوقت مستويات

(levonorgestrel) في الدم ويحدث دليل على الإباضة في كثير من الأحيان بحلول السنة الخامسة من استخدام الغرسات (٣٠٪ إلى ٧٥٪ من الدورات) (Faundes *et al.*, 1991).

لم يتم تسويق المنتج منذ عام ٢٠٠٢ ، وجاء بعده (Norplant II®)/ (Jadelle®) والذي كان يتكون من قضيبين مرنين من السيليكون ، يحتوي كل منهما على ٧٥ ملغ من (levonorgestrel) ومدة مفعولهما خمس سنوات (Rabe *et al.*, 2013).

ب- الغروس الهرمونية (Implanon®) :

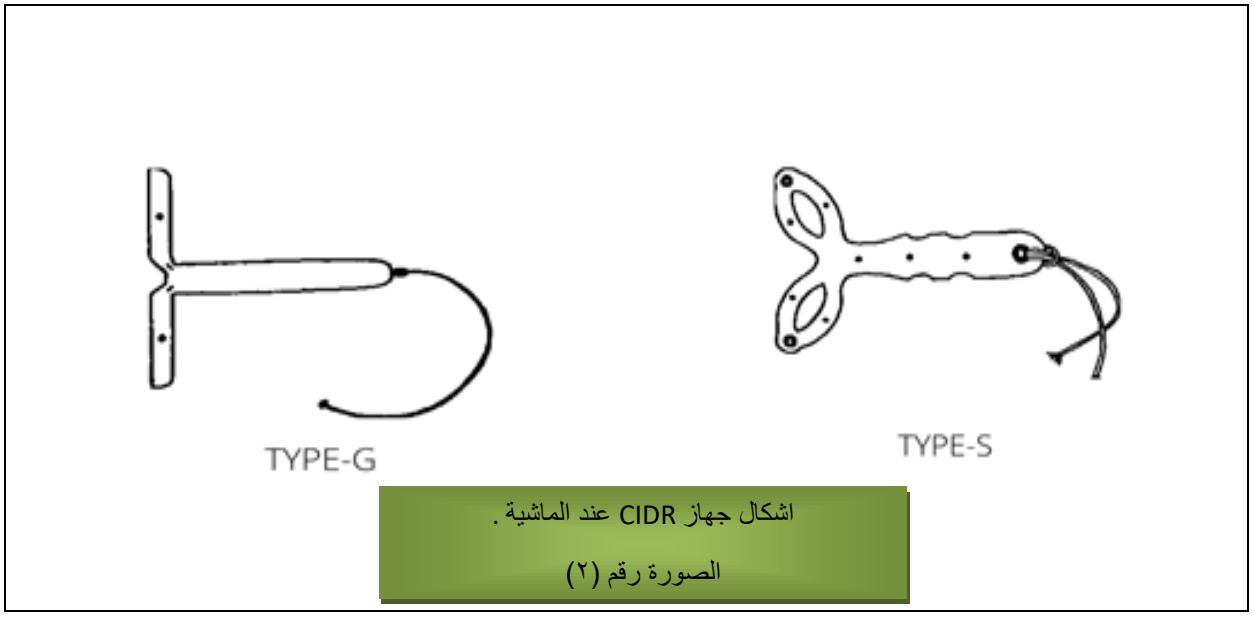
عبارة عن غروس هرموني يفرز مادة (etonogestrel) ، وتكون عبارة عن قضيب طوله ٤ سم وقطره ٢ مم ويتكون من ٤٠٪ أسيتات فينيل الإيثيلين (EVA) و ٦٠٪ (٦٨ مجم) من (etonogestrel) (3-keto-desogestrel). وتبلغ مدة العمل بعد الإنغراس تحت الجلد ٣ سنوات. يعتبر التأثير الرئيسي هو تثبيط الإباضة، على الرغم من أن هذا التأثير التثبيطي يبدأ بالانخفاض بعد ٣ سنوات. فيما تشمل التأثيرات الإضافية لمنع الحمل كل من التغيير في تكوين مخاط عنق الرحم وجعل بطانة الرحم أقل تقبلاً للانغراس والتعشيش (Rabe *et al.*, 2013).

كما تستخدم غروس الليفونورجيستريل كعنصر نشط من وسائل منع الحمل طويلة الأمد بعد الموافقة عليها من قبل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية لتثبيط الحمل لمدة سنه واحدة عند القطط بدون حدوث تأثيرات جانبية (Massei and Miller., 2013)

٤-٧ عن طريق المهبل:

أ- جهاز التحرر الداخلي المتحكم به للمادة الدوائية (CIDR):

عباره عن جهاز مصنوع من المطاط الصناعي السليكوني المشبع بالبروجسترون المصبوب فوق نواه من النايلون يوضع داخل المهبل ويعمل على تحرير هرمون البروجسترون، يستخدم لفتره تمتد من ١٦-٢٠يوماً Ritar *et al.*, 1989)، تم تطوير جهاز (CIDR-S) في عام١٩٨٦ الذي كان معداً للاستخدام عند الأغنام، بعد ذلك تم تطوير جهاز (CIDR-G) في عام ١٩٨٨اللذي يتميز بتعديلات في التصميم التي تسهل الادخال والسماح بمعالجة الحملان والماعز إذ كان معداً للحملان ذات المهبل الصغير والماعز (Welch and Tervit, 1984;Welch, 1985; McMillan, 1986)، على الرغم من تصميم CIDR-S للاستخدام في الأغنام الوالدة و CIDR-G للاستخدام في النعاج ذات المهبل الصغير ، والحملان والماعز إلا أن معدل الاحتفاظ بـ CIDR-G في النعاج الوالدة أثبت أنه افضل الى حد كبير من النموذج S (Barnes and MacMillan, 1985)، كما تم تصنيع جهاز مماثل للماشية CIDR-B.



اشكال جهاز CIDR عند الماشية .

الصورة رقم (٢)

أ- جهاز الـ PRID:

عبارة عن جهاز مصنوع من المطاط السليكوني مشبع بالبروجسترون (١.٥٥غ)، يستخدم في الماشية والأبقار في برامج تزامن الشبق حيث يتم تلقيح الأبقار في وقت محدد دون الحاجة إلى اكتشاف الشبق يتم وضعه على جهاز التثبيت ثم دفعه برفق داخل المهبل حتى يصل إلى عنق الرحم، يتم إزالة الجهاز عبر الخيط المتدلي من الفرج بعد ٧أيام من الإدخال حيث يعمل البروجسترون الموجد ضمن الجهاز على التأثير على محور الغدة النخامية و يكبح إفراز الهرمون اللوتيئيني (LH) والهرمون المنبه للجريب (FSH) وبالتالي يمنع الشبق والإباضة، بعد إزالة الجهاز تنحدر مستويات البروجسترون وبالتالي ظهور الشبق.

٧-٥ الإسفنجات المهبلية:

استُخدمت الإسفنجات الهرمونية المهبلية منذ عام ١٩٩٢ لتزامن الشبق في إناث الماعز (ركبي، 2007) ومنها الإسفنجات المشبعة بميدروكسي بروجسترون أسيتات MAP (Menegatos *et al.*, 1995) ، والإسفنجات المشبعة بالفلوروجيستون أسيتات FGA (Freitas *et al.*, 1997) وذلك بهدف تركيز ظهور الشبق وزيادة معدل التوائم.

تتم في هذه الطريقة محاكاة وظيفة الجسم الأصفر من خلال إعطاء البروجسترون أو أحد مركباته المشابهة. إذ يكبت البروجسترون إفراز موجهات القند وبالتالي يمنع حدوث الإباضة حتى إزالة مصدر البروجسترون. فإذا أعطي البروجسترون لمجموعة من الإناث ثم تم السحب في نفس الوقت فإن ذلك سوف يزامن الشبق والإباضة في هذه المجموعة. أعطي البروجسترون في البداية لفترة مساوية لطول الطور اللوتيئيني الطبيعي (أي ١٨ – ٢١ يوماً). تعتبر هذه الفترة طويلة بالنسبة للأجسام الصفراء كي تخضع لعملية تحلل متواقت في جميع الحيوانات بغض النظر عن المرحلة من دورة الشبق التي هي فيها عند البداية .(Holtz, 2008) نتج عن المعاملة

بالبروجسترون لفترة مطولة (١٨ – ٢١ يوماً) معدلات خصوبة منخفضة وقد عُزي هذا الأمر إلى إباضة الجريبات الدائمة التي تحتوي بويضات ذات نوعية متدنية. يمكن أن يعزى انخفاض الخصوبة أيضا إلى التأثيرات العكسية للبروجستاجينات ضمن بيئة الرحم الداخلية والتي تؤثر على نقل النطاف وحياتها (Leboeuf *et al.*, 2003).

على الرغم من فعالية الإسفنجات المهبلية في توقيت الشبق عند الماعز إلا أنها لم تكن مرغوبة وذلك يعود إلى تكرار التهيج المهبلي (رد الفعل الالتهابي الذي يتمثل بخروج سائل مخاطي قيحي) ومشاكل الالتصاق مع جدار المهبل إضافة للتأثير السلبي الذي تحدثه الإسفنجة في بطانة الرحم عند تركها لفترة زمنيه طويلة تتجاوز(٣) أسابيع (Rahman *et al.*, 2008;Abeca *et al.*, 2011) إضافة إلى إنخفاض تركيز هرمون البروجسترون عند اليوم (١٢)، حيث أن تركيز هرمون البروجسترون قد يكون غير كافياً لمنع نمو الجريبات وتطورها (Amer *et al.*, 2009).

٨- الآثار الجانبية للاستخدام الخارجي للبروجستينات:

أ- التأثيرات على الرحم:

على الرغم من فاعلية البروجستينات الصنعية في برامج تحديد النسل عند البشر وبرامج المزامنة والسيطرة على الشبق والتلقيح الصناعي عند الحيوانات إلا أنه يحمل في طياته العديد من المخاطر حيث إن الجرعات العالية من البروجستين أو الاستخدام المطول أو المتكرر لجرعات معتدلة من البروجسترون أو البروجستينات يمكن أن يتسبب في حدوث فرط تنسج كيسي(تكيس) لبطانة الرحم حيث تتميز هذه الحالة بزيادة تكاثر غدد بطانة الرحم وتحولها إلى كيسات نتيجة تمددها وامتلاء لمعتها بالسوائل وإن الآلية الطبيعية لحدوث تكيس بطانة الرحم غير

معروفة، وبشكل عام فإن تكيس بطانة الرحم يتطور بشكل سريع وأكثر شدة عند تعرض البيئة الرحمية لتراكيز عالية من الأستروجين (Dow,1957 ; Cox,1970 ; Nelson and Kelly,1976).

حيث أن تعرض بطانة الرحم للبروجستينات من شأنه أن يسبب تكاثر الطبقات السطحية من البطانة الرحمية وزيادة النشاط الإفرا زي لغددها والذي يمكن أن يؤدي بدوره إلى حدوث تكيس في بطانة الرحم.

إن وجود تكيسات في بطانة الرحم يجعلها أكثر عرضة للخمج بوساطة النبيت الجرثومي الطبيعي الموجود في المهبل وينجم عن ذلك حدوث التهاب رحم صديدي .هذا ويزيد استخدام البروجستينات من إمكانية حدوث التهاب رحم صديدي.(Kooistra *et al.*, 1998)

كما يعتبر الخوف من زيادة خطر الإصابة بالسرطان أحد أهم أسباب القبول المنخفض والامتثال المنخفض لوسائل منع الحمل الهرمونية .(Hormonal Contraceptive (HC حيث أعلنت وكالة أبحاث السرطان أن وسائل منع الحمل الهرمونية المشتركة تعتبر مادة مسرطنة للإنسان ، وذلك بناءً على زيادة نسبة خطر الإصابة بسرطان الخلايا الكبدية وسرطان الثدي وعنق الرحم (IARC,1999,2007).

ب- زيادة إفراز هرمون النمو (GH) وحدوث تغيرات ضخامية:

Increased Secretion of GH and Acromegalic Changes:

أكد باحثون أن إعطاء البروجستينات يمكن أن يتسبب في زيادة إفراز هرمون النمو عند الكلاب والقطط (Concannon *et al.*, 1980; Eigenmann and Rijinberk, 1981) وهذا ما ينجم عنه ارتفاع تراكيز كل من هرمون النمو (GH) و السوماتوميدين (IGF-1) في بلازما الدم ، ومن شأن الأخير أن يتسبب في حدوث تغيرات ضخامية Acromegalic Changes تتضمن :

ضخامة النسج الرخوة في الرأس والعنق- زيادة في سماكة الجلد- زيادة في طول العظام- ضخامة كبدية (Romagnoli and Concannon, 2007)

ج- الداء السكري (Diabetes Mellitus) :

سجلت عدة دراسات ارتفاع مستوى الغلوكوز في الدم نتيجة استخدام البروجستينات عند الكلاب والقطط (Middleton and Watson, 1985; Weikel and Nelson, 1977). كما سجلت حالات فرط سكر الدم في الدراسات التجريبية على الكلاب خلال الاستخدام المطول لأسيتات ميدروكسي بروجسترون والبروليجستون، وكذلك عند القطط خلال المعالجة بأسيتات الميجسترول. وعلى كل حال فإن فرط سكر الدم لايعدُّ مشكلة سريرية رئيسة عند الإناث التي تتمتع بصحة جيدة خلال ٠٢ ٦ شه ا رً من المعالجة بجرعات منخفضة من مركبات البروجسترون. إن آلية حدوث الداء السكري تعود إلى زيادة إفراز هرمون النمو وارتفاع تركيزه في بلازما الدم متسبباً بمقاومة الأنسولين Insulin-resistance ، ومن جهة أخرى فإنه لم يتم التأكد حتى الآن إذا ما كان للبروجسترون و غيره من البروجستينات تأثيراً مباشراً في مقاومة الأنسولين (Romagnoli and Concannon, 2007).

المواد وطرائق البحث
Material and Methods

مواد وطرائق البحث (Material & Methods)

١. تصميم التجربة:

نُفذ البحث في مخابر كلية الطب البيطري في جامعة حماة. على مجموعة من إناث الأرانب الناضجة بمتوسط وزن (٢±٠.٣) كغ حيث وضعت جميع الإناث ضمن نفس الشروط البيئية والصحية والتغذوية.

قسمت الأرانب عشوائياً إلى مجموعتين:

- المجموعة الأولى (مجموعة التجربة) (n=7): تم حقن الإناث بجرعة ٠.٢ مل/كغ حقناً عضلياً بشكل يومي ولمدة ٣٠ يوماً بمركب ميدروكسي بروجسترون أسيتات ،لمعرفه مدى تأثير الاستخدام المديد لهرمون البروجسترون على بطانة الرحم.
- المجموعة الثانية (الشاهدة) (n=7): حيث تم حقن الإناث فيها بجرعة ٠.٢ مل/كغ حقناً عضلياً بشكل يومي ولمدة ٣٠ يوماً بمحلول فيزيولوجي.

بعد مرور ٣٠ يوماً تم إعدام جميع الإناث واستئصال الرحم لإجراء الدراسة النسيجية وملاحظه التغيرات النسيجية الحاصلة في بطانة الرحم.

تجهيز الحيوان لإجراء الشق لجراحي

الصورة رقم (٣)

إجراء الشق الجراحي و استئصال الرحم

الصورة رقم (٤)

٢. وزن الأرحام:

تم وزن الأرحام المستأصلة من الأرانب مباشرة بعد استئصال المبايض وتسجيل الأوزان التي تم الحصول عليها.

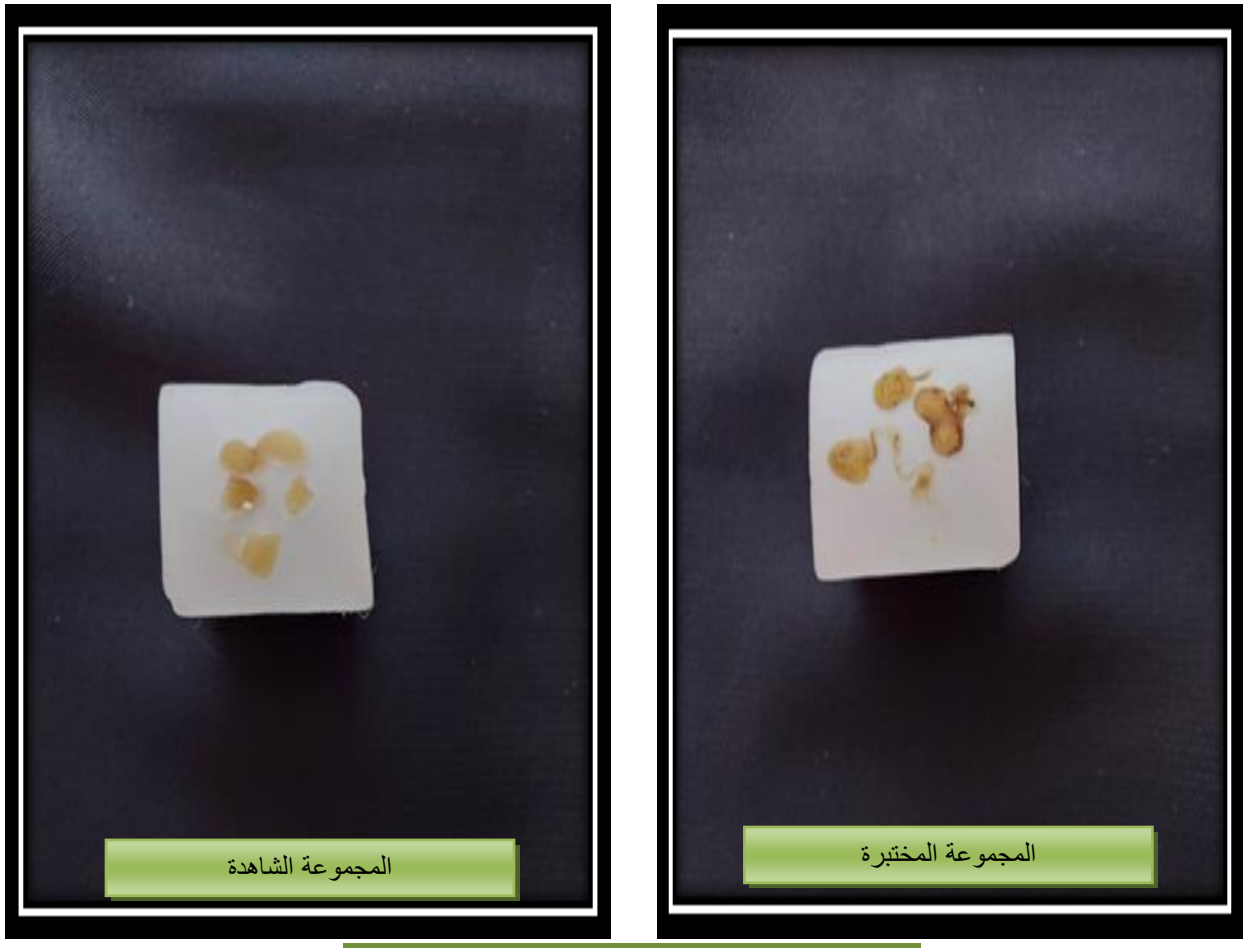
وزن الأرحام على ميزان الكتروني حساس

الصورة رقم (٥)

وزن الأرحام بعد استئصال المبايض لكل من مجموعة التجربة والمجموعة الشاهدة بواسطة ميزان الكتروني حساس، وتم تسجيل الوزن بال(غ).

٣. الدراسة النسيجية:

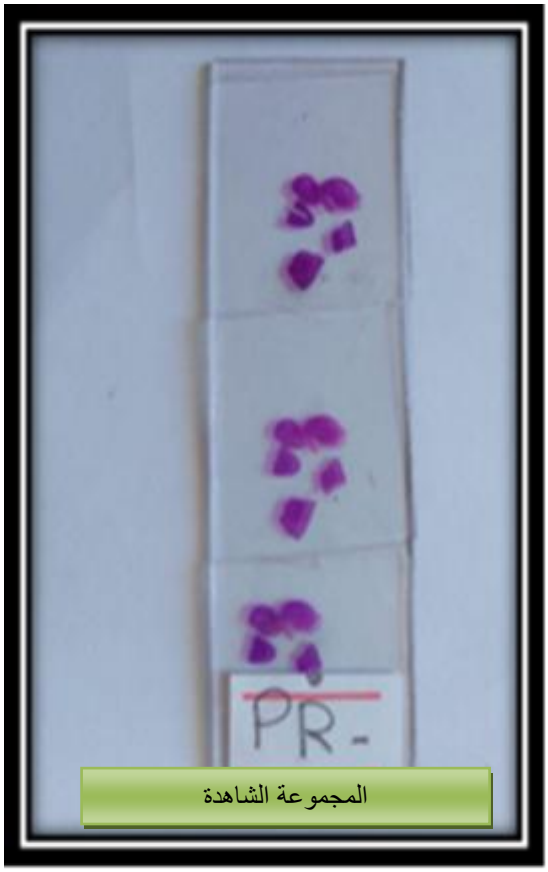
تم تشريح الرحم في أسرع وقت ممكن بعد الذبح ووضع في الفورمالين الممدد (١٠٪) لمدة يومين للحفظ . ثم تجفيف المواد الثابتة في درجات تصاعدية من الإيثانول، وتنظيفها في ميثيل بنزوات ثم دمجها في شمع البارافين.



العينات بعد دمجها في شمع البارافين

الصورة رقم (٦)

تم إجراء مقاطع البارافين التسلسلية المتقاطعة بسماكة (٥) ميكرومتر بواسطة الميكروتوم وصبغها بصبغة الهيماتوكسيلين والأيوزين لإجراء فحص نسيجي عام.



العينات بعد صباغتها بصبغة الهيماتوكسلين أيوزين
الصورة رقم (٧)

الدراسة الاحصائية Statistical Study:

تم اجراء دراسة إحصائية لمتغيرات الدراسة ومقارنة مستوى المعنوية عند مستوى ($p<0.05$) وقيمة المعنوية وذلك باستخدام اختبار (T-Student) و برنامج (spss20) النسخة العشرون.

النتائج
Results

النتائج (Results)

١ – النتائج العيانية والأوزان:

بعد مرور حوالي ٣٠ يوماً من بداية إجراء التجربة، تم ذبح جميع الإناث واستئصال الأرحام عندها. مع الانتباه وملاحظة وجود أي تغيرات عيانية يمكن مشاهدتها على هذه الأرحام المستأصلة بالإضافة إلى وزنها بعد إزالة المبايض منها. لوحظ في مجموعة التجربة التي تم حقنها بمركب ميدروكسي بروجسترون أسيتات تغيرات عيانية واضحة تتمثل في تضخم واحتقان الرحم ، يشير الجدول رقم (٢) إلى الأوزان المسجلة للأرحام في مجموعتي التجربة والشاهد.

المجموعة المختبرة	المجموعة الشاهدة
3.60	1.68
3.97	1.25
4.22	2.15
3.22	1.70
2.95	1.55
3.42	2.90
4.12	2.87
0.47±3.64	0.65±2.01

جدول رقم (٢): وزن الأرحام المستأصلة مقدرة بال (غ) لحيوانات مجموعة الشاهد والتجربة، حيث يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين عند مستوى ($p<0.05$).

٢- التغيرات النسيجية:

تظهر الصور المجهرية في مجموعة التجربة للمقطع العرضي في الرحم المعالج لمده (٣٠ يوماً) بمركب ميدروكسي بروجيسترون أسيتات تطور واضح في الظهارة اللمعية للرحم حيث لوحظ ازدياد وسماكة في خلايا (ظهارة اللمعة) مقارنةً مع مجموعة الشاهد، مع ملاحظه بعض الأوعية الدموية المتوسعة في بطانة الرحم في مجموعة التجربة في حين كانت الأوعية الدموية في مجموعة الشاهد ذات تطور ضعيف. وقد لُوحظ في الجدول رقم (٣) وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مجموعتي الدراسة حيث كان متوسط قياس سماكة بطانة الرحم في مجموعة التجربة حوالي (0.56±1.786) ملم وقد كانت هذه السماكة أكبر مقارنة بمجموعة الشاهد (0.44±0.929) ملم. وجود بعض الاختلاف في سماكة البطانة بين العينات كان بسبب الاختلاف في أطوار الدورة التناسلية عند إعدام الحيوانات.

المجموعة المختبرة	المجموعة الشاهدة
1.5	0.5
2	0.5
2.5	1
1.5	0.5
1	1
1.5	1.5
2.5	1.5
0.56±1.786	0.65±2.01

الجدول رقم (٣): يظهر سماكة بطانة الرحم مقدرة بالـ (ملم) بين (PR−) مجموعة الشاهد و (PR+) مجموعة التجربة، حيث يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين عند مستوى ($p<0.05$).

٢-١ التغيرات النسيجية الحاصلة في الظهارة:

يلاحظ وجود تغيرات نسيجية واضحة في كل من لظهارة اللمعية (Luminal epithelium)، والظهارة الغدية (Glandular epithelium) بعد الحقن الخارجي للبروجسترون لمدة ٣٠ يوماً.

٢-١-١ التغيرات في الظهارة اللمعية (Luminal epithelium):

تطور الظهارة اللمعية (**LE**)، مع وجود إفرازات غزيرة من الغليكوجين ضمن اللمعة. المجموعة المختبرة

الصورة رقم (٨)

غياب تطور الظهارة اللمعية (**LE**). المجموعة الشاهدة

LE:Luminal epithelium

الصورة رقم (٩)

تشير الاسهم باللون الأسود الصورة (٩) الى نقص في تطور الظهارة اللمعية Luminal epithelium، مع تطور ضعيف في الغدد البطانية الرحمية، في المجموعة الشاهدة مقارنةً مع تطور واضح في خلايا الظهارة اللمعية صورة (٨) الأسهم باللون الأصفر في مجموعة التجربة.

٢-١-٢ التغيرات في الظهارة الغدية (Glandular epithelium):

لم يقتصر تأثير الاستخدام المديد للبروجسترون خارجي المنشأ على احداث تغيرات في الظهارة اللمعية فقط بل كان له تأثيرات في الغدد البطانية الرحمية في الظهارة الغدية (GE) مع تطور واضح في السدى لصالح المجموعة المختبرة، حيث ان الغدد الرحمية في المجموعة المختبرة كانت بشكل اسطواني مفلطح مفَرغه، مع وجود كميات وفيرة من الغليكوجين ضمن السدى الصورة رقم (١٠)

فيما كانت الظهارة الغدية في المجموعة الشاهدة ناقصة التطور حيث كانت الغدد الرحمية صغيرة الحجم محاطه بظهارة مكعبة نواتها صغيره الصورة رقم(١١)

صورة في الظهارة الغدية(GE)، كمية قليلة من الغدد الرحمية تبدو بشكل اسطواني مفلطح مع تواجد كميات وفيرة من الغليكوجين ضمن الغدد.

الصورة رقم (١٠)

تبدو الغدد الرحمية ناقصة التطور محاطة بظهارة مكعبة نواتها صغيرة الحجم.

الصورة رقم (١١)

تشير الأسهم باللون الأزرق إلى أماكن تواجد الغدد الرحمية الصورة رقم (١١) التي تبدو ناقصة التطور لمعتها صغيرة قليلة المفرزات، في حين تشير الأسهم باللون الأسود إلى أماكن تواجد الغدد الرحمية المتوسعة الصورة رقم (١٠) التي أبدت عدة طبقات مع توسع في اللمعة ووجود كميات وفيرة من الغليكوجين كما تشير الأسهم باللون الأصفر.

المناقشة
Discussion

المناقشة (Discussion):

أظهرت الصور المجهرية في مجموعة التجربة للمقطع العرضي في الرحم المعالج لمده (٣٠ يوماً) بمركب ميدروكسي بروجيسترون أسيتات تطور واضح في الظهارة اللمعية حيث لوحظ ازدياد وسماكة في خلايا (ظهارة اللمعة) مقارنةً مع مجموعة الشاهد، مع ملاحظه بعض الأوعية الدموية الطفيفة في بطانة الرحم في مجموعة التجربة. وقد لوحظ وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مجموعتي الدراسة حيث كان متوسط قياس سماكة بطانة الرحم في مجموعة التجربة حوالي (1.786±0.56) ملم وقد كانت هذه السماكة أكبر مقارنة بمجموعة الشاهد (0.929±0.44) ملم. وجود بعض الاختلاف في سماكة البطانة بين العينات بسبب الاختلاف في أطوار الدورة التناسلية عند اعدام الحيوانات.

عند مقارنة العينات عيانياً لوحظ وجود ضخامة وانتباج أكبر لصالح المجموعة التي تم اعطاؤها البروجستيرون مقارنةً مع مجموعة الشاهد. كذلك أظهرت المقاطع النسيجية المأخوذة من بطانة رحم مجموعة التجربة وجود سماكة أكبر في بطانة الرحم (1.786±0.56) ملم مع زيادة في طول كل من الخلايا الظهارية وتحولها من خلايا مكعبة إلى خلايا أسطوانية، والغدد الرحمية ازداد عدد طبقاتها مع وجود كبر في الحجم وتوسع في اللمعة.

إن المعاملة طويلة الأمد بالبروجستيرون تعزز النشاط الإفرازي للرحم وهذا ما أشارت إليه العديد من الدراسات التي أجريت على خنازير تم استئصال مبايضها، بحيث تصبح الظهارة مشابهة لتلك المشاهدة في مرحلة الحمل (Knight *et al.*, 1977; Basha *et al.*, 1980). واقترحت هذه الدراسات أيضاً إلى أن البروجستيرون لوحده وبمعزل عن العوامل المتعلقة بالمبيض أو المشيمة قد كان كافياً ليدعم الحمل وإفراز المواد المغذية للجنين من بطانة الرحم، الأمر الذي تم تأكيده بعدما تم العثور على البروتين المفرز من لمعة بطانة الرحم وذلك عند خنازير

استأصلت مبايضها وتم إعطاؤها البروجستيرون لمدة ٦٠ يوماً (Schlosnagle *et al.*, 1974; Basha *et al.*, 1980). وعلى الرغم من هذا فإنه وعند الأرانب والخنازير والأغنام تم اقتراح وجود تفاعلات بين البروتين اللاكتوجيني المشيمي والهرمونات المبيضية بحيث يتم تشكل آلية مؤازرة تنظم إعادة تشكيل بطانة الرحم والوظيفة الإفرازية ونمو الرحم (Young *et al.*, 1990). حيث أن آلية المؤازرة هذه يمكن أن تكون هي المسؤولة عن تطور الغدد الرحمية وزيادة امتداد أنابيبها مع زيادة سماكة بطانة الرحم (Perry and Crombie,1982; Sinowatz and Friess,1983). وعلى عكس الغدد الرحمية فإن الخلايا المبطنة للمعة الرحم قد استجابت للبروجستيرون مورفولوجياً وذلك بتغير شكلها من ظهارة مكعبة إلى ظهارة أسطوانية الشكل، ونظراً ولأنه من الطبيعي للخلايا الظهارية المبطنة للجهاز التناسلي الأنثوي أن يتغير شكلها وتصبح أطول مع ازدياد النشاط الإفرازي لذلك فمن المحتمل بأن الخلايا الظهارية المبطنة للرحم عند المجموعة المعاملة بالبروجستيرون قد استجابت للبروجسترون بزيادة تصنيع وإفراز مواد تغذية الجنين إلى لمعة الرحم (Davies and Hoffman,1975; Brenner,1994). بالتالي يمكن أن نستنتج أن البروجستيرون لوحده على الأقل يزيد النشاط الافرازي لبطانة الرحم، ولكن ومع الافراز الطويل أو المديد للبروجستيرون على بطانة الرحم يجعل الخلايا الظهارية مجهدة بسبب الضغط الطويل عليها من خلال حقن البروجسترون خارجي المنشأ لفترة طويلة مما يضعف العملية الإفرازية. كذلك فإن البروجسترون يعمل على عرقلة هجرة كريات الدم البيض بكافة أشكالها وبالتالي تصبح بطانة الرحم عرضة للالتهابات الرحمية (Daels, 2006)

وعلى الرغم من ان حقن البروجسترون طويلة الأمد تعتبر وسيلة فعالة لإدارة التناسل عند الحيوانات الاليفة الا أنه ونتيجة التعرض المستمر للبروجستينات الخارجية قد أدت إلى حدوث كيسات في بطانة الرحم مع إمكانية حدوث تضخم والتهاب في بطانة الرحم عند كلبات عولجت لمده (٣) سنوات بمركب (MPA)(Kim *et al.*, 2005)

وعلى اعتبار أن إحدى آليات قمع الحمل التي تسببها البروجستينات هي خلق بيئة غير جيدة لمرور النطاف لمكان الإخصاب كما ذكر (Brache *et al.*, 1985) كان لابد من الإشارة إلى أن هذه الآلية لاتخلو من التأثيرات السلبية حيث أنه عند معالجة الفئران بمركب (MPA) إزدادت قابلية الإصابة بفايرس الهربس(Hsv-2) بنسبه 100 ضعف في حين أن الفئران التي كانت في مرحلة الشبق لم تبدِ أي تأثر بعدوى فايرس (Hsv-2) حتى عند مستويات عالية من الجرعة المعدية.

حيث أن العلاجات طويلة الأمد تسببت بتغيرات في قابلية الإصابة والإستجابات المناعية المحلية للأعضاء التناسلية مؤدية إلى خفض مستويات الأجسام المضادة (IgA) الذي يلعب دوراً اساسياً في الدفاع عن الجهاز التناسلي ضد الاصابات الفيروسية (Kaushic *et al.*, 2003) وهذا يتفق مع ما أوضحه (Daels, 2006)

الاستنتاجات
Conclusions

الاستنتاجات (Conclusions)

يستنتج من هذا البحث:

١. إن الاستخدام طويل الأمد للبروجستيرون خارجي المنشأ يؤدي إلى زيادة وزن الأرحام عند الحيوانات المعاملة.

٢. إن الاستخدام طويل الأمد للبروجستيرون خارجي المنشأ يؤدي إلى حدوث انتباج وزيادة سماكة ظهارة بطانة الرحم نتيجة فرط التنسج فيها وتحول الخلايا إلى خلايا مكعبة ثم أسطوانية.

٣. إن الاستخدام طويل الأمد للبروجستيرون خارجي المنشأ يؤدي إلى توسع في الأوعية الدموية بالإضافة إلى حدوث استحالة ساقطية في ظهارة بطانة الرحم.

٤. من خلال ما تم ذكره يمكن استنتاج بأن استخدام البروجستينات طويل الأمد يؤدي إلى ضعف خصوبة في بطانة الرحم.

التوصيات
Recommendations

التوصيات (Recommendations):

١. إجراء دراسة نسيجية لتأثير الاستخدام طويل الأمد للبروجستيرون على أقسام أخرى من الجهاز التناسلي الأنثوي مثل المبيض وعنق الرحم.

٢. إجراء دراسة نسيجية لتأثير الاستخدام طويل الأمد للبروجستيرون بالمزامنة مع الأستروجين على بطانة الرحم وعنق الرحم.

٣. إجراء دراسة نسيجية لتأثير الاستخدام طويل الأمد للبروجستيرون في مراحل مختلفة من الدورة التناسلية.

٤. إجراء دراسة نسيجية على الأغنام والماعز لمعرفة الآثار السلبية لاستخدام البروجستيرون طويل الأمد الموجود في الاسفنجات المهبلية على بطانة الرحم.

ذ

الملخص

أجري البحث بهدف معرفة تأثير حقن البروجستيرون طويل الأمد في ظهارة بطانة الرحم لدى الأرانب. تمت هذه التجربة على مجموعة من إناث الأرانب الناضجة بمتوسط وزن (٢±٠.٣) كغ حيث وضعت جميع الإناث ضمن نفس الشروط الصحية والتغذوية. قسمت الأرانب عشوائياً إلى مجموعتين، المجموعة الأولى (n=7) استخدمت كمجموعة شاهد تم حقنها بمحلول فيزيولوجي ٠.٢ مل/كغ حقناً عضلياً بشكل يومي ولمدة ٣٠ يوماً. والمجموعة الثانية وهي مجموعة التجربة (n=7) حقنت الإناث منها بجرعة ٠.٢ مل/كغ حقناً عضلياً بشكل يومي ولمدة ٣٠ يوماً بمركب ميدروكسي بروجسترون أسيتات (Depo Provera) . بعد مرور ٣٠ يوماً تم ذبح جميع الإناث واستئصال الرحم ثم وزنها لإجراء الدراسة التشريحية والنسيجية وملاحظة التغيرات الحاصلة في بطانة الرحم.

تم ملاحظة وجود تغييرات عيانية واضحة في مجموعة التجربة والتي تم حقنها بمركب ميدروكسي بروجسترون أسيتات تمثلت هذه التغييرات في تضخم وانتباج الرحم مع زيادة في الوزن مقارنةً مع المجموعة الشاهدة. كذلك تم ملاحظة وجود تطور واضح في الظهارة اللمعية حيث لوحظ ازدياد وسماكة في خلاياها مقارنةً مع المجموعة الشاهدة، وقد لوحظ وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مجموعتي الدراسة حيث كان متوسط قياس سماكة بطانة الرحم في مجموعة التجربة حوالي (١.٧٨٦±٠.٥٦) ملم وقد كانت هذه السماكة أكبر مقارنةً بمجموعة الشاهد (٠.٩٢٩±٠.٤٤) ملم.

نستنتج من هذه الدراسة أن الحقن طويل الأمد للبروجستيرون يمتلك تأثيرات سلبية كبيرة في بطانة الرحم تتمثل في حدوث انتباج الرحم وزيادة سماكة ظهارة بطانته وبالتالي حدوث استحالة ساقطية لبطانة الرحم.

الكلمات المفتاحية: أرانب، بطانة رحم، البروجستيرون، تغييرات نسيجية.

الملخص باللغة الانكليزية
Abstract

الملخص باللغة الانكليزية

Abstract

The study was conducted with the aim of knowing the effect of long-term progesterone administration on the endometrial epithelium of rabbits. This experiment was carried out on a group of mature females rabbits with an average weight of (2±0.3) kg, where all females were placed under the same health and nutritional conditions. Rabbits were divided into two groups, the first group (n=7), which was used as a control group. The second group is the experimental group (n=7), where the females were injected with a dose of 0.2 mg/kg im daily for 30 days in a row with the compound medroxyprogesterone acetate (Depo provera). After 30 days, all the females were executed and the hysterectomy was carried out to conduct the anatomical and histological study and to note the changes in the endometrium.

The presence of clear macroscopic changes were observed in the experimental group that was injected with medroxyprogesterone acetate, those changes represented in the enlargement and rupture of the uterus with an increase in weight compared to the control group. It was also noted that there was a clear development in the luminal epithelium, where an increase and rise in its cells was noted compared with the control group. It was noted that there were significant differences ($p<0.05$) between the two study groups, where the average measurement of endometrial thickness in the experimental group was about (1.786 ± 0.56) mm, and this thickness was greater compared to the control group (0.929 ± 0.44) mm..

We conclude from this study that the long-term administration of progesterone has important effects on the endometrium represented in the occurrence of extrusion and thickening of the endometrial epithelium.

Keywords Rabbits, Endometrium, Progesterone, Histological Changes.

المراجع
References

المراجع (References):

المراجع العربية:

١.**ركبي، م. (٢٠٠٧)** تأثير معاملات هرمونية مختلفة لتوقيت الشبق في الكفاءة التناسلية للمعز الشامي مجلة باسل الأسد للعلوم الهندسية، العدد٢٣.

المراجع الأجنبية:

1. Al-Asmakh, M. (2007). Reproductive functions of progesterone. Middle East Fertility Society Journal, 12(3), 147.
2. Ahmed Amer, H., & Maher Hazzaa, A. (2009). The effect of different progesterone protocols on the reproductive efficiency of ewes during the nonbreeding season. Veterinarski arhiv, 79(1), 19-30.
3. Brache, V., Faúndes, A., Johansson, E., & Alvarez, F. (1985). Anovulation, inadequate luteal phase and poor sperm penetration in cervical mucus during prolonged use of NorplantR implants. Contraception, 31(3), 261-273.
4. Bailey, D. W., Dunlap, K. A., Erikson, D. W., Patel, A. K., Bazer, F. W., Burghardt, R. C., & Johnson, G. A. (2010). Effects of long-term progesterone exposure on porcine uterine gene expression: progesterone alone does not induce secreted phosphoprotein 1 (osteopontin) in glandular epithelium. Reproduction, 140(4), 595-604.
5. Concannon, P.W., Altszuler, N., Hampshire, J., et al., (1980). Growth hormone, prolactin and cortisol in dogs developing mammary nodules and an acromegaly-like appearance during treatment with medroxyprogesterone acetate. Endocrinology; 106(4):1173-1177.
6. De Lignieres, B., Dennerstein, L., & Backstrom, T. (1995). Influence of route of administration on progesterone metabolism. Maturitas, 21(3), 251-257.
7. Djerassi, C. (1992). Steroid research at Syntex:“the pill” and cortisone. Steroids, 57(12), 631-641.

8. Dow, C., (1957). The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. Vet. Rec., 69:1409-1415.
9. Daels, P. (2006). Progesterone therapy and pregnancy loss.
10. Davies, J., & Hoffman, L. H. (1975). Studies on the progestational endometrium of the rabbit. II. Electron microscopy, day 0 to day 13 of gonadotrophininduced pseudopregnancy. American Journal of Anatomy, 142(3), 335-365.
11. Eigenmann, J.E., Rijnberk, A., (1981). Influence of medroxyprogesterone acetate (Provera) on plasma growth hormone levels and on carbohydrate metabolism. I. Studies in the ovariohysterectomized bitch. Acta Endocrinol (Copenh) 98(4):599-602.
12. Faggion C. M., Jr (2012). Guidelines for reporting pre-clinical in vitro studies on dental materials. The journal of evidence-based dental practice, 12(4), 182–189
13. Fotherby, K., Howard, G., Shrimanker, K., Elder, M., & Bye, P. G. T. (1978). Occurrence of ovulation in women receiving the injectable contraceptive norethisterone oenanthate. Contraception, 18(5), 535-542.
14. Fagundes, D. J., & Taha, M. O. (2004). Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. Acta Cirúrgica Brasileira, 19(1), 59-65.
15. .Freitas, V.J., Baril, G., Martin, G.B., Samaude, J. (1997). Physiological limits to further improvement in the efficiency of oestrus synchronization in goats. J ReprodFertil; 9(5):551-556.
16. Ganellin, C. R. (Ed.). (2006). Analogue-based drug discovery. John Wiley & Sons.
17. Graham, J. D., & Clarke, C. L. (1997). Physiological action of progesterone in target tissues. Endocrine reviews, 18(4), 502-519.
18. Holtz, W., Sohnrey, B., Gerland, M., & Driancourt, M. A. (2008). Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats. Theriogenology, 69(7), 785- 792.
19. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, International Agency for Research on Cancer, & World Health Organization. (1999). Hormonal contraception and post-menopausal hormonal therapy (Vol. 72). World Health Organization.

20. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, World Health Organization, & International Agency for Research on Cancer. (2007). Combined estrogen-progestogen contraceptives and combined estrogen-progestogen menopausal therapy (Vol. 91). World Health Organization.
21. Knight, J. W., Bazer, F. W., Thatcher, W. W., Franke, D. E., & Wallace, H. D. (1977). Conceptus development in intact and unilaterally hysterectomized-ovariectomized gilts: interrelations among hormonal status, placental development, fetal fluids and fetal growth. Journal of animal science, 44(4), 620-637.
22. Kesserü-Koos, E. (1971). Influence of various hormonal contraceptives on sperm migration in vivo. Fertility and Sterility, 22(9), 584-603.
23. Kim-Björklund, T., Landgren, B. M., & Johannisson, E. (1991). Morphometric studies of the endometrium, the Fallopian tube and the corpus luteum during contraception with the 300 μg norethisterone (NET) minipill. Contraception, 43(5), 459-474.
24. Kuhl, H. (1996). Comparative pharmacology of newer progestogens. Drugs, 51(2), 188-215.
25. Kuhl, H. (2011). Pharmacology of progestogens. Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie-Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology, 8(1), 157-177.
26. Kooistra, H.S., Voorhout, G., Selman, P.J., et al.,(1998). Progestin-induced growth hormone (GH) production in the treatment of dogs with congenital GH deficiency. Domest. Anim Endocrinol., 15:93-102.
27. Kinder, J. E., Kojima, F. N., Bergfeld, E. G. M., Wehrman, M. E., & Fike, K. E. (1996). Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. Journal of animal science, 74(6), 1424-1440.
28. Kennelly, J. J., & Foote, R. H. (1965). SUPEROVULATORY RESPONSE OF PRF-AND POSTPUBERTAL RABBITS TO COMMERCIALLY AVAILABLE GONADOTROPHINS. Reproduction, 9(2), 177-188.
29. Kaushic, C., Ashkar, A. A., Reid, L. A., & Rosenthal, K. L. (2003). Progesterone increases susceptibility and decreases immune responses to genital herpes infection. Journal of virology, 77(8), 4558-4565.

30. Landgren, B. M., & Diczfalusy, E. (1980). Hormonal effects of the 300 microgram norethisterone (NET) minipill. I. Daily steroid levels in 43 subjects during a pretreatment cycle and during the second month of NET administration. Contraception, 21(1), 87–113.
31. Leboeuf, B., Forgerit, Y., Bernelas, D., Pougnard, J. L., Senty, E., & Driancourt, M. A. (2003). Efficacy of two types of vaginal sponges to control onset of oestrus, time of preovulatory LH peak and kidding rate in goats inseminated with variable numbers of spermatozoa. Theriogenology, 60(7), 1371-1378.
32. Lydon, J. P., DeMayo, F. J., Funk, C. R., Mani, S. K., Hughes, A. R., Montgomery, C. A., & O'Malley, B. W. (1995). Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. Genes & development, 9(18), 2266-2278.
33. McNitt, J. I., Lukefahr, S. D., Cheeke, P. R., & Patton, N. M. (2013). Rabbit production (No. Ed. 9). CABI.
34. Menegatos, J., Chadio, S.E., Karatzas, G. and Stoforos, E. (1995). Progesterone levels throughout progestagen treatment influence the establishment of pregnacy in the goat. Theriogenology, 43(8), pp.1365-1370.
35. Miziara, I. D., Magalhães, A. T., Santos, M. d., Gomes, E. F., & Oliveira, R. A. (2012). Research ethics in animal models. Brazilian journal of otorhinolaryngology, 78(2), 128–131.
36. Mishell Jr, D. R. (1967). Effect of 6α-methyl-17α-hydroxyprogesterone on urinary excretion of luteinizing hormone. American journal of obstetrics and gynecology, 99(1), 86-90.
37. Mishell Jr, D. R., Kletzky, O. A., Brenner, P. F., Roy, S., & Nicoloff, J. (1977). The effect of contraceptive steroids on hypothalamic-pituitary function. American journal of obstetrics and gynecology, 128(1), 60-74.
38. Moghissi, K. S., & Marks, C. (1971). Effects of microdose norgestrel on endogenous gonadotropic and steroid hormones, cervical mucus properties, vaginal cytology, and endometrium. Fertility and sterility, 22(7), 424-434.
39. Middleton, D.J., Watson, A.D., (1985). Glucose intolerance in cats given short-term therapies of prednisolone and megestrol acetate. Am .J. Vet. Res., 46(12):2623-2625.

40. Myers, K., & Poole, W. E. (1962). Oestrous cycles in the rabbit Oryctolagus cuniculus (L.). Nature, 195(4839), 358-359.
41. Massei, G., & Miller, L. A. (2013). Nonsurgical fertility control for managing free-roaming dog populations: a review of products and criteria for field applications. Theriogenology, 80(8), 829-838.
42. Nelson, L.W., Kelly, W.A., (1976). Progestogen-related gross and microscopic changes in female Beagles. Vet. Pathol., 13(2):143-56.
43. Pfeifer, S., & Strauss, J. (1996). Progestins. Reprod. Endocrinol. Surg. Technol, 1, 493-504.
44. Paixão, R. L., & Schramm, F. R. (1999). Ética e experimentação animal: o que está em debate?. Cadernos de Saúde Pública, 15, S99-S110.
45. Petta, C. A., Faundes, A., Dunson, T. R., Ramos, M., Delucio, M., Faundes, D., & Bahamondes, L. (1998). Timing of onset of contraceptive effectiveness in Depo-Provera users: Part I. Changes in cervical mucus. Fertility and sterility, 69(2), 252-257.
46. Perry, J. S., & Crombie, P. R. (1982). Ultrastructure of the uterine glands of the pig. Journal of Anatomy, 134(Pt 2), 339.
47. Rabe, T., Ahrendt, H. J., Merkle, E., Peters, K., Albring, C., Bitzer, J., ... & Mueck, A. O. (2013). Hormonimplantate zur Kontrazeption bei der Frau. Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie-Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology, 10(3), 168-180.
48. Regidor, P. A., & Schindler, A. E. (2017). Antiandrogenic and antimineralocorticoid health benefits of COC containing newer progestogens: dienogest and drospirenone. Oncotarget, 8(47), 83334.
49. Romagnoli, S., Concannon, P.W., (2007) Clinical use of progestins in bitches and queens: a review. Recent Advances in Small Animals Reproduction.
50. Ritar, A.J., Salamon, S., Ball, P.D. and O'May, P.J., 1989. Ovulation and fertility in goats after intravaginal device-PMSG treatment. Small Ruminant Res., 2:323-331.
51. Rivera, R., Yacobson, I., & Grimes, D. (1999). The mechanism of action of hormonal contraceptives and intrauterine contraceptive devices. American journal of obstetrics and gynecology, 181(5), 1263-1269.

52. Romagnoli, S. (2015). Progestins to control feline reproduction: Historical abuse of high doses and potentially safe use of low doses. Journal of feline medicine and surgery, 17(9), 743-752.
53. Regidor, P. A. (2018). The clinical relevance of progestogens in hormonal contraception: Present status and future developments. Oncotarget, 9(77), 34628.
54. Schlosnagle, D. C., Bazer, F. W., Tsibris, J. C., & Roberts, R. M. (1974). An iron-containing phosphatase induced by progesterone in the uterine fluids of pigs. Journal of Biological Chemistry, 249(23), 7574-7579.
55. Schimandle, J. H., & Boden, S. D. (1994). Spine update. The use of animal models to study spinal fusion. Spine, 19(17), 1998–2006
56. Schindler, A. E., Campagnoli, C., Druckmann, R., Huber, J., Pasqualini, J. R., Schweppe, K. W., & Thijssen, J. H. (2008). Reprint of classification and pharmacology of progestins. Maturitas, 61(1-2), 171-180.
57. Song, J. Y., Markham, R., Russell, P., Wong, T., Young, L., & Fraser, I. S. (1995). Endocrinology: The effect of high-dose medium-and long-term progestogen exposure on endometrial vessels. Human Reproduction, 10(4), 797-800.
58. Sinowatz F & Friess AE 1983 Uterine glands of the pig during pregnancy. An ultrastructural and cytochemical study. Anatomy and Embryology 166121–134.
59. Thijssen, J. H. (2007). Long-term effects of progestins on bone quality and fractures. Gynecological Endocrinology, 23(sup1), 45-52.
60. Voigt, L. F., Deng, Q., & Weiss, N. S. (1994). Recency, duration, and progestin content of oral contraceptives in relation to the incidence of endometrial cancer (Washington, USA). Cancer Causes & Control, 5(3), 227-233.
61. Wheaton, J. E., Carlson, K. M., Windels, H. F., & Johnston, L. J. (1993). CIDR: A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. Animal Reproduction Science, 33(1-4), 127-141.
62. Weikel, J.H., Nelson, L.W., (1977). Problems in evaluating chronic toxicity of contraceptive steroids in dogs. J. Toxic Environ Health., 3:167-77.

63. Young, K. H., Kraeling, R. R., & Bazer, F. W. (1990). Effect of pregnancy and exogenous ovarian steroids on endometrial prolactin receptor ontogeny and uterine secretory response in pigs. Biology of Reproduction, 43(4), 592-599.