

تأثير نظمية التبدلات لمستويات القشرانيات السكرية على كل من تحرر السيروتونين  
في الساعة البيولوجية ومستويات غلوكوز الدم.

د.زينة مالك  
كلية الصيدلة  
الجامعة السورية الخاصة  
[zeina\\_malek@hotmail.com](mailto:zeina_malek@hotmail.com)  
0988451960

**The effect of Glucocorticoids rhythm on serotonin release  
within the hypothalamic suprachiasmatic nuclei; the locus of  
the Biological Clock: functional relationship with blood  
glucose.**

Zeina MALEK  
Faculty of Pharmacy  
Syrian Private University  
[zeina\\_malek@hotmail.com](mailto:zeina_malek@hotmail.com)  
0988451960

## الملخص

يتحرر الناقل العصبي سيروتونين بصورة نظمية في عصبونات النوى فوق التصالبية الوطانية حيث تتوضع الساعة البيولوجية. في هذا البحث، قمنا بتطوير مجموعة من الطرائق المستخدمة على الجرذ الحي والحر بحركته لمعرفة دور القشرانيات السكرية في نظم تحرر السيروتونين. تؤدي إزالة التغيرات اليوماوية للقشرانيات السكرية بنتيجة استئصال الغدد الكظرية إلى غياب كامل في نظم تحرر السيروتونين في الساعة البيولوجية. أيضاً، فإن ترميم التغيرات اليوماوية للقشرانيات السكرية بصورة مصطنعة عن طريق إضافة الهرمون ليلاً إلى ماء الشرب يتزامن مع استعادة كاملة للنظم اليوماوي للسيروتونين المتحرر في الساعة البيولوجية مما يقترح أن الساعة البيولوجية تنظم تحرر السيروتونين عن طريق هرمونات قشر الكظر السكرية. من جهة ثانية، ولكون القشرانيات السكرية فاعلة في التوازن الاستقلابي لسكر الدم تحت شروط الكرب وأيضاً تحت شروط تعاقب الراحة والفعالية، قمنا بدراسة أثر غياب النظم اليوماوي لتلك الهرمونات أيضاً على سكر الدم، حيث لوحظ تغير جذري في نظم سكر الدم وذلك على مستويين اثنين: التركيز والنافذة الزمنية. أخيراً، يقترح فشل التعويض الهرموني في استعادة نظم سكر الدم وجود عدة آليات تتدخل على الصعيدين الاستقلابي واليوماوي لضبط سكر الدم.

**الكلمات المفتاحية:** سيروتونين-نظم يوماوي-ساعة بيولوجية-قشرانيات سكرية-غلوكوز الدم

## **Abstract**

In this study, we investigated the effect of abolishing the daily rhythm of glucocorticoids on serotonin release within the circadian clock of the suprachiasmatic nuclei. The well-known day-night variations in serotonin levels within the hypothalamic circadian clock was totally lost in adrenalectomized rats. Moreover, the artificial restoration of glucocorticoids surge, using corticosterone in drinking water exclusively during night, was able to reestablish daily rhythm of serotonin in the circadian clock. On the other hand, the daily variation of blood glucose, another rhythmic output of the circadian clock, known to be dependent upon glucocorticoid physiological effects as a part of the metabolic homeostasis process, showed marked differences under adrenalectomy, both at concentration and time of peak levels. Nevertheless, the artificial restoration of the glucocorticoids rhythm failed to recreate daily profiles of blood glucose which suggest the presence of a multilevel control system tacking in consideration both daily rhythms and metabolism.

**Keywords:** Serotonin- Circadian Rhythm- Biological Clock- Glucocorticoids- Blood Glucose.

## مقدمة Introduction

تتحكم الساعة البيولوجية (Circadian Clock) التي تتوضع في النوى الوطانية فوق التصالبية (the Hypothalamic Suprachiasmatic Nuclei) بالنظم اليوماوي لعدد من الفعاليات المتعلقة بالكائنات الحية: من الحركة إلى نظم النوم واليقظة مروراً بالاستقلاب وحتى الجهاز الصماوي ومفرزاته [1-3]. وترتبط الساعة البيولوجية تشريحياً بالنوى المُركبة للناقل العصبي سيروتونين (Serotonin) وهي نوى رافيه الموجودة في جذع الدماغ (Midbrain Raphe Nuclei) [4-8]. وظيفياً، يُعتبر هذا الارتباط ثنائي الجانب؛ حيث تقوم الساعة البيولوجية بضبط العمل النظمي لعصبونات السيروتونين من خلال إرسال إشارات ناظمة عبر هرمونات قشر الكظر مباشرةً إلى نوى رافيه [9] وتتجلى نظمية عصبونات نوى رافيه على مستويين: الأول يخص تركيب الناقل العصبي [10-11] والثاني يخص تحرره في النوى فوق التصالبية [12-13]. ومن جهة ثانية، يتدخل الناقل العصبي سيروتونين بضبط الساعة البيولوجية حيث يؤدي تخريب العصبونات السيروتونية المرتبطة مع الساعة البيولوجية إلى اضطراب في الوظائف النظمية للساعة البيولوجية [14-15].

يُعرف السيروتونين بتدخله في العديد من الوظائف الفيزيولوجية المركزية منها والمحيطية وذلك إلى جانب دوره ضمن منظومة الجهاز اليوماوي [16-20]. ويتم تركيب الناقل العصبي سيروتونين اعتباراً من الحمض الأميني الأساسي تريبتوفان عبر مرحلتين أنزيميتين تُعتبر الأولى منهما فقط مُحددة لعملية التركيب، ويتوسط هذه المرحلة المُحددة أنزيم التريبتوفان هيدروكسيلاز (Tryptophan Hydroxylase) [21-22]. بينت دراسات سابقة أن تركيب السيروتونين، ممثلاً بتتبع أنزيم التريبتوفان هيدروكسيلاز على مستوى الحمض الريبي النووي المرسل والبروتين، يبدي نظماً يومياً داخلي المنشأ أي أنه تحت سيطرة الساعة البيولوجية [10-11]. ودُرست العلاقة الوظيفية بين الساعة البيولوجية والنظم اليوماوي لتركيب الناقل العصبي المذكور وتبين أن استئصال الغدة الكظرية يؤدي إلى غياب كامل لنظم التركيب، وأن الترميم الاصطناعي لنظم هرمونات قشر الكظر يعيد وبصورة كاملة نظم تركيب السيروتونين [9].

استقلابياً، تُعرف هرمونات قشر الكظر باسم القشرانيات السكرية (Glucocorticoids)، مما يدل على كونها تتدخل مباشرةً باستقلاب الغلوكوز في الجسم وذلك تبعاً للحالة الغذائية (صيام-غذاء) وأيضاً للنظم اليوماوي للجسم (راحة-فعالية)، حيث تُعرف بقدرتها على خفض أخذ السكر على مستوى النسيج بهدف إبقاء مستوياته بحالة ارتفاع في الدم وذلك قبل فترة اليقظة من جهة ومن جهة ثانية تجاوباً مع أي نوع من أنواع الكرب (Stress): استقلابي، حراري، جهدي، ألمي، أو انفعالي [23]. في دراسة مسيقة، تم تتبع غلوكوز الدم في ظل غياب القشرانيات السكرية وذلك ضمن نافذتين زمنيتين: صباحية ومساوية واقتُرح أن غياب نظم القشرانيات السكرية يُحفز نشوء توازن استقلابي رافع لسكر الدم على السواء صباحاً ومساءً [24].

## أهمية البحث وأهدافه Objectives and Importance

تكمن أهمية هذا البحث في كونه يسمح بفهم أفضل لآليات انتقال الأوامر التي تنظم الفعاليات اليوماوية العصبية لنوى السيروتونين والاستقلابية لغلوكوز الدم اعتباراً من مكان نشوئها في الساعة البيولوجية وحتى الأهداف الفيزيولوجية التي يتم تتبعها في هذا البحث. ويهدف هذا البحث إلى استكمال الرؤية التي تخص آلية عمل عصبونات السيروتونين المعروفة باتباع سلوك نظمي فيما يخص تركيب الناقل العصبي سيروتونين من جهة، وتوسيع طيف تأثيرات القشرانيات السكرية كأدوات تسخرها الساعة البيولوجية لضبط نظم عدد أكبر من المعايير الفيزيولوجية كغلوكوز الدم من جهة ثانية.

تماشياً مع المعطيات السابقة، فإن هرمونات قشر الكظر وبشكل خاص القشرانيات السكرية التي تتحكم بنظم تركيب الناقل العصبي سيروتونين، ستؤثر وبصورة واضحة على تحرر هذا الناقل في النوى فوق التصالبية. فإن تراكيز السيروتونين التي تتحرر في مستوى النوى فوق التصالبية ماهي إلا انعكاس مباشر للكيمياء التي تم تركيبها في أجسام الخلايا العصبية لنوى رافيه ونقلها بعدها للنهايات العصبية في الوطاء، لذلك ننتظر أن يؤثر غياب نظم القشرانيات السكرية على نظم تحرر السيروتونين.

بصورة مماثلة، فإن نَظْم القشرانيات السكرية سيحمل تأثيراً واضحاً على مستويات غلوكوز الدم اليوماوية وذلك ضمن السياق الاستقلابي العام المرتبط بتوازن خزن واستخدام الغلوكوز من قبل نسج الجسم تحت تأثير الساعة البيولوجية وذلك بواسطة القشرانيات السكرية. استقلابياً، تمتلك القشرانيات السكرية تأثيراً فيزيولوجياً رافعاً لسكر الدم وذلك من خلال حث الكبد على اتخاذ التوازن الصيامي (من النوع غلوكاغون) على حساب التوازن الغذائي (من النوع أنسولين).

يتناول هذا البحث مجموعة من التساؤلات التي تخص تأثير هرمونات قشر الكظر على مجموعة من المعايير التي تتدخل مباشرة في عمل المنظومة اليوماوية، وهي تحرر السيروتونين وغلوكوز الدم:

- 1- هل يؤدي غياب النَظْم اليوماوي للقشرانيات السكرية إلى غياب نَظْم تحرر الناقل العصبي سيروتونين في النوى فوق التصالبية الوطائية؟ وهل (في حال كان الجواب نعم) هل يؤدي ترميم نَظْم القشرانيات السكرية بصورة مصطنعة (عن طريق التعويض الهرموني) إلى ترميم نَظْم التحرر في النوى نفسها؟
- 2- هل توجد علاقة وظيفية بين مستويات سكر الدم على مدار اليوم كاملاً ونَظْم القشرانيات السكرية؟

## طريقة البحث ومواده Materials and Methods

يقوم هذا البحث على استخدام مجموعة من الطرائق على الجرذ wistar الحي والحر بحركته (in vivo experimentation)، حيث تم استخدام الديال الغشائي الدقيق في الدماغ (Intracerebral Microdialysis) من جهة وتم زرع قساطر في الشريان السباتي (Intracarotid catheterization) لسحب عينات دموية تكرارية للمعايرة الهرمونية وتراكيز غلوكوز الدم. يعطي استخدام هذه الطرائق بعداً فيزيولوجياً ذو أهمية خاصة للمعطيات التي تم جمعها. فيما يخص المقارنات الإحصائية، استخدمت طريقة ANOVA (Analysis Of Variance) للدراسة الإحصائية المقارنة لكل من تراكيز هرمون الكورتيكوسترون (Corticosterone) وغلوكوز الدم والناقل العصبي سيروتونين (Serotonin) في النوى الوطائية. تم استخدام كافة هذه الطرائق ضمن سياق أهداف البحث المشار إليها وذلك في مخابر المركز الوطني للبحث العلمي التابع لكلية علوم الصحة والحياة في جامعة ستراسبورغ (فرنسا).

### أولاً: المجموعات الحيوانية Animal Groups

تم استخدام جرذان ذكور من السلالة (wistar) من كلية الطب بجامعة ستراسبورغ (فرنسا) لهذه الدراسة حيث حُضِنَتْ في شروط نموذجية لتعاقب الضوء والظلام بمعدل 12:12 (أي تعاقب 12 ساعة من الضوء مع 12 ساعة من الظلام)، حيث يتم ضبط الإضاءة بصورة آلية وتمتد فترة الإضاءة اعتباراً من الساعة السادسة وحتى الساعة الثامنة عشر (السادسة مساءً) مع توفر مستمر لكل من الغذاء والماء. تم اختيار جرذان تبلغ من العمر خمسة أسابيع وبوزن وسطي حوالي 200 غرام وحُضِنَتْ في الشروط النموذجية لمدة أسبوع كامل قبل إخضاعها لجراحة أزيلت خلالها الغدة الكظرية بصورة كاملة بشق ظهري أحادي وذلك تحت التخدير العام. ولدى الانتهاء من الجراحة، تم إضافة مضغوطات تحت الجلد تحتوي على القشراني السكري كورتيكوسترون (corticosterone، القشراني السكري الموجود بنسبة 99% لدى الجرذان) بتركيز 10% في حامل من الكولسترول وذلك بهدف الحصول على مستويات ثابتة من الكورتيكوسترون لدى الجرذان بعد استئصال الغدة (اسم المجموعة ADX) وأعطيت هذه المجموعة ملح الطعام (NaCl) بنسبة 0.9% في ماء الشرب وذلك للتعويض عن غياب القشراني المعدني ألدوسترون. تم بعدها أخذ نصف الجرذان المستأصلة غددها وأعطيت هرمون الكورتيكوسترون حصراً خلال الليل وذلك في ماء الشرب الحاوي على ملح الطعام (0.9%) وبتركيز 50 ميكروغرام في المليلتر. بحسب دراسات سابقة [9,25] فإن استخدام هذا التركيز في ماء الشرب وإعطائه ليلاً للجرذان يسمح بترميم النَظْم اليوماوي لهرمون الكورتيكوسترون بحيث يصبح مشابهاً وبصورة كاملة للنَظْم الطبيعي قبل الاستئصال (اسم المجموعة CORT). وأخيراً، للحصول على مجموعة شواهد مرجعية للمقارنة (اسم المجموعة SHAM) استخدمت مضغوطات خالية من الكورتيكوسترون وحاولية فقط على الحامل (100% كولسترول) عند عدد مماثل من الجرذان لم تخضع لعملية الاستئصال أو للمعالجة الهرمونية. فيما يخص تحضير المضغوطات المستخدمة في دراستنا، فقد تم حسب الطريقة المذكورة في المرجع [25] ويتراوح وزنها وسطياً بين 240-260 ميليغرام أبعادها 12mmx6mmx4mm.

## ثانياً: الديال الدماغى الدقيق وقياس السيروتونين و Intra cerebral microdialysis and Sertonin measurments

تم تصنيع مسابر الديال الدماغى الدقيق فى المختبر وذلك حسب الدراسة [13]، وهى مكونة من أنبوبين من الاينوكس متلاصقين يبلغ القطر الداخلى لكل منهما 0.3 ميليمتر وبطول 25 ميليمتر، يتم إدخال غشاء الديال الدقيق يدويًا (يبلغ قطره الداخلى 0.27 ميليمتر) ضمن فتحتى أنبوبي الإينوكس وتنيه ليأخذ شكل U (بطول 0.15 ميليمتر) ولصقه مع الجزء المعدنى حتى لا يتحرك خلال إدخاله فى الدماغ. تم إدخال هذه المسابر ضمن أدمغة الجرذان من المجموعات الثلاثة المذكورة سابقاً (SHAM, ADX, CORT) فى مستوى النوى الوطائية فوق التصالبية بالإستعانة بالأطلس الدماغى [26] الذى يعطى الإحداثيات الدقيقة لتلك النوى بحيث يسمح بالولوج إليها دون أى مجال للخطأ تشريحياً. يُثبت الجزء الخارجى من المسبار على عظم الجمجمة بواسطة ملاط البولي أكريليك السنى. وتوصل المسابر لاحقاً بأنبوب من البولي إيثيلين، بطول 25 سنتيمتر يتصل فى نهايته الأولى مع أنبوب اختبار (1.5 ميليلتر) لجمع العينة، وفى نهايته الثانية مع مضخة حقن (syringes pump) ويثبت مجموع الأنابيب على سلسلة معدنية خفيفة الوزن بحيث يكون الجرذ حر الحركة خلال جمع العينات. تكون كافة الأنابيب الموصولة مع المسبار مملوءة وبصورة مستمرة بسائل فيزيولوجى يشابه فى تركيبه السائل الدماغى الشوكى. تجمع العينات على مدى 24 ساعة ضمن الأوقات التالية: 8:00، 12:00، 16:00، 20:00، 22:00، 01:00، 04:00، وبمقدار 50 ميكروليتر وتوضع على الثلج تمهيداً لتمريرها ضمن عمود فصل الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) لقياس تراكيز السيروتونين حسب المرجع [13]. حيث تقوم هذه التقنية على حقن العينة ضمن عمود الفصل المكون من دقائق كروية بالطور المعكوس وتفصل مكونات العينة عن طريق مسبار كهروكيميائى نسبة إلى كمون مسرى مرجعى Ag/AgCl عند 0.60 فولت.

### ثالثاً: أخذ العينات الدموية والمعايير الحيوية الكيميائية

#### Blood sampling and Biochemistry

تم أخذ العينات الدموية لكافة الجرذان وذلك بهدف قياس كل من جلوكوز الدم وهرمونات قشر الكظر لدى المجموعات الثلاثة بحيث يتم التأكد من الغياب الكامل لهرمونات قشر الكظر فى المجموعة ADX، ومن التعويض الهرمونى فى المجموعة CORT، مقارنةً بالتراكيز الدموية لدى المجموعة الشاهدة SHAM. من جهة ثانية تم تتبع التراكيز اليوماوية لجلوكوز الدم عند كافة المجموعات لربطها وظيفياً مع هرمونات قشر الكظر. لأخذ العينات الدموية بصورة تكرارية على مدار اليوم كاملاً، تم إخضاع الجرذان من المجموعات الثلاثة لجراحة بوجود التخدير العام تهدف إلى تركيب قساطر فى الشريان السباتى وذلك حسب المرجع [9]. تتكون القساطر المستخدمة من مادة البولي إيثيلين (PE50) ويتم وضعها ضمن الشريان السباتى ومن ثم تثبيتها وتمريرها خلفياً تحت الجلد لتخرج بمستوى العنق بحيث لا يتسنى للجرذ الوصول إليها بحركة الرأس أو حتى بواسطة القوائم الأمامية، وتغلق القساطر تمهيداً لجمع العينات الدموية الذى تم على مدار اليوم كاملاً فى نفس الأوقات المذكورة سابقاً لقياس السيروتونين (8:00، 12:00، 16:00، 20:00، 22:00، 01:00، 04:00). تسمح هذه التقنية بجمع العينات بشكل مستمر على الجرذان الحية وحررة الحركة.

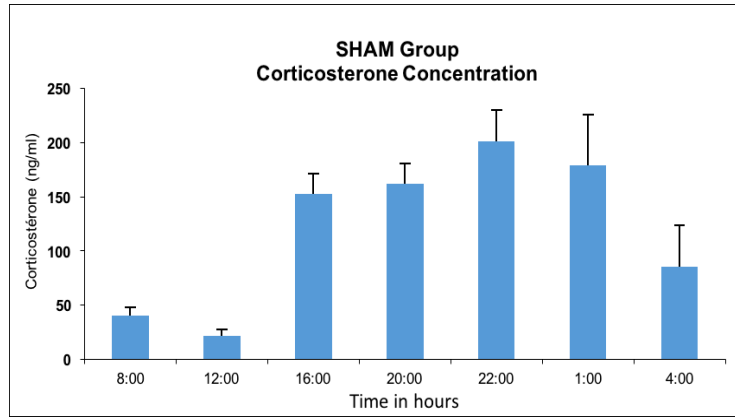
تم جمع العينات الدموية ضمن أنابيب اختبار مجهزة بالهيبارين وثقلت بسرعة 3000 دورة فى الدقيقة بدرجة حرارة 4 مئوية لمدة خمسة دقائق ومن ثم تم جمع المصورات وخرنها لحين قياس جلوكوز الدم وذلك بالتفاعل اللونى المعتمد على الجلوكوز أو أكسيداز (Glucose Oxydase Method) وذلك حسب الطريقة المذكورة فى المرجع [27-29] وقياس هرمون الكورتيكوسترون باستخدام المعايرة المناعية الإشعاعية (Radioimmunoassay) وذلك باتباع الطريقة المذكورة فى المرجع [9,25]. حيث تقوم هذه التقنية على استخدام أجسام مضادة ذات نوعية عالية للهرمون المراد قياسه، وتتم إضافة هرمون معيارى منقى وموسوم باليود المشع ( $I^{125}$ ) وتسمى معايرة تنافسية وتكون كمية الهرمون المرتبط مع الجسم المضاد متناسبة مع تركيزه. وتقاس بعدها درجة الإشعاع فى العينة وتتناسب عكساً مع تركيز الهرمون فى العينة.

## Results and Discussion الخلاصة والمناقشة

### أولاً: التحقق الكيمىانى الحيوى من استئصال الغدة الكظرية والتعويض الهرمونى

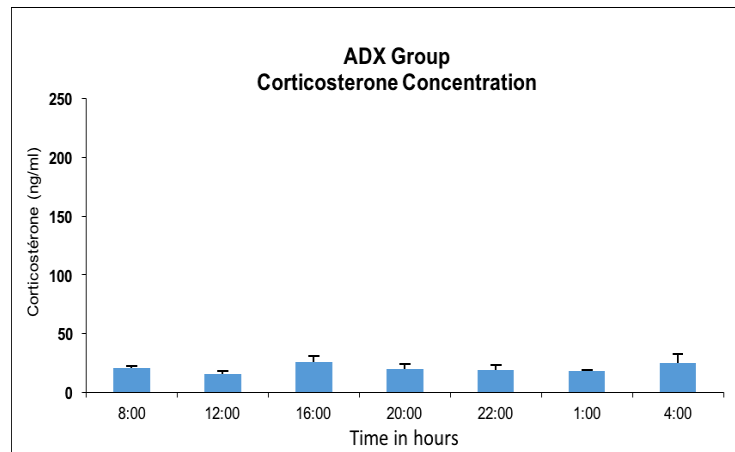
لدى معايرة هرمون الكورتيكوسترون كما ذكر أعلاه عند المجموعات الثلاثة من الجرذان (SHAM, ADX, CORT) تبين لدى المجموعة الشاهدة نظم يوماوى واضح للهرمون المذكور بالشكل المعروف والمنشور

سابقاً حيث ترتفع تراكيز الكورتيكوسترون قبل الانتقال لفترة الفعالية (الشكل 1)، أي قبل طور اليقظة اعتباراً من الساعة السادسة عشر وذلك لتحضير اليقظة على الصعيد الاستقلابي [23].



الشكل 1: النّظّم اليوماوي لهرمون الكورتيكوسترون لدى المجموعة الشاهدة التي لم تخضع لاستئصال غدد الكظر وتلفت مضغوطات تحت الجلد تحوي فقط الحامل وهو الكولسترول ( $p < 0.001$  للمقارنة بين تراكيز الساعة الثامنة والساعة السادسة عشر).

لدى استئصال الغدد الكظرية عند المجموعة ADX، لوحظ غياب النظم اليوماوي لهرمون الكورتيكوسترون ووجود كميات ضئيلة من هذا الهرمون ولكن ثابتة على مدار اليوم كاملاً ومكافئة للقيم النهارية للمجموعة الشاهدة SHAM (الشكل 2). تعود هذه القيم الثابتة والمنتدبة للمضغوطات الحاوية على 10% كورتيكوسترون والتي تم وضعها تحت الجلد عند هذه المجموعة بحيث تؤمن الحد الأدنى من الهرمون ولكن بدون متغيرات يوماوية.

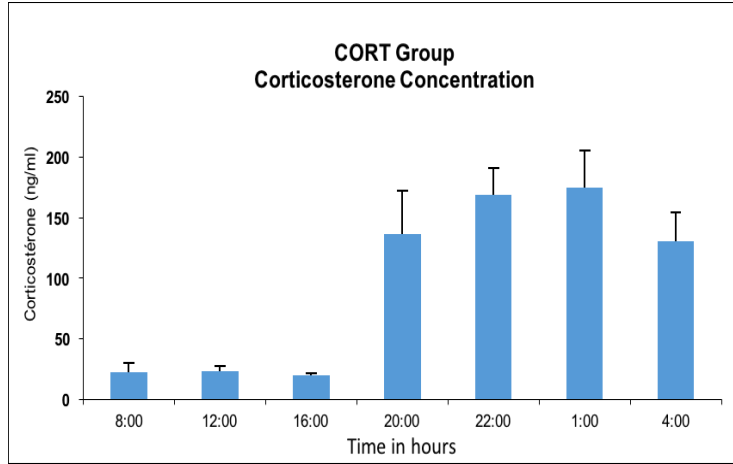


الشكل 2: غياب النّظّم اليوماوي لهرمون الكورتيكوسترون لدى المجموعة التي خضعت لاستئصال غدد الكظر وتلفت مضغوطات تحت الجلد تحوي 10% كورتيكوسترون مما يعطي قيم ثابتة ومنخفضة التركيز تضاهي القيم النهارية لهذا الهرمون.

أما عن نتائج التعويض الهرموني فهي تشير لدى المجموعة CORT إلى وجود ارتفاع ليلي في تراكيز هذا الهرمون يضاهي الارتفاع الملاحظ لدى المجموعة الشاهدة وذلك يعود لوجود الكورتيكوسترون بتركيز 50 ميكروغرام في المليلتر في ماء الشرب فقط ليلاً لدى الجرذان المتأسلة غدها الكظرية. وتكون القيم النهارية في هذه المجموعة مقاربة لتلك التي تم قياسها لدى المجموعة الشاهدة خلال النهار وذلك بفضل المضغوطات



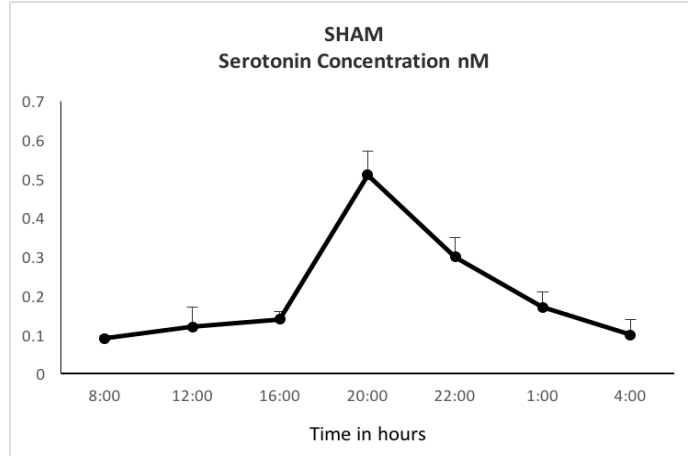
10% كورتيكوسترون (الشكل 3). بهذه الطريقة تمكنا وبصورة صناعية من ترميم التغيرات اليوماوية لهرمون الكورتيكوسترون لدى المجموعة CORT وتستخدم هذه المجموعة في دراستنا لإثبات التأثيرات المباشرة لهذا الهرمون على نظم كل من تحرر السيروتونين وغلوكوز الدم. تجدر الإشارة إلى أن التعويض الهرموني يخلق نظماً لهرمون الكورتيكوسترون بانزياح نحو الساعة عشرين كبدية في طور الارتفاع مقارنةً بالساعة السادسة عشر عند المجموعة الشاهدة. يُفسر هذا الانزياح بكون التعويض الهرموني مرتبط بسلوك الشرب لدى الجرذان الذي يبدأ مع بداية طور الفعالية اليومي كونها كانت ليلية عند الساعة الثامنة عشر، وبالتالي فمن المُنتظر أن تنزاح القيمة العظمى بعد التعويض الهرموني عند هذه المجموعة نحو الساعة الثامنة مساءً (أو عشرين).



الشكل 3: الترميم الصناعي للنظم اليوماوي لهرمون الكورتيكوسترون لدى المجموعة التي خضعت لاستئصال غدد الكظر وتلقت مضغوطات تحت الجلد تحوي 10% كورتيكوسترون بالإضافة لماء الشرب الحاوي على هذا الهرمون وبتركيز 50 ميكروغرام في المليلتر فقط ليلاً، مما يعطي قيم ثابتة ومنخفضة التركيز نهاراً، وارتفاع ملحوظ في التراكيز ليلاً ( $p < 0.001$ ) للمقارنة بين تراكيز الساعة الثامنة والساعة العشرون).

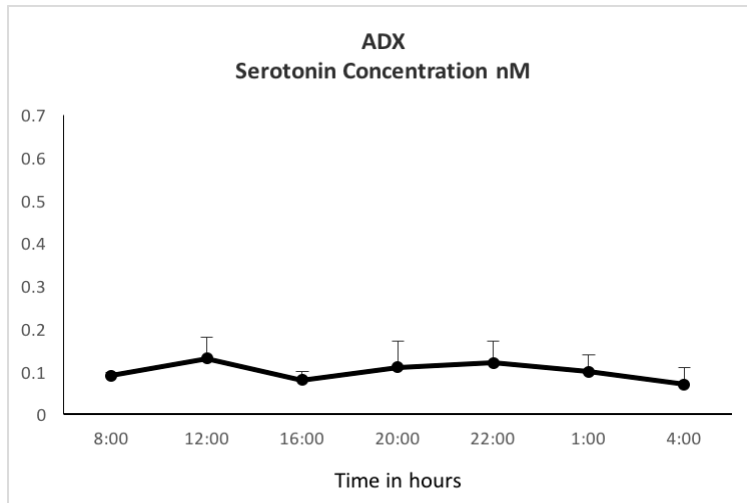
ثانياً: أثر غياب النظم اليوماوي للقشرانيات السكرية على تحرر السيروتونين في النوى فوق التصالبية:

في دراسة سابقة، وباستخدام الديال الدماغية الدقيق على الجرذ الحي والحر بحركته، تم إثبات وجود تحرر نظمي للناقل العصبي سيروتونين في الساعة البيولوجية التي تتوضع في النوى فوق التصالبية الوطائية [13]. وبصورة مماثلة وكما هو موضح في الشكل 4، تبدي جرذان المجموعة الشاهدة في دراستنا نظماً يوماوياً لتحرر السيروتونين في النوى فوق التصالبية يتجلى بارتفاع واضح في بداية الليل أي طور الفعالية لدى الجرذان (للتذكير يبدأ طور الفعالية بإطفاء الأضواء بتمام الساعة 18:00) وهو مطابق تماماً للتغيرات المعروفة والمنشورة سابقاً والمشار إليها في المرجع 13.



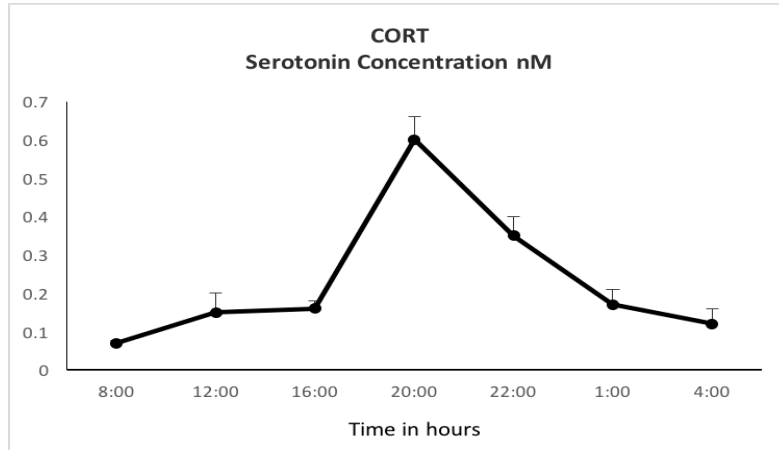
الشكل 4: التغيرات اليوماوية للناقل العصبي سيروتونين في النوى فوق التصالبية الوطانية باستخدام الديال الدماغي الدقيق لدى المجموعة الشاهدة حيث يلاحظ ارتفاع ملحوظ لتراكيز السيروتونين في بداية طور الفعالية (الساعة عشرون)، أي ساعتان بعد إطفاء الأضواء ( $p < 0.001$ ) للمقارنة بين تراكيز الساعة الثامنة والساعة العشرون).

لدى اسننصال الغدد الكظرية وإعطاء كميات ثابتة مقارنة للقيم النهارية من الهرمون كورتيكوسترون عن طريق المضغوطات وذلك في المجموعة ADX، لوحظ غياب كامل للتغيرات اليوماوية في تحرر الناقل العصبي سيروتونين في مستوى الساعة البيولوجية، مما يقترح ارتباط نظم السيروتونين وبصورة مباشرة بهرمونات الغدة الكظرية (الشكل 5).



الشكل 5: غياب التغيرات اليوماوية للناقل العصبي سيروتونين في النوى فوق التصالبية الوطانية المقاس باستخدام الديال الدماغي الدقيق لدى المجموعة الخاضعة لاستنصال الغدد الكظرية بوجود مضغوطات 10% كورتيكوسترون.

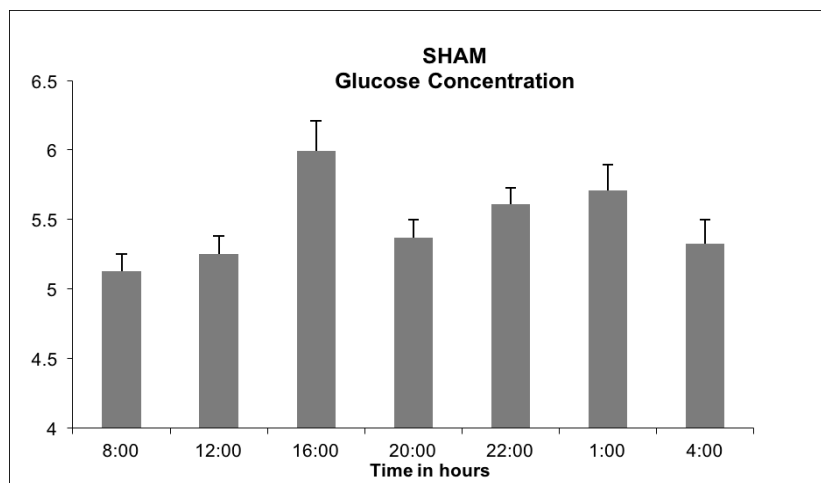
ولإثبات هذا الارتباط المباشر بين نظم السيروتونين وهرمونات الغدة الكظرية وتحديد الدور الوظيفي للكورتيكوسترون بصورة خاصة، لجأنا لدراسة التعويض الهرموني التي تثبت بما لا يدع مجالاً للشك أن التغيرات اليوماوية في تحرر السيروتونين تخضع مباشرة لنظم الكورتيكوسترون (الشكل 6) حيث لوحظ ترميم كامل لنظم لتحرر السيروتونين لدى المجموعة CORT التي وبفضل التعويض الهرموني في ماء الشرب ليلاً والقيم النهارية المنخفضة بفعل المضغوطات 10% كورتيكوسترون أصبحت تبدي وبصورة مصطنعة تغيرات يوماوية في مستويات هرمون الكورتيكوسترون.



الشكل 6: ترميم التغيرات اليوماوية للنقل العصبي سيروتونين في النوى فوق التصالبية الوطانية المقاس باستخدام الديال الدماغى الدقيق لدى المجموعة التي خضعت لاستئصال الغدة الكظرية وللتعويض الهرموني في ماء الشرب حصراً خلال الليل حيث يلاحظ مقارنة بالمجموعة الشاهدة تشابه كامل في التغيرات اليوماوية مع أعلى مستويات مقاسة في بداية طور الفعالية (الساعة عشرون)، أي ساعتان بعد إطفاء الأضواء ( $p < 0.001$  للمقارنة بين تراكيز الساعة الثامنة والساعة العشرون).

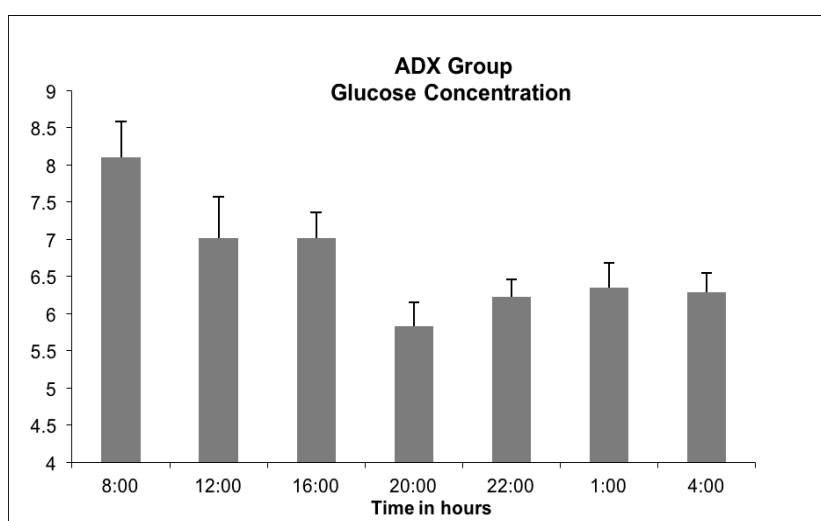
**ثالثاً: أثر غياب النظم اليوماوي للقشرانيات السكرية على المستويات اليوماوية لغلوكوز الدم**  
تفرز الغدة الكظرية ثلاثة أنماط من الهرمونات الستيروئيدية في مستوى منطقتها القشرية وهي: القشرانيات السكرية (Glucocorticoids) والقشرانيات المعدنية (Mineralocorticoids) والأندروجينات (هرمونات جنسية). من بين الهرمونات الثلاثة، تبدي القشرانيات السكرية نظماً يوماوياً في الإفراز وترتبط مباشرة بالساعة الوطانية البيولوجية التي تضبط هذا النظم بحيث ترتفع مستويات القشرانيات السكرية في الدم قبل بداية طور الفعالية أي اليقظة وذلك لتحضير الجسم على الصعيد الاستقلابي بعد فترة الصيام خلال طور النوم. عند الإنسان يعتبر الكورتيزول (Cortisol) القشراني السكري المفرز بنسبة عظمى من قشر الكظر، بالمقابل، فإن الجرذان (وغالبية القوارض) تفرز غدها الهرمون الستيروئيدي كورتيكوسترون (Corticosterone) بنسبة عظمى. أما لب الكظر، فتتدخل في استجابة الجهاز العصبي الودي لشروط الكرب (Stress) وذلك من خلال إفرازها للكاتيكولات (Catechols). تقوم القشرانيات السكرية بتفعيل النسيج الكبدي ليقوم باستحداث السكر (Gluconeogenesis) وترفع بذلك نسبة السكر في الدم وتحد من أثر الأنسولين، أي تخفف قدر الإمكان من أخذ النسيج الخازنة للسكر (كالعضلات مثلاً) بحيث يبقى متوفراً في الدم لتأمين الطاقة لكل الجسم في بداية طور اليقظة.

وبالتالي نلاحظ في الشكل 7 ارتفاع واضح في تركيز سكر الدم لدى المجموعة الشاهدة SHAM قبل الدخول في فترة اليقظة بساعتين (السادسة عشر، علماً أن اليقظة تبدأ في تمام الساعة الثامنة عشر) يليه انخفاض يكون ناجم عن زيادة معدلات الاستقلاب وتفعيل الجهاز الهضمي بنتيجة البدء بتناول المواد الغذائية وما ينجم عنه من زيادة في معدلات الأنسولين في الجسم.



الشكل 7: التغيرات اليوماوية لغلوكوز الدم لدى المجموعة الشاهدة التي لم تخضع لاستئصال غدد الكظر وتلقت مضغوطات تحت الجلد تحوي فقط الحامل وهو الكولسترول حيث يلاحظ ارتفاع ملحوظ في تركيز الغلوكوز في الساعة الرابعة مساءً أي ساعتان قبل بدء فترة اليقظة ( $p < 0.05$ ) للمقارنة بين تراكيز الساعة الثامنة والساعة السادسة عشر).

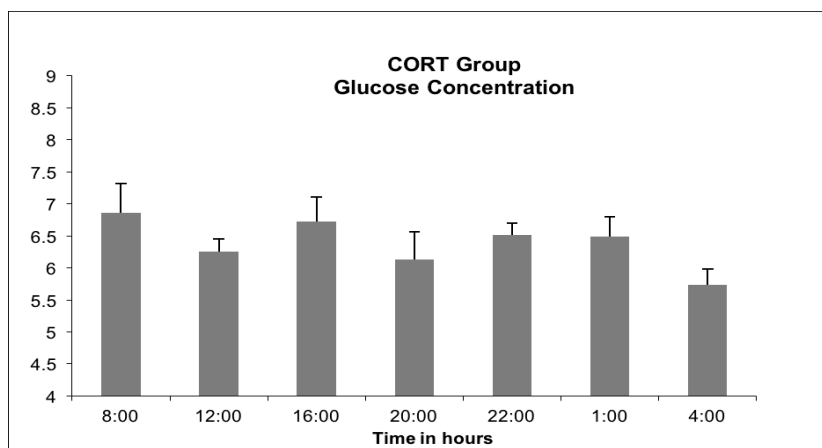
لدى قياس تراكيز سكر الدم على مدار اليوم كاملاً عند المجموعة ADX، الخاضعة للتذكير لاستئصال غدها الكظرية مع وجود مضغوطات 10% كورتيكوسترون بحيث يتم الحصول على نسب ثابتة ومنخفضة التركيز من هذا الهرمون على مدار اليوم، لوحظ تغير واضح في توزيع غلوكوز الدم خلال اليوم مقارنة بالمجموعة الشاهدة. من جهة أولى يلاحظ ارتفاع واضح في التراكيز مقارنة بالمجموعة الشاهدة التي تراوحت تراكيزها بين  $5.1 \pm 0.12$  ميليومول بالليتر و  $5.9 \pm 0.22$  ميليومول بالليتر بمقابل مجموعة الجرذان ADX التي تراوحت تراكيزها بين  $5.8 \pm 0.32$  ميليومول بالليتر و  $8 \pm 0.48$  ميليومول بالليتر. مما يشير إلى أن غياب نظم القشرانيات السكرية له تأثير رافع لتراكيز غلوكوز الدم بصورة عامة بغض النظر عن المتغيرات اليوماوية. ضمن السياق نفسه، لا يمكننا هنا أن نتجاهل أثر غياب هرمونات لب الكظر التي تتدخل أيضاً في تجديد كل الموارد الطاقية (ومنها السكر) للتجاوب مع حالات الكرب. من الملفت للنظر من جهة ثانية، الانزياح الملاحظ في النافذة الزمنية للقيمة العظمى لسكر الدم على مدار اليوم كاملاً عند هذه المجموعة نحو الثامنة صباحاً مما يتزامن مع بداية فترة الراحة عند الجرذان (يبدأ طور الراحة في السادسة صباحاً)، ويمكن أن يعود هذا الانزياح إلى غياب نظم القشرانيات السكرية بنتيجة عملية الاستئصال.



الشكل 8: التراكيز اليوماوية لغلوكوز الدم لدى المجموعة التي خضعت لاستئصال غدد الكظر وتلقت مضغوطات تحت الجلد تحوي 10% كورتيكوسترون مما يعطي قيم ثابتة ومنخفضة التركيز تضاهي القيم النهارية لهذا الهرمون حيث يلاحظ ارتفاع عام في قيم

سكر الدم مقارنة بالمجموعة الشاهدة بالإضافة لانزياح نافذة القيمة العظمى لتتوضع في بداية طور الراحة (الساعة الثامنة صباحاً) ( $p < 0.01$  للمقارنة بين تراكيز الساعة الثامنة والساعة العشرون).

عند إجراء التعويض الهرموني حسب الخطوات المستخدمة في دراستنا (مضغوطات تحت الجلد بتركيز 10% ومعالجة هرمونية ليلية حصراً مع ماء الشرب بتركيز 50 ميكروغرام في الميليلتر)، لم يلاحظ استرجاع لأي ظاهرة تنظيمية في التراكيز اليومية لسكر الدم عند المجموعة CORT، مما يثبت أن نظم الغلوكوز الملاحظ لدى المجموعة الشاهدة لا يرتبط بالكورتيكوسترون. من جهة ثانية، تراوحت قيم السكر عند هذه المجموعة بين  $5.7 \pm 0.24$  ميليمول بالليتر و  $6.8 \pm 0.46$  ميليمول بالليتر مما يقارب قيم المجموعة ADX أكثر من المجموعة الشاهدة SHAM، أي أن التعويض الهرموني لم ينجح في استرجاع تراكيز السكر اليومية الملاحظة لدى المجموعة الشاهدة. تقترح هذه المعطيات وجود آليات تشارك القشرانيات السكرية ضبطها لكل من المتغيرات اليوماوية وتراكيز سكر الدم.



الشكل 9: التراكيز اليوماوية لغلوكوز الدم لدى المجموعة التي خضعت لاستئصال غدد الكظر وتلقت مضغوطات تحت الجلد تحوي 10% كورتيكوسترون بالإضافة لماء الشرب الحاوي على هذا الهرمون وبتركيز 50 ميكروغرام في الميليلتر فقط ليلاً، مما يعطي قيم ثابتة ومنخفضة التركيز نهاراً، وارتفاع ملحوظ في التراكيز ليلاً.

## الاستنتاجات والتوصيات

تبين هذه الدراسة وللمرة الأولى ارتباط التغيرات اليوماوية لتحرر الناقل العصبي سيروتونين في النوى فوق التصالبية الوطائية بنظم القشراني السكري كورتيكوسترون. تعتبر هذه المعطيات امتداد لنتائج سابقة تربط بنفس الطريقة بين نظم هرمون الكورتيكوسترون والتغيرات اليوماوية في تراكيز الحمض الريبي النووي المرسل لأنزيم التربيتوفان هيدروكسيلاز، الأنزيم المُحدّد لتركيب الناقل العصبي سيروتونين وذلك في نوى رافيه السيروتونية المتصلة تشريحياً مع النوى فوق التصالبية الوطائية [9]. بصورة عامة، كافة الظواهر التنظيمية في الجسم تُضبط من قبل الساعة البيولوجية الوطائية [3-1]، ولإيصال إشارات الناظمة لمختلف أجهزة الجسم، تمتلك هذه الساعة عدد من الوسائط مختلفة الطبيعة؛ منها الصماوي كالقشرانيات السكرية التي تبدي تنظيمية تحت سيطرة الساعة البيولوجية وتوزع إشارات تلك الساعة إلى عدد من الأهداف، منها عصبونات السيروتونين التي تتلقى هذه الإشارات الناظمة عبر مستقبلات نوعية للكورتيكوسترون [32-30] وتبدي بالنتيجة سلوكاً تنظيمياً ينعكس على تركيب [8,9] وتحرر هذا الناقل العصبي كما تشير نتائجنا. في هذه الدراسة، تم قياس التحرر التنظيمي في النوى فوق التصالبية فقط، من المُنتظر أن يكون التحرر التنظيمي صفة عامة لعصبونات السيروتونين في كافة المناطق الدماغية التي تتصل تشريحياً مع نوى رافيه، وهذا ما سنحاول إثباته في أبحاثٍ مقبلة.

من جهة ثانية، يعتبر النسيج الكبدي من الوسائط الخاضعة لضبط الساعة البيولوجية الوطائية والفاعلة على الصعيد الاستقلابي، حيث تشير الدراسات إلى وجود ساعة بيولوجية استقلابية محيطية في الكبد ترتبط وظيفياً بالساعة الوطائية المركزية [33]. ومن أبرز الوظائف الاستقلابية للكبد، دوره في توازن خزن وتحرر الغلوكوز، ومن هنا، فإن التغيرات اليوماوية لتراكيز غلوكوز الدم تعكس هذا التوازن الاستقلابي من جهة، وترتبط بنظم

اليقظة والنوم (الفعالية والراحة) من جهة أخرى. من فرضيات هذا البحث أن تقوم هرمونات قشر الكظر السكرية بضبط التغيرات اليوماوية لغلوكوز الدم، ولكن على ما يبدو فإن غلوكوز الدم يخضع لأكثر من مستوى تنظيمي. في حين أنه من المثبت أن ارتفاع غلوكوز الدم في بداية طور اليقظة، يرتبط مباشرة بالقشرانيات السكرية ويتزامن ارتفاع كل من الكورتيكوسترون وغلوكوز الدم عند الجرذان SHAM، فإن استئصال الغدد الكظرية لم يلغي التغيرات اليوماوية لغلوكوز الدم بل عمل على إزاحتها وأدى لارتفاع ملحوظ في التركيز. تشير هذه المعطيات إلى أن نظم الغلوكوز لا يرتبط فقط بالقشرانيات السكرية وهذا ما أثبتته فشل التعويض الهرموني في ترميم هذا النظم في المجموعة CORT. من المؤكد أن استقلاب السكر بما يمثل من أهمية كبرى لاستتباب الجسم ككل، لا يمكن أن يكون خاضع لعامل تنظيمي أحادي الجانب، ومن هنا نقترح أثر ممكناً لهرمونات لب الكظر المعروفة بتأثيرها على نواحي استقلابية عدة خلال شروط الكرب المتنوعة، ومن جهة ثانية، فإن الساعة البيولوجية الاستقلابية الكبدية ستتدخل أيضاً لنظم استقلاب الغلوكوز، من المؤكد أن التحقق من كلتا الفرضيتين سيساهم في فهم أفضل للآليات التي تتحكم في التغيرات اليوماوية لغلوكوز الدم.

## المراجع References

- 1-MORIN, L.P., *Neuroanatomy of the extended circadian rhythm system*. Exp Neurol, vol. 243, 2013, 4-20.
- 2-HEYDE, I., KIEHN, J.T., OSTER, H., *Mutual influence of sleep and circadian clocks on physiology and cognition*. Free Radic Biol Med, S0891-5849(17), 2017, 31195-4
- 3-PIJORZ, V., HELFRICH-FORSTER, C., OSTER, H., *The role of the circadian clock system in physiology*. flugers Arch., Vol 470, N(2), 2018, 227-239
- 4-AZMITIA, E.C., SEGALÉ, M., *An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat*. J Comp Neurol. Vol.179, 1978, 641–667.
- 5-VILLAR, M.J., VITALE, M.L., HOKFELT, T., VERHOFSTAD, A.A., *Dorsal raphe serotonergic branching neurons projecting both to the lateral geniculate body and superior colliculus: a combined retrograde tracing-immunohistochemical study in the rat*. J Comp Neurol Vol. 277, 1988, 126 –140.
- 6-MEYER-BERNSTEIN, E.L., MORIN, L.P., *Differential serotonergic innervation of the suprachiasmatic nucleus and the intergeniculate leaflet and its role in circadian rhythm modulation*. J Neurosci Vol.16, 1996, 2097–2111
- 7-MOGA, M.M., MOORE, R.Y., *Organization of neural inputs to the suprachiasmatic nucleus in the rat*. J Comp Neurol. Vol.389, 1997, 508–534.
- 8-HAY-SCHMIDT, A., VRANG, N., LARSEN, P.J., MIKKELSEN, J.D., *Projections from the raphe nuclei to the suprachiasmatic nucleus of the rat*. J Chem Neuroanat Vol. 25, 2003, 293–310
- 9-MALEK, Z.S., SAGE, D., PEVET, P., RAISON, S., *Daily rhythm of tryptophan hydroxylase-2 messenger ribonucleic acid within raphe neurons is induced by corticoid daily surge and modulated by enhanced locomotor activity*. Endocrinology, vol 148, N(11), 2007, 5165-72.
- 10- MALEK, Z.S., RAISON, S., PEVET, P., *Circadian change in tryptophan hydroxylase protein levels within the rat intergeniculate leaflets and raphe nuclei*. Neuroscience, vol 125, 2004, 749–758
- 11-MALEK, Z.S., DARDENTE, H., PEVET, P., RAISON, S., *Tissue-specific expression of tryptophan hydroxylase mRNAs in the rat midbrain: anatomical evidence and daily profiles*. Eur J Neurosci, vol 22, 2005,895–901
- 12- DUDLEY, T.E., DINARDO, L.A., GLASS, J.D. *Endogenous regulation of serotonin release in the hamster suprachiasmatic nucleus*. J Neurosci, vol18, 1998, 5045–5052

13- BARASSIN, S., RAISON, S., SABOURREAU, M., BIENVENU, C., MAITRE, M., MALAN, A., PEVET, P., *Circadian tryptophan hydroxylase levels and serotonin release in the suprachiasmatic nucleus of the rat*. Eur J Neurosci, vol 15, 2002, 833–840

14- BEZERRA DEPONTES, A.L., ENGELBERTH, R.C., NASCIMENTO, E., CAVALCANTE, J.C., COSTA, M.S., PINATO, L., BARBOSA DETOLEDO, C.A., CAVALCANTE, J., *Serotonin and circadian rhythms* Psychology & Neuroscience, Vol 3, N.2, 2010, 217 - 228

15-SMITH, V.M., JEFFERS, R.T., ANTLE, M.C., *Serotonergic enhancement of circadian responses to light: role of the raphe and intergeniculate leaflet*. Eur J Neurosci. Vol.42, N.(10), 2015, 2805-17.

16-LUCKI, I., *The spectrum of behaviors influenced by serotonin*. Biol Psychiatry Vol.44, 1998, 151–162

17-FRAZER, A., HENSLER, G., *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects.: Serotonin Involvement in Physiological Function and Behavior*, 6th edition, Philadelphia, Lippincott-raven 1999.

18- TRAKHTENBERG, E.F., GOLDBERG, J.L., *The role of serotonin in axon and dendrite growth*. Int Rev Neurobiol., vol106, 2012, 105-26

19- GOTHERT, M., *Serotonin discovery and stepwise disclosure of 5-HT receptor complexity over four decades. Part I. General background and discovery of serotonin as a basis for 5-HT receptor identification*. Pharmacological reports, Vol.65, 2013, 771-786.

20- CARHART-HARRIS, R.L., NUTT, D.J., *Serotonin and brain function: a tale of two receptors*. Journal of Psychopharmacology, Vol. 31, N.(9), 2017, 1091–1120.

21- JEQUIER, E., ROBINSON, D.S., LOVENBERG, W., SJOERDSMA, A., *Further studies on tryptophan hydroxylase in rat brainstem and beef pineal*. Biochem. Pharmacol., Vol.18, 1969, 1071–1081.

22-LOVENBERG, W., JEQUIER, E., SJOERDSMA, A., *Tryptophan hydroxylation: measurement in pineal gland, brainstem, and carcinoid tumor*. Science, Vol.155, 1967, 217–219.

23-SPENCER, R.L., CHUN, L.E., HARTSOCK, M.J., WOODRUFF, E.R., *Glucocorticoid hormones are both a major circadian signal and major stress signal: How this shared signal contributes to a dynamic relationship between the circadian and stress systems*. Front Neuroendocrinol. S0091-3022, N.(17), 2017, 30103-6.

24- MALEK, Z., *The effect of regular exercise on the expression of tryptophan hydroxylase-2 gene within Raphe complex: functional relationship with adrenal*



*hormones and glucose blood levels.* Accepted for publication in Journal of AlBaath University, 2018.

25- SAGE, D., GANEM, J., GUILLAUMOND, F., LAFORGE-ANGLADE, G., FRANCOIS-BELLAN, A.M., BOSLER, O., BECQUET, D., *Influence of the corticosterone rhythm on photic entrainment of locomotor activity in rats.* J Biol Rhythms, vol19, N.(2), 2004, 144-56.

26- PAXINOS, G., WATSON, C., *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 7th Edition. Academic Press, 2013.

27- KUMAR JHA, P., CHALLET, E., KALSBECK, A., *Circadian rhythms in glucose and lipid metabolism in nocturnal and diurnal mammals.* Mol Cell Endocrinol., vol.15, N.418 Pt 1, 2015, 74-88.

28- KUMAR JHA, P., FOPPEN, E., CHALLET, E., KALSBECK, A., *Effects of central gastrin-releasing peptide on glucose metabolism.* Brain Res., vol.1625, 2015, 135-41

29-KLIEVERIK, L.P., FOPPEN, E., ACKERMANS, M.T., SERLIE, M.J., SAUERWEIN, H.P., SCANLAN, T.S., GRANDY, D.K., FLIERS, E., KALSBECK, A., *Central effects of thyronamines on glucose metabolism in rats.* J Endocrinol., vol.201, N.(3), 2009, 377-86.

30-HARFSTRAND, A., FUXE, K., CINTRA, A., AGNATI, L.F., ZINI, I., WIKSTROM, A.C., OKRET, S., YU, Z.Y., GOLDSTEIN, M., STEINBUSCH, H., VERHOFSTAD, A., GUSTAFSSON, J.A., *Glucocorticoid receptor immunoreactivity in monoaminergic neurons of rat brain.* Proc Natl Acad Sci USA, vol83, 1986, 9779–9783

31-CLARK, M.S., RUSSO, A.F., *Tissue-specific glucocorticoid regulation of tryptophan hydroxylase mRNA levels.* Brain Res Mol Brain Res, vol.48, 1997, 346–354

32-DONNER, N.C., MONTOYA, C.D., LUKKES, J.L., LOWEY, C.A., *Chronic non-invasive corticosterone administration abolishes the diurnal pattern of tph2 expression.* Psychoneuroendocrinology. Vol.37, N.(5), 2012, 645-61

33-REINKE, H., ASHER, G., *Circadian Clock Control of Liver Metabolic Functions.* Gastroenterology. Vol.150, Issue3, 2016, 574-580