دراسة تأثير خلات الخارصين في الجهاز التناسلي الذكري للجرذان البيض نوع *Rattus rattus*

Effect of zinc acetate in reproductive system on the male white rats

محمد عماد منصور الغرابي
جامعة الكوفة / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

حيدر صالح جفات الشافعي
جامعة الكوفة / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

ضفاف حميد عبد الصاحب المظفر
جامعة الكوفة / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

الخلاصة :

استهدفت الدراسة بيان تأثير تراكيز متباينة من خلات الخارصين على عملية الأنطاف spermatogenesis في الجهاز التناسلي الذكري للجرذان البيضاء ،حيث استعمل في هذه الدراسة ٣٠ ذكر من الحيوانات المذكورة حقنت تحت الصفاق بالتراكيز ٤، ٨، ١٦ ملغم / كغم ولمدة ٤٥ يوم (دورة انطاف كاملة) بعد تمام المدة شُرحت الحيوانات واخذت مقاطع في خصى الحيوانات وقُرءت النتائج كالآتي : ظهر انخفاض معنوي ($P< 0.05$) في أعداد سليفات النطف (٧٣.٢٢٢) ، الخلايا النطفية (٧١.٢١٢) ، اورومات النطف (٧٣.٧٧٧) ، طلائع النطف (٧٠.١١١) في أعلى تركيز من خلات الخارصين وكذلك لوحظ من خلال قراءة المقاطع النسجية ظهور تغيرات نسجية في نسيج الخصية للحيوانات المحقونة بالتراكيز ٤، ٨، ١٦ ملغم / كغم على التوالي مثل صغر قطر النبيب ، ظهور الوذمة وعدم وجود النطف.

Abstract :

The aim of this study to investigate the effect of different concentrations of zinc acetate on spermatogenesis on male reproductive system of white rats. theerty male of white rats were treated with three concentration 4 , 8 , 16 mg / kg for 45 days (completed spermatogenesis cycle) and then histological study was conducted by sectioning the testes animals . The data were showed signifigant decrease ($p<0.05$) in number of Spermatogonia (73.222) ; Spermatocyte (71.212) ;
Spermatid (73.777) and Spermatozoa (70.111) for the highest concentration of zinc acetate and the examination of slides showed histological changes in testes such as odema and separation of germ cells .

المقدمة :

يشار الى الخارصين بأنه عنصر مهم بالنسبة للفعاليات الحيوية الداخلية للجسم هذا اذا كان بكميات قليلة لكن اذا اخذ هذا العنصر بنسب مضاعفة وكميات كبيرة يسبب تسمم الجسم والاعضاء الداخلية (Chang , 1996) وتدخل أملاح الخارصين بعدة طرق اما يكون عن طريق الجلد او عن طريق الأستنشاق او الأبتلاع والتسمم بأملاح الخارصين يكون إما مزمن أو حاد (kjellstrm ,1992). وذكرت دراسة IMFN(2001) ان املاح الخارصين لها تأثيرات سمية على مختلف اجهزة الجسم مثل الجهاز التناسلي الذكري والانثوي ، العصبي ، البولي ، الهضمي وعنصر الخارصين في حالته الفلزية المعدنية لايسبب اي ضرر انما املاحه قاتلة وتسبب اضرار بيئية جسيمة. ويعد عنصر الخارصين من العناصر الواسعة الانتشار في الطبيعة حيث يوجد في جميع الاغذية وهو موجود في الهواء والتربة والماء ويستخدم الخارصين في شتى المجالات حيث يستعمل في صناعة الاصباغ ، السيراميك ، المبيدات الحشرية ، صناعة البطاريات الجافة كما يدخل في صناعة النسيج ومراهم الوقاية ومزيل الروائح والمستحضرات المضادة للقشرة (USEPA,1982). كما تؤثر المعادن الثقيلة ومن ضمنها الخارصين على وظيفة جهاز الغدد الصم من خلال تأثيرها على ميكانيكة عمل الانزيمات المفرزة من قبل الغدد وبالتالي تؤثر بشكل مباشر على وظيفة المنسل مما يؤدي الى الأقلال من نوعية وعدد الحيوانات المنوية (Mocarelli . etal , 1996).

طرائق العمل:

تهيئة الحيوانات

استعمل في هذه الدراسة الحيوانات المختبرية من نوع جرذان Rattus rattus تمّ الحصول عليها من كلية العلوم /جامعة بابل وادخلت في مختبر البيت الحيواني في كلية العلوم /جامعة الكوفة ووزعت الى مجموعتين ،الاولى منها مجموعة السيطرة مكونة من ١٥ حيوان ،اما المجموعة الثانية مجموعة المعاملات المكونة من ١٥ حيوان قسمت الى ثلاث مجاميع كل مجموعة ٥ خمس حيوانات حقنت تحت الصفاق بتراكيز خلات الخارصين ٤، ٨، ١٦ ملغم / كغم على التوالي ولمدة ٤٥ يوم وكانت مدة الحقن بين يوم واخر في حين حقنت المجموعة الأولى بالمحلول الملحي الفسلجي وبتوفير كافة الظروف المختبرية الملائمة والجيدة من تهوية وإضاءة ودرجة حرارة من ٢٠-٣٠ م وعلف حيواني خاص.

التضحية بالحيوانات

بعد(٢٤) ساعة من آخر حقنة خدرت الحيوانات بمادة الكلوروفورم ،وشرحت بفتح التجويف البطني واستؤصلت أعضاؤها التناسلية (الخصى). ووضعت في محلول فسلجي و أزيلت الأجزاء الدهنية المحيطة بها ثم ثبتت باستعمال محلول مثبت الفورمالين (١٠%) وتركت لمدة (٢٤) ساعة ثم نقلت إلى الكحول الأثيلي (٧٠%) لغرض عمل المقاطع النسيجية لها.

وبعدها تم قياس أعداد سليفات النطف (Spermatogonia) و أعداد الخلايا النطفية (Spermatocytes) و أعداد اورمات النطف (Spermatide) وطلائع النطف (Spermatozoa) كل على حدا ،حيث اعتمدت طريقة patra و wadsworth (1991) والتي تتضمن حساب اعداد خلايا الانطاف في كل نبيب منوي وتقسيم مجموع الخلايا المحسوبة على أعداد الأنابيب (5-10) نبيب من كل نموذج باستعمال قوة التكبير x٤٠ .

$$\text{عدد خلايا الانطاف} = \frac{\text{عدد الخلايا المحسوبة في كل نبيب} \times \text{عدد النبيبات من كل نموذج}}{\text{مجموع النبيبات من كل نموذج}}$$

التحليل الإحصائي

تم تحليل النتائج إحصائيا باستعمال برنامج (SPSS) والمتضمن نموذج التجارب العاملية بتصميم تام التعشية وتم مقارنة النتائج باستعمال اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D) (Least significant differences) وتحت مستوى احتمالية ($P<0.05$) لبيان معنوية النتائج(الراوي ،2000).

النتائج والمناقشة:

اظهرت الدراسة الحالية (جدول١) حدوث انخفاض معنوي ($p<0.05$) في اعداد سليفات النطف نتيجة المعاملة بالتراكيز(16 ,4 ,8 ملغم / كغم) على التتالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة حيث اظهر التركيز ١٦ ملغم \ كغم تأثير أعلى من باقي التراكيز ويعود سبب ذلك الى ان خلات الخارصين يمكن ان تؤثر على افراز هرمون FSH من خلال التاثير في تحت المهاد وهو مهم جداً في تطور سليفات النطف وهذا ما اشار اليه (Weibe etal ,2005 ; Thoreux, 1995). ويلاحظ من الجدول (جدول ١) ايضاً انخفاضاً معنويا ($p<0.05$) في اعداد الخلايا النطفية بعد المعاملة بتراكيزملح الخارصين وقد يدل هذا على ان لخلات الخارصين القابلية على عبور الحاجز الدموي للخصية وبتالي تؤثر على خلايا سرتولي وبالتالي تأثر عملية تحول سليفات النطف الى الخلايا النطفية وقد تسبب خلات الخارصين انسلاخ الخلايا الجرثومية مما يؤدي الى قلة في اعداد الخلايا النطفية بأعتبار ان خلات الخارصين مادة سامة خلوياً كما ذكرت دراسة (OHSA ,1993) . من المحتمل ان ملح الخارصين المذكور يمكن ان يؤثر في هرموني FSH , LH واللذان يؤثران على خلايا سرتولي ولايدك بالدرجة الاساس وبتالي تؤثر في عملية نشأة النطفة . كما اظهرت النتائج (جدول ١) حصول انخفاض معنوي ($p<0.05$) في اعداد اورمات النطف وطلائع النطف ويعود سبب ذلك الى تأثير خلات الخارصين بشكل مباشر على هرمون الشحمون الخصوي (testosterone) والاخير مهم في عملية تحويل الخلايا النطفية الى نطف ناضجة (Damstra , 2002) . ويعود سبب الانخفاض في المعايير المذكورة انفاً الى تأثير الخلات في احداث تغيرات مرضية في نسيج الخصية مما يدل ان لهذا الملح تأثير نسجي مرضي يعمل على اختزال في الاعداد المبينة انفاً حيث جاءت الدراسة الحالية متوافقة مع دراسة(Rachootin and Olsen , 1983 ; Assennato etal ,1987) عند دراستهم للمعادن الثقيلة مثل الخارصين والنحاس والكادميوم وتأثيرها على الجهاز التناسلي.

التغيرات النسجية المرضية:-

أظهرت الدراسة الحالية حدوث بعض التغيرات النسجية في نسيج الخصية بعد معاملة ذكور الجرذان بخلات الخارصين وكانت كالاتي: يمثل الشكل (١) مقطع في نسيج الخصية لمجموعة السيطرة كما يوضح الشكل (٢) حدوث الوذمة مع تأثر عملية نشأة النطفة وذلك عند المعاملة بتركيز ٤ ملغم \ كغم لخلات الخارصين و لمدة ٤٥ ٠ يوم ، وذلك يعود الى تاثير الخلات على مكونات نسيج الخصية حيث تعمل هذه المادة على احداث تغير في النسيج الخصوي من خلال التاثير على انقسام خلايا النبيب المنوي وبالتالي حدوث التشوهات في الخلايا واتفق مع(Waissmann ,2003) كما انها تؤثر في احداث تورمات في خلايا لايدك نتيجة لقابلية الخلات في احادث تقرحات في نسيج الخصية وهذا ما جاء في دراسة (Waalkes,1999) الشكل (٣) تمثل حدوث الوذمة مع تضرر النسيج عند المعاملة بتركيز ٨ ملغم \ كغم لخلات الخارصين و لمدة ٤٥ يوم، ويعود سبب ذلك الى قابلية الخارصين على عبور الحاجز الدموي للخصية و احداث ضرر في النسيج الخاص بالنبيب المنوي حيث يعمل على تدمير حاد للخلايا الجرثومية للنبيب وحصول تفجرات دموية في داخل الخصية ومن ثم تجمع السوائل والمكونات الدموية في داخل النبيب وظهور الوذمة واتفقت هذه الدراسة مع (IPCS،١٩٩٩) وقد يتسبب في التأثير على عملية spermatogenesis حيث يعمل على اختزالها نتيجة التأثير على نسبة التستوستيرون من خلال التاثير على محور النخامية – تحت المهاد وهذا ما اكده (Cullen,1983); (Cullen ,1984) أما الشكل (٤) تبين توقف عملية نشأة النطفة، صغر قطر النبيب مع عدم وجود النطف بعد المعاملة بتركيز ١٦ ملغم \ كغم لخلات الخارصين و لمدة ٤٥ يوم، لان املاح الخارصين تؤثر قي ايض التستوستيرون , LH , FSH (هدم –بناء) من خلال التاثير على الكبد والذي يعتبر الهدف الرئيسي لمعظم المواد السامة وهذه الهرمونات مهمة في تحول وتطور الخلايا النطفية الى نطف ناضجة واتفقت النتائج مع (Saiyed,2003) كذلك يمكن ان يؤثر الخارصين في احداث تنخرات في النسيج الخصوي مم يؤدي الى عدم اكتمال عملية spermatogenesis وبالتالي اختفاء النطف الناضجة من النبيب وهذا ما درسه (Jequier ,2002)

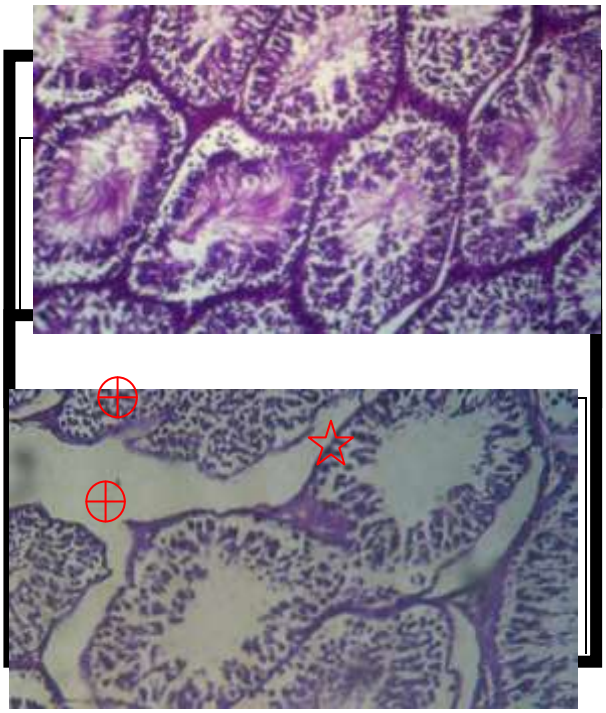
(جدول١) تأثير تراكيز مختلفة لخلات الخارصين في عملية الانطاف

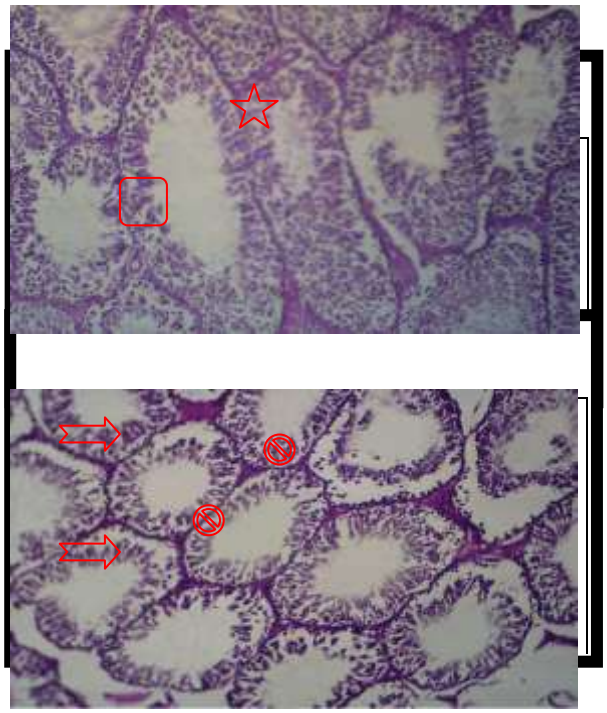
التركيز ملغم\كغم	Spermatogonia سليفات النطف	Spermatocyte الخلايا النطفية	Spermatid اروماتات النطف	Spermatozoa طلائع النطف
4	٩٠.٠٠٠	*٨٧.٦٦٥	*٨٥.٢٢٣	*٨٢.٦٣٦
8	**٨٠.٢٢٢	**٨٢.٣٣٣	**٨٠.٢١٢	**٧٥.٦٦٦
16	***٧٣.٢٢٢	***٧١.٢١٢	***٧٣.٧٧٧	***٧٠.١١١
cont	٩١.٠٠٠	٩٢.٠٠٠	٨٨.٥٥٢	٨٦.٧٢٧
L.S.D	٦.١١١	٦.٢٣٢	٥.٥٥٥	٦.١٤١

L.S.D تمثل اقل فرق معنوي عند مستوى احتمال(P<0.05)
* وجود فروق معنوية (P>0.05) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

الشكل(١) تمثل مقطع في نسيج الخصية لمجموعة السيطرة تحت قوة تكبير x ٤٠٠ .

الشكل (٢) تمثل مقطع في نسيج الخصية معاملة بتركيز ٤ ملغم \ كغم يلاحظ حدوث الوذمة مع تأثر عملية نشأة النطفة تحت قوة تكبير x ٤٠٠ .





الشكل (٣) تمثل مقطع في نسيج الخصية معاملة بتركيز ٨ ملغم \ كغم يلاحظ حدوث الوذمة مع تضرر النسيج تحت قوة تكبير x ٤٠٠ .

الشكل (٤) تمثل مقطع في نسيج الخصية معاملة بتركيز ١٦ ملغم \ كغم يلاحظ توقف عملية نشأة لنطفة، صغر قطر النبيب مع عدم وجود النطف تحت قوة تكبير x ٤٠٠ .

المصادر :

الراوي ، خاشع محمود (٢٠٠٠). مدخل إلى الإحصاء ،الطبعة الثانية .كلية الزراعة والغابات .جامعة الموصل.
-Assennato G, Paci C, Baser ME, Molinini R. (1987). Sperm count suppression without endocrine dysfunction in lead-exposed men. Arch Environ Health 1987; 42:124-7.
-Bancroft, J.D. and steveus, A. (1982). Theory and practice of histological techiniques. Churchill Living ston, New York.

-Chang ,L.W . (1996).Toxicology of metal. Boca Raton, FL: Lewis publishers, 1996-982.
-Cullen MR, Robins JM, Eskenazi B. (1983)Adult organic lead intoxication: presentation of 31 new cases and review of the recent advances in literature. Medicine; 62:221-47.
-Cullen MR, Kayne RD, Robins JM. (1984)Endocrine and reproductive dysfunction in men associated with occupational inorganic lead intoxication. Arch Environ Health; 39:431-40.
-Damstra T .(2002) Global assessment on the state –of- science of endocrine disruptors .WHO puplication no . WHO/PCS/EDC/02.2 World Health Organization, Geneva,Switzerland.
-IMFN,(2001).Institute of medicine food nutrition board, dietary reference Intake for nickel,silicon and zinc, nationa academy Boron,copper,Iodine, iron ,manganese, press.washington,Dc, 1.
-IPCS ,(1999) [International Programme on Chemical Safety].Copper.Environmental Health Criteria 200,pp.100-129,World Health Organisation,Geneva.
-Jequier AM. (2002) Male infertility – a guide for the clinician.Oxford: Blackwell Science;.
-Kjellstrm, T.(1992) international program on chemical safety, university of Auck land , new Zealand ,world health organization,Geneva,1992.
-Mocarelli P, Brambilla PM, Gerthoux DG, Patterson N.(1996)Change in sex ratio with exposure to dioxin. Lancet 1996; 348:409.
-OHSA . (1993) the occupational safety and health administration , toxicological data of zinc sited in, ATSDR journal / tp-93/15.
-Patra, P.B. and wadsworth, R.M. (1991). Quantitative evaluation of spermatogenesis in mice following chronic exposure to cannabinoids. Andrologia, 23 (2) 1151 – 6.
-Rachootin P, Olsen J. (1983). The risk of infertility and delayed conception associated with exposures in the Danish workplace. J Occup Med 1983; 25:394-402.
-Saiyed H, Dewan A, Bhatnagar V, Shenoy U, Shenoy R, Rajmohan H,. (2003)Effect of endosulfan onmale reproductive development. Environ Health Perspect; 111:1958-62.
-Thoreux-Manley A, Velez de la Calle JF, Olivier MF.(1995). Impairment of testicular endocrine function after lead intoxication in the adult rat. Toxicology 1995; 100:101-9.
-USEPA (1982); Management of Hazardous Waste Leachate, EPA Contract No. 68-03-2766 p.E-93
-Weibe JP, Salhanick AI, Myers KI.(2005). On the mechanism of action of lead in the testis: in vitro suppression of FSH receptors, cyclic AMP and steroid genesis. Life Sci 1983; 32:1997-2005.
-Waissmann W.(2003)Endocrinopatologia associada ao trabalho. In: Mendes R, organizador. Patologia dotrabalho. São Paulo: Editora Atheneu;. p.1093-138.
-Waalkes MP, Anver M, Diwan BA. (1999) Carcinogenic effects of cadmium in the noble (NBL/Cr) rat: induction of pituitary, testicular, and injection site tumors and intraepithelial proliferative lesions of the dorsolateral prostate. Toxicol Sci; 52:154-61.