دراسة تأثير بعض المذيبات العضوية الأروماتية في خصوبة ذكور الجرذان .

وسام عبدان الخالدي
جامعة القادسية/ كلية التربية

الخلاصة

أجريت الدراسة للتقصي عن التأثيرات السامة لبعض المذيبات العضوية الأروماتية والتي تشمل التلوين Toluene بالتراكيز(0. 5 ,1.0 ,1.5مل/كغم) والزايلين Xylene (0. 5 ,1.5مل/كغم) بالحقن تحت البريتون ولمدة 30 يوم على خصوبة ذكور الجرذان. وكانت النتائج على النحو الآتي:

- انخفاض معنوي بمستوى احتمالية (P< 0.05) في وزن الجسم ومعدل الكسب ألوزني بعد نهاية التجربة لكل المجاميع المعاملة بالتلوين والزايلين مقارنة مع مجاميع السيطرة.
- انخفاض معنوي (P< 0.05) في اوزن الأعضاء التناسلية التي تشمل (الخصية والبرابخ والبروستات والحويصلات المنوية) في المجاميع المعاملة بالتراكيز المتصاعدة لمادتي التلوين والزايلين مقارنة مع مجاميع السيطرة.
- انخفاض معنوي (P< 0.05) في معايير النطف (تراكيز النطف ، حركة النطف ، النسبة المئوية للنطف العيوشة والنسبة المئوية للنطف السوية) مقارنة مع المجاميع السيطرة.
- بين التحليل الإحصائي وجود انخفاض معنوي بمستوى احتمالية (P< 0.05) في مستوى الهرومونات المحرضة للقند FSH و LH ومستوى هرمون التستوستيرون في المجاميع التي حقنت بالتلوين والزايلين مقارنة مستويات تلك الهرمونات في مجاميع السيطرة.

نستدل من هذه الدراسة الدور السلبي والسمي للمذيبات العضوية الأروماتية (التلوين والزايلين) على خصوبة ذكور الجرذان . إذ يزداد ذلك التأثير بزيادة تركيز التعرض لتلك المذيبات .

المقدمة Introduction

يعد التعرض للمواد الكيمياوية والإشعاع من أكثر العوامل المسببة للعقم والسرطان والتشوهات الكروموسومية للإنسان والحيوانات المختبرية (1) . ومن أهم هذه المواد المذيبات العضوية الأروماتية مثل التلوين Toluene والزايلين Xylene . يستخدم التلوين بشكل واسع في الصناعات منها المطاط، البلاستك، الدباغة، حبر الطباعة والصناعات الكيميائية (2). بشكل أساسي يستخدم في إنتاج البنزين بإعادة تحويله إلى وقود خام متميز بزيادة كمية الاوكتان المنتج فيه (3). كما يدخل الزايلين في الكثير من الصناعات منها صناعة الطلاء والمطاط (4) .

أشارت العديد من الدراسات إلى إن التعرض إلى التلوين والزايلين سواء كان بشكل منفصل أو في حالة مزجهم معاً فأنه يزيد من حالات العقم والإجهاض والتسمم الدموي وتأثيرات مسرطنة (5) . فقد يظهر تأثيرهما أكثر وضوحاً على التكاثر(6) . ذكر (7) أن التعرض للمذيبات العضوية الاروماتية يسبب موت النطف وزيادة تشوهها في الإنسان والحيوانات المختبرية .

أكد(8) بان التعرض المزمن للتلوين تأثيرات سلبية على الخصوبة، يؤدي الى فشل وظيفة النطف في الجرذان. وان التعرض المهني للأشخاص بالتلوين والبنزين والزايلين يؤدي الى قلة السائل المنوي مقارنة مع الأشخاص غير المعرضين (9).

تهدف الدراسة إلى التحري للتأثيرات السلبية نتيجة التعرض للمذيبات العضوية الأروماتية (التلوين والزايلين) على خصوبة ذكور الجرذان فضلا عن مستوى الهرمونات الجنسية .

المواد وطرائق العمل Material and Method

أجريت الدراسة على ذكور الجرذان البيض Albino rats ، في البيت الحيواني لكلية التربية / جامعة القادسية . تمت تهيئة الظروف المختبرية كافة من ضوء (13 ساعة ضوء و11 ساعة ظلام) ودرجة حرارة (23-28 م) . اعتمدت التغذية على العلف الحيواني الجاهز المخصص لها .

تصميم التجارب : تم تصميم تجربتين رئيسيتين في هذه الدراسة :

التجربة الأولى: دراسة تأثير التلوين على معايير النطف والهرمونات الجنسية ، وقد تم اختيار أربعة مجاميع من ذكور الجرذان البالغة ، كل مجموعة احتوت على (6) جرذاً وعوملت كالأتي:

المجموعة الأولى T1: حقنت الحيوانات تحت البريتون بزيت الذرة لمدة 30 يوم (مجموعة السيطرة).

المجموعة الثانية T2: حقنت الحيوانات تحت البريتون بتركيز (0.5 مل /كغم) لمدة 30 يوم .

المجموعة الثالثة T3: حقنت الحيوانات تحت البريتون بتركيز (1.0 مل /كغم) لمدة 30 يوم .

المجموعة الرابعةT4: حقنت الحيوانات تحت البريتون بتركيز (1.5 مل /كغم) لمدة 30 يوم .

أخذت التراكيز المتصاعدة من التلوين (0.5 و 1.0 و 1.5 مل / كغم) بالاعتماد على الجرعة النصف القاتله للجرذان (LD50 = 2.61 mL/ kg) (10) .

التجربة الثانية : دراسة تأثير الزايلين على معايير النطف والهرمونات الجنسية ، وقد تم اختيار ثلاثة مجاميع من ذكور الجرذان البالغة ، كل مجموعة احتوت على (6) جرذاً وعوملت كالأتي:

المجموعة الأولى T1: حقنت الحيوانات تحت البريتون بزيت الذرة لمدة 30 يوم (مجموعة السيطرة).

المجموعة الثانية T2: حقنت الحيوانات تحت البريتون بتركيز (0.5 مل /كغم) (11) لمدة 30 يوم .

المجموعة الثالثة T3: حقنت الحيوانات تحت البريتون بتركيز (1.5 مل /كغم) (11) لمدة 30 يوم .

التضحية بالحيوانات Animal Sacrifice

بعد 24 ساعة من اخر حقنه وزنت الحيوانات باستعمال ميزان كهربائي ، خدرت بمادة الكلوروفورم ، سحب الدم عن طريق طعنة القلب وضع في أنابيب اختبار زجاجية خالية من المادة المانعة للتخثر ، فصل المصل بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / 15 دقيقة ، حفظ المصل في درجة حرارة (-20) إلى حين أجراء الفحوصات الهرمونات التناسلية .

شرحت الحيوانات بفتح التجويف البطني واستؤصلت اعضاؤها التناسلية (الخصى ، البرابخ ، الحويصلة المنوية و البروستات)، ثم وضعت في محلول فسلجي وازيلت الأجزاء الدهنية المحيطة بها وتم وزنها باستعمال ميزان حساس.

المعايير النطفية Sperms Parameters

وضع البربخ الأيسر في 1 مليلتر من المحلول الفسيولوجي ، تم تقطيعه إلى قطع صغيرة باستعمال مقص جراحي . فحصت معالم النطف البربخية الآتية تحت المجهر المركب بقوة × 40 وكما يلي :

1- تركيز النطف **Sperm concentration :** اعتمدت طريقة (12) في حساب تركيز النطف .

2- النسبة المئوية للنطف المتحركة **Percentage of sperm motility :** تم تسجيل وتصنيف حركة النطف باعتماد على طريقة (13)، وتسجل النسبة المئوية وفق المعادلة التالية :

النسبة المئوية للنطف المتحركة = عدد النطف المتحركة / العدد الكلي للنطف (المتحركة وغير المتحركة) × 100

3 - النسبة المئوية للنطف العيوشة **Sperm Viability :** درست عيوشة النطف (النسبة المئوية للنطف الحية / النطف الميتة) باعتماد على طريقة (14) باستخدام صبغة الايوسين – النكروسين وحسبت النسبة المئوية لعيوشة النطف وفق المعادلة التالية :

النسبة المئوية لعيوشة النطف = عدد النطف العيوشه (غير المصبوغة)/ العدد الكلي للنطف (المصبوغة وغير المصبوغة) × 100

4 – النسبة المئوية للنطف السوية **Normal sperm :** اعتمدت طريقة (15) في حساب النطف السوية واللاسوية وفق المعادلة الآتية :

النسبة المئوية للنطف السوية = عدد النطف السوية /العدد الكلي للنطف (السوية وغير السوية) × 100

قياس الهرمونات التناسلية Assessment of Hormones

تم قياس الهرمون المحفز للجريب FSH والهرمون اللوتيني LH وهرمون التستوستيرون باتباع الخطوات المرفقة مع Kit الخاص لكل هرمون باستخدام جهاز Mini VIDAS .

التحليل الإحصائي

خضعت النتائج للتحليل الإحصائي لمعرفة الفروق المعنوية على مستوى احتمال ($P<0.05$) باستخدام تحليل التباين الأحادي (ANOVA) كما تم اختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار LSD (16).

النتائج Results

وزن الجسم Body Weight

أظهرت النتائج التحليل الإحصائي وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل وزن الجسم ومعدل الكسب الوزني لمجاميع الحيوانات التي حقنت بالتلوين بالتراكيز (0.5 ,1.0, 1.5 مل/كغم) على التوالي لمدة 30 يوم مقارنة مع معدل وزن الجسم ومعدل الكسب الوزني لحيوانات مجموعة السيطرة ، الجدول (1). وازداد ذلك الأنخفاض في معدل الأوزان بزيادة تركيز التلوين .

يشير الجدول (2) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل وزن الجسم الحيوانات التي حقنت بالزايلين بالتركيزين (0.5 و 1.5 مل / كغم) لمدة 30 يوم مقارنة مع معدل وزن الجسم حيوانات مجموعة السيطرة . كما يلاحظ وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في معدل الكسب الوزني للمجاميع T2 و T2 التي حقنت بالزايلين تمثلت بانخفاض معدل الكسب الوزني في تلك المجاميع مقارنه مع مجموعة السيطرة.

وزن الأعضاء التناسلية Genital Organs Weight

أحدثت المعاملة بالتراكيز المتصاعدة من التلوين انخفاضا معنويا ($p<0.05$) في أوزان الخصى للمجاميع T2 و T3 و T4 مقارنة مع اوزان الخصى في مجموعة السيطرة ، الجدول (3). ولم يلاحظ فروق معنوية ($p > 0.05$) بين المجموعتين T2 و T3 .

تشير النتائج في الجدول (3) عدم وجود فرق معنوي ($p>0.05$) بين المجموعة T1 المعاملة بتركيز (0.5 ml / kg) من التلوين مقارنة مع مجموعة السيطرة ، في حين أدى التركيزين المتصاعدين من التلوين (1.0 و 1.5 مل / كغم) الى وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) في وزن البربخ مقارنة مع وزنه في مجموعة السيطرة.

بينت نتائج التحليل الإحصائي انخفاض معنوي ($p<0.05$) في وزن الحويصلة المنوية للمجاميع T2 و T3 و T4 التي عوملت بالتراكيز (0.5 ,1.0, 1.5) مل/كغم على التوالي لمدة 30 يوم مقارنة مع اوزان مجموعة السيطرة .

إما معدل وزن البروستات انخفض معنويا ($p<0.05$) في المجاميع T2 و T3 و T4 التي حقنت بالتراكيز العالية من التلوين مقارنة مع معدل وزن البروستات في حيوانات مجموعة السيطرة الجدول (3).

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) في أوزان الخصى للمجموعتين T2 و T3 المعاملتان بالزايلين بالتركيزين (0.5 و 1.5 مل / كغم) مقارنة مع اوزان الخصى في مجموعة السيطرة ، الجدول (4).

كما يلاحظ من الجدول (4) بعدم وجود فرق معنوي ($p>0.05$) في وزان البربخ للمجموعة T2 مقارنة مع مجموعة السيطرة ، الأ إن وزن البربخ انخفض معنويا ($p<0.05$) في المجموعة T3 المعاملة بالتركيز (1.5 مل/كغم) من الزايلين مقارنة مع مجموعة السيطرة .

تشير النتائج المعروضة في الجدول (4) إلى إن التركيزين المتصاعدين من الزايلين قد احدثا انخفاضا معنويا ($p<0.05$) في وزن كل من الحويصلة المنوية والبروستات في المجاميع T2 وT3 مقارنة مع أوزانهما في مجموعة السيطرة.

التغيرات الهرمونية Hormones Parameters

بينت نتائج التحليل الإحصائي للفحوصات الهرمونية في الجدول (5) وجود انخفاض غير معنوي ($P>0.05$) في مستوى هرمون اللاتينيLH في المجموعة T2 المعاملة بالتركيز (0.5 مل / كغم) من التلوين مقارنة مع مجموعة السيطرة ، الأ إن مستوى ذلك الهرمون LH انخفض معنويا ($p<0.05$) في المجموعتين T3 وT4 مقارنة مع مجموعة السيطرة.

في حين انخفض مستوى الهرمون المحفز للجريب FSH في المجامع T2 و T3 و T4 التي حقنت بالتلوين بالتراكيز (0.5 و 1.0 و 1.5 مل / كغم) على التوالي مقارنة مع مستواه الطبيعي في مجموعة السيطرة وتدرج هذا الانخفاض وبشكل معنوي ($P<0.05$) بزيادة تركيز التلوين ، الجدول (5).

من جانب أخر أشارت نتائج الدراسة وجود انخفاض لم يصل إلى مستوى المعنوية ($P>0.05$) في مستوى هرمون التستوستيرون في المجموعة T2 التي حقنت بالتلوين بتركيز (0.5 مل / كغم) مقارنة مع مستواه في مجموعة السيطرة ، اذ ازداد الانخفاض في مستوى هرمون التستوستيرون معنويا ($p<0.05$) للمجاميع T3 وT4 بزيادة تركيز التلوين بالأخص بالتركيزين (1.0 و 1.5 مل / كغم) مقارنة مع مستوى الهرمون لمجموعة السيطرة. الجدول (5).

أظهرت المعاملة بالزايلين انخفاض لم يصل إلى مستوى المعنوية ($P>0.05$) في مستوى هرمون اللاتينيLH للمجموعة المعاملة T2 مقارنة مع مجموعة السيطرة ، الأ إن ازداد الانخفاض أكثر معنوية ($P<0.05$) في مستوى هرمون اللاتينيLH للمجاميع T3 وT4 المعاملة بالتركيزين (1.0 و 1.5 مل / كغم) من الزايلين مقارنة مع مجموعة السيطرة .الجدول (6) .

أوضحت نتائج في الجدول (6) وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) في مستوى هرمون المحفز للجريب FSH في المجامع T2 و T3 التي حقنت بالتراكيز المتصاعدة من الزايلين مقارنة مع مستوى الهرمون في مجموعة السيطرة .
أدى الحقن بالزايلين انخفاضا معنويا ($P<0.05$) في مستوى هرمون التستوستيرون اذ يزداد ذلك الانخفاض بزيادة تركيز الزايلين مقارنة مع مستواه في مجموعة السيطرة ، الجدول (6).

معايير النطف Sperms Parameters

بينت النتائج في الجدول (7) وجود انخفاض غير معنوي ($p>0.05$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة (%) في المجموع التي حقنت بتركيز (0.5 مل /كغم) من التلوين مقارنة مع مجموعة السيطرة ، في حين ازداد ذلك الأنخفاض معنويا ($p<0.05$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة (%) في المجاميع التي حقنت بالتركيزين (1.0 و 1.5 مل/ كغم) من التلوين مقارنة مع مجموعة السيطرة.
يلاحظ من الجدول (7) وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) في معدل تركيز النطف (مليون /مل) والنسبة المئوية للنطف العيوشة (%) والنسبة المئوية للنطف السوية (%) في المجاميع التي حقنت بالتراكيز المتصاعدة من التلوين (0.5 و 1.0 و 1.5 مل / كغم) من وزن الجسم على التوالي مقارنة تلك المعايير النطفية في مجموعة السيطرة ، اذ كان ذلك الانخفاض على أشدة في التركيزيين (1.0 و 1.5 مل / كغم) .

أظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة (%) و معدل تركيز النطف (مليون /مل) والنسبة المئوية للنطف السوية (%) في المجاميع T2 و T3 التي حقنت بالزايلين مقارنة بمجموعة السيطرة . الجدول (8).
لم يلاحظ وجود فروق معنوية ($P>0.05$) في مجموعة T2 المعاملة بالتركيز (0.5 مل / كغم) من الزايلول في النسبة المئوية للنطف العيوشة (%) مقارنة مع مجموعة السيطرة. في حين كانت نتائج المجموعة T3 المعاملة بالتركيز (1.5 مل / كغم) من الزايلين أكثر معنوية ($p<0.05$) في انخفاض النسبة المئوية للنطف العيوشة (%) مقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما في الجدول (8).

جدول (1) تأثير التلوين على وزن الجسم ومعدل الكسب الوزني في ذكور الجرذان.

المعاملات	وزن الجسم قبل التجربة	وزن الجسم بعد التجربة	معدل الكسب الوزني
المجموعة الأولى T1	1.704 ±270.296 a	5.481 ±298.733 a	1.10±28.437+ a
المجموعة الثانيةT2 0.5 ml / kg	2.966.±279.818 a	2.804±266.151 b	1.04±13.667 - b
المجموعة الثالثة T3 1.0 ml / kg	4.628.±255.736 a	4.978±206.843 c	1.18±48.893 - c
المجموعة الرابعة T4 1.5 ml / kg	3.858 ±283.366 a	5.634±151.728 d	1.04±131.638 - d

* الأرقام تمثل (المعدل ± الخطاء القياسي).
*الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تمثل وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.

جدول (2) تأثير الزايلين على وزن الجسم ومعدل الكسب الوزني في ذكور الجرذان.

المعاملات	وزن الجسم قبل التجربة	وزن الجسم بعد التجربة	معدل الكسب الوزني
المجموعة الأولى T1	4.172±285.230 a	2.789±296.853 a	2.375±11.623 + a
المجموعة الثانية T2 0.5 ml / kg	3.938±287.685 a	5.252±257.033 b	3.468±30.652 - b
المجموعة الثالثة T3 1.5 ml / kg	3.379±286.893 a	9.185±191.293 c	9.228±95. 600 - c

* الأرقام تمثل (المعدل ± الخطاء القياسي).

*الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تمثل وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.

جدول (3) تأثير التلوين في بعض المعايير الوزنية للأعضاء التناسلية لذكور الجرذان.

المعاملات	الخصية (غم)	البربخ (ملغم)	الحويصلة المنوية (ملغم)	البروستات (ملغم)
المجموعة الأولى T1	0.062±1.396 a	4.653±367.920 a	8.378±578.461 a	3.192±382.943 a
المجموعة الثانية T2 0.5 ml / kg	0.047±1.005 b	5.850±316.483 a	7.283±463.551 b	7.879±335.688 b
المجموعة الثالثة T3 1.0 ml / kg	0.022±0.875 b	4.976±252.140 b	10.031±408.351 c	7.043±279.395 c
المجموعة الرابعة T4 1.5 ml / kg	0.022±0.541 d	11.420±125.538 c	6.303 ±367.221 d	4.236±182.118 d

* الأرقام تمثل (المعدل ± الخطاء القياسي).

*الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تمثل وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.

جدول (4) تأثير الزايلين في بعض المعايير الوزنية للأعضاء التناسلية لذكور الجرذان.

المعاملات	الخصية (غم)	البربخ (ملغم)	الحويصلة المنوية (ملغم)	البروستات (ملغم)
المجموعة الأولى T1	0.065±1.821 a	6.163 ±366.132 a	5.718±578.168 a	5.581±391.050 a
المجموعة الثانية I T2 0.5 ml / kg	0.049 ±1.013 b	5.858±328.953 a	8.370 ±462.563 b	6.437 ±311.630 b
المجموعة الثالثة I T3 1.5 ml / kg	0.020 ±0.433 c	8.204±100.621 b	6.508 ±372.821 c	7.358 ±156.451 c

* الأرقام تمثل (المعدل ± الخطاء القياسي).

*الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تمثل وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.

جدول (5) تأثير التلوين في مستوى بعض الهرمونات الجنسية لذكور الجرذان.

المعاملات	هرمون اللوتيني LH (ملي وحدة دولية /مل)	هرمون محفز الجربياتFSH (ملي وحدة دولية/مل)	هرمون التيستوستيرون (نانوغرام/مل)
المجموعة الأولى T1	0.103 ±0.580 a	0.024 ±1.555 a	0.750±1.316 a
المجموعة الثانية T2 0.5 ml / kg	0.089 ±0.545 a	0.018 ±1.260 b	0.148±1.165 a
المجموعة الثالثة T3 1.0 ml / kg	0.134 ±0.376 b	0.010±0.701 c	0.020±0.839 b
المجموعة الرابعة T4 1.5 ml / kg	0.017 ±0.203 c	0.061±0.490 d	0.043±0.446 c

* الأرقام تمثل (المعدل ± الخطاء القياسي).

*الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تمثل وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.

جدول (6) تأثير التلوين في مستوى بعض الهرمونات الجنسية لذكور الجرذان.

المعاملات	هرمون اللوتيني LH (ملي وحدة دولية /مل)	هرمون محفز الجربياتFSH (ملي وحدة دولية/مل)	هرمون التيستوستيرون (نانوغرام/مل)
المجموعة الأولى T1	0.750±1.296 a	0.245±1.468 a	0.1480±0.555 a
المجموعة الثانية T2 0.5 ml / kg	0.449±1.160 a	0.166±0.901 b	0.141±0.378 b
المجموعة الثالثة T3 1.5 ml / kg	0.045±0.418 b	0.137±0.498 c	0.141±0.215 b

* الأرقام تمثل (المعدل ± الخطاء القياسي).

*الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تمثل وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.

جدول (7) تأثير التلوين في بعض معايير النطف لذكور الجرذان.

المعاملات	النسبة المئوية للنطف المتحركة(%)	تركيز النطف (مليون /مل)	النسبة المئوية للنطف العيوشة (%)	النسبة المئوية للنطف السوية(%)
مجموعة الأولى T1	0.214±72.551 a	0.527±92.271 a	0.607±73.685 a	0.338±79.545 a
المجموعة الثانية T2 0.5 ml / kg	0.947±68.256 a	0.304±88.060 b	0.724±67.513 b	0.241±74.588 b
المجموعة الثالثة T3 1.0 ml / kg	1.018±48.846 b	0.707±77.336 c	0.732±62.066 c	0.732±65.538 c
المجموعة الرابعة T4 1.5 ml / kg	0.194±42.903 c	0.527±56.856 d	1.112±47.828 d	0.752±46.218 d

* الأرقام تمثل (المعدل ± الخطاء القياسي).

*الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تمثل وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.

جدول (8) تأثير الزايلين في بعض معايير النطف لذكور الجرذان.

المعاملات	النسبة المئوية للنطف المتحركة(%)	تركيز النطف (مليون /مل)	النسبة المئوية للنطف العيوشة (%)	النسبة المئوية للنطف السوية(%)
مجموعة الأولى T1	0.299±71.938 a	0.576±92.440 a	0.668±72.190 a	0.422±78.758 a
المجموعة الثانية T2 0.5 ml / kg	0.903±65.890 b	1.184±78.370 b	0.928±67.433 a	0.420±70.291 b
المجموعة الثالثة T3 1.5 ml / kg	1.116±46.911 c	0.353±58.000 c	0.921±45.475 b	0.595±48.506 c

* الأرقام تمثل (المعدل ± الخطاء القياسي).

*الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تمثل وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.

المناقشة Discussion

وزن الجسم :

أوضحت نتائج الدراسة حصول انخفاض معنوي في معدل وزن جسم الحيوانات ومعدل الكسب الوزني لحيوانات التجربة التي حقنت بالتراكيز المتصاعدة من التلوين (0.5 و 1.0 و 1.5 مل/كغم) على التوالي لمدة 30 يوم والحيوانات التي حقنت بالزايلين بالتراكيز (0.5 و 1.5 مل /كغم) على التوالي لمدة 30 يوم .

يعود سبب الانخفاض في وزن الجسم ومعدل الكسب الوزني نتيجة التأثير السمي للتلوين والزايلين عن طريق توليد الجذور الحرة (17) التي تؤدي إلى حدوث خلل في عدد من وظائف الأعضاء والأجهزة ومنها الجهاز الهضمي (18) مما يؤدي الى اضطرابات في الفعاليات الأيضية ، ومن ثم فقدان الشهية عند الحيوان وانخفاض وزنه، وهذا ما اكده (19) بانخفاض وزن الجسم بسبب امتناع الحيوانات اوتقليل قدرات الحيوانات على الأكل بسبب المعاملة بالتلوين. طابقت هذه النتيجة دراسة (20) عند تعرض الحيوانات للمذيبات العضوية .

ازداد الانخفاض في وزن الجسم ومعدل الكسب بزيادة تركيز التلوين والزايلين ، وقد يعود السبب الى زيادة تركيز المركبين في مصل الدم لحيوانات المعاملة وما يتبعهما من الأثار السلبية السامة على انسجة الجسم كالقلب والكبد والكلية (21).

وزن أعضاء الجهاز التكاثري الذكري

أدت المعاملة بالتلوين والزايلين انخفاض في أوزان أعضاء الجهاز التكاثري الذكري والتي تشمل كلا من الخصى والبربخ والحويصلة المنوية والبروستات مقارنه مع اوزانها في مجاميع السيطرة.

يعزى سبب انخفاض وزن الخصى إلى فعل الجذور الحرة المتولدة (22) ، اذ تعمل الجذور على تدمير الخلايا المبطنة للنبيبات المنوية فتحصل فيها افات تنكسيه تنعكس على التركيب النسجي للخصى وبالتالي انخفاض اوزانها (23) .

كما تؤثر تلك الجذور الحرة سلبيا على وزن الغدد الجنسية اللاحقة من خلال تفاعلها مع الجزيئات الحيوية مسببه تحطم الأنسجة ، فضلا عن ذلك تؤثر على خلايا لايدك مؤديا إلى انخفاضا كبير في عدد خلايا لايدك وبذلك يقل انتاج تلك الخلايا لهرمون التيستوسترون (24) ، اذ يكون ذلك الهرمون مسؤولاً عن وظائف الخصية والبربخ وغدة البروستات والحويصلات المنوية (25) اذ ان وزن الأعضاء التناسلية يعتمد على مستوى الهرمونات الجنسية (26) .

أكد الباحث (20) انخفاض وزن الخصى والبربخ نتيجة تأثير الجذور الحرة على الخصى والبربخ بفعل التسمم بالمذيبات العضوية ومنها التلوين. وأشار (27) ان التعرض للتلوين والزايلين يسبب تلف الخلايا الجنسية، ويرجع ذلك الى زيادة تركيز تلك المذيبات العضوية الأروماتية داخل الجسم. وايضا اكدت الدراسات ان التعرض المزمن للتلوين وبتراكيز عالية يؤثر سلبا على قيام الأعضاء التناسلية بوظائفها بصورة طبيعية (28).

تغيرات معالم النطف

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول انخفاض معنوي في تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف المتحركة والنسبة المئوية للنطف العيوشة والنسبة المئوية للنطف السوية في مجاميع الحيوانات التي حقنت بالتراكيز المتصاعدة من التلوين T2 و T3 و T4 والمجموعتين المحقونتين بالزايلين T2 و T3 مقارنة مع مجاميع السيطرة.

يعود سبب انخفاض تركيز النطف لأمرين احدهما نتيجة تأثير الجذور الحرة المتولدة بفعل المركبات العضوية الأروماتية ومنها التلوين (29) ، إذ تعمل الجذور على زيادة أكسدة الأحماض الدهنية غير المتشبعة في أغشية الخلايا المبطنة للنبيبات المنوية ، مما يؤدي الى خلل في عملية تكوين النطف . والسبب الأخر يعود لانخفاض إعداد خلايا لايدك، إذا أن هذا الانخفاض ينعكس سلبيا في تصنيع هرمون التيستروستيرون الذي يسبب في خفض تركيز النطف في البربخ نتيجة لتأثيره في عملية نشأة النطفة ، من جهة ، و تأثر أنسجة البرابخ وتضررها نتيجة لانخفاض مستوى هذا الهرمون من جهة أخرى(30) .

من جانب اخر، يعود انخفاض تركيز النطف الى انخفاض مستوى هرون اللوتيني LH اذ لذلك الهرمون دور في نمو الخلايا البينية (خلايا لايدك) المسئولة عن إفراز هرمون التستوستيرون وبالنتيجة يقل معدل انتاج النطف (31) .

بينت الدراسات على الأنسان والحيوانات المختبرية عند التعرض للمذيبات الأروماتية ومنها التلوين والزايلين تعمل على خفض معدل كل من هرموني LH و FSH وبشكل خاص هرمون FSH الذي يعمل على تغذية خلايا سترولي وبدورها تغذية الخلايا الجرثومية مما يؤثر ذلك على انتاج النطف (32).

أدت التراكيز المتصاعدة من التلوين والزايلين بانخفاض النسب المئوية للنطف السوية والنسب المئوية للنطف العيوشة في المجاميع المعاملة مقارنه مع مجاميع السيطرة وخصوصا عند تزايد تركيز هذين المركبين. يعزى سبب حدوث التشوهات في الحيوانات المنوية الى قابلية المذيبات العضوية الأروماتية النفوذ الى إلى دم حاجز الخصية مما يسبب نقص في اعداد خلايا سترولي (34 ، 33) .اذ التعرض للمذيبات العضوية الأروماتية يسبب موت النطف وزيادة تشوهها في الأنسان والحيوانات المختبرية (7) .

أكدت البحوث إن تأثير المذيبات العضوية الأروماتية ومن ضمنها التلوين تؤثر على تنظيم الإفراز الهرموني للهرمونات الجنسية (31) وعلى اعضاء التكاثر كالخصية او التأثير على حجم ونوعية النطف وجميع الخلايا او المواد المغذية للنطف ، 33) (35 . فالزيادة التشوهات النطفية تعزى الى شذوذ في وظيفة البرابخ المتمثلة بقلة افراز المواد الضرورية لوقاية النطف وانضاجها وزيادة كفاءتها التخصيبية بفعل الأندروجينات المفرزة من خلايا لايدك (36). فضلاً عن ذلك قد يعود قلة نشاط النطف وحركتها إلى نقص عنصر الزنك والذي يعد ضروري لفعالية عدد الإنزيمات المشاركة في بناء وتصنيع الأحماض النووية(37).

فالتعرض للمواد الكيميائية السامة تسبب تثبيط عملية نشأة النطف وتحطيم خلايا لايدك (39 ، 38) ، واختزال اعداد الخلايا الجرثومية المتطورة في الظهارة المنوية فضلا عن التغيرات في الخصائص الفيزياوية والكيميائية للسائل المنوي (40) . فالجذور الحرة المتولدة بفعل الملوثات الكيميائية تؤدي اختزال حركة النطف وزيادة التشوهات النطفية (37) . قد تكون تلك الجذور الحرة السبب في موت النطف وفقدان حيويتها ووظيفتها وبالتالي فقدان الخصوبة وحدوث العقم (41) .

من جهة اخرى ، يرجع سبب تشوه النطف الى التشوهات الكروموسومية التي يحدث التلوين في الخلايا الجنسية للخصى، اذ اشارت البحوث الى الأشكال غير الطبيعية للنطف تقترن مع حدوث نقص او تشوه في الكروموسومات (44 ، 43 ، 42).

المعايير الهرمونية

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى إن معاملة حيوانات التجربة بالمذيبات العضوية الأروماتية تأثيرات سلبية على افراز الهرمونات الجنسية ، اذ احدثت المعاملة بالتراكيز المتصاعدة للتلوين (0.5 ، 1.0 ، 1.5 مل/كغم) لمدة 30 يوم والتركيزين من الزايلين (0.5 ، 1.5 مل / كغم) لمدة 30 يوم انخفاض معنوي في مستوى الهرمون المحفز للجريب FSH والهرمون اللوتيني LH وهرمون التستوستيرون في مصل دم الحيوانات المعاملة مقارنه مع مستوى تلك الهرمونات لمجاميع السيطرة.

يعزى أسباب انخفاض مستوى هرمونات محرضات القند FSH وLH عند المعاملة بالمذيبات العضوية الأروماتية (التلوين والزايلين) الى التأثيرات السلبية على الغدة تحت المهاد والغدة النخامية (45) . اذ تسبب المذيبات العضوية كالتلوين اختلال في الموازنة الهرمونية وبشكل خاص التأثير على هرموني FSH وLH (46 ، 31) وبالتالي تأثيره على إطلاق محرضات القند (47 ، 31) . فالتعرض للمواد البيئية السامة تؤدي الى تثبيط الهرمون المحرض للقند Gn- RH (39 ، 38) .

أما انخفاض مستوى هرمون التستوستيرون في مصل الدم لمجاميع التجربة يأتي من تأثيرين اولهما غير مباشر عن طريق تأثير المركبات الأروماتية على الغدة تحت المهاد أو الفص الأمامي للغدة النخامية ، وبالتالي حدوث خلل في افرازت هرموني FSH وLH وهرمون التيستروستيرون عن طريق التغذية الاسترجاعية السالبة Negative feed back (48) . إما التأثير المباشر فهو على مستوى الخصية وبخاصة خلايا لايدك، اذ يسبب التلوين انخفاض إعداد خلايا لايدك (49) من خلال عمل الجذور الحرة التخريبي على خلايا لايدك وتمنع من افراز هرمون التستوستيرون (51 ، 50) . وهذا ما اكده (52) بان التلوين يثبط عملية بناء وافراز هرمون التستوستيرون نتيجة تأثيره المباشر على خلايا لايدك Leyding cells .

المصادر

1- Dixon, R. L. (1985). Aspect of male reproductive toxictogy in hemminks, Ksoman- Vainino, H (eds) Occupational hazard and reproductive , Hemisphere , Public, Washington, New York. London.

2-Bergamaschi, E.; Smargiassi, A. and Mutti, A. (1997). Peripheral markers of catecholaminergic dysfunction and symptoms of neurotoxicity among styrene- exposed workers. Int. Arch. Occup Environ Health, 69 (3): 14-209.

3-U. S. EPA. (1990). Drinking water document for toluene . Washington, D.C.U.S. Environment protection Agency, Office of drinking water, ECAO-CIN, 408.

4-Bell, G. M.; Shillaker, R. D. ; Padgham, M. D. J. and Standring, P. (1992). Xylenes . HSE Toxicity Rev, 26: 70 – 166.

5-Lindbohm, M. L. (1995). Effects of parental exposure to solvents on pregnancy outcome. J. Occup . Env. Med., 37 : 903.

6-Cho, S. I , Chen, C. Chen, D. ; Damokosh, A. I. ; Viu, L. and Ryan, L. (2000). Benzene exposure and time to conception.

7-Lemastevs, G. K.; D. M. ; Yin, H. ; H.; Lockev, J. E.; Shukla, R. and Selevan, S. G. (1999). Male reproductive effect of solvent and exposure during aircraft maintenance . Report. Toxicol., 13 : 155-166.

8-Ono, A., Kawashima, K.; Sekita, K.; Hirose, A. ; Ogawa, Y.; Saito, M.; Naito, K.; Yasuhara, K.; Kaneko, T.; Furuya, T.; Inone, T. and Kurokawa, Y. (1999). Toluene inhalation induced epididymal sperm dysfunction in rats. Toxicol. 139 : 193-205.

9- Xiao, G.; Pan, C.; Cai, Y. ; Lin, H. and Fu, Z. (1999). Effect of benzene , toluene , xylene on the semen quality of exposed workers. Chin. Med. J. 112 : 709 – 712.

10- Saracibr, G.; Hernandez, M. L.; Echerarria, E. ; Barbero,I. ; Gutierrez, A. and Casis , O. (2001). Toluene alters Mu-Opioid receptor experession in the rat brainstem . Industrial Health, 39: 231-234.

11- Washington , W. J.; Murthy, R. C. ; Doye, A. ; Eugene, K. ; Brown, D. and Bradley, I . (1983). Induction of morphologically abnormal sperm in rats exposed to O – Xylene . System Biology in reproductive medicine. 11 (3): 233-237.

12-Hanting , B.T. (1989). What aloes the epididymis do and how . physiology , sperm maturation . In : Handbook of . Anthology . Boston , M.A (ed) . American .Society of Anthology .

13-Levin , R. J; Brown , M. H; Bell ,M.; shue , F; Greenberg , G.N . and Brodson , B.L.(1992) Air – conditioned Environ ments do not prevent deterioration of human Semen gualitny during the summer . Fertile .Steril . 57:1065 -1083 .

14-Bambe , K. (1998) Evolution of acrosomal integrity of boar spermatozoa by bright field miwo scopy Using an Eosin – Nigrosin stain . Theriogenology , 29 :1245-1251 .

15-Axineer , E, Malqvist , M. ; Linda – Forsberyg , C. and Rodringuez – Mertias , H . (1999) Regginal histology of the duct epididymis in the dome sti Cat . J . Report . Develop . 45:151-160.

16- الراوي ، خاشع محمود وخلف الله ، عبد العزيز (2005) مدخل إلى الإحصاء الطبعة الثانية . كلية الزراعة والغابات . جامعة الموصل .

17-Coskun, O. ; Oter, S. ; Korkmaz, A.; Armutcu, F. and Kanter, M. (2005). The oxidative and morphological effects of high concentration chronic toluene exposure on rat saciatic nerves. J . Springer Link .,30 (1) : 33 – 38.

18-Burg, R. (1993). Toxicology update : toluene . J . Appl . Toxicol., 13 (6) : 441 – 446.

19-Rosmaire, A. F. (1994). Toxicity summary for Toluene chemical hazard evaluation group , Biomedical and Environmental Information Analysis section , Health sciences research division, Oak Ridge National Laboratory , Oak Ridge, Tenessee.

20-Ishigami, A ; Tokunaga, I. and Kubo, S. (2005). Immunohistochemical study of rat spermatogenesis after toluene – inhalation. J . Visit jslm ., 7 (1) : 42- 46.

21-Paterson, S. C. and Sarvesvaran, R. (1983). Plastic bagdeath: A toluene fatality . Med. Sci. Law., 23: 64-66.

22-Baydas, G, ; Reiter, R. J. ; Nedzvetskii, V . S. ; Yaar, A. Tuzcu, M. ; Ozveren, F. and Canatan, H. (2002). Melatonin protects the central nervous system of rats against toluene – containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis. J. Elsevier Science Ireland., 137 (3) : 169 – 174.

23-Ishihara, M.; Itoh, M.; Miyamoto, K.; Suna, S.; Lakeuchi, Y.; Takenaka, I. and Jitsunari, F. (2000). Spermatogenic disturbance induced by di-(2-ethyl hexyl) phthalate is significantly prevented by treatment with antioxidant vitamins in the rat. Int. J. Androl. 23: 85-94.

24-Hillier, S. G. (1999). Intragonadal regulation of male and female reproductive. Annals d' Endocrinology (paris), 60: 7- 111.

25-Ganong , W . F . (2005) . Review of Medical Physiology . 22ed . Langg medical Book L Mc Graw Hill . University of California . Sanfrancisco .

26- O'Connor, J. C. ; Frame, S. R. and Ladies, G. S. (2002). Evaluation of al5-day screening assay using intact male rats for identifying antiandrogens . Toxil . Sci. , 69: 92-108.

27- Saro, J. C. and Claude, L. R. (1991). Cytogenetic evaluation of genotoxicity caused by mixed exposure to Toluene and Xylene , 34 : 159.

28- Hormes, J. T. ; Filley, C. M. and Rosenberg, N. L. K. (1986). Neurologic squeal of chronic solvent vapor abuse. Neurology, 36 : 670-698.

29-Mattia, C. ; Syed, F. and Bondy, S.C. (2009). Toluene – induced oxidative stress in sever brain regions area other organ. J Article, 18 (3): 313- 328.

30- Moruzzi, J.F.; Wyrobek, A.J.; Mayall, B.H. and Gledhill, B.(1988). Quantification and classification of human sperm morphology by compter- assisted image analysis J. Fertil and steril ; So(1): 142-151.

31- Svensson, B. G. ; Nise, G.; Erfurth, E.M. and Olsso, N. H. (1992). Neuroendocrine effects in printing workers exposed to toluene . Br. J. Ind. Med., 49: 402-408.

32- Cia, Y. Z. ; Xiao, G. B. ; Wang, T. X. and Fu, Z. M. (1996). Effect of Benzene, Toluene , Xylene on male sexual hormone. Chin. J. pub. Health, 15: 198-199.

33- Lahdetie , J. (1995). Occupation and exposure related studies on human sperm. J. Occup. Envi. Med., 37: 922-930.

34- Lindbohm, M. L. ; Hemminki, K.; Bonhomme, M. G. ; Anttila, A . ; Rantala , K. ; Heikkil, A. and Rosenberg, M. J. (1991). Effect of paternal occupational exposure on spontaneous abortions. Am. J. Pub. Health, 81: 1029-1033.

35- Chia, S. E.; Ong, C. N. and Tsakok, F. M. (1994). Effect of cigarette smoking on human semen quality. Arch. Audrol., 33:163-168.

36- محي الدين، خير الين يوسف، وليد حميد توحله، سعد حسين (1990). فسلجة الغدد الصم والتكاثر في الثدييات والطيور. دار الحكمة للطباعة والنشر- جامعة الموصل.

37- Telisman, S. ; Cvitkovic, P. ; Pizent, J. ; Gavella, M. and Rocis, B. (2000). Semen quality and reproductive endocrine fun relation to biomarkes of lead , cadmium, zinc, copper in men . U.S. environmental protection agency, and the international lead, zinc research organization., 108 |(1): 45-53.

38- Watanabe, N. and Oouki, Y. (1999). Inhalation of diesel engine exhaust affects spermatogenesis in growing male rats. Environmental Health Perspectives; 107: 539-544.

39- Bonde, J. P. (2002). Occupational risk to male reproductive .Gital Med. Lav. Erg., 24 (2): 112-117.

40- Celis, R. D. ; Velassco, P. F. ; Unzaga, M. G. ; Calleja, J. T. and Neurvo, N. P., (2001). Semen quality of workers occupationally exposed to hydrocarbons. Fertil. Sterial, 73: 221-228.

41- Aitken, R. J. and Clarkson, J. S. (1987). Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa . J. Report. Fert., 81 : 459-469.

42- Hassold, T. ; Abrizzo, M. and Adkins, K . (1996). Human aneuploidy : incidence, oriogin and etiology. Environ. Mol. Mutagen., 28: 167-175.

43- Lee, J . D. ; Kamiguchi, Y. and Yanangimachi, R. (1996). Analysis of chromosome constitution of human spermatozoa with normal and aberrant hed morphologies after injection into mouse oocytes. Hum. Reprod., 11: 1942-1946.

44- Martin, R. H. ; Sprigge, E. and Rademaker, A. W. (1996). Multicolor Fluorescence in sita hybridifzation analysis of aneuploidy and diploidy frequencies in 225846 sperm from 10 normal men . Biol. Repord., 45: 394-398.

45- Ward, C. O. ; Knua, R. A. ; Snyder, N. K. (1985). Sub chronic inhalation toxicity of benzene in rats and mice . Am. J. lnd. Med., 7:457.

46- NG, T. P.; Foo, S. W. and Yoong, T. (1992). Risk of spontaneous abortion in workers exposed to toluene . Brit. J. lndus. Med., 49: 804-808.

47- Colborn, T. ; Vomsaal, F. S. and Soto, A. M. (1993). Environ. Health prespect., 101:378-384.

48- McDonald, J. D. ; Lavoie, J. ; Cote, R. and Mcdonald, A. D. (1987). Chemical exposure at work in early pregnancy and enital defect: A case-refrent study Br. J. lnd. Med., 44:527-533.

49- Cavrean, S. S. (1996). Poracrine control of human leydig cell and sertoli cell function . Folia . Histo. Chem. Cytobiol., 34: 111-119.

50- Hillier, S. G. (1999). Intragonadal regulation of male and female reproduction. Nnqles . J. Endocrinology., 60: 7-111.

51- Nishimnra, K. ; Matsumiya, K. ; Tsujimura, A.; Koga, M. and Okuyama, A. (2001). Association of selenoprotein with testosterone production in cultured leyding cells. Arch. Androl., 47:67-76.

52- Yilmaz, B. ; Canpolat, S.; Sandal, S.; Akpolat , N.; Kutlu, S.; IIhan, N. and Kelestimur, H. (2006). Paint thinner exposure inhibits testosterone synthesis and secretion in a reversible manner in the rat. Reproductive Toxicology . 22 (4): 791-796.

A Study Effect of Some Organic Solvent Aromatic Materials on Male Rats Fertility.

Wisam A.W.AL-Khalidi
University of AL-Qadisiya / College of Education

Abstract

This study was applied to investigate the toxicity effect of two organic solvent aromatic materials toluene (0.5 , 1.0 , 1.5 ml/ kg) and xylene (0.5 , 1.5 ml/ kg) through intarperitone injection for 30 day.

The results showed the following:

A significant decrease ($P < 0.05$) in body weight and body weight gain at the end of the experiment to all groups treated with toluene and xylene compared to control groups.

A significant decrease ($P < 0.05$) in genital weight organs including (testes , epidymis , prostate and seminal vesicle) in the groups treated with higher concentration (toluene , xylene) compared to control.

A significant decrease ($P < 0.05$) in sperm parameters (sperms concentration , movement , the percentage of sperms viability and normality) compared to control .

The statistical analysis showed a significant decrease ($P < 0.05$) in levels of gonadotropin hormones (FSH , LH) and level testosterone hormone in the groups injected with toluene , xylene compared to the levels of those hormones in control.

It is concluded that there is a negative role and toxicity of organic solvent aromatic (toluene and xylene) on male rats fertility.