مجلة القادسيه للعلوم الصرفه المجلد 16 العدد 3 سنة 2011

تأثير الموثين E_1 (PGE_1) على عملية نشأة النطفة في الجرذان البيض *Rattus rattus*

حيدر كامل زيدان السيد علي مالك حمادي

قسم علوم الحياة- كلية العلوم - جامعة بابل

الخلاصة:-

هدفت هذه الدراسة الى معرفة تأثيرات الموثين E_1 (PGE_1)على عملية نشأة النطفة في ذكور الجرذان البيض *Rattus rattus*بعد المعاملة عن طريق الفم.

تم استخدام 60 ذكرا من الجرذان البيضاء قسمت عشوائيا الى ثلاث مجاميع رئيسة احتوت كل منها على 20 حيوانا عوملت لمدة يومين وأربعة وستة أيام بالموثين E_1 وكل مجموعة رئيسة قسمت عشوائيا الى اربع مجاميع ثانوية ضمت كل منها 5 حيوانات عوملت بـ(المحلول الملحي الفسيولوجي0.9% NaCl ، 10 ، 20 ، 30 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم من الموثينE_1. اخذت اوزان الحيوانات قبل المعاملة وبعد 24 ساعة من آخر جرعة واخذت ايضا اوزان المناسل بعد استئصالها ثم حضرت منها مقاطع نسجية لدراسة تأثير الموثين على معدل اعداد الخلايا المنشئة للنطفة وخلايا سرتولي وحساب النسبة المؤية للنبيبات المتضررة وكذلك حساب التغيرات في معدل اقطار النبيبات ناقلة المني، وقورنت مع مجاميع السيطرة. وتم الحصول على نتائج معنوية ($P<0.05$) وغير معنوية في أعداد الخلايا المنشئة للنطفة في المجاميع المعاملة عند الكميات والجرع المختلفة من الموثين E_1 مقارنة بمجاميع السيطرة . ولوحظ حدوث انخفاض معنوي($P<0.05$) في معدل اعداد خلايا سرتولي Sertoli cells في مجموعة الحيوانات المعاملة لمدة يومين عند الكمية 20 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم وكذلك في المجموعة المعاملة لمدة أربعة أيام عند الكمية 10 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم وايضا في المجموعة المعاملة لمدة ست أيام بالموثين PGE_1 عند الكميتين (20 و 30) مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة بمجاميع السيطرة. ولوحظ تارة انخفاضا وتارة ارتفاعا معنويا ($P<0.05$) في معدل اقطار النبيبات ناقلة المني اعتمادا على مدة التجريع وكمية الجرعة مقارنة بمجاميع السيطرة. فيما لوحظ تغيراً معنويا ($P<0.05$) في معدل اوزان مناسل الحيوانات المعاملة بالموثين E_1 مقارنة مع مجموعة السيطرة. نستنتج ان عملية نشأة النطفة تتاثر اعتمادا على كمية الموثينE_1 المجرع ومدة التجريع.

المقدمة:-

الموثينات Prostaglandins(PGs) هي مجموعة مركبات دهنية غير مشبعة متعددة ذات عشرين ذرة كاربون Polyunsaturated fatty acids نواتها حامض الاراكيدونيك Arachidonic acid وحامضيEicosapenteanoic و Eicosatrienoic[1] ،إذ تكوّن هذه الأحماض في الجسم ثلاثة مركبات هي الموثينات Prostaglandins (PGs) والبروستاسايكلين Prostacyclin (PGI_2) والثرومبوكسينات Thromboxanes (TX) والتي بمجموعها تنتمي الى عائلة البروستانويدات Prostanoids. تحوي الموثيناتPGs في تركيبها على حلقة السايكلوبنتان Cyclopentan وسلسلتين هايدروكاربونية جانبيتين تختلف بعدد الاواصر المزدوجة في كل موثين وفي موقع مجموعة الهايدروكسيل [2].

في الكلاب وجد ان هناك علاقة بين الموثينات والخصية Testis من خلال علاقتها بهرمون Human (hCG) chorionic gonadotropin والادنوسين احادي الفوسفات الحلقي(cAMP) cyclic Adenosin monophosphate وافراز الشحمون الخصوي Testosterone [3]. وأما في الجرذ والفار فان الخصى تنتج الموثينات بكميات قليلة [7, 6, 5,4] ووجد في خصية الجرذ البالغ ان الموثينين E_2(PGE_2) و $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) هما الاكثر تواجدا وان الموثينات F_1 (PGF_1) و (E_1 (PGE_1 و D_2 (PGD_2) شخصت بمستويات اقل بكثيرمنهما [8].وان خلايا لايدك Leydig cells في خصى الهامستر الذهبي تنتج الموثين $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) الذي يثبط بناء الشحمون الخصوي [9]. كما لوحظ إن الموثينات لاسيما $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) و E_2 (PGE_2) تتدخل بصورة مباشرة او غير مباشرة في السيطرة على تطور خلايا لايدك في الخصية غير البالغة[10] .

المواد وطرائق العمل :-

حيوانات التجربة Experimental Animals

استخدمت في هذه الدراسة ذكور الجرذان البيض البالغة بأعمار (8-11) إسبوع التي تم الحصول عليها من البيت الحيواني التابع لجامعة الكوفة – كلية العلوم .وتم تربيتها في اقفاص معدنية اعدت لهذا الغرض في البيت الحيواني التابع لجامعة كربلاء- كلية التربية تحت ظروف مسـيطر عليها من ماء وتهوية مناسـبة وغذاء مكون من العليقة الحيوانية أُعْطِيَ بصـورة حرة *ad libitum*، وبدرجة حرارة (30-25)ْم واعتمدت الإضاءة الطبيعية طوال مدة التجربة الممتدة من منتصف شهر تموز الى نهاية شهر آب من عام 2008م وبواقع 14 ساعة ضوء و 10 ساعات ظلام .

تركت الحيوانات مدة سبعة أيام لكي تتأقلم مع الظروف المشار إليها أعلاه قبل إجراء التجربة .

المادة المستعملة : Used material

اسـتعمل الموثين E_1 المنتج من لدن شـركة Mega المصـرية على شـكل حبوب والمسـمى تجاريا Mesotac تحوي الواحدة منها 200مايكروغرام من الموثين المصـنع . وحضـرت التراكيز المطلوبة (10 و 20 و 30) مايكروغرام/مل من خلال اذابتها في المحلول الملحي الفسيولوجي 0.9% NaCl . وكانت المادة المستعملة تعطى عن طريق الفم.

أخذت أوزان الحيوانات قبل البدء بالتجربة باسـتخدام ميزان حسـاس نوع Sartorius ذي مرتبتين عشـريتين وقرب الوزن لاقرب رقم عشري.

المحاليل والملونات Solution & Stains

حضرت المحاليل والملونات بحسب ماذكره لطفي والحاج[11]

تصميم التجربة Experimental design

تم اختيار كميات الموثين (30-20-10)مايكروغرام /كغم من وزن الجسـم إعتمادا على عبد الله[12] . اسـتعملت في هذه الدراسة 60 من ذكور الجرذان البيضاء البالغة اذ قسمت عشوائيا الى ثلاث مجاميع رئيسة واحتوت كل مجموعة على20 جرذا وكل مجموعة قسمت الى اربع مجاميع ثانوية احتوت المجموعة الواحدة منها على 5 حيوانات بضمنها مجموعة السيطرة وكما ياتي:

1-المجموعة الرئيسة الاولى (1)

عوملت بجرعتين من الموثين E_1لمدة يومين وبواقع جرعة واحدة يوميا للتراكيز كافة.

2-المجموعة الرئيسة الثانية (2)

عوملت باربع جرع من الموثين E_1 لمدة اربعة ايام وبواقع جرعة واحدة يوميا للتراكيز كافة.

3-المجموعة الرئيسة الثالثة (3)

عوملت بست جرع من الموثين E_1 لمدة ستة ايام وبواقع جرعة واحدة يوميا للتراكيز كافة.

قابلت كل مجموعة من المجاميع اعلاه مجموعة سيطرة تتكون من خمسـة حيوانات عوملت بالمحلول الملحي الفسـيولوجي 0.9% NaCl بكمية مقدارها 0.2 مل وبنفس اعدادالجرع المذكورة اعلاه.

كل مجموعة رئيسـة قسـمت الى ثلاث مجاميع ثانوية فضـلا عن مجموعة السـيطرة لتكون اربع مجاميع ثانوية ضـمن المجموعة الرئيسة الواحدة وكما يأتي:

1-**المجموعة الثانوية الاولى (1)** تضـــمنت خمس جرذان عدت مجموعة ســيطرة وعوملت بالمحلول الملحي الفســيولوجي NaCl %0.9 .

2-**المجموعة الثانوية الثانية (2)** تضـــمنت خمس جرذان عوملت بجرعة واحدة يومياً مقدارها 10 مايكروغرام /كغم من وزن الجسم من الموثين E_1 .

3-**المجموعة الثانوية الثالثة (3)** تضـــمنت خمس جرذان عوملت بجرعة واحدة يومياً مقدارها 20 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم من الموثين E_1 .

4-**المجموعة الثانوية الرابعة (4)** تضـــمنت خمس جرذان عوملت بجرعة واحدة يومياً مقدارها 30مايكروغرام/كغم من وزن الجسم من الموثين E_1 .

قتل الحيوانات Killing of animals

تم وزن الحيوانات قبل قتلها بعد اربع وعشـرين ســاعة من اخر جرعة بعد تخديرها بمادة الإيثر، بفتح جدار الجسـم من المنطقة البطنية السفلية وتم استئصـال الخصـى بسرعة واخذت اوزانها بوساطة ميزان حساس ذي اربع مراتب عشرية نوع Sartorius ونقلت الى المحلول المثبت (محلول باون) Bouin's solution حيث تركت فيه لمدة اربع وعشـرين ســاعة بعد ذلك غسلت عدة مرات بالكحول الاثيلي (70%) لحين زوال اللون الأصفر.

التحضيرات النسجية : Histological preparation

اتبعت الطريقة الموصوفة في (13) في تحضير المقاطع النسجية .

واجريت عمليات الانكاز Dehydration والترويق Clearing وصب العينات في قوالب شمعيةEmbedding.

التقطيع والصبغ النسجي: Histological Sectioning

قطعت العينـات المحفوظـة في قوالـب شـــمعيـة الى مقاطع بســـمك 5-6 مـايكروميتر بوســـاطـة جهـاز المـايكروتوم الدوار Rotary Microtome نوع American Optical. وتم تحميلها على ســلايدات وصـــبغها بالإيوســـين Eosin والهيماتوكسلين هاريس Harris's Hematoxylin. وحملت بوساطة كندا بلسم Canada balsam المذاب بالزايلين وتركت لتجف وبعدها تم اجراء الفحوص المجهرية عليها .

الفحص المجهري للمقاطع النسجية Microscopic Examination of tissue sections

تم اختيار أربع شرائح من كل حيوان بصورة عشوائية ثم اختير من كل شريحة مقطعان أي بمعدل 40 مقطعا للمجموعة الثانوية الواحدة وبذلك يكون مجموع ماتم دراســته 480 مقطعا . تم حســاب اعداد الخلايا الخلايا المســؤولة عن نشـــاة النطفة Spermatogenesis في الخصـــية حســـب الطريقة التي اســتعملها العلوجي وجماعته[14] وشـــملت: ســـليفات النطف Spermatogonia والخلايـا النطفيـة الاوليـة والثـانويـة Primary & Secondary spermatocytes وطلائع النطف Spermatids. ونظراً لصـــعوبة التمييز بين الخلايا النطفية الاولية والثانوية بوســـاطة المجهر الاعتيادي فقد عدت متغيرا واحدا[14] . وقد شملت الدراسة النسجية ايضا حساب اعداد خلايا سرتولي Sertoli cells وقياس اقطار النبيبات ناقلة المني Seminiferous tubules وبمعدل ثمانية نبيبات للحيوان الواحد وبمجموع 40 نبيبا للمجموعة الثانوية الواحدة. قيســت اقطار النبيبات ناقلة المني باخذ معدل القطرين الافقي والعمودي للنبيب الواحد وقد اســتخدم لهذا الغرض المقياس الدقيق العيني Ocular micrometer والذي تم معايرته باستعمال المقياس الدقيق المسرحيStage micrometer .

وشملت الدراسة حساب النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المني المتضررة بحسب طريقة بلاش وجماعته [15] وذلك بحساب العدد الكلي للنبيبات ناقلة المني السليمة والمتضررة ومن ثم حساب النسبة المؤية للنبيبات ناقلة المني المتضررة حسب المعادلة :

$$\text{النسبة المؤية للتضرر} = \frac{\text{عدد النبيبات المتضررة}}{\text{العدد الكلي للنبيبات}} \times 100$$

التحليل الاحصائي Statistical Analysis

تم تحليل النتائج على وفق نموذج التصميم العشوائي الكامل (Complete randomized design (CRD باستخدام اختبار (F) للاستدلال على المعنوية ، واستخدام اختبار اقل فرق معنوي (Least significant difference (L.S.D لاظهار معنوية النتائج وتم أيضا استخراج المتوسط الحسابي (Mean(M والخطأ القياسي (Standard Error (S.E [16] .

<u>النتائج -:</u>

التغيرات الوزنية Weight changes

التغيرات في اوزان اجسام الحيوانات (غم) Differences of body weights بينت نتائج الدراسة ان الزيادة في معدل الكسب في وزن الجسم كان معنويا ($P<0.05$) في الحيوانات المعاملة لمدة يومين بالموثين E_1 عند الجرع المتباينة مقارنة مع مجموعة السيطرة.

وفي الحيوانات المعاملة لمدة أربعة أيام بالموثين E_1 اظهرت النتائج وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في معدل الفرق في وزن الجسم عند الجرعتين (10 و 30) مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة .

واظهرت نتائج الدراسة ان المعاملة لمدة ستة أيام بالموثينE_1 سببت انخفاضا معنويا ($P<0.05$) في معدلات الفرق في وزن الجسم عند الجرع (10 و 20 و 30) مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول رقم1).

التغيرات في معدلات اوزان الخصى (غم). Weights of testes

اظهرت نتائج الدراسة نقصاً معنوياً ($P<0.05$) في معدل اوزان الخصى في الحيوانات المعاملة لمدة ستة أيام بالموثين E_1 عند الجرعة 10 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع اوزان الخصى لمجموعة السيطرة . فيما لم تظهر الحيوانات المعاملة لمدة يومين وأربعة أيام وللجرع كافة أية تغيرات معنوية مقارنة بمجاميع السيطرة (جدول رقم 2).

التغيرات في معدل النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المني المتضررة . Variation in percent rate of damage seminiferous tubules

اظهرت نتائج الدراسة ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في معدل النسبة المئوية للنبيبات المتضررة في الحيوانات المعاملة بالجرع المختلفة وللفترات المتباينة كافة بالمقارنة مع مجاميع السيطرة(جدول رقم3).

التغيرات في معدلات اعداد الخلايا المسؤولة عن عملية نشأة النطفة Spermatogenic cells
التغيرات في معدلات اعداد سليفات النطف Spermatogonia :

اظهرت نتائج الفحص المجهري وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدلات اعداد سليفات النطف Spermatogonia في الحيوانات المعاملة لمدة يومين بالموثينE_1 عند الجرعة 10 مايكرغرام/كغم من وزن الجسم و كان الانخفاض معنويا ($P<0.05$) في الحيوانات المعاملة لمدة أربعة أيام عند الجرعتين 20 و 30 مايكروغرام /كغم من وزن الجسم .و أظهرت الحيوانات المعاملة لمدة ستة أيام بالموثين E_1 وللجرع كافة حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$)، مقارنة مع مجاميع السيطرة المعاملة بالمحلول الملحي0.9% NaCl (جدول رقم4) .

التغيرات في معدلات اعداد الخلايا النطفية الاولية والثانوية Primary and secondary spermatocytes

بينت النتائج وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل اعداد الخلايا النطفية الاولية والثانوية في مجموعة الحيوانات المعاملة لمدة يومين بالموثين E_1 (PGE_1)عند الجرعة 20 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم . وكان الانخفاض غير معنوي في مجموعتي الحيوانات عند الجرعتين (10 و 30) مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة.

أظهرت النتائج انخفاضا معنويا ($P<0.05$) في مجموعات الحيوانات المعاملة مدة أربعة أيام وستة أيام بالموثين E_1(PGE_1) وللجرع الثلاث (10 و 20 و 30) مايكروغرام/كغم من وزن الجسم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة(جدول رقم 5).

التغيرات في معدل اعداد طلائع النطف Spermatids

بينت نتائج المعاملة بالموثين E_1 للحيوانات المعاملة مدة يومين وللجرعتين (20 و 30) مايكروغرام/كغم من وزن الجسم وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل اعداد طلائع النطف Spermatids فيما كان الانخفاض غير معنوي للحيوانات المعاملة لمدة يومين عند الجرعة 10مايكروغرام/كغم من وزن الجسم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. بينما أظهرت الحيوانات المعاملة مدة أربعة أيام وستة أيام بالموثين E_1 انخفاضا معنويا ($P<0.05$) في معدل اعداد طلائع النطف وللجرع (10 و 20 و 30)مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة بمجموعة السيطرة (جدول رقم 6).

التغيرات في معدل اعداد خلايا سرتولي Sertoli Cells

اظهرت نتائج الدراسة وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في اعداد خلايا سرتولي Sertoli cells في المقاطع النسجية للحيوانات المعاملة لمدة يومين عند الجرعة 20 مايكروغرام /كغم من وزن الجسم في حين كان الانخفاض غير معنوي عند الجرعتين (10 و 30) مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة.

أما الحيوانات المعاملة مدة أربعة أيام بالموثين E_1 فقد أظهرت انخفاضا معنوياً ($P<0.05$)في معدل اعداد خلايا سرتولي عند الجرعة 10 مايكروغرام /كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة.

بيّنت الحيوانات المعاملة لمدة ستة أيام بالموثين E_1 وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل اعداد خلايا سرتولي عند الجرعتين (20 و 30) مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول رقم 7).

التغيرات في معدل اقطار النبيبات ناقلة المني The changes in diameter rate of seminiferous tubules

بينت الدراســـة ان المعاملة بالموثين E_1 لمدة يومين ادت الى انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل أقطار النبيبات ناقلة المني عند الجرعة 20 مايكروغرام /كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة.

واظهرت نتائج المعاملة بالموثين E_1 لمدة أربعة أيام انخفاضـا معنويا($P<0.05$) في معدل أقطار النبيبات ناقلة المني عند الجرع (10 و 20 و 30) مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة. كذلك اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان المعاملة لفترة ســتة أيام بالموثين E_1 ســببت ارتفاعا معنويا($P<0.05$) في معدل أقطار النبيبات ناقلة المني عند الجرعة 10 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم ،وانخفاضا معنويا ($P<0.05$) عند الجرعة 30 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول رقم 8).

المناقشة Discussion

التغيرات الوزنية

التغيرات في اوزان الحيوانات

بينت نتائج الدراســة الحالية حصــول تغيرات متباينة في معدل اوزان الحيوانات المعاملة بالجرع المختلفة والكميات لمتباينة من الموثينE_1 وربما تعزى الى مايسـببه الموثين من تأثيرات على ايض الكاربوهيدرات عموما [17] والسـكريات بشـكل خاص[18] وتأثيرات الموثين على ايض الدهون اذ ذكر برجيسـتروم وجماعته ان كل من الموثينE_1 والموثين $F_{1\alpha}$ تعمل على تثبيط عملية تحلل الدهون[19] . ولاحظ ســتينبيرك وجماعته ان الموثينE_1 يحفز عملية تحلل الدهون في قطع من النســيج الدهني خارج الجسم In vitro [20] . وربما تعزى التغيرات الوزنية ايضا الى تأثير الموثين على عملية تحلل البروتينات في النسيج العضلي للجرذان[21] . وذكرجوردان وجماعته ان الموثين E له تأثيرات على الجهاز الهضــــمي[22] . فربما يكون هذا احد أســـباب التغيرات الوزنية في اجسام الحيوانات .

التغيرات في اوزان الخصى

لم تظهر اية فروقات معنوية في معدلات اوزان الخصـــى في أغلب المجاميع الحيوانية المعاملة بكميات مختلفة وجرع متباينة من الموثينE_1 ماعدا المجموعة المعاملة بســت جرع من الموثين المذكور وعند الكمية 10 مايكروغرام/كغم من وزن الجســم بالمقارنة مع مجموعة الســيطرة وهذا لايتفق مع ماذكره الســعدي من ان حقن الموثين $F_{2\alpha}$ في الفئران البيض ســبب انخفاض وزن الخصى[23] . وماذكرته عبدالله من ان الموثين $F_{2\alpha}$ سبب انخفاض وزن الخصى في الارانب[12] .

النسبة المؤية للنبيبات المتضررة

اظهرت نتائج الدراســة الحالية ان المعاملة بالموثينE_1 تسـببت في زيادة معنوية ($P<0.05$) في النســبة المئوية للنبيبات ناقلة المني المتضــررة اعتمادا على الجرعة والتركيز وقد يكون ســبب ذلك راجعا الى تأثير الموثينE_1 الذي ســبب التنكس في عملية نشــأة النطفة [24, 25] والذي ظهر بمسـتويات مختلفة اعتمادا على الجرعة والتركيز لمجاميع الحيوانات المعاملة بالموثين المذكور . وربما يرجع السبب الى تاثير الموثين على هرمون الشحمون الخصوي [9] والذي بدوره يؤثر على عملية نشأة النطفة [26] .

التغيرات في معدلات أعداد الخلايا

التغيرات في معدلات اعداد الخلايا المسؤولة عن نشأة النطفة Spermatogenesis

اكدت نتائج الدراســة الحالية ان المعاملة بالموثينE_1 بالجرع المتباينة ولفترات مختلفة لحيوانات التجربة وجود نقصـــان في اعداد الخلايا المسـؤولة عن عملية نشـأة النطفة وهي سـليفات النطف Spermatogonia والخلايا النطفية الاولية والثانوية Primary and secondary spermatocytes وطلائع النطف Spermatids وربما يعزى هذا الانخفاض في اعداد سليفات النطف الى انخفاض مســتوى هرمون الشــحمون الخصـــوي Testosterone المفرز من خلايا ليدكLeydig cells نتيجة

المعاملة بالموثينE_1 وهذا يتفق مع ماذكره ريتشارد وجماعته ان الموثينE_2 يسبب انخفاضا في مستوى هرمون الشحمون الخصوي في البلازما[27] . ويتفق أيضا مع ما أظهره الفحص المجهري من الدراسة الحالية من تحطم لخلايا ليدك التي هي مراكز انتاج هرمون الشحمون الخصوي .ويتفق ايضا مع تسو ولاسي[28] من ان حقن الجرذان بالموثينات E_1 و E_2 تحت الجلد يؤدي الى التقليل من هرمون الشحمون الخصوي وهذا بدوره قد يؤدي الى الموت المبرمج للخلايا Apoptosis اذ ان نقصان هرمون الشحمون الخصوي يمكن ان يسبب موت الخلايا المبرمج[29] وهذا ايضا يتفق مع نتائج دراسة Mclachlan وجماعته [30] .

وأكدت الدراسة حدوث انخفاض معنوي في اعداد الخلايا النطفية الاولية والثانوية ($P<0.05$) وهذا يعزى ربما الى النقصان في اعداد سليفات النطفة من جهة ومن جهة اخرى الى التثبيط الحاصل في عملية نشأة النطفة بالكامل اذ اظهرت بعض الدراسات ان معاملة ذكور الخيل [31] وقرود الريسس rhesus monkeys [32] بالموثين $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) والكلاب بالموثين E_2 (PGE_2) [33] تُسَبِّبُ تثبيطاً ملحوظاً في عملية نشأة النطفة Spermatogenesis . وذكر Mclachlan وجماعته ان نقصان الاندروجينات بنسبة 20% عن مستواها الطبيعي يكبح عملية نشأة النطفة[26] .

واظهرت الدراسة الحالية ايضا حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل اعداد طلائع النطف Spermatids في اغلب مجاميع الحيوانات المعاملة لفترات مختلفة وبجرع متباينة من الموثينE_1 وربما يرجع السبب في ذلك الى النقص الحاصل في الخلايا النطفية الاولية والثانوية او بسبب ماتحدثه الموثينات من موت مبرمج بسبب نقصان هرمون الشحمون الخصوي [29] . او قد يكون السبب في ذلك مايحدثه الموثين من تاثير على الحالة التقلصية للخلايا العضلية الملساء في جدران النبيبات ناقلة المني ومن ثم يحدث تثبيط نشاط النبيب ناقل المني كله وهذا يتفق مع ماذكرته احدى الدراسات من ان تحطم خلايا ليدك Leydig cells يترافق مع نقصان في الحالة التقلصية للنبيب ناقل المني [34] وهذا يتفق مع ما موصوف من ان الخلايا العضلية الملساء للنبيبات ناقلة المني Myoid cells غير مجهزة بالاعصاب وتسيطر على تقلصها وانبساطها عوامل متضمنة الاختلافات في الضغط النبيبي والهرمونات [35] . وان نقصان التزويد الغذائي بسبب التداخل بين فعالية هرمون الانسولين Insulin hormone وفعالية الموثين وبالتالي قلة مايدخل الى الخلايا من السكر الموجود في الدم من الممكن ان يكون السبب في موت الخلايا المبرمج ومن ثم نقصان عددها وهذا يتفق مع ماذكره بريسلر وجماعته من ان مستويات الانسولين تزداد في بلازما الدم عند حقن الفئران بالموثين E_1 [36] ووجد بيرجستروم وجماعته ان المعاملة بالموثينE_1 تؤدي الى زيادة نسبة الكلوكوز في دم الكلاب[19] . واكدت احدى الدراسات ان مثبطات الموثينات تؤدي الى انخفاض مستوى الكلوكوز في الدم [37] .

التغيرات في معدلات أعداد خلايا سرتولي Sertoli cells

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان المعاملة بالجرع المتباينة ولفترات مختلفة بالموثينE_1 للمجاميع الحيوانية ادى الى انخفاض معنوي ($P<0.05$) في بعض المجاميع قد يرجع سبب هذا الانخفاض الى ماتحدثه الموثينات من تحفيز للموت المبرمج للخلايا [38]ذلك من خلال تقليل التجهيز الغذائي للخلايا والانسجة الافرازية[39] وبيّنَ احد البحوث ان النقص في هرمون الشحمون الخصوي Testosterone يمكن ان يؤدي الى الموت المبرمج للخلايا [29] .

التغيرات في معدل اقطار النبيبات ناقلة المني :Seminiferous tubules

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان الجرع والفترات المتباينة من المعاملة بالموثين E_1 سببت احيانا زيادة معنوية في اقطار النبيبات ناقلة المني واحيانا نقصانا معنويا اعتمادا على الجرعة وفترة المعاملة. فالزيادة في معدل اقطار النبيبات ناقلة المني ربما تعزى الى تحطم الخلايا المنتجة للشحمون الخصوي Testosterone وهي خلايا ليدك Leydig cells [34] وهذا يتفق مع ماتوصل اليه فريق بحثي اخرمن ان يثبط حجم التقلصات وترددها للعضلات الملساء المحيطة بجدران النبيبات ناقلة المني ومن ثم زيادة في اقطار النبيبات ناقلة المني[40] .

اما النقصان الحاصل في اقطار النبيبات ناقلة المني ربما يعود سببه الى تأثير الموثينE_1 على مستويات هرمون الشحمون الخصوي ومن ثم تتأثر عملية نشاة النطفة وهذا يتفق مع ماذكره رومانيلي وجماعته[41] من ان الموثين E_2 والموثين$F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$)يسببان نقصا معنويا في افراز هرمون الشحمون الخصوي المستحث بوساطة hCGفي خلايا ليدك في الجرذان.فيما اشار هاندلسمان وجماعته ان غياب هرمون الشحمون الخصوي في الفئران ادى الى نقصان في قطر النبيبات ناقلة المني واعداد طلائع النطف وان تعويض الحيوانات بالهرمون المفقود ادى الى ادامة قطر النبيبات واعداد طلائع النطف[42] . واشار ايضا الى وجود ارتباط وظيفي بين انتاج البروتينات الرابطة للأندروجين Androgen binding proteins (ABP) ومتطلبات ادامة قطر النبيب[42] .

شكل (2) توزيع حيوانات التجربة على المجاميع الرئيسة والثانوية

حسب الجرع وكمياتها

جدول(1) التغيرات في معدل الفرق في وزن الجسم (غم) لمجاميع الحيوانات المعاملة بجرع متباينة ولفترات مختلفة من الموثين E_1

الجرع / المدة	السيطرة %0.9NaCl	10 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	20 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	30E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم
يومان	0.748±5.37	16.98±10.471*	16.64±7.237*	1.753*±2.92
أربعة أيام	14.12±2.141	1.38*±15.72	9.90±14.620	13.96±2.958*
ستة أيام	5.023±27.07	3.970* ±9.80	5.580*±4.84	1.035*±13.68

الارقام تمثل : المعدل ± الخطأ القياسي (M ± S.E.)

* فرق معنوي عند مستوى (P<0.05)

جدول (2) التغيرات في معدل اوزان الخصى (غم) لمجاميع الحيوانات المعاملة بجرع متباينة ولفترات مختلفة من الموثين E_1

الجرع / المدة	السيطرة %0.9NaCl	10 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	20 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	30 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم
يومان	0.098±2.36	0.053±2.41	0. 225±2.18	0.106±2.51
أربعة أيام	0. 097±2.25	0.118±2.30	0. 202±2.17	0.026±2.16
ستة أيام	0.367±2.58	1.92±0.194*	0.104±2.26	0.117±2.07

الارقام تمثل : المعدل ± الخطأ القياسي (M ± S.E.)

* فرق معنوي عند مستوى (P<0.05)

جدول (3)التغيرات في معدل النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المني المتضررة لمجاميع الحيوانات المعاملة بجرع متباينة ولفترات مختلفة من الموثين E_1

الجرع / المدة	السيطرة %0.9NaCl	10 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	20 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	30 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم
يومان	7.63±9.561	69.12±4.387*	76.08±4.507*	60.48±6.047*
أربعة أيام	5.84±4.192	68.44±3.881*	80.05±4.192*	82.76±3.028*
ستة أيام	5.55±3.243	68.29±4.324*	86.36±3.243*	94.87±3.598*

الارقام تمثل : المعدل ± الخطأ القياسي (M ± S.E.)

* فرق معنوي عند مستوى (P<0.05)

جدول (4)التغيرات في معدل اعداد خلايا سليفات النطف Spermatogonia لمجاميع الحيوانات المعاملة بجرع متباينة ولفترات مختلفة من الموثين E_1

الجرع / المدة	السيطرة %0.9NaCl	10 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	20 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	30 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم
يومان	12.75±0.590	11.20 ±0.623*	11.80±0.405	11.55±0.457
أربعة أيام	14.12±0.628	12.50±0.790	9.70± 0.520*	11.45± 0.392*
ستة أيام	13.59±0.598	*10.80 ±0.592	10.32± 0.536*	9.47± 0.454*

الارقام تمثل : المعدل ± الخطأ القياسي (M ± S.E.)

* فرق معنوي عند مستوى (P<0.05)

جدول (5)التغيرات في معدل اعداد الخلايا النطفية الاولية والثانوية Primary & Secondary Spermatocytes لمجاميع الحيوانات المعاملة بجرع متباينة ولفترات مختلفة من الموثين E_1.

الجرع / المدة	السيطرة %0.9NaCl	10 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	20 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	30 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم
يومان	13.31±0.761	11.22±0.955	8.52±1.033*	10.65±0.938
أربعة أيام	14.62±0.862	11.40±0.874*	7.55 ±0.890*	9.55 ±0.947*
ستة أيام	11.25±0.708	7.82±0.784*	5.15± 0.879*	4.90± 0.704*

الارقام تمثل : المعدل ± الخطأ القياسي (M ± S.E.)
* فرق معنوي عند مستوى (P<0.05)

جدول (6)التغيرات في معدل اعداد طلائع النطف Spermatids لمجاميع الحيوانات المعاملة بجرع متباينة ولفترات مختلفة من الموثين E_1.

الجرع / المدة	السيطرة %0.9 NaCl	10 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	20 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	30 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم
يومان	39.03±2.781	33.42±2.796	19.72±2.306*	28.47±2.285*
أربعة أيام	1.988±37.40	28.57±3.101*	2.345*±15.07	2.433*±22.10
ستة أيام	30.18±1.346	21.90±2.765*	21.27±2.797*	9.75 ±1.989*

الارقام تمثل :المعدل ±الخطأ القياسي (M± S.E.)
* فرق معنوي عند مستوى(P<0.05)

جدول (7)التغيرات في معدل اعداد خلايا سرتولي Sertoli Cells لمجاميع الحيوانات المعاملة بجرع متباينة ولفترات مختلفة من الموثين E_1

الجرع / المدة	السيطرة %0.9NaCl	10 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	20 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	30 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم
يومان	0. 387±4.03	0.347±3.47	2.65±0.150*	0.320±3.95
أربعة أيام	0. 335±3.78	0.279*±2.75	0.302±3.02	0.342±3.65
ستة أيام	0. 253±3.62	0.323±3.25	0.255*±2.45	0.196*±2.70

الارقام تمثل : المعدل ± الخطأ القياسي (M ± S.E.)

* فرق معنوي عند مستوى (P<0.05)

جدول (8) التغيرات في معدل اقطار النبيبات ناقلة المني (مايكروميتر) لمجاميع الحيوانات المعاملة بجرع متباينة ولفترات مختلفة من الموثين E_1

الجرع / المدة	السيطرة %0.9NaCl	10 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	20 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم	30 E_1 موثين مايكروغرام/كغم من وزن الجسم
يومان	100.133.149	97.58±2.632	88.95±2.921*	95.45±1.870
أربعة أيام	115.20±2.349	1.77*±97.38	2.344*±87.45	86.96±1.572*
ستة أيام	1.487±91.08	98.20±1.827*	2.134*±93.40	1.906*±78.07

الارقام تمثل : المعدل ± الخطأ القياسي (M ± S.E.)

* فرق معنوي عند مستوى (P<0.05)

المراجع

11- لطفي، رمسيس والحاج، حميد (1983). دليل مختبر التحضير المجهري. قسم العلوم الحياتية.الجامعة الاردنية عمان.

12- عبدالله، شيماء عبيد.(2006) تأثير الموثين $F_{2\alpha}$ في مستويات بعض هرمونات التناسل وعملية نشأة النطفة في ذكور الارانب المحلية *Oryctolagus cuniculus*. *رسالة ماجستير-كلية العلوم-جامعة* بابل .

16- الراوي، خاشــع محمود (2000) مدخل الى الاحصـــاء .الطبعة الثانية. كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل.

23- السعدي، حيدر كامل زيدان (1992). تاثير الموثين $F_2\alpha$ (Reprodin) في مراحل نشأة النطفة في الفئران البيض. رسالة ماجستير –كلية العلوم –جامعة بغداد.

1- Rowley, Andrew F. ; Vogan, Claire L. ; Taylor, Graham M. and Clare, Antony S. (2004). Prostaglandins in non-insectan invertebrates: recent insight and unsolved problems. The J. of Experimental Biology,208, 3-14.

2- Morrow,J.D. and Roberts, L.J. (2001). Lipid-Derived Autacoids Eicosanoids and platelet-activating factor. In,Hardman, J.G. and Limbird,L.E.(eds), Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics 10^{th} edn.McGraw-Hill Co. Inc. USA.

3- Eik-Nes,K. B. (1969).Patterns of steroidogenesis in the vertebrate gonads. Gen. Comp. Endocrin. Sppl.,*2*:87-100.

4- Carpenter,M.P. ; Manning, L. and Wiseman, B. (1971). Prostaglandin synthesis in rat testis . Fed. Proc.*30*,1031.

5- Carpenter,M. P. (1974). Prostaglandins in the rat testis. Lipids,*9*: 397-406.

6- Bartke, A. and Koerner,S.(1974).Androgenic regulation of the concentration of prostaglandin F in the male reproductive system of rats and mice. Endocrinology, *95*:1739-1743.

7- Badr,F.M.(1975).Effect of castration, testosterone treatment and hereditary sterility on prostaglandin concentration in the male reproductive system of mice. Prostaglandin,*9*: 289-297.

8- Reddy,GP ; Prasad,M. ; Sailesh,S. ; Kumar,Y.V.K. and Reddanna,P. (1992). The production of arachidonic acid metabolites in rat testis. Prostaglandins ; *44*:497-507.

9- Frungieri , M.B. ; Gonzalez, Calvar S.I. ; Parborell, F. ; Albercht, M. ; Mayerhofer,A. and Calandra, R.S. (2006). Cyclooxygenase-2(Cox-2) and prostaglandin F2α (PGF2α) in Syrian hamster leydig cells: inhibitory role on LH/hcG-stimulated testosterone production. Endocrinology, *147*:4476-4485.

10- Winnall, W. R. ; Ali,U.; O'Bryan,M.K.. ; Hirst,J.J.; Whiley, P.A.F; Muir,J.A. and Hedger,M.P. (2007). Constitutive expression of prostaglandin-endoperoxide synthase2 by somatic and spermatogenic cells is responsible for prostaglandin E2 production in the adult rat testis . Biol Reprod,*76*:759-768.

13- Presnell, J.K. and Schreibman, M.P. (1997). Humason's animal tissue techniques, 5th edn., John Hopkins Univ. Press, Balfimore.

14- Alwachi, S.N. and Balash, K.J. (1988) Induced alteration in spermatogenesis of mature albino mice injected with caffeine. J. Biol. Sci. Res., *19*: 457-468.

15- Balash, K.J.; Al-Omar, M.A. and Abdul latif, B.M. (1987). Effect of chlordane on testicular tissue of swiss mice, Bull, Environ, Contam. Toxicol., *39*: 434-442.

17- Chen, M. and Robertson, R.P.(1978). Restoration of the acute insulin response by sodium salicylate. Diabetes,*27*: 750-755.

18- Bergström, S. ; Carlson, L. A. and Orol,L. (1966). Effect of prostaglandin E1 on plasma free fatty acids and blood glucose in the dog. Acta.Physiol.Scand, *67*:141-151.

19- Bergström, S. ; Carson, L.A. and Weeks, J.R.(1968). The prostaglandins: A family of biologically active lipids. Pharm.Rev.,*20*:2-37.

20- Steinberg,D.; Vaghan,M.;Nestle,P.J. and Bergstrrom,S.(1963). The effect of PGE opposing those of catecholamines on blood pressure and triglyceride breakdown in adipose tissue. Biochem. Pharmacol.,*12*:764-766.

21- Rodemann, H. P. and Goldberg, A. L. (1982). Desensitization of the endotoxic rat myocardium to adrenergic stimulation. Fed. Pro., *42*:980 (abst.).

22- Jourdan, K.B.; Evans, T.W.; Curzen, N.P. and Mitckell, J.A. (1997). Evidence for a dilator function of 8-isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ in rat pulmonary artery. British J. of pharmacology, *120*: 1280-1285.

24- Abbatiello, E.R. ; Kaminsky, M. and Weisbroth, S. (1976). The effect of prostaglandins F1 alpha and F2 alpha on spermatogenesis. Int. J. Fert., *2*:82-88.

25- Singh, SK and Dominic, CJ.(1986). Prostaglandin F2 alpha-induced changes in the sex organs of the male laboratory mouse. EXP Clin Endocrinol, *88*:309-315.

26- Mclachlan, R.I.; O'Donnell, L.; Stanton, P.G.; Balourdos, G.; Frydenbery, M.; Kretser, D.M. and Robertson, D.M. (2001). Effects of testosterone plus medroxy progesterone acetate on semen Quality, Reproductive Hormones and Germ cell populaytions in normal Young Men. The J. of Clinical Endocrinology and Metabolism; *87*(2): 546-556.

27- Reichard, L.A.; Hafs,H.D. and Haynes,N.B. (1978). Sperm output and serum testosterone in rabbits given prostaglandin F_2 alpha or E_2. Prostaglandins, *16*:135.

28- Tso, E.C.F. and Lacy, D. (1975). Effects of prostaglandin on the reproductive system of the male rate. J. Repro. Fert., *44*: 545-550.

29- Huhtaniemi, L. and Bartke, A. (2001). Perspective: Male reproduction. Endocrinology; *142*(6): 2178-2183.

30- Mclachlan, R.I.; Wreford, N.G.; Donnell, L.O.; dekretser, D.M. and Robertson, D.M. (1996). The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. J.of Endocronology; *148*: 1-9.

31- Kreider, J.L ; Ogg, W.L. and Turner, J.W.(1981). Influence of Prostaglandin F2 alpha on sperm production and seminal characteristics of the stallion. Prostaglandins, *22*:903-913.

32- Dev, N.K. and Mangat, H.K.(1982). Possible effects of prostaglandin (PGE_2) on hypothalamo-hypophyseal-gonadal axis in male rhesus monkeys (*Macaca mulata*). Int. J. Fert.,*27*:29-35.

33- Moskovitz, B. ; Munichor, M. and Levin, DR. (1987). Effect of diclofenac sodium (Voltaren) and prostaglandin E2 on spermatogenesis in mature dogs. Eur Urol, 13:393-396

34- Nicholson, H. ; Worley, R. and Guldenaar, S. (1987). Ethan-1,2-dimethanesulphonate reduces rat testicular oxytocin content and seminiferous tubule movements in the rat. J.Endocrin, *112*:311.

35- Suvanto,O. and Krmano,M.(1970). The relationship between in vitro contractions of the rat seminiferous tubules and the cyclic stage of the seminiferous epithelium. J. Reprod. Fert., *211*:227.

36- Bressler, R.; Vargas-Gordan, M. and Lebovitz,H.E. (1968). Tranylcypromine: a potent insulin secretagogue and hypoglycemic agent . Diabetes, *17*:617-624.

37- Andonova, M.; Goundasheva, D.; Georgiev,P. and Ivanov, V.(1998). Effects of indomethacin on lipopoly saccharide-induced plasma PGE2 concentration and clinical pathological disorders in experimental endo toxemia. Vet.Hum.Toxical, *40*(1):14-18.(Abst.).

38- Cheuk, B.L.Y.; Cheng, C.S.B.; Fiscus, R.R. and Wong, P.Y.D. (2002). Cyclooxygenase-2 Regulates apoptosis in rate epididymis through prostaglandin D2. Biology of Reproduction; *66*: 374-380.

39- Stacy, B.D.; Gemmell, R.L. and Thorburn, G.D. (1976). Morphology of the corpus luteum in the sheep During regression Induced by prostaglandin $F_{2\alpha}$. Biology of reproduction, 14: 280-291.

40- Farr,C.h. and Ellis,L.C.(1980).In-vitrocontactility of rat seminiferous tubules in response to prostaglandins, cyclic GMP, testosterone and 2,4-dibromoacetophenone. J. Reprod. Fertil,58-37.

41- Romanelli, F.; Valenca, M.;Conte, D.; Isidori,A. and Negrovilar,A. (1995). Archidonic acid and its metabolites effects on testosterone production by rat Leydig cells. J.Endocrinol Investi; *18*:186-193

42- Handelsman, D.J; Spaliviero, J.A.; Simpson, J.M.; Allan, C.M. & Sinch, J. (1999). Spermatogenesis without gonadotropins: Maintenance Has alower testosterone threshold than initiation. Endocrinology, *140* (9): 3938-3946.

The Effect of Some Doses of Prostaglandin E_1in Spermatogenesis in white rats *Rattus rattus*

Haider Kamil Zaidan Ali Malik Hammadi
Biology department of Science College Babylon University

Abstract:-

The aim of this study was to discover the effects of prostaglandin E_1(PGE_1) on spermatogenesis in adult white male rats (*Rattus rattus)* after treated by mouth.

60 males from white rat were used divided randomly into three main groups each one of them contained 20 individuals of animals were treated for 2 , 4 & 6 days with prostaglandin E_1(PGE_1). Each main group was divided randomly for 4 subgroups, each subgroup contained 5 animals treated by solution of 0.9% NaCl , 10 , 20 & 30 µg/kg of body weight of PGE_1.

The weights before treatment and after 24 hours from the last dose of treatment were measured, and also testes of animals were weighted after they were removed and the histological sections were prepared for studying the effecting of the PGE_1on the mean of the numbers of spermatogenic cells , Sertoli cells , the diameter and percentage of seminiferous tubules that were damaged and were compared with control groups.

The results were:-

Significant and nonsignificant results were occurred in different groups that treated with different doses and concentrations of PGE_1.

Significant decrease ($P<0.05$) happened in mean of number of sertoli cells of animal's groups that treated 2 , 4 and 6 days from 20 , 10 and (20 , 30) µg/kg of body weight PGE_1 in prospectively. Some time significant increase and another time significant decrease had occurred in mean diameter of seminiferous tubules depend on doses and concentrations. The means of percentage of number of seminiferous tubules that damaged were increased significantly ($P<0.05$) in all groups that treated by PGE_1 depend on period and concentration of dose, however, observed significant changes ($P<0.05$) in mean of weight of animal gonads treated with PGE_1 comparison with the control group. In conclusion : the administrated PGE_1 influenced on spermatogineses dependent on the period and concentration of dose.