التغيرات النسجية المرضية التي يسببها الموثين F2α في خصى ذكور الأرانب المحلية

شيماء عبيد عبد الله * حيدر كامل زيدان.
*جامعة بابل/كلية العلوم للبنات/ قسم علوم الحياة

الخلاصة :-
هدفت الدراسة الحالية معرفة تأثير الموثين F2α على التغيرات النسجية – المرضية فضلاً على معدل أقطار النبيبات والنسبة المئوية لتضرر النبيبات ناقلة المني.
شملت الدراسة (48) ذكراً بالغاً من الأرانب المحلية والتي قسمت عشوائياً إلى ثلاث مجاميع رئيسة اعتماداً على عدد الجرع (جرعتان – أربع – ست جرع) وقسمت كل مجموعة رئيسة إلى ثلاث مجاميع ثانوية اعتماداً على الكميات المستخدمة من الموثين F2α (10، 30، 50) مايكروغرام/ كغم من وزن الجسم فضلاً عن مجموعة السيطرة المعاملة بالمحلول الملحي الفسيولوجي .
تم تشريح الحيوانات بعد 24 ساعة من أخر جرعة معطاة ثم استئصال الخصى وإجراء الدراسة النسجية عليها.
أوضحت النتائج ما يلي بالمقارنة مع مجاميع السيطرة:-
١- حصول تغيرات نسجية – مرضية تضمنت تغيرات الخلايا المسؤولة عن نشأة النطفة وخلايا لايدك والأوعية الدموية.
2- حصول تغيرات في معدل اقطار النبيبات وتضرر النبيبات ناقلة المني وبمستويات مختلفة المعنوية.

المقدمة Introduction :-

الموثينات Prostaglandins(PGS) هي ليبيدات فعالة حيوياً (1) ذات هيكل كاربوني واحد مؤلف من 20 ذرة كاربون (2) تنتج هذه المركبات من الأحماض الدهنية الأساسية essential fatty acids بوساطة عمل أنزيمات التحلل المائي (3) . ويعد حامض الاركيدونك Arachidonic acid المصدر المباشر والأساس لإنتاج الموثينات (4) تنتج هذه المركبات في العديد من الأنسجة (5) حيث شخصت كميات منها في الطحال Spleen والدماغ Brain والجلد Skin والرئة Lung (6) .
تنظم هذه المركبات مدى واسع من العمليات الفسيولوجية مثل الالتهابات Inflammation والاستجابة المناعية Immuno response (7) حيث تقوم هذه المركبات بأفعالها الرئيسة من خلال مستقبلاتها التي هي احد أنواع مستقبلات البروتين G المزدوجة G-protein coupled receptor (8) .
تلعب هذه المركبات أدورا أساسية في فسيولوجيا التكاثر الذكري بوصفها مساهمات أساسية في هذه العملية (9) لاسيما وان اكتشاف هذه المركبات للمرة الأولى كان في السائل المنوي للإنسان (2)لوحظ ان للموثين $F_2\alpha$ اثر واضح في خفض الكولسترول في الخصية ومستوى هرمون الشحمون الخصوي Testosterone عند حقنه لذكور الفئران والجرذان (10) في حين تسبب الجرع العالية من الموثين $F_2\alpha$ كبح عملية نشأة النطفة نتيجة لنقصان هرمون الشحمون الخصوي (11) .

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

أولا:- الحيوانات المختبرية Laboratory animals

استعملت في هذه الدراسة ذكور الأرانب المحلية *Oryctolagus cuniculus* البالغة التي تراوحت أعمارها ما بين 8 أشهر – سنة واحدة . وبمعدل وزن تراوح ما بين (1,530–1,495) كغم وضعت هذه الحيوانات في أقفاص معدنية أعدت لغرض تربية الأرانب في البيت الحيواني التابع لكلية العلوم – جامعة بابل.
ربيت الحيوانات تحت ظروف مسيطر عليها من ماء وتهوية مناسبة وغذاء مكون من الجت Alfalfa ودرجة حرارة (22-25) م° وفترة إضاءة 12 ساعة ضوء و12 ساعة ظلام طوال مدة التجربة.
تركت الحيوانات مدة عشرة أيام لغرض التأقلم والتكيف مع الظروف المشار إليها قبل أجراء التجربة.
أعطيت الحيوانات الغذاء يومياً وبمعدل مرتين في اليوم الواحد.

* بحث مستل من رسالة الماجستير للباحثة

ثانياً :- المادة المستعملة في الدراسة The material used in the study

أ- الموثين F2α (Prostaglandin F2α)

استعملت في هذه الدراسة الموثين من نوع $F_2\alpha$ والمسمى تجارياً Veteglan المصنع من قبل شركة برشلونة Barcelona الاسبانية والمعبأ في امبولات تحتوي الواحدة منها على 10 مل من المادة بتركيز ٠.٠٧٥ ملغم/ مل. خففت المادة إلى التركيز المراد تحضيره بوساطة المحلول الملحي الفسيولوجي (Nacl 0.9 %) قبل إعطائها للحيوانات بساعة واحدة .

ب- المحاليل والملونات :-

حضرت المحاليل والملونات بحسب ما جاء في (12)

1- محلول بوين Boun´s solution

حضر بمزج 75 مل من المحلول المائي المشبع بحامض البكريك مع 25 مل من 40% فورمالديهايد و 5 مل من حامض الخليك الثلجي.

2- الكحول الحامضي Acid Alcohol

حضر بمزج 100 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 70% مع نصف مليلتير من حامض الهدروكلوريك المركز Hcl

3 - أح ماير Mayer's Albumin

حضر بمزج كمية من الكليسرول مع كمية من بياض البيض بنسبة 1:1

4- ملون الايوسين الكحولي Alcoholic Eosin stein

حضر هذا الملون من إذابة غرام واحد من بلورات الايوسين في 99 مل من الكحول الاثيلي .

5- ملون هيماتوكسلين هاريس Harris's Haematoxylin stain

حضر هذا الملون من إذابة غرام واحد من ملون الهيماتوكسلين في 10 مل من الكحول الاثيلي المطلق وإذابة 20 غرام من شب البوتاسيوم في 200 مل من الماء المقطر وبعد مزج المحلولين تم غلي المحلول الناتج لأقل من دقيقة ثم أضيف إليه نصف غرام من اوكسيد الزئبق وبضع قطرات من حامض الخليك الثلجي من اجل تحسين صبغ النواة.

تصميم التجربة Experimental Design

تم اختيار كميات الموثين (10–30-50) مايكروغرام / كغم من وزن الجسم وتم استعمال 48 من ذكور الأرانب المحلية التي قسمت عشوائياً إلى ثلاث مجاميع رئيسة كل مجموعة احتوت على 16 أرنبا وكل مجموعة قسمت إلى أربع مجاميع ثانوية احتوت المجموعة الواحدة على (4 حيوانات) كما يلي:-

1 -المجموعة الرئيسية الأولى (1) Group

عُوملت بجرعتين من الموثين $F_2\alpha$ لمدة يومين.

2-المجموعة الرئيسية الثانية (2) Group

عُوملت بأربع جرع من الموثين $F_2\alpha$ لمدة أربعة أيام.

3-المجموعة الرئيسية الثالثة (3) Group

عُوملت بست جرع من الموثين $F_2\alpha$ لمدة ستة أيام.

قابلت كل مجموعة من المجاميع أعلاه مجموعة سيطرة تتكون من أربع حيوانات عُوملت بالمحلول الملحي الفسيولوجي Nacl (0.9%) بكمية مقدارها 0,5 مل وبنفس أعداد الجرع المذكورة أعلاه.

كل مجموعة رئيسة قسمت إلى ثلاث مجاميع ثانوية فضلاً عن مجموعة السيطرة لتكون أربع مجاميع ثانوية ضمن المجموعة الرئيسية الواحدة وكما يأتي:-

1- المجموعة الثانوية الأولى (1) Subgroup عُوملت بكمية مقدارها 10 مايكروغرام/ كغم من وزن الجسم.

2- المجموعة الثانوية الثانية (2) Subgroup عُوملت بكمية مقدارها 50 مايكروغرام/ كغم من وزن الجسم.

3- المجموعة الثانوية الثالثة (3) Subgroup عُوملت بكمية مقدارها 50 مايكروغرام/ كغم من وزن الجسم.

4- المجموعة الثانوية الرابعة (4) Subgroup عدت كمجموعة سيطرة وعُوملت بالمحلول الملحي الفسيولوجي.

قتل الحيوانات Animal killing

تم التضحية بالحيوانات بعد 24 ساعة من اخر جرعة معطاة حيث تم فتح التجويف البطني للحيوان بعد تخديره بمادة الكلوروفورم المنتج من قبل شركة (BCC البريطانية) تم استئصال الخصى Testes لغرض الدراسة النسجية كما تم وزن الأعضاء (الخصى) باستخدام ميزان حساس ذي أربع مراتب عشرية نوع Sartorius .

تحضير المقاطع النسجية Preparation of Histological section

تم تثبيت العينة في البداية بعد استئصالها من الحيوان في محلول بون وبعد 24 ساعة استخرجت من المثبت وغسلت عدة مرات بالكحول الاثيلي بتركيز 70% وذلك لإزالة اللون الأصفر للمثبت بعدها أجريت عليها سلسلة من العمليات اعتماداً على الطريقة الموصوفة في (12) .

1- الانكاز والترويق Dehydration and Clearing

تم سحب الماء من النسيج وذلك بتمرير النماذج في سلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%، 80%، 90%، 95%، 100%) ولمدة ساعتين في كل تركيز بعدها روقت النماذج بوضعها في الزايلين لمدة ساعتين.

2- التشريب Infiltration

بعد الانتهاء من عملية الترويق نقلت النماذج إلى بيكرات حاوية على خليط من شمع البرافين Paraffin wax (ذي درجة انصهار 60 - 57 م°) المنصهر والمرشح والزايلين بنسبة 1:1لمدة نصف ساعة داخل فرن كهربائي درجة حرارته 60 م° وذلك لإبقاء الشمع منصهراً ولضمان تمام عملية التشريب الكامل للنماذج بالشمع نقلت إلى قناني أخرى حاوية على شمع البرافين داخل الفرن أيضا لمدة ساعة واحدة ثم نقل مرة أخرى إلى قناني أخرى حاوية على شمع البرافين لمدة ساعة واحدة أيضا.

3- الطمر Embedding

تم عمل قوالب من الشمع حاوية على نماذج العينات وذلك بصب الشمع في قوالب بلاستيكية خاصة طمرت فيها النماذج وتركت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ثم فصلت عن القالب وحفظت في مكان حتى وقت تقطيعها.

4- التقطيع Sectioning

تم استخدام جهاز التقطيع اليدوي Rotaring Microtome نوع Bright لتقطيع النماذج وبسمك تتراوح ما بين 6-5 مايكروميتر، ثم حملت أشرطة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة وممسوحة بآح ماير بعد ان وضعت في حمام مائي درجة حرارته 50-45 م° لمدة دقيقة- دقيقتين لضمان فرش المقاطع بعدها تركت على صفيحة ساخنة Hot Plate لتجف بدرجة حرارة 37 م°

5- التصبيغ والتحميل Staining & Mounting

صبغت جميع المقاطع النسجية باستخدام صبغة هيماتوكسلين- ايوسين Haematoxylin-Eosin stain حيث وضعت الشرائح في الزايلين لمدة ٥ دقائق للتخلص من الشمع ثم مررت بسلسلة تراكيز تنازلية من الكحول الاثيلي (100%، 100%، 90%، 80%، 70%، 50%) لمدة دقيقتين في كل تركيز بعدها صبغت بصبغة الهيماتوكسلين لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت بالماء المقطر لمدة دقيقتين بعدها غطست بالكحول الحامضي لمرتين أو ثلاث مرات لإزالة الصبغة الزائدة ثم صبغت بصبغة الايوسين لمدة ربع دقيقة ونقلت بعدها إلى سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (50%، 70%، 80%، 90%، 95%، 100%، 100%) ولمدة دقيقتين في كل تركيز ما عدا التركيز الأخير وضعت فيه لمدة ٥ دقائق ثم روقت بالزايلين بمرحلتين في كل مرحلة لمدة 10 دقائق بعدها أجريت عليها عملية التحميل باستخدام كندا بلسم Canada Balsam لتثبيت غطاء الشريحة ثم تركت على صفيحة ساخنة لتجف لمدة 8 ساعات لتكون جاهزة للفحص المجهري.

الدراسة النسجية Histological Study

تم استخدام المجهر الضوئي المركب نوع Olympus لفحص جميع الشرائح النسجية حيث تم اختيار أربع شرائح لكل حيوان بصورة عشوائية ثم اختير من كل شريحة مقطعان أي بمعدل 32 مقطعاً للمجموعة الثانوية الواحدة وبذلك يكون مجموع ما تم دراسته 384 مقطعاً. شملت الدراسة النسجية قياس أقطار النبيبات

المنوية حيث تم قياس قطر 20 نبيب منوي في كل شريحة وبمعدل 80 نبيب للحيوان الواحد وبمجموع 320 نبيب للمجموعة الثانوية الواحدة.

قيست اقطار النبيبات ناقلة المني وذلك بأخذ معدل القطرين الافقي والعمودي للنبيبات في خمس مناطق متفرقة من المقطع اختيرت عشوائياً والتي امتازت بشكلها الدائري الى حد ما وقد استخدم لهذا الغرض المقياس الدقيق العيني Ocular Micrometer الذي تمت معايرته باستعمال المقياس الدقيق المسرحي Stage Micrometer.

كما شملت الدراسة حساب النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المني المتضررة بحسب الطريقة الموصوفة

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

من قبل بلاش وجماعتها (Balash *et al*., 1987) وذلك بحساب العدد الكلي للنبيبات ناقلة المني السليمة والمتضررة ومن ثم حساب النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المني المتضررة حسب المعادلة الآتية:-

التصوير المجهري Microphotography

تم تصوير المقاطع النسجية بمجهر تصوير مع كاميرته Phenix من شركة ALTAY الايطالية واستعمل فيلم ملون نوع Konica.

التحليل الإحصائي Statistical analysis

تم تحليل النتائج 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.) لإظهار معنوية النتائج وأيضا تم استخراج الخطأ القياسي Standard Error (S.E.) حسب المعادلة الآتية :-

$$S.E. = \frac{S.D.}{\sqrt{n}}$$

S. E. = الخطأ القياسي

S. D. = الخطأ المعياري Standard Deviation (14).

النتائج Results

أولا :- التغيرات في معدل أقطار النبيبات ناقلة المني.

سببت المعاملة بالموثين $F_2\alpha$ انخفاض عالي المعنوية ($P<0.01$) في معدل أقطار النبيبات المنوية في الحيوانات المعاملة بالجرع والكميات المتباينة المستعملة ضمن الدراسة باستثناء المجموعة المعاملة بجرعتين عند الكمية 50 مايكروغرام/كغم وست جرع عند الكمية ١٠ مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة المعاملة بالمحلول الملحي الفسيولوجي NaCl 0,9% شكل (1)

ثانياً :- التغيرات في النسبة المئوية للنبيبات المنوية المتضررة.

أظهرت النتائج عدم حصول أي ضرر يذكر في النبيبات ناقلة المني في الحيوانات المعاملة بالمحلول الملحي الفسيولوجي NaCl 0,9%، حيث لم تتجاوز النسبة المئوية لهذا الضرر 2,5% و2% و1,5% بالنسبة إلى المجاميع المعاملة بجرعتين وأربع وست جرع على التوالي.

اما بالنسبة للمجاميع المعاملة بالموثين $F_2\alpha$ فقد أظهرت تضرراً واضحاً يتناسب مع مقدار الجرع حيث كانت اعلى نسبة للتضرر في الحيوانات المعاملة بأربع جرع من الكمية 10 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة المعاملة بالمحلول الملحي الفسيولوجي، في حين كانت اقل نسبة للتضرر في النبيبات المنوية في المجموعة المعاملة بجرعتين عند الكمية 50 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجاميع السيطرة شكل (2).

ثالثاً :- الدراسة النسجية المرضية Histopathological study

أ- مجاميع السيطرة

أوضـحت نتـائج الفحـص المجهـري لمقـاطع نسـيج الخصـية للحيوانـات المعاملـة بـالمحلول الملحـي الفسيولوجي عدم وجود أي تغيير مرضي يذكر فقد بدت النبيبات ناقلة المني طبيعية من حيث وجود النطف الناضجة في تجاويف النبيبات المنويةوكذلك انواع الخلايا المتمثلة بسليفات النطف، والخلايا النطفية الأولية والثانوية، وطلائع النطف وخلايا سرتولي وخلايا لايدك فضلاً عن انتشار الاوعية الدموية وتراص النبيبات ناقلة المني صورة(3,2,1).

ب- المجاميع المعاملة بالكمية 10 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم

اظهرت انسجة خصى الحيوانات المعاملة بجرعتين من الموثين $F_2\alpha$ عند الكمية 10 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم حدوث تغيرات نسجية مرضية واضحة، إذ لوحظ حصول نكس في عملية نشأة النطفة Degeneration of spermatogenesis وحصول تحلل في مكونات النبيب الخلوية وبالتحديد في الخلايا النطفية الأولية والثانوية Pri & Sec. spermatocytes، واختزال واضح في أعداد خلايا لايدك وانفصال وتمزق الظهارة المنوية، فضلاً عن حصول تضخم نووي Pyknosis في انوية بعض الخلايا وحصول تنخر Necrosis.

اما بالنسبة للحيوانات المعاملة بأربع جرع من الموثين $F_2\alpha$ فقد لوحظ وجود تغلظ نووي وحدوث تفجي هيولي Cytoplasmic vaculae وظهور الوذمة Odema وانتشار السائل الوذمي فضلاً عن النكس الحاصل في عملية نشأة النطفة.

اما نتائج الفحص المجهري لأنسجة خصى الحيوانات المعاملة بست جرع من الموثين $F_2\alpha$ فقد أظهرت حدوث نزف دموي في بعض الأوعية وتفجي هيولي وحصول تحلل في الخلايا النطفية الأولية والثانوية وانتشار السائل الوذمي الذي ظهر بلون وردي في المقطع النسجي صورة(6,5,4).

ج- المجاميع المعاملة بالكمية 30 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم

تبين من خلال الفحص المجهري حدوث تغيرات نسجية في أنسجة خصى الحيوانات المعاملة بالموثين $F_2\alpha$، إذ لوحظ في الحيوانات المعاملة بجرعتين من الكمية 30 مايكروغرام/كغم حصول تحلل في الخلايا النطفية الاولية والثانوية واختزال في أعداد خلايا لايدك وحدوث نزف دموي Haemorhage فضلاً عن حصول الوذمة Odema.

اما بالنسبة للمجاميع المعاملة بأربع جرع من الموثين $F_2\alpha$ وبالكمية نفسها فقد لوحظ حدوث نكس في عملية نشأة النطفة وانفصال الغشاء القاعدي عن الظهارة المنوية في بعض النبيبات.

وأظهرت نتائج الفحص المجهري للمجاميع المعاملة بست جرع من الموثين $F_2\alpha$ عند الكمية نفسها حصول نكس واضح في عملية نشأة النطفة واختزال في أعداد خلايا لايدك وأعداد خلايا سرتولي فضلاً عن حدوث تحلل في الخلايا واضمحلال واضح في أعداد سليفات النطف Spermatogonia والخلايا النطفية الاولية والثانوية وطلائع النطف صورة (9,8,7).

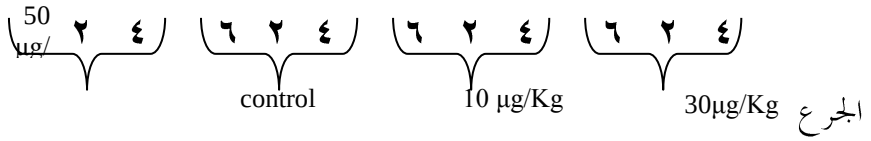
د- المجاميع المعاملة بالكمية 50 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم

لم تظهر خصى الحيوانات المعاملة بالموثين $F_2\alpha$ بجرعتين من الكمية 50 مايكروغرام/كغم تغيرات نسجية فقد اظهرت انسجة الخصى بمظهر طبيعي من حيث وجود النطاق في تجويف النبيبات وتراص النبيبات المنوية وانتشار الخلايا البينية.

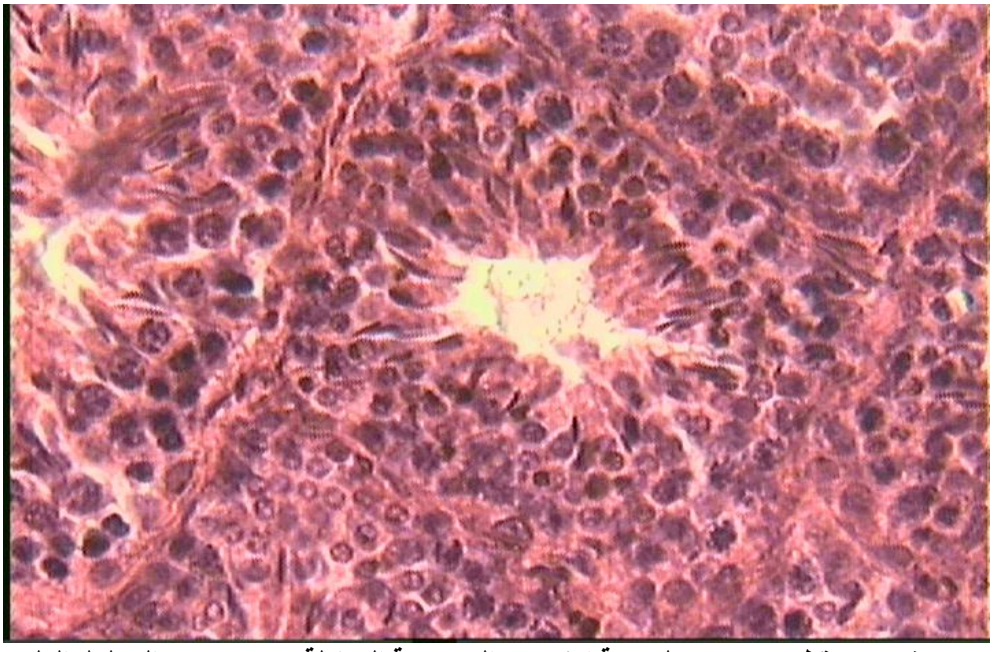
في حين لوحظ في المجاميع المعاملة بأربع جرع من الكمية نفسها حدوث تحلل في بعض الخلايا واختزال في أعداد خلايا لايدك فضلاً عن حدوث تضخم نووي في انوية بعض الخلايا فضلاً عن انتشار السائل الوذمي وحدوث النزف الدموي. اما المجاميع المعاملة بست جرع من الموثبن $F_2\alpha$ فقد بينت حدوث ضرر اقل مما لوحظ في المجاميع المعاملة بأربع جرع صورة (12,11,10).

** ** ** **
**
**

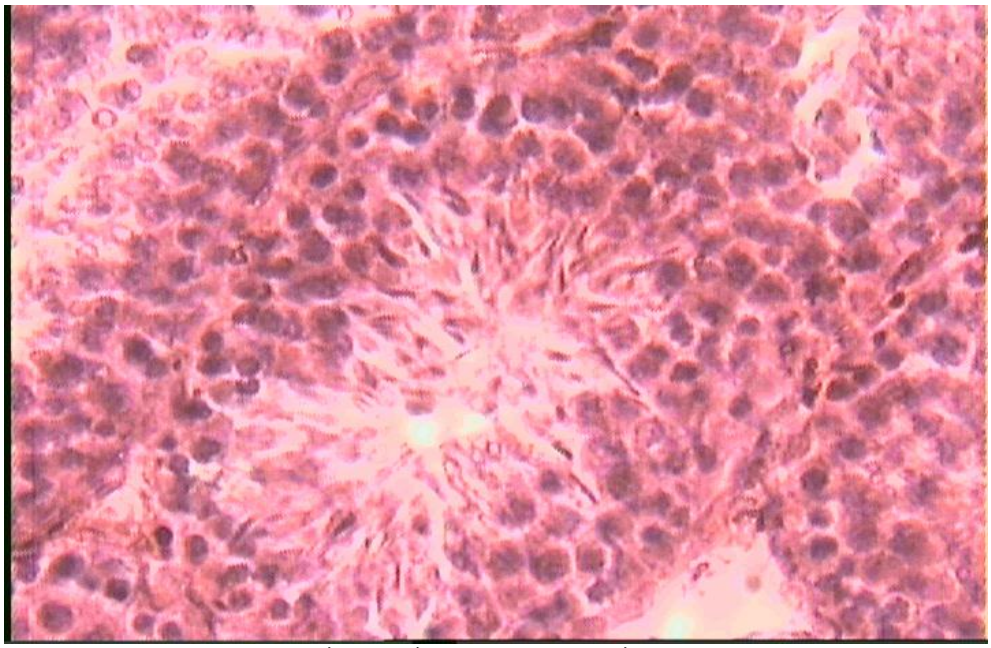
شكل (1): التغيرات في معدل اقطار النبيبات ناقلة المني (مايكروميتر) للمجاميع المعاملة بجرع وكميات متباينة من الموثين $F_{2\alpha}$.
**** فرق عالي المعنوية عند مستوى (P<0.01) مقارنة مع مجموعة السيطرة**



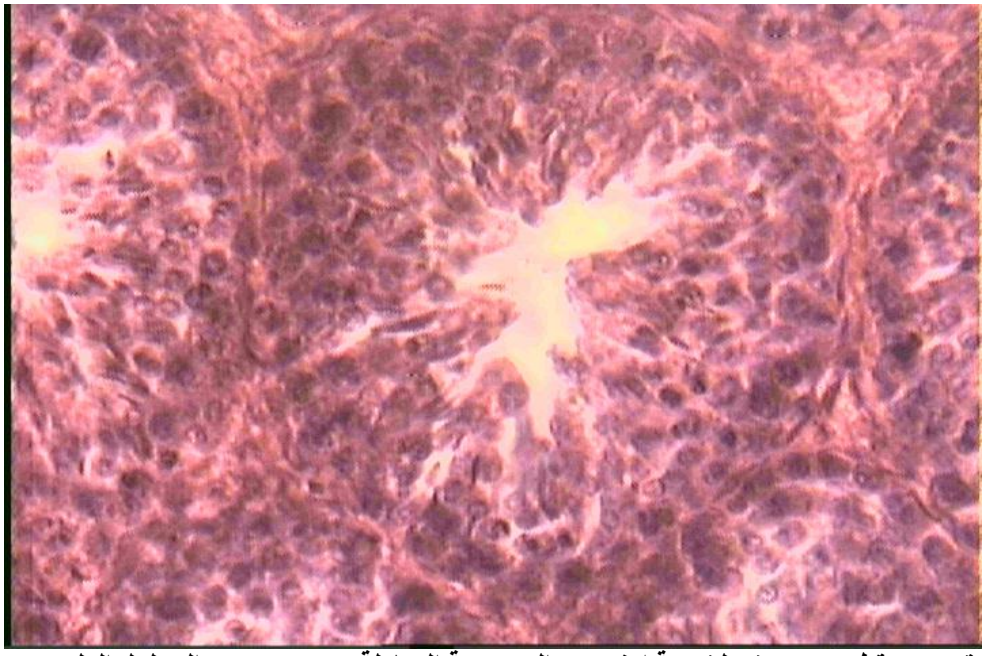
شكل (2): التغيرات في النسبة المئوية للتضرر في المجاميع المعاملة بجرع وكميات متباينة من الموثين $F_{2\alpha}$



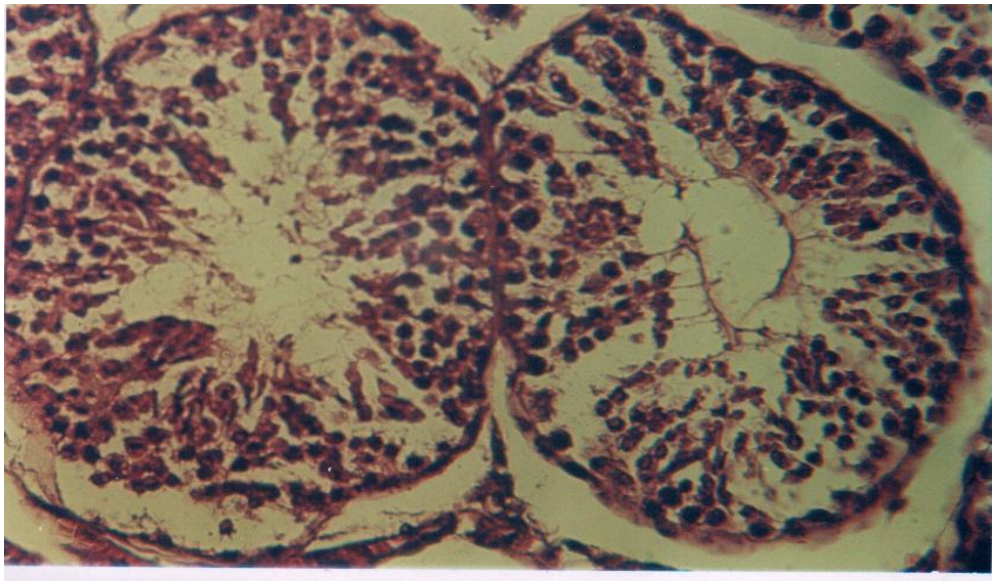
صورة (1): مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة بجرعتين من المحلول الملحي الفسيولوجي، يلاحظ المظهر العام الطبيعي للنبيبات. (H & E -400 X)



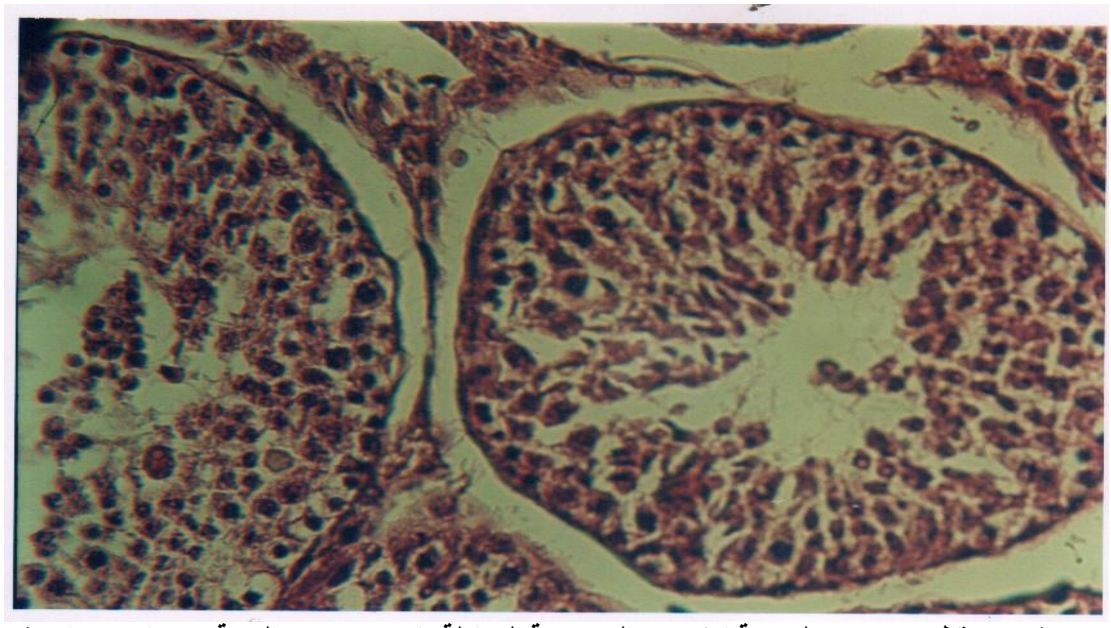
صورة (2): مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة باربع جرع من المحلول الملحي الفسيولوجي، يلاحظ المظهر العام الطبيعي للنبيبات. (H & E -400 X)



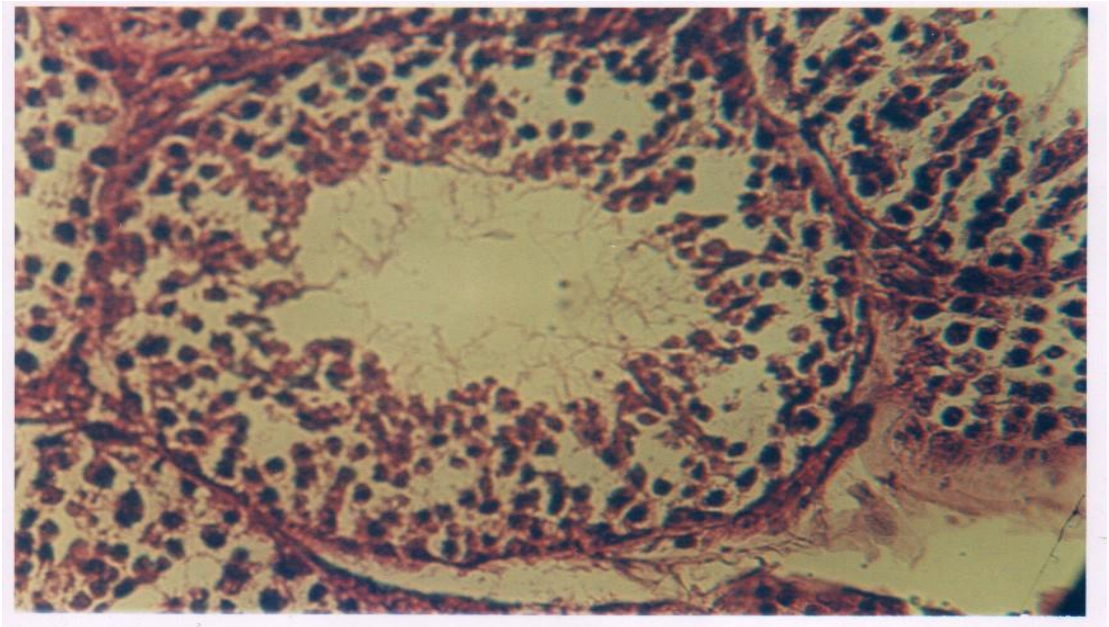
صورة (3): مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة بست جرع من المحلول الملحي الفسيولوجي، يلاحظ المظهر العام الطبيعي للنبيبات. (X 400- H & E).



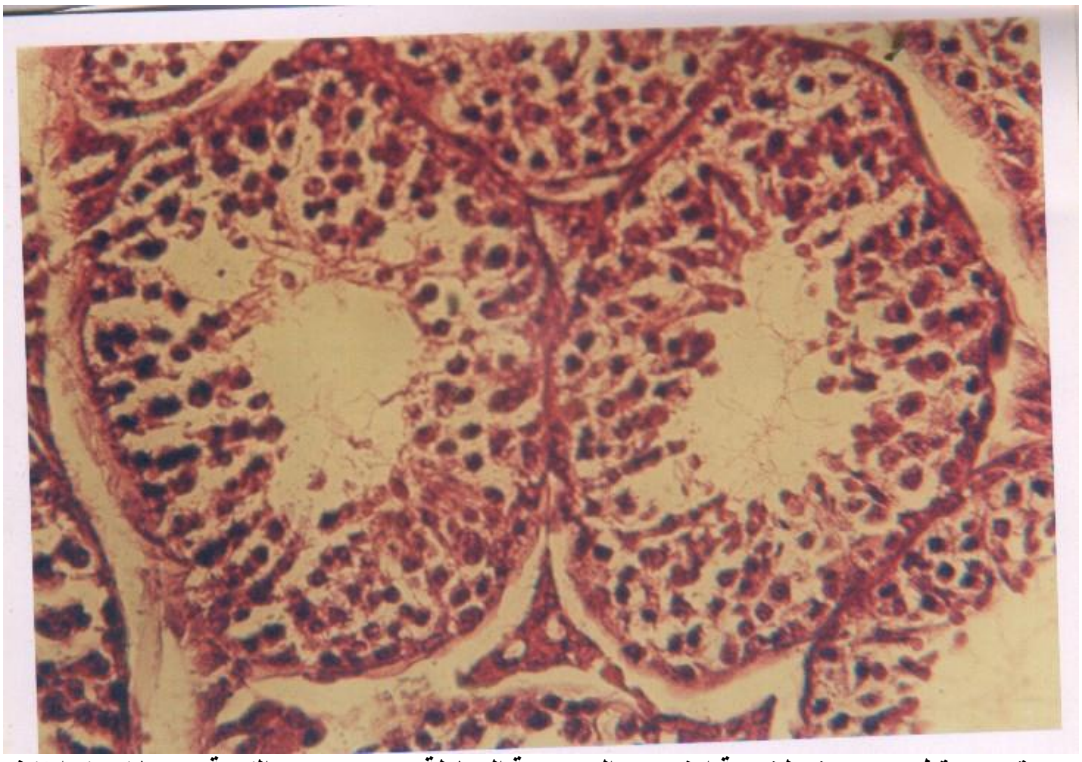
صورة (4) مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة بجرعتين من الكمية 10مايكروكرام/كغم نلاحظ تنكس عملية نشاة النطفه وتضخم نووي وظهور مسافات بينية بين النبيبات المنوية. (X 400- H & E)



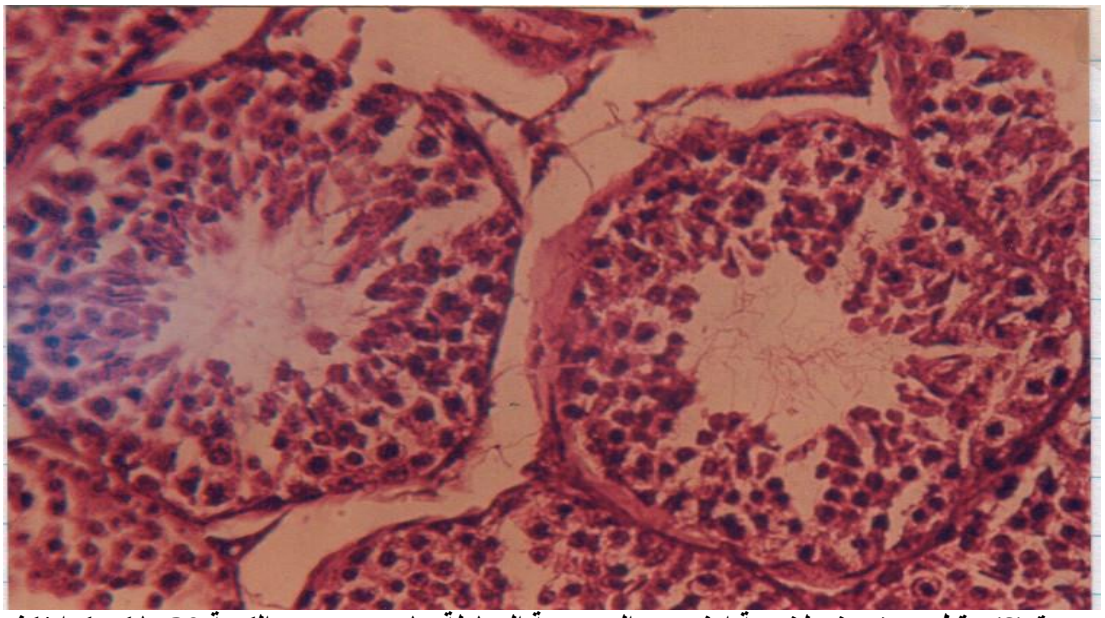
صورة (5) مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة باربع جرع من الكمية 10 مايكروكرام/كغم نلاحظ تغلظ نووي وحصول تفجي نووي وظهور مسافات بينيه وتنكس عملية نشاة النطفه. (H & E -400 X)



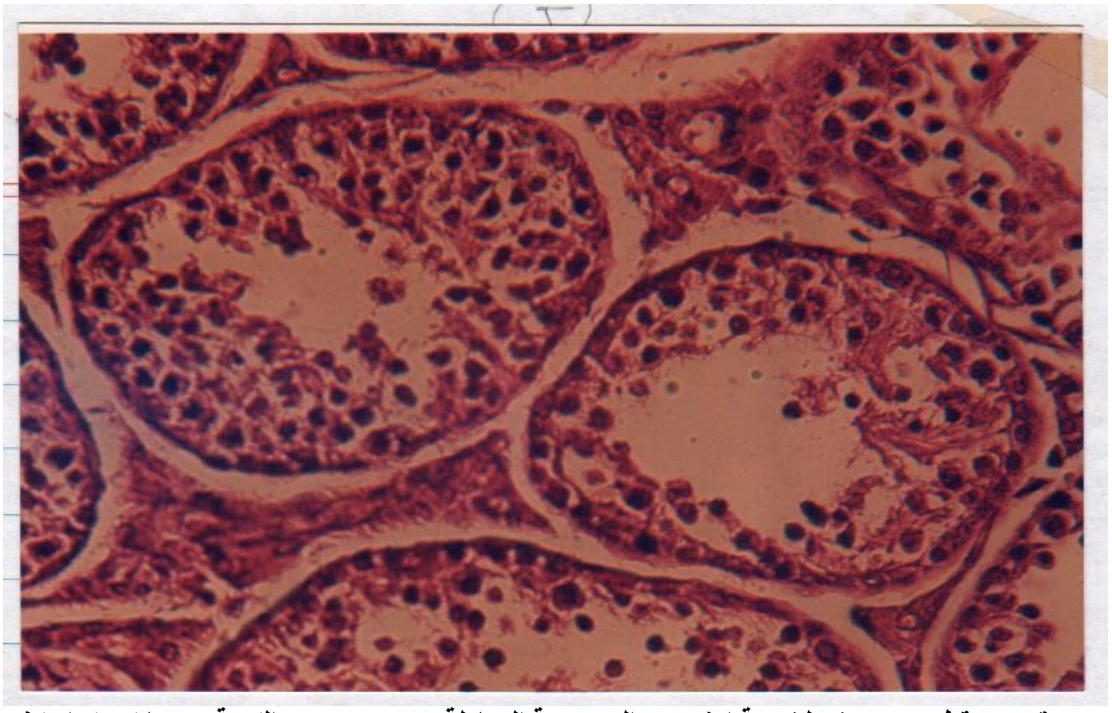
صورة (6) مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة بست جرع من الكميه 10 مايكروكرام/كغم نلاحظ انتشار السائل الوذمي وظهور مسافات بينيه وتحلل في بعض الخلايا النطفية.
(H & E -400 X)



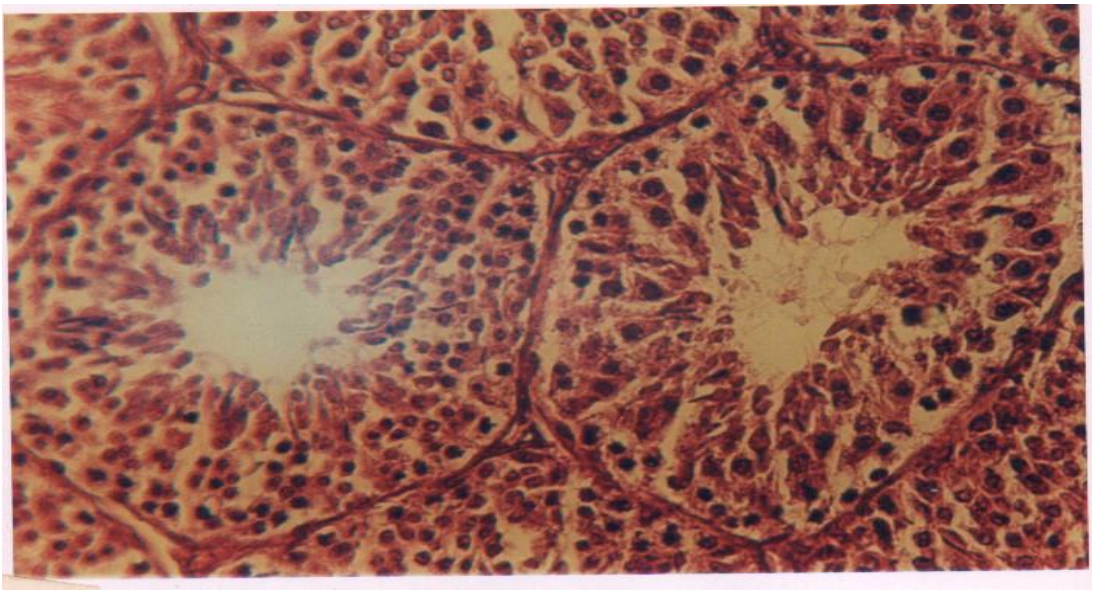
صورة (7) مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة بجرعتين من الكمية 30 مايكروكرام/كغم
نلاحظ تنكس عملية نشاة النطفة وانتشار السائل الوذمي وقلة خلايا ليدك.
(H & E -400 X)



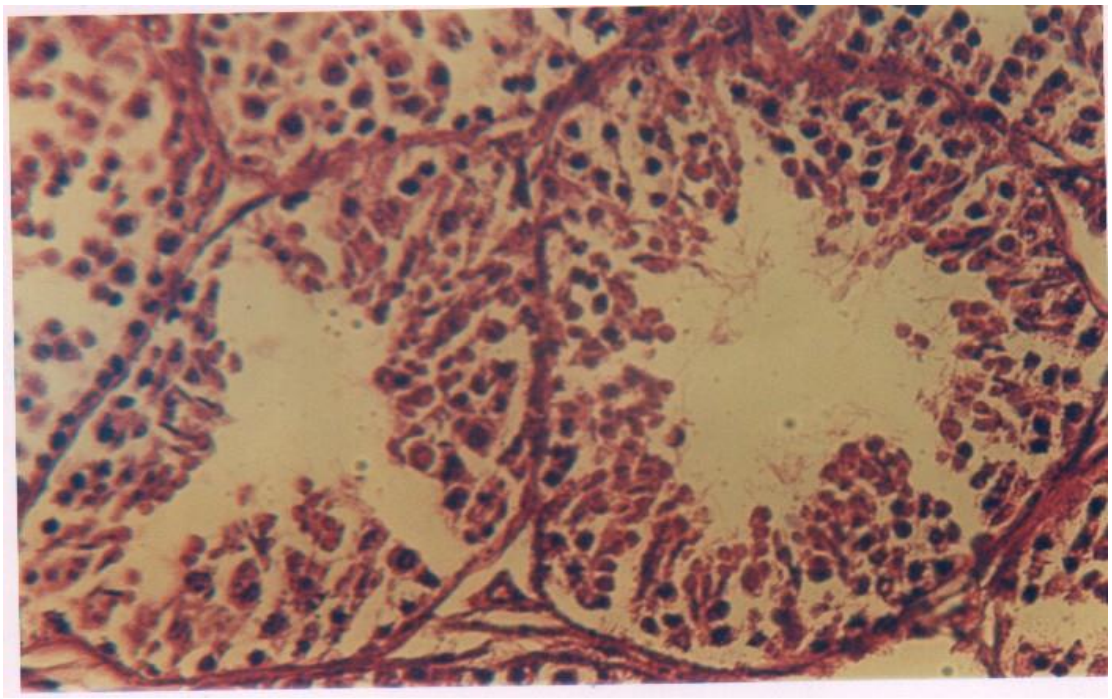
صورة (8) مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة باربع جرع من الكمية 30 مايكروكرام/كغم
نلاحظ ظهور مسافات بينية وانتشار السائل الوذمي وتمزق الظهارة المنوية وتحلل خلوي. (H & E -400 X)



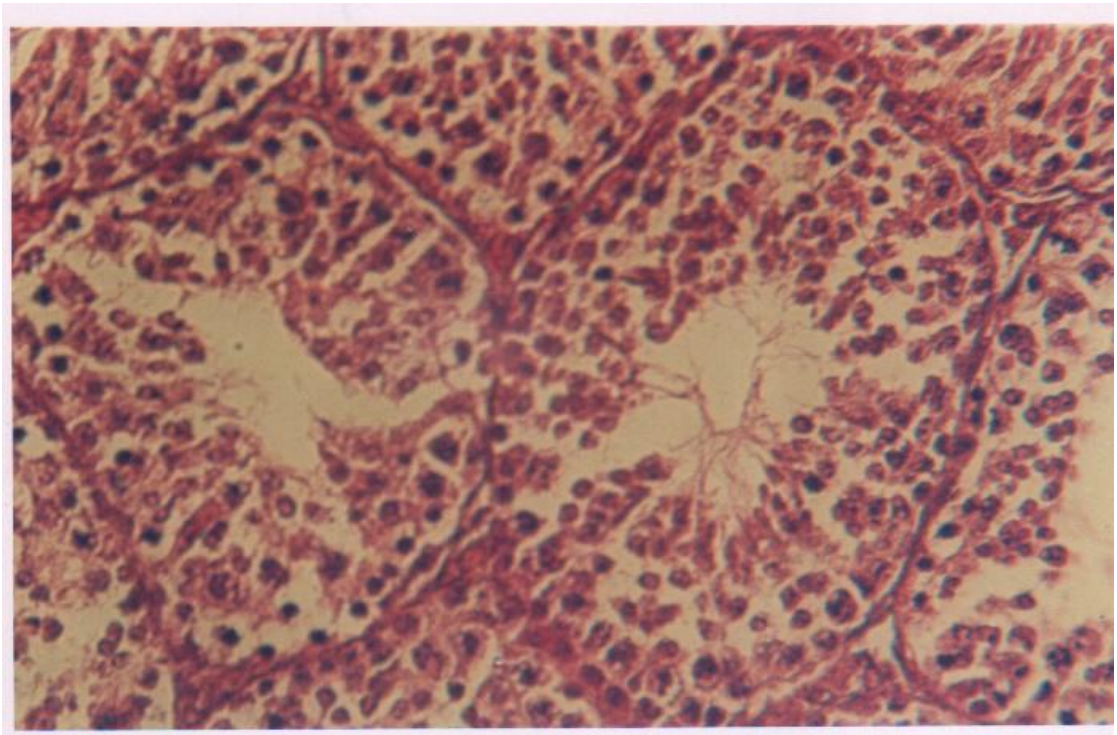
صورة (9) مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة بست جرع من الكمية 30 مايكروكرام/كغم نلاحظ تنكس عملية نشاة النطفة وانتشار السائل الوذمي وحصول تحلل في بعض الخلايا المنشاة للنطفة. (H & E -400 X)



صورة (10) مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة بجرعتين من الكمية 50 مايكروكرام/كغم نلاحظ ان المظهر العام للنبيبات يكاد يكون طبيعي.



صورة (11) مقطع مستعرض لخصية ارنب من المجموعة المعاملة باربع جرع من الكمية 50 مايكروكرام/كغم نلاحظ قلة واختفاء المكونات الخلويه للنبيبات المنويه وانعدام النطف الناضجه وتفجي هيولي.
(H & E -400 X)



صورة (12) مقطع مستعرض لخصية أرنب من المجموعة المعاملة بست جرع من الكمية 50 مايكروكرام/كغم نلاحظ تنكس في عملية نشأة النطفة وتفجي هيولي واختفاء النطف من بعض النبيبات.
(H & E -400 X)

المناقشة Discussion

أولاً:- التغيرات في معدل أقطار النبيبات المنوية:-

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول انخفاض معنوي في معدل أقطار النبيبات ناقلة المني وقد يعود هذا إلى الانخفاض في معدل الهرمون اللوتيني LH الذي يعد الهرمون المتحكم في أقطار النبيبات ناقلة المني (15)هذا من جهة ، ومن جهة أخرى قد يكون التنكس الحاصل في عملية النطفة وانتشار السائل الوذمي في الحيزات البينية وضغطه على جدران النيبيات ناقلة المني الفارغة من محتوياتها الخلوية قد يؤدي إلى انخفاض معدل قطر النبيبات.

ثانياً:- النسبة المئوية لتضرر النبيبات المنوية:-

أوضحت نتائج الدراسة الحالية حصول تغيرات على مستوى النبيبات المنوية ومكوناتها الخلوية عند المعاملة بالموثين $F_2\alpha$ وهذا يعود إلى التأثير التثبيطي للموثين على الغدة النخاميةمن خلال التأثير على المحور المهادي النخامي الخصوي Hypothalamic-Pituitary-testicular axisحيث اشار الباحث اكمو (16)ان الموثينات تثبط استجابة النخامية للهرمونات المحررة لهرمونات المناسل Gn-RH مما أدى بالنتيجة على حدوث تغيرات نسجية في أنسجة المناسل (الخصى) وحدوث نكس في عملية الانطاف Spermatogenesis وهذا أدى إلى زيادة النسبة المئوية للتضرر.

كما لوحظ ان أعلى نسبة للضرر كانت في المجاميع المعاملة بأربع جرع وهذا يعزى إلى ما ذكره الباحثان (11) من ان استمرار الحقن بالموثين $F_2\alpha$ قد يساهم في تحفيز النبيبات ناقلة المني لإصلاح الضرر الذي لحق بها.

ثالثاً:- الدراسة النسجية المرضية:-

يلاحظ من نتائج الدراسة الحالية حصول نكس في عملية نشأة النطفة في اغلب المجاميع المعاملة بالموثين $F_2\alpha$ وهذا يعود إلى الانخفاض في مستويات الهرمون اللوتيني وهرمون الشحمون الخصوي اللذان يعدان مؤثران كبيران في هذه العملية الفسيولوجية (17) وقد يعزى هذا الخلل الهرموني إلى التأثير التثبيطي للموثين $F_2\alpha$ على محور تحت المهاد – النخامية - الخصية -Hypothalamic-pituitary-testicular axis وما ينتج عنه من انخفاض في تصنيع الستيرويدات الجنسية والمتمثلة بالاندروجينات (18).

كما أظهرت أنسجة خصى الحيوانات المعاملة وجود السائل الوذمي Odematous fluids وانتشاره وهو مادة بروتينية تظهر بلون وردي وتنتشر بين الحيز البيني للنبيبات المنوية ويعزى سبب ظهور هذه المادة إلى ارتفاع الضغط الشعيري وانخفاض الضغط الازموزي الغروي في الأوعية الدموية نتيجة لتأثير الموثين في أغشية الأوعية الدموية بسبب التأثير التقلصي لهذه المركبات على العضلات الملساء (2) مسبباً تمزقاً للوعاء الدموي مؤدياً إلى تدفق بلازما الدم وانتشاره.

كما لوحظ اختفاء طلائع النطف والنطف من تجويف النبيبات المنوية وهذا يعزى الى نقصان هرمون الشحمون الخصوي مؤدياً إلى توقف الانقسام الاختزالي الذي يكون واقع تحت سيطرة هرمون الشحمون الخصوي (19).

كما أظهرت نتائج الفحص المجهري لأنسجة خصى الحيوانات المعاملة حصول تغلظ نووي وتمزق في الظهارة المنوية وتفجي هيولي وحدوث نزف دمي، وهذه النتائج تتفق ما لاحظه (20). ولوحظ أيضاً حصول تحلل Lysis في بعض أنواع الخلايا وقد يعود هذا التحلل إلى قدرة الموثينات في إحداث موت الخلايا المبرمج Apoptosis (21). وهذا سببه نقصان ورود الدم إلى أنسجة الخصية ومن ثم حرمان الخصية من التغذية الكافية (11).

كما لوحظ نقصان في أعداد الخلايا المسماة خلايا لايدك التي تكون مسؤولة عن تكوين هرمون الشحمون الخصوي وافرازه (22). وربما يكون السبب في هذا النقصان إلى انخفاض مستوى الهرمون اللوتيني المسيطر على هذه الخلايا (19). وهناك احتمال ان الموثين $F_2\alpha$ قد سبب تأثيراً موضعياً على الخصى من خلال قابليته التقلصية للعضلات الملساء مؤدياً بالتالي إلى نقصان ورود الدم إلى هذه الخلايا وحرمانها من التغذية الكافية ومن ثم تحلل أو موت هذه الخلايا (11).

المصادر العربية

14- الراوي، خاشع محمود (2000) مدخل إلى الإحصاء .الطبعة الثانية. كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل.

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

المصادر الأجنبية

1. **Sales, K.J. and Jabbour, H.N. (2003). Cyclooxygenase enzymes and prostaglandins in pathology of the endometrium. Reproductions; *126*: 559-567.**

2. **Moncada, S.; Flower, R.J. and Vane, R.J. (1980). Prostaglandins, prostacyclin and thromboxanc A_2. In: Goodman and Gilman's the pharmacological Basis of therapeutics. Ed. by Gilman, A.G.; Goodman, L.S. and Gilman, A. 6th edn. Macmillan publishing Co. Inc. New York, pp: 668-681**

3. **Arosh, J.A.; Banu, S.K.; Chapdelaine P.; Madore, E.; Sivois, J. and Fortier, M.A. (2004). Prostaglandin Biosynthesis, transport, and signaling in cropus luteum: A Basis for Autoregulation of lyteal function. Endocrinology; *145*(5): 2551-2560.**

4. **Callejas, N.A.; Castrillo, A.; Bosca, L. and Martinsanz, P. (1999). Inhibition of prostaglandin synthesis Up-regulates cyclooxyggenas-2 Induced by Lipopolysaccharide and peroxisomal. Prolifevators. Pharmacology; *288*: 1235-1241.**

5. **Karim, S.M.M.; Sandler, M. and Williams, E.D. (1967). Distribution of prostaglandin in Human tissues. Br. Pharmac. Chemother. *31*: 340-344.**

6. **Ujihara, M.; Urade, Y.; Eguchi, N.; Hayashi, H.; Ikai, K. and Hayaishi, O. (1988). Prostaglandin D_2 Formation and characterization of Its synthetases in various tissues of Adult Rats. Hives of Biochemistry and Biophysics. *260*(2): 521-531.**

7. **Walch, L.; Clavarino, E. and Morris, P.L. (2003). Prostaglandin (PG) FP and EP_1 Receptors Mediate PG $F_2\alpha$ and PGE_2 regulation of interleukin-1B expression in leyding cell Progenitors. Endocrinology; *144*(4): 1284-1291**

8 . **Jabbour, H.N.; Sales, K.J.; Bobby, S.C.; Anderson, R.A. and Williams, A.R.W. (2005). A positive feedback loop that regulates cyclooxygenase-2 Expression and prostaglandin $F_2\alpha$ synthesis Via the F-series-prostanoid receptor and Extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling pathway. Endocrinology; *146*(11): 4657-4664.**

9 . **Kelley, R. W. ; Cooper, I. and Tompleton, A. A. (1979). Reduced prostaglandin levels in the semen of men with very high sperm concentration. J. Reprod. Fertil. 59: 195.**

10 . **Joseph, M.M. and Siwela, A.A. (1976). Effects of prostaglandin $F_2\alpha$. and indomethacin on the response of the accessory sex glands of male rats to testosterone. J. Reprod. Fert. *47*: 93-94**

11 . Saksena, S.K.; Lau, I.F. and Bartke, A. (1974). Prostaglandins A_1 and A_2 decease testosterone levels in mice and rates. Endocrinology *95*(1): 1311-314.

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

13. 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.

15. Anderson, R.A. and Baird, D.T. (2002). Male contraception. Endocrine review. *23*(6): 735-762.

16. Agmo, A. (1975). Effect of prostaglandin E1 and $F_2\alpha$ on serum luteinzin hormone concentration and on some sexual functions in male rabbits . Prostaglandin ; *9* (3) : 451-457 .

17. Plant, T.M. and Marshall, G.R. (2001). The functional significance of FSH in spermatogenesis and the control of its secretion in male primates. Endocrine Reviews; *22*(6): 764-786.

18. Conte, D.; romanelli, F.; Fillo, S.; Guidetti, L.; Isidori, A.; Franceschi, F.; Latini, M. and diluigi, L. (2001). Aspirin inhibits androgen response to chorionic gonadotro pin in humans. Hum. Reprod.; *16*(6): 1180-1184to chorionic gonadotropin in humans. AJP. Endo; *277*: 1032-1037.

19. Zhang, F.; Palarainen, T.; Poutanen, M.; Toppari, J. and Huhtaniemi, I. (2003). The low gonadotropin-independent constitutive production of testicular testosterone is sufficient to maintain spermatogenesis. PNAS; *100*(23): 1392-13697.

21. Cheuk, B.L.Y.; Cheng Chew, S.B.; Fiscus, R.R. and Wong, P.Y.D. (2002). Cyclooxygenase-2 Regulates apoptosis in rate epididymis through prostaglandin D_2. Biology of reprofduction. *66*: 374-380.

22. Chadrashekar, V.J.;Bartke,A.J.; Awoniyi ,C.A. ;Tsai-Morris,C.H.; Dufau, M. L.; Russell, L.D. and Kopchick, J.J. (2001). Testicular Endocrine Function in GH Resptor Gene Disrupted Mice . Endocrinology ; *142* (8) : 3443-3450 .

Histopathalogical tissue which causes by prostaglandin F2α in domestic rabbit testis

Shammaa Obied Abdalla
College of science for women

Haider Kamil Zaidan
College of science

Babylon University

Abstract

This study aimed to investigate the effect of prostaglandin F2α on histopathological changes in additional the seminiferous tubules diameter and percentage of damage of seminiferous tubules.

The study were included (48) adult male of domestic rabbits which were randomly divided into three main group, depending on number of dose (two, four and six dose) . Each main group was subdivided into three subgroups dependence on the concentration of prostaglandin F2α (10, 30, 50) µm/Kg of body weight in addition to control group which injected with normal saline.

The results reveal as follow when comparison with control groups:-

1- **There is changes in seminiferous tubules diameter and damage in seminiferous tubules in different significant levels.**
2- **There is histopathological changes includes changes in cell of spermatogenesis, Leydig cells and blood vessels.**