تأثير بعض العوامل البيئية في التوازن المائي للجسم وعلاقتها بالتغيرات النسيجية في كلى الارانب البيضاء النيوزلندية (Oryctolagus cunniculus)

خمائل عبد الباري عقلة أ.سعد حمد عبد اللطيف
جامعة كربلاء / كلية الصيدلة

بحث مستل من رسالة الماجستير

الخلاصة

اجريت الدراسة في قسم علوم الحياة/ جامعة كربلاء وفي مختبر الكيمياء السريرية ومختبر الدم في مستشفى الحسين (ع) للفترة من 2011/1/5ولغاية 2012/8/15 واستخدم في التجربة (20) من ذكور الارانب النيوزلندية والتي معدل اعمارها (10-12) شهرا ومعدل اوزانها (2.85-3.01) كغم, وقسمت الارانب الى مجموعتين 10 أرانب لعينات الشتاء و10 ارانب لعينات الصيف , وتم قياس الحرارة والرطوبة في فصل الشتاء (^{o}C 70,12%) بواسطة جهاز الحرارة والرطوبة Thermometer & Hydrometer لشهري كانون الثاني وشباط. اما في فصل الصيف فقد قيست الحرارة والرطوبة (^{o}C 10,50%) لشهري نيسان ومايس في نفس الجهاز المذكور اعلاه. وتضمنت الدراسة تقييما لمدى وكيفية الحفاظ على حالة التوازن المائي في الارانب من ناحية نسيجية في فصلي الشتاء والصيف وبعد نتائج التحليل الاحصائي والجداول التي حصلنا عليها حيث تم دراسة التغيرات النسيجية للكلى في فصلي الشتاء والصيف ودراسة بعض عوامل البيئة (الحرارة والرطوبة) وتأثيرها على الجهاز الكلوي.

حيث نلاحظ التغيرات النسيجية للكلى في فصل الشتاء والصيف كما يلي: في الدراسة النسيجية الكلى نلاحظ احتقان في الكبيبة Congestion و Hemorrhage في النبيب وHydropic degeneration وodema في الخلايا الطلائية للنبيب في فصلي الشتاء والصيف .

Summary

This study was carried out in department of Biology of Karbala university and in the department of chemistry and Hematological laboratory in AL- Hussein hospital during the period from 5/1/2011 to 15/8/2012. Twenty adult male of Newzealand rabbits (10-12) months old and weighting (2.85 -3.01) kg .The rabbit were divided into two equal group,10 rabbit for winter sample and 10 rabbit for summer sample .The temperature and humidity in winter season (12c, 70%) They were measured by system measuring thermometer and hydrometer month in January and February. In summer the temperature and humidity (50c, 10%) were respectively. The present study has included an evaluation of the water balance condition for assessment of several histological changes. Statisticaly analyses has included study of some environmental factor (temperature, humidity) and determine the histological changes in kidney in winter, summer season. In Histological study in Kidney's notice congestion of Glomeruli, Hemorrhage in tubule , hydropic degeneration and odema of tubular epithelial cells in season winter and Summer .

المقدمة Introduction

الماء هو عنصر اساسي لجميع الكائنات الحية. اذ يتكون الجسم من السوائل Fluid والأملاح (الاليكتروليتات) (1). ويعرف التوازن المائي هو الحفاظ على نسبة وكمية ونوعية وصفات السوائل عما هو عليه في جميع الظروف ومختلف الحالات. اي ان كمية السوائل المتناولة يجب ان تتساوى مع كمية السوائل المفقودة. كما ان مصطلح التوازن المائي يطلق على توازن الماء والمحاليل (الالكتروليتات) داخل الجسم وفقا لظروف البيئة. والتوازن المائي لسوائل الجسم يعتمد على اخذ وفقدان الماء والشوارد. ومحاليل التوازن المائي الفسلجية هي الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والمغنسيوم وهي تحمل شحنة موجبة وتسمى الكاتيون اما التي تحمل شحنة سالبة فتسمى الانيون مثل الكلور, وان اهمية التوازن المائي تكمن في الحفاظ على الأزموزية التي تؤثر وتنظم الاس الهيدروجيني في الدم. ويتم قياس التوازن المائي بواسطة اختبار الدم وتحليل الادرار. وهناك ثلاثة مفاهيم للتوازن المائي: السيطرة على حرارة الجسم, السيطرة على سكر الدم, السيطرة على مستوى الادرار(2). وتتوزع السوائل الجسمية او الماء الكلي في الجسم. وهناك نوعان من السوائل الجسمية هي: سوائل داخل الخلايا Intracellular Fluid: توجد داخل الخلايا وتكون حوالي ثلث الماء الكلي في الجسم ويتم فيها تحديد حجم السوائل داخل الخلايا بواسطة محتواه من البوتاسيوم و سوائل خارج الخلايا Extracellular Fluid: توجد خارج الخلايا ويتم تحديد حجم السائل خارج الخلايا بواسطة محتواه من الصوديوم (3). ويتم ادخال الماء عن طريق ماء الشرب Drinking Water، والغذاء food، وتعتمد كمية الحد الادنى لشرب الماء في كل يوم على الحالات الخارجية مثل الرطوبة، الحرارة, والفعاليات الفسلجية . أما فقدان الماء فيتم عن طريق الادرار Urine وfeces, والجلدskin (1) . ففي دراسة اجريت على الجمال (4) وجد ان هناك تناسق وظيفي وتركيبي عالي المستوى بين انسجة بعض

الاعضاء للكلى حيث كانت اعلى التغيرات للكلى في فصل الصيف بزيادة سمك اللب وزيادة اطوال الوحدات الوظيفية الكلوية .وكذلك هناك دراسات اجريت على الفأر مطابقة للأرانب.

الهدف من الدراسة

دراسة نسيجية للكلية و ماطرأ عليها من تغيرات نسيجية في فصلي الشتاء والصيف

المواد وطرائق العمل Materials & Methods

جمع العينات

تم أخذ العينات المطلوبة للدراسة واستخدم في التجربة (20) من ذكور الارانب النيوزلندية وقسمت الارانب الى مجموعتين 10 أرانب لعينات الشتاء و10 ارانب لعينات الصيف للفترة من 2011/1/5ولغاية 8/15/ 2011 وبعد ذلك تم قتل الحيوان وتشريحه. اذ يتم رفع الكلية ثم يتم غسلها بمحلول الملحي الفسيولوجي (Normal Saline) بعدها يتم حفظ الكلية بالفورمالين. كذلك تم وزن الاعضاء قبل التعامل معها نسيجيا.

التحضيرات النسيجية

حضرت شرائح البرافين وفقاً للطريقة التي وصفها بانكروفت وستيفن (5)

1- تثبيت العينات Sample Fixation

تثبت الاجزاء المراد دراستها نسيجيا والمتمثلة بالكلية باستخدام محلول بوين المائي Aqueous Bouins Fluid ولمدة 24 ساعة والمحضر وفق طريقة بانكروفت وستيفن (5) .

2- الغسل Washing

بعد انتهاء فترة التثبيت غسلت النماذج بكحول اثيلي 70% ولعدة مرات للتخلص من بقايا المثبت.

3- الانكاز Dehydration

مررت النماذج بعد الغسل بسلسلة متصاعدة من الكحول الاثيلي حيث بدأ بتركيز (70%، 80%، 90% ، 95 %، 100%، 100%) ولمدة ساعة ونصف لكل تركيز وأبقيت في التركيز الاخير الى اليوم التالي.

4- الترويق Clearing

روقت العينات بتبديلين من xylen ولمدة نصف ساعة لكل تبديل

5- التشريب والطمر Infiltration and Embedding

وضعت العينات بمزيج من شمع البرافين درجة انصهاره 60^oC مع الزايلين بنسبة 1:1 مل ولمدة نصف ساعة ووضعت في فرن درجة حرارته 60^oC، وشربت العينات بعدها بشمع البرافين وعلى مرحلتين ولمدة ساعتين لكل تمريرة، واخيرا طمرت العينات بنوعية الشمع نفسه داخل قوالب خاصة.

6- التشذيب والتقطيع Trimming and Cutting

شذبت قوالب الشمع الحاوية على النماذج بمشرط حاد وثبت على حامل خشبي وقطعت النماذج باستخدام المشراح الدوار للحصول على شرائح بسمك 5 مايكرون, ثم نقلت المقاطع الى حمام مائي بدرجة 40^oC لغرض تسطيح النسيج, ووضعت الاشرطة على شرائح زجاجية .

7- التصبيغ Staining

استخدمت صبغة الهيماتوكسلين والايوسين لصبغ المقاطع النسيجية (6).

8- التحميل

حملت الشرائح باستخدام .D.P.X ثم تركت لتجف على صفيحة ساخنة (Hote Plate) بدرجة 40^oC.

وكذلك تم قياس المعايير النسيجية سمك القشرة وسمك اللب وقطر الكبيبة باستخدام المقياس المتري بعد معايرته بواسطة المايكروميترستيج Micrometer stage.

التحليل الاحصائي

أستخدم البرنامج الاحصائي SPSS لعمل التحليلات الاحصائية حيث تم التعبير عن النتائج بواسطة (المعدل ± الخطأ القياسي) (Mean ± S.D). واستخدم الاختبار (t-test) لإظهار الفرق في معدل التغيرات بين المجموعتين.(7).

النتائج والمناقشة Results & Discuss

الدراسة النسيجية

1- انسجة الكلى Kidney Tissue

1-1 فصل الشتاء Winter Season

اظهرت الفحوصات المجهرية ان الكلية تتكون من القشرة واللب .وتحاط الكلية بمحفظة بومان التي تكون ذات حجم طبيعي وتتكون محفظة بومان من جزئيين الطبقة الجدارية parietal layerالتي تتكون من نسيج طلائي حرشفي بسيط والطبقة الحشوية visceral layerوتسمى podocyte وهي خلايا مكعبة بسيطة وتحتوي الكلية على كبيبة ذات خلايا متسعة قليلا عما هو في الصيف. ونلاحظ احتقان Congestion بالكبيبة ونلاحظ Hemorrhage بالنبيب ونلاحظ Hydropic Degeneration و

odemaفي الخلايا الطلائية للنبيب. الأنابيب الملتوية القريبة كانت كثيرة العدد ذات جوف صغير يبطن بخلايا مكعبة تكون احيانا مزودة بحافات فرشية. فضلا عن ذلك فقد اظهر الفحص المجهري أن عروة هنلي تتكون من جوف نحيف وضيق وخلايا تميل بأن تكون حرشفية طلائية او طلائية بسيطة. اما النبيبات الملتوية البعيدة في عينات الشتاء قليلة الاعداد مقارنة بالنبيبات القريبة حيث انها تميزت بخلايا مكعبة. اما اللب كما يتضح من خلال الفحص المجهري فلا يحتوي على الاجزاء المستقيمة من الانابيب الكلوية وعروة هنلي. تطابقت النتائج الى ما توصل اليه الباحث(8). لم يطرأ أي تغيير على محفظة بومان سوى الاتساع القليل في حجم خلاياها الحرشفية مقارنة مع فصل الصيف، وهذا يعود إلى وجود خلايا نجميه الشكل تدعى بمسراق الكبيبة Mesangial cell ذات بروزات سايتوبلازمية تقوم بإسناد جدران الشعيرات الدموية ويؤدي تحسسها لضغط الدم العالي فتتمدد بما يعمل على توسع الاوعية الدموية الشعيرية في الكبيبة بما يؤدي إلى طرح المزيد من السوائل خارج الجسم (9) اما الاجزاء النبيبية للنفر ون فظهرت بأنها ذات اعداد تجاويف كبيرة واطوال اعتيادية وكذلك فان خلاياها بدت بأحجام طبيعية وتراكيب معقدة من الناحية النسيجية (10). والنبيبات الملتوية البعيدة قليلة الاعداد في فصل الشتاء مقارنة مع النبيبات الملتوية القريبة. لقد أدت كثرة المياه المتناولة وارتفاع ضغط الدم إلى تمدد خلايا البقعة الكثيفة بما لا يسمح بإفراز مادة الرنين. وهناك ارتفاع معنوي بمستوى معنوية ($p<0.05$) في معدل سمك القشرة في فصل الشتاء وكان معدلها في فصل الشتاء كالاتي(20M) وانخفاض معنوي بمستوى معنوية ($p<0.05$) في سمك القشرة في فصل الصيف وكان معدلها في فصل الصيف كالاتي(17M). هناك ارتفاع معنوي بمستوى معنوية ($p<0.05$) في معدل سمك اللب في فصل الصيف وكان معدلها في فصل الصيف (56.4M) وانخفاض معنوي بمستوى معنوية ($p<0.05$) في معدل سمك اللب في فصل الشتاء وكان معدلها في فصل الشتاء كالاتي(43M). هناك ارتفاع معنوي بمستوى معنوية ($p<0.05$) في معدل قطر الكبيبة في فصل الشتاء وكان معدلها في فصل الشتاء كالاتي(3.6M) وانخفاض معنوي بمستوى معنوية ($p<0.05$) في معدل قطر الكبيبة في فصل الصيف وكان معدلها في فصل الصيف (1.5M).

ففي دراسة اجريت على الجمال (4) وجد ان هناك تناسق وظيفي وتركيبي عالي المستوى بين انسجة بعض الاعضاء للكلى حيث كانت اعلى التغيرات للكلى في فصل الصيف بزيادة سمك اللب وزيادة اطوال الوحدات الوظيفية الكلوية .

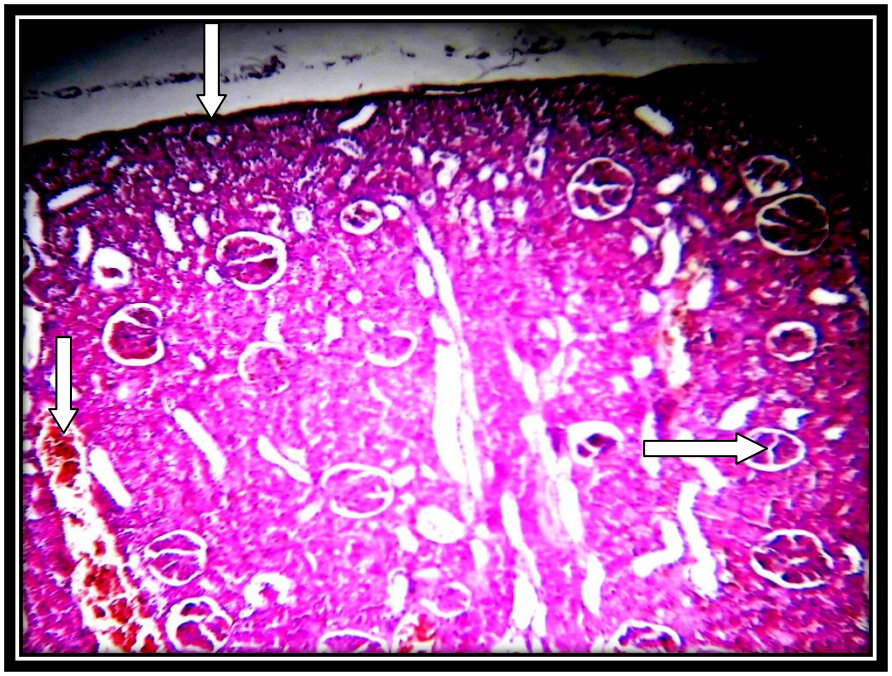
جدول (1) يوضح معدل سمك القشرة وسمك اللب وقطر الكبيبة مقاسه بالمايكروميتر لفصل الشتاء والصيف في ذكور الارانب النيوزلندية.

Parameter	سمك القشرة M	سمك اللب M	قطر الكبيبة M
الشتاء	20±0.6 *	43±1.09	3.6±0.08 *
الصيف	17±0.6	56.4±2.3 *	1.5±0.06

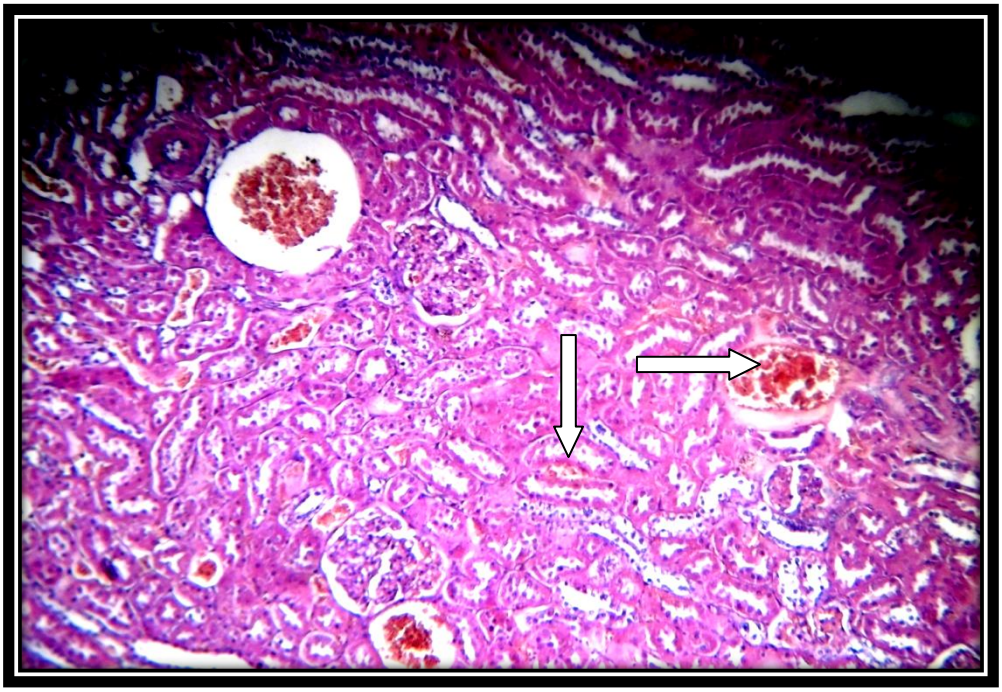
المعدل ± الخطأ القياسي.

*مستوى المعنوية $p<0.05$

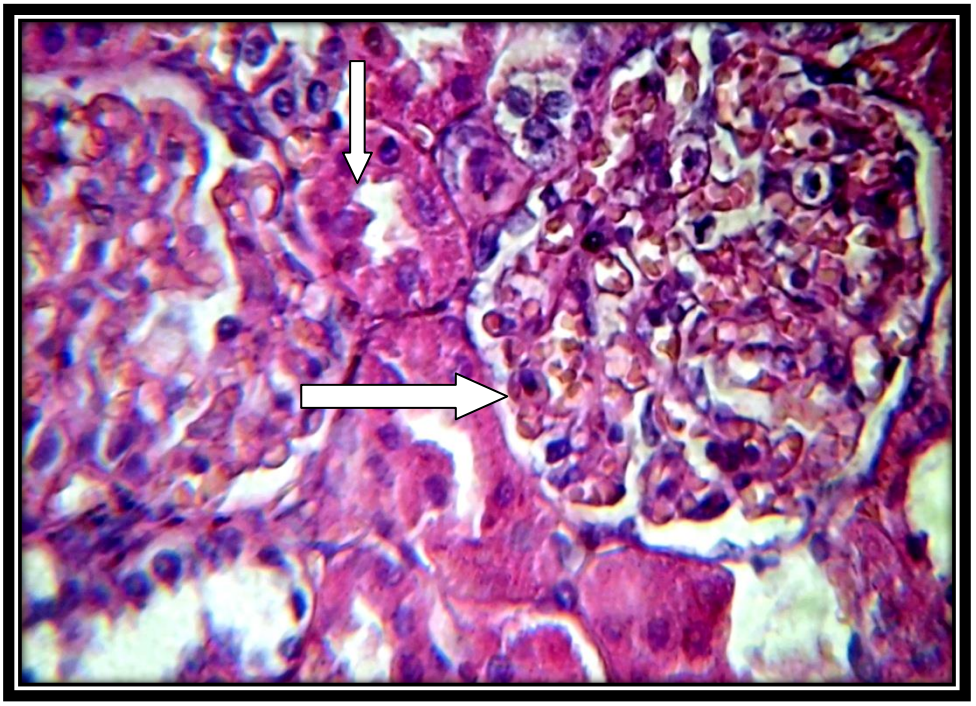
**مستوى معنوية $p<0.01$



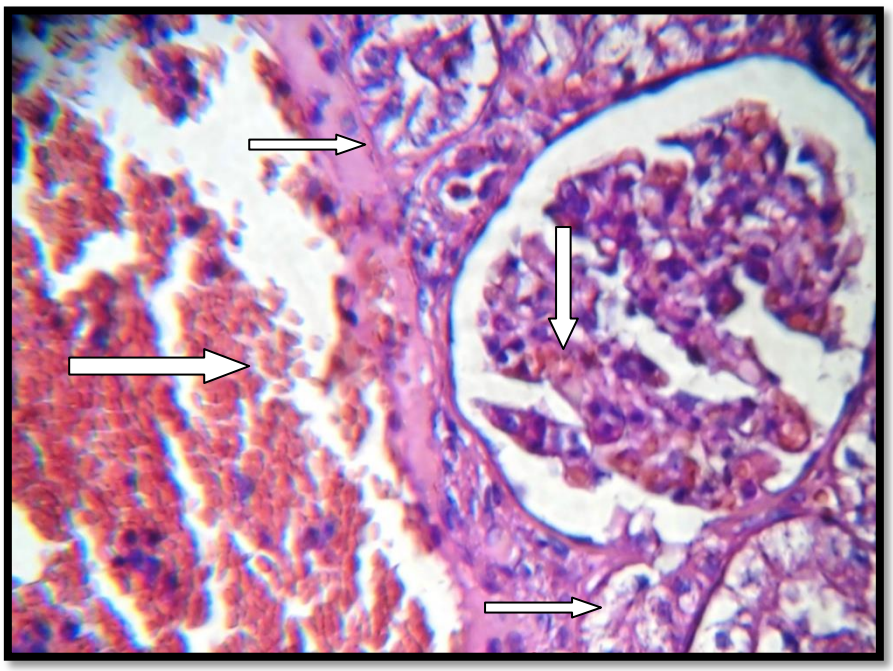
صورة رقم (1) مقطع مستعرض في الكلى لعينات الشتاء نلاحظ المحفظة Capsule والكبيبة Glomeruli ⟸ ونلاحظ congestion داخل النبيب Tubule تصطبغ بـ H&E (4X).



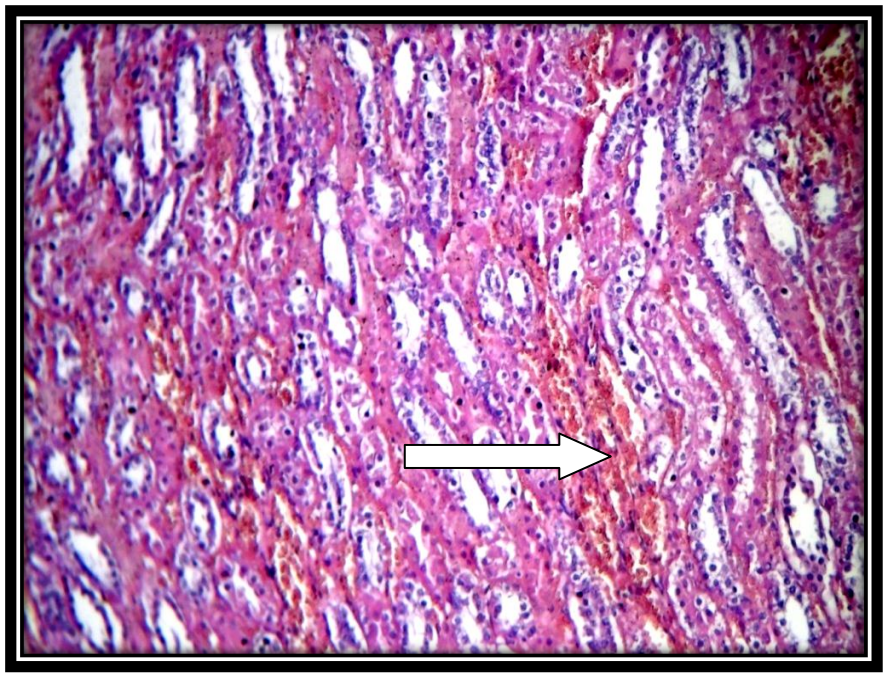
صورة رقم (2) مقطع مستعرض في الكلى لعينات الشتاء نلاحظ احتقان في الكبيبة Glomeruli ونلاحظ congestion في النبيب Tubule في ذكور الارانب النيوزلندية وتصطبغ بصبغة H&E (100X).



صورة رقم (3) مقطع مستعرض في الكلى لعينات الشتاء نلاحظ الكبيبة ونلاحظ النبيب الملتوي القريب في ذكور الارانب النيوزلندي وتصطبغ بصبغة H&E. (400X).



صورة رقم (4) مقطع مستعرض في الكلى لعينات الشتاء نلاحظ احتقان congestion في الكبيبة وHemorrhage للنبيب ونلاحظ odema في الخلايا الطلائية للنبيب و Hydropic degeneration في ذكور الارانب وتصطبغ بصبغة H&E (400X)



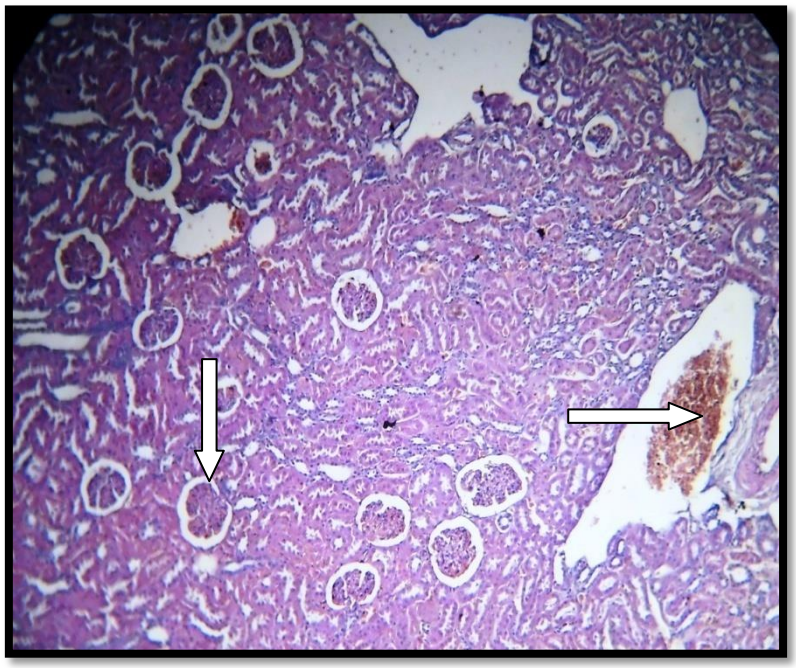
صورة رقم (5) مقطع مستعرض في الكلى لعينات الشتاء نلاحظ اللب Medulla ونلاحظ Hemorrhage في النبيب الجامع Collecting tubule في ذكور الارانب وتصطبغ بصبغة H&E.(100X).

2-1 فصل الصيف Summer Seasone

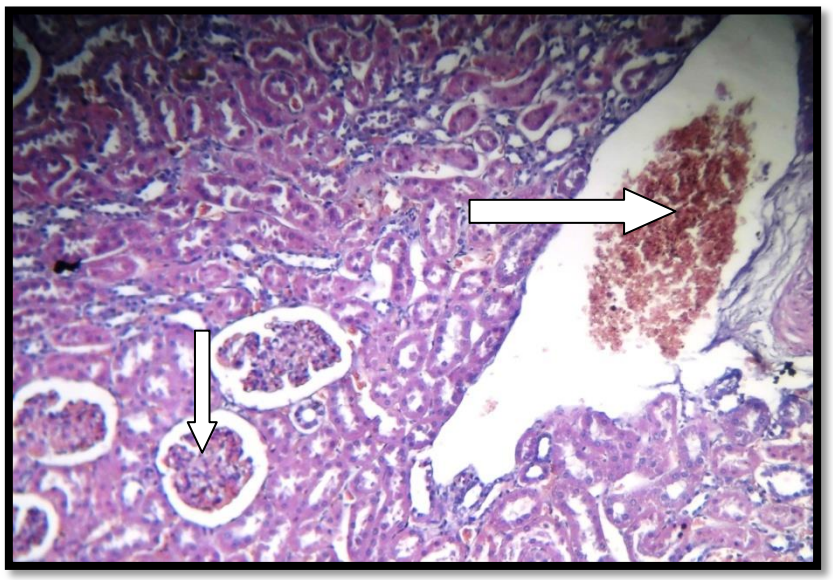
تبدو الكبيبة اصغر حجما مما في الشتاء والأوعية الدموية الكبيبة متقلصة ونلاحظ احتقان في الكبيبة ونلاحظ congestionفي النبيب وهناك توسع في النبيب. كما لوحظ ا ن اعداد الانابيب الملتوية القريبة كان اقل مما هو عليه في عينات الشتاء اضافة الى ان جوفها بدا ضيقاً وخلايا مكعبة وكبيرة. اما عروة هنلي كانت ذات جوف ضيق وتتكون من خلايا طلائية، اضافة الى ذلك كان النبيب الملتوي البعيد أوسع جوفاً من الملتوي القريب ويتشكل من خلايا مكعبة. وعموما بدا النسيج اللبي والقشري اكثر انقباضاً في فصل الصيف منه في فصل الشتاء. وكذلك نلاحظ زيادة سمك اللب وزيادة اطوال الوحدات الوظيفية

الكلوية. تطابقت النتائج الى ما توصل اليه الباحث (8) أدى انخفاض ضغط الدم في الشعيرات الدموية المحيطة بالمحفظة إلى تقلص الاوعية الدموية للكبيبة وصغر حجم المحفظة الكلوية ,ومن ثم تأثر خلايا المسراق الكبيبي، وهذا يعمل على تحفيزها لإفراز مادة الرنين التي تساعد في تقلص جدران الاوعية الدموية بما يساعد في احتباس السوائل داخل الشعيرات الدموية ,وقد تطابقت نتائج الدراسة في كلية الفأر مع كلية الارانب حيث نلاحظ congestionفي النبيب(11) وكذلك صغر جوف النبيب الملتوي القريب إلى تقليل مرور الراشح الكبيبي من خلالها وتأخير هذا المرور أطول فترة ممكنة من أجل امتصاص أكبر كمية ممكنة من السوائل. وأدت الزيادة الواضحة في أطوال عروة هنلي، من ناحية اخرى ادى إلى زيادة امكانية امتصاص أقصى ما يمكن من الماء داخل هذه عروة هنلي وبما يسهم بشكل فعال في احداث توازن ايوني وأيضي لبيئة الجسم الداخلية في مقابل ما سيواجهه من قسوة للظروف البيئية المحيطة به والمؤثرة عليه. كما اظهرت الفحوصات المجهرية ان ضيق جوف كل من الانبوبين الملتوي البعيد والجامع، اضافة إلى كبر حجم الخلايا المكعبة للانابيب ا لبعيدة كان الغرض منه زيادة امتصاص الماء والاملاح الضرورية للجسم وتحت تأثير الهرمون المضاد للابالة والالدستيرون (12)

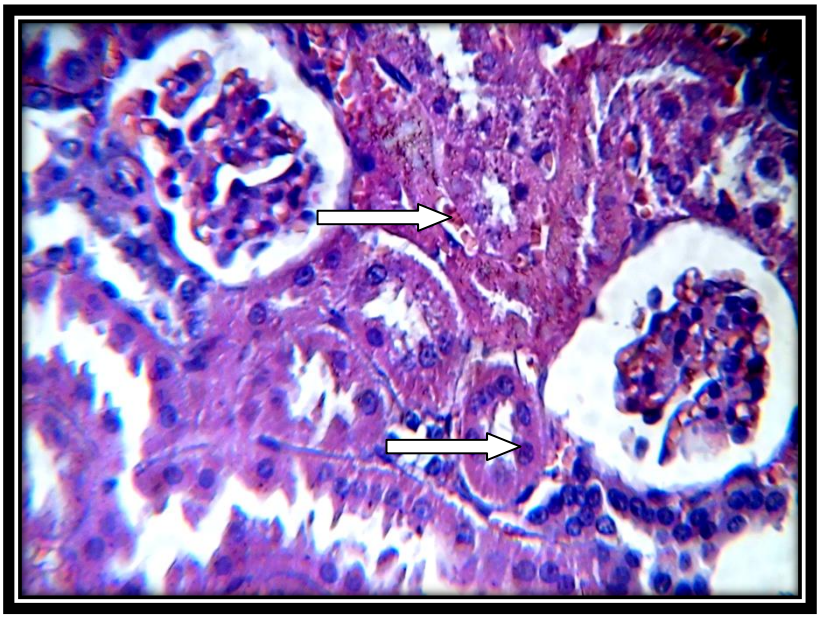
من جهة اخرى، أدى تحسس البقعة الكثيفة بانخفاض ضغط الدم إلى انتفاخ خلاياها مما ادى بها إلى زيادة افراز هرمون الرنين الذي يساعد بدوره في افراز الالدستيرون الذي يسهم في احتباس الماء والايونات الضرورية للجسم (13) (14). في حين ذكر,(15) ان قلة انتشار الشعيرات الدموية يساعد في زيادة تركيب المادة الحشوية للكلية مما يؤدي إلى سحب اكبر كمية من الماء الموجود في تجويف النبيبات الكلوية.



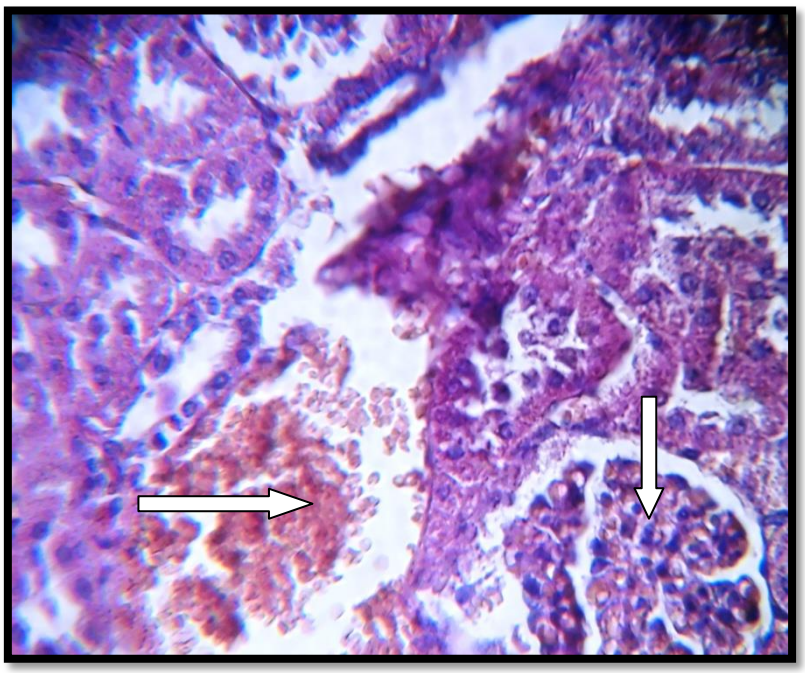
صورة رقم (6) مقطع مستعرض في الكلى لعينات الصيف نلاحظ الكبيبة ⇩ منكمشة ونلاحظ احتقانcongestion ⇨ في الوريد الكلوي في ذكور الارانب النيوزلندية. تصطبغ بصبغة H. & E. (4X).



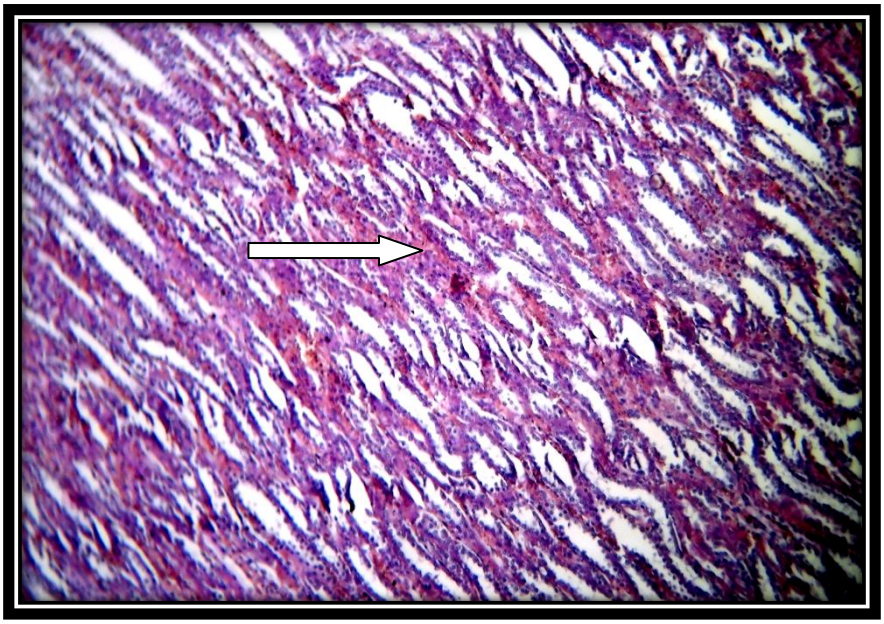
صورة رقم (7) مقطع مستعرض في الكلى لعينات الصيف نلاحظ احتقان Congestion في الكبيبة ونلاحظ احتقانcongestion في الوريد الكلوي في ذكور الارانب اصطبغ بصبغة H & E.(100X).



شكل رقم (8) مقطع مستعرض في الكلى لعينات الصيف نلاحظ الكبيبة الكلوية منكمشةcongestion في النبيب، و degenration في ذكور الارانب النيوزلندي وتصطبغ بصبغة H & E. (400X).



صورة رقم (9) مقطع مستعرض في الكلى لعينات الصيف نلاحظ احتقانcongestion ⟹ في النبيب واحتقان Congestion في الكبيبة ⇩ في ذكور الارانب النيوزلندية. تصطبغ بصبغة H & E. (400X).



صورة رقم (10) مقطع مستعرض في الكلى لعينات الصيف نلاحظ منطقة اللب Medulla ونلاحظ congestion ⟹ في النبيب ا لجامع collecting tubule, وهناك توسع في النبيب. تصطبغ بصبغة H & E .(100X).

المصادر References

(1)Rosivall, L.; Mirzahosseini, S. (2000). WATER AND ION BALANCE AND IMBALANCE. J. Physiol.; 3: 1-4.

(2)Anderson, O. R. (2010). HOMEOSTASIS. J. Bio., 1-4.

(3)Lobe, D. N. (2002). Physiological Aspects of fluid and Electrolyte Balance. degree of Doctor of Medicine. unvirsity of Nottingham.1-52.

(4)حسن، عبد الصمد عليوي (2004). الاتزان المائي في الابل وحيد السنام دراسة وظيفية– نسيجية مرضية. اطروحة دكتوراء. كلية العلوم. جامعة بابل.

(5)Bancroft, J. and stevens , A. (1982) . Theory and practice of histological technique . (2 and ed) Churchill Livingstone , London: xiv – 662 .

(6)Luna, G. (1968). Manual of histological Staining Method of armed forced institute of pathology. 3rded MC. GRAW Hill book co. Newyork.

(7) Daniel,W.W.(1983). Biosatistics Foundation for analysis in the health sciences , 3rd ed . john wielyand sons , Inc. United states,:110.

(8)AL-Tekrity, S. A. (2011). Effect of heat stress histopathlogical alteration in kidneys of albino rats. J. roavs.; 1(2), 118-120.

(9)عبد الكريم، محمد امين وخولة سليمان داود (1980). كتاب مترجم: علم مصور الانسجة الوصفي. لـ ريث وروس. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل

(10)Andrews, P. M. (1978). Scanning electron microscopy of the kidney glomerilar epithelium after treatment with polycations in situ and in vitro. Am. J. Anat. 153: 291.

(11)Voloka, k. y. (2006). Stress in growing soft tissue.

Acta Biomaterica, 2: 493-504.

(12)Ross, M.H., L.J. Romell, and G.I. Kaye. (1995). Histology A Text and Atlas. (3rd edn.). Maryland, Williams & Wilkins Co.

(13)Andrews, P. M.; poter, K. R. (1974). A Scanning electron microscopic study f the nephron. Am. J. Anat. 140: 89.

(14)Fujita, T., J.; Tokunaga, M. (1976). Scanning electric microscopy of the Glomerular Filtration membrane in the rat kidney. Cell Tissue Res. 166 -299.

(15)Brown, J. A.; R. J. Bal met, and J. C. Rankin. (1993). New Insight in Vertebrate Kidney Function Soc. Exp. Biol. Sem. Ser., Vol. 52. pp: 389.. Cambridge University Press.