تأثير فرط الحديد على الصورة النسجية للخصى في ذكور الجرذان البالغة

بدر ختلان حميد

جامعة تكريت – كلية الطب البيطري – فرع التشريح

الخلاصة

صممت هذه الدراسة لمعرفة تأثير كبريتات الحديدوز (100mg/ kg b. w) على الصورة النسجية في ذكور الجرذان اذ تم استخدام (12) ذكر جرذ ابيض بالغ قسمت الى مجموعتين، ضمت المجموعة الاولى (6) ذكور اعطيت محلول كبريتات الحديدوز يوميا عن طريق الفم ولمدة (60) يوما، وضمت المجموعة الثانية (6) ذكور عوملت طبيعيا وعدت كمجموعة سيطرة. أظهرت نتائج المعاملة بالحديد حدوث انخفاضا معنويا ($P<0.05$) في وزن كل من الخصى، البروستات والحويصلة المنوية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. كما تبين من خلال الدراسة ان المعاملة بالحديد ادى الى حدوث انخفاضا معنويا ($P<0.05$) في معدل أقطار النبيبات المنوية ومعدل سمك ظهارة النبيبات المنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة. وأظهرت الدراسة النسجية تغيرات مرضية نسجية في مقاطع الخصى للمجاميع المعاملة بالحديد تمثلت بتغيرات تنكسية ونخرية. يستنتج من ذلك أن للحديد تأثيرات ضارة على المعايير المدروسة والصورة النسجية للاعضاء مما يدل على ان الحديد عامل اجهاد وتاثير سلبي اذا زاد على المستوى الطبيعي .

الكلمات المفتاحية:
فرط الحديد، الصورة النسجية، ذكور الجرذان.

للمراسلة:
بدر ختلان حميد
البريد الالكتروني:
baderK99@gmail.com

الاستلام: 3 / 4 / 2017
القبول: 11 / 9 / 2017

The Effect of Iron Overload on Histological Picture in Testis of Mature Male Rats

Bader Khatlan Hameed
University of Tikrit / College of Veterinary medicine – Anatomy Dept.

ABSTRACT

Key words: iron overload , histopathological picture, male rats.

Corresponding Author:
Bader K. Hameed
E-mail:
baderK99@gmail.com

Received: 3/4/2017
Accepted: 11/9/2017

This study was designed to determine the effect of ferrous sulfate (100mg / kg b. w) on histopathological picture of the testis in male rats. Twelve white adults male rat were used and divided into two groups, first group was included (6) males were given ferrous sulfate solution daily by mouth for a period of (60) days, and the second group included (6) males which were treated under normal conditions consider as a control group. The results showed that the treated group with iron caused a significant decrease ($P <0.05$) in the weight of each testis, prostate and seminal vesicle compared with the control group. The study was indicated that treatment with iron caused a significant decrease ($P <0.05$) in the spermatic tubule diameters and thickness of the seminiferous tubule epithelium compared with the control group. The histological study also was showed that pathological changes in the testes of treated group with iron which included necrosis and degenerative changes. The conclusion from this study demonstrated that the iron caused adverse effects on the histological pictures which considered a perfect indicator in that iron caused stress and a negative factor if it exceeds the normal level.

المقدمة:

يعد التلوث من مشكلات العصر، والعالم الذي يحيط بنا مملوء بالمواد الملوثة كالمواد التي تستخدم في البيئة من قبل الإنسان فضلا عن العديد من المواد الموجودة بصورة طبيعية والمستقلة كليا عن نشاط الإنسان كالأبخرة المتصاعدة من البراكين الفعالة والتي تشابه التلوث الناجم عن المواد الخام ومنتجات النشاط الإنساني والمجاري (الصابونجي، احمد 1984). أدت التطورات التي حصلت في الكرة الأرضية والتغيرات الجيولوجية في قشرة الأرض إلى حصول تغيرات في توزيع عناصر التربة الرئيسة ذات الأهمية الحيوية مثل الحديد، الخارصين، النحاس، السيلينيوم، المولبيديوم، المنغنيز، الكروم، الكوبلت واليود (Bahuguna و Bedwal , 2007) وتنتشر هذه العناصر بشكل واسع في بيئتنا أما عن طريق وجودها الطبيعي أو كمخلفات صناعية ويتعرض الإنسان والحيوان لهذه المعادن من مصادر متعددة منها: الهواء، التربة، الماء والغذاء الملوثين

(Hijova, 2004) . ويسبب التعرض لهذه المعادن العديد من المشاكل منها فقدان الخصوبة التي تحصل لأسباب عدة منها ما يتعلق بزيادة نسبة الحديد داخل الجسم (فرط الحديد) أو نقص الخارصين أو كليهما (Stohs و Bagchi, 1995). تعد المعادن الانتقالية (كالحديد) محفزات في تفاعلات الأكسدة في الكائنات الحية لذلك فان الاضرار التي تسببها تلك المعادن تظهر في الأنسجة كتلف تأكسدي ومن أكثر الأعضاء تأثرا بهذه العناصر هي الكبد، الكلية والخصى، ومن هذه التأثيرات الجفاف، انخفاض وزن الجسم، فقدان الشهية، نخر النبيبات الكلوية والنزف الرئوي (Volko واخرون 2007) . كما ان إعطاء الحديد بشكل مفرط يسبب زيادة الحديد الحر المتجمع داخل الجسم ومن ثم مشاركته في تفاعل فينتون fenton reaction مؤديا إلى توليد أصناف الأوكسجين الفعالة مسببة تلف خلايا وأنسجة الجسم فضلا عن مهاجمتها للأجنة في حالة الحمل وإحداث تلف تأكسدي بالغ فيها، وان التلف ألتأكسدي الذي تسببه الجذور الحرة بسبب الحديد المفرط داخل الجسم يعد مؤشرا واضحا على وصول الجسم إلى حالة التسمم (Sreedhar واخرون ، 2004).

المواد وطرائق العمل:

تضمنت الدراسة استخدام (12) حيوانا من ذكور الجرذان البيض البالغة (albino rats) بعمر (100) يوم . تراوحت اوزانهم (240– 350) غم ، تمت تربيتها في بيت الحيوان التابع لكلية الطب البيطري ، واخضعت الحيوانات لظروف مختبرية تمثلت بدرجة حرارة (25±5م°) وبدورة ضوئية (10) ساعات ضوء و(14) ساعة ظلام ووضعت الجرذان في اقفاص بلاستيكية ابعادها (20 × 25 × 20) سم . ثم قسمت الى مجموعتين ضمت كل مجموعة (6) حيوانات عوملت المجموعة الاولى بمحلول كبريتات الحديدوز (100mg/ kg b.w) المحضر انياً يوميا ولمدة 60 يوما عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية اما المجموعة الاخرى فعدت كمجموعة سيطرة تمت تربيتها تحت ظروف طبيعية ثم قتلت الحيوانات جميعها بعمر 60 يوماً.

بعد وزن الأعضاء حفظت الخصية اليمنى لكل حيوان بمحلول بونز لمدة (10) دقائق، بعد ذلك في محلول دارئ الفورمالين المتعادل لغرض أعدادها للفحص النسجي، اخذت (6) خصى كاملة من كل مجموعة ومررت في سلسلة من الكحول الاثيلي بتركيز تصاعدي (70 , 90 ,100)% لإزالة الماء منها، ثم الزايلول لغرض التوضيح، وطمرت بعد ذلك في البارافين تمهيدا لقطعها وصبغت بطريقة التصبغ المزدوج باستخدام صبغة الهيماتوكسلين – الايوسين (H&E). فحصت التغييرات التي طرأت على التركيب النسجي للخصى لكل مجموعة تجريبية معاملة مقارنة بمجموعات السيطرة. وقيست أقطار الانيبيبات المنوية وسمك ظهارتها باستخدام المايكروميتر العيني ocular micrometer وذلك بقياس قطرين متعامدين لكل انيبيب، وقد تم حساب معدل أقطار (30) انيبيب لكل مجموعة تجريبية من المجموعات المعاملة (قرموش، 2002).

التحليل الإحصائي:

حللت البيانات إحصائياً بوساطة برنامج الإحصاء Sigma Stat. استخدم تحليل التباين الأحادي one way analysis of variance وحددت الفروقات بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن Duncan multiple range test .

النتائج:

بينت نتائج الدراسية الحالية والموضحة في الجدول (1) ان معدل وزن الخصى لمجموعة السيطرة كان 277 ± 14.7 غم، علماً ان معدل الوزن للمجموعة المعاملة بالحديد كانت 29 ± 6.53 غم .

الجدول (1) تأثير المعاملة بالحديد عن طريق الفم في وزن الخصى في ذكور الجرذان البالغة

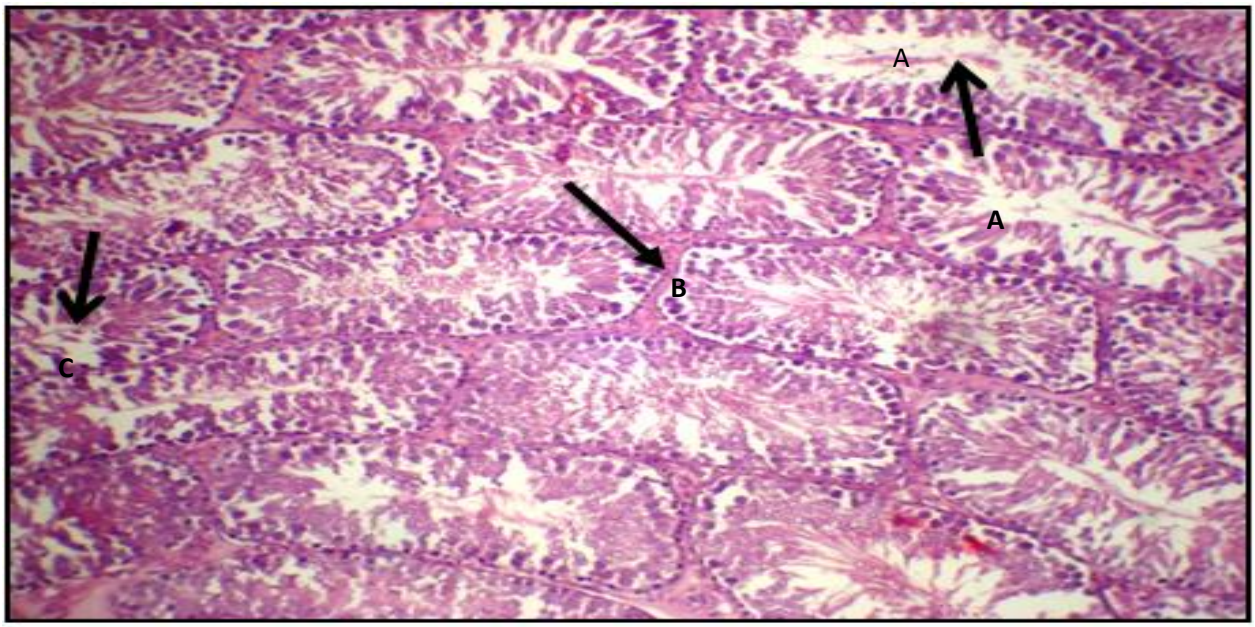
المجاميع / العوامل المقاسة	المعدل ± الخطأ القياسي	
	مجموعة السيطرة	المجموعة المعاملة بالحديد
وزن الخصى (ملغم/ 100 غم من وزن الجسم)	14.7±277.01	6.53±292.33

عدد الحيوانات في كل مجموعة=6 مدة التجربة=60 يوماً، قتلت الحيوانات بعمر 60 يوماً.

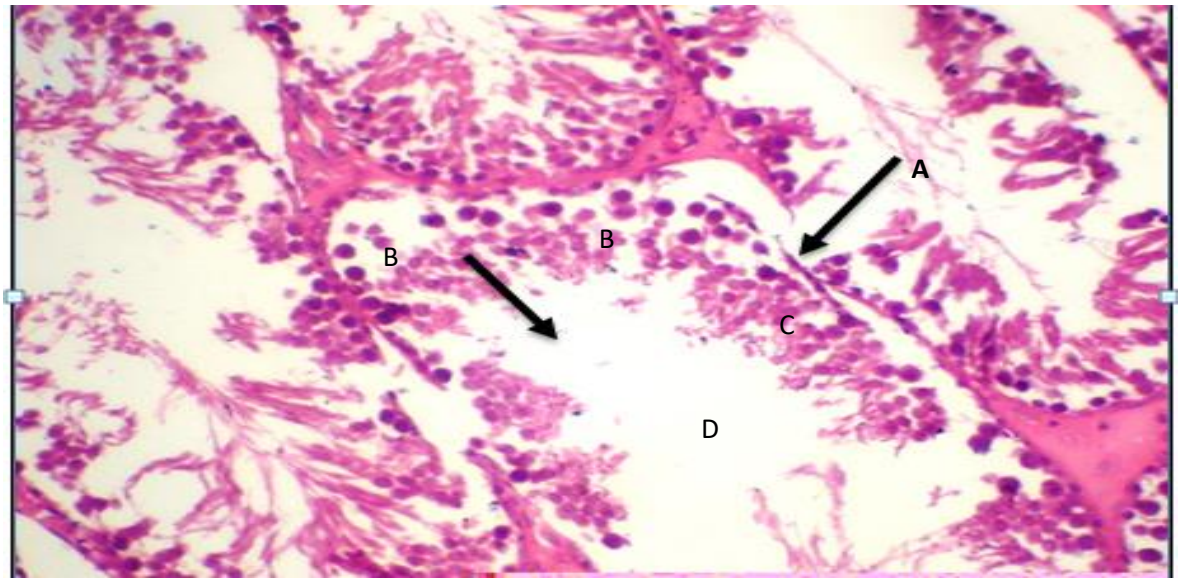
اظهرت نتائج الدراسة النسجية بأن التركيب النسجي للخصية لمجموعة السيطرة بوجود نبيبات منوية ملفوفة في متن الخصية، احتوت على اعداد هائلة من سليفات النطف spermatogonia مستقرة على الغشاء القاعدي مع وجود اعداد من الخلايا النطفية الابتدائية والثانوية primary and secondary spermatocytes وفي وسط كل نبيب كان هناك الطلائع النطفية الاصغر حجماً spermatids ووسط النبيب حزم النطف spermatozoon (صورة 1).

بين الفحص النسجي لعينات الخصى المعاملة بالحديد وجود تغيرات شديدة تنكسية degenerative changes تمثلت بندرة الخلايا سليفات النطف مع تنخر في الغشاء القاعدي المستندة عليه وتحلل الخلايا النطفية الابتدائية ومعظم الخلايا النطفية الثانوية وندرة وخلو النطف في نبيبات منوية اخرى . بالإضافة الى تنكس وتنخر الخلايا الساندة sertoli cells (صورة 2).

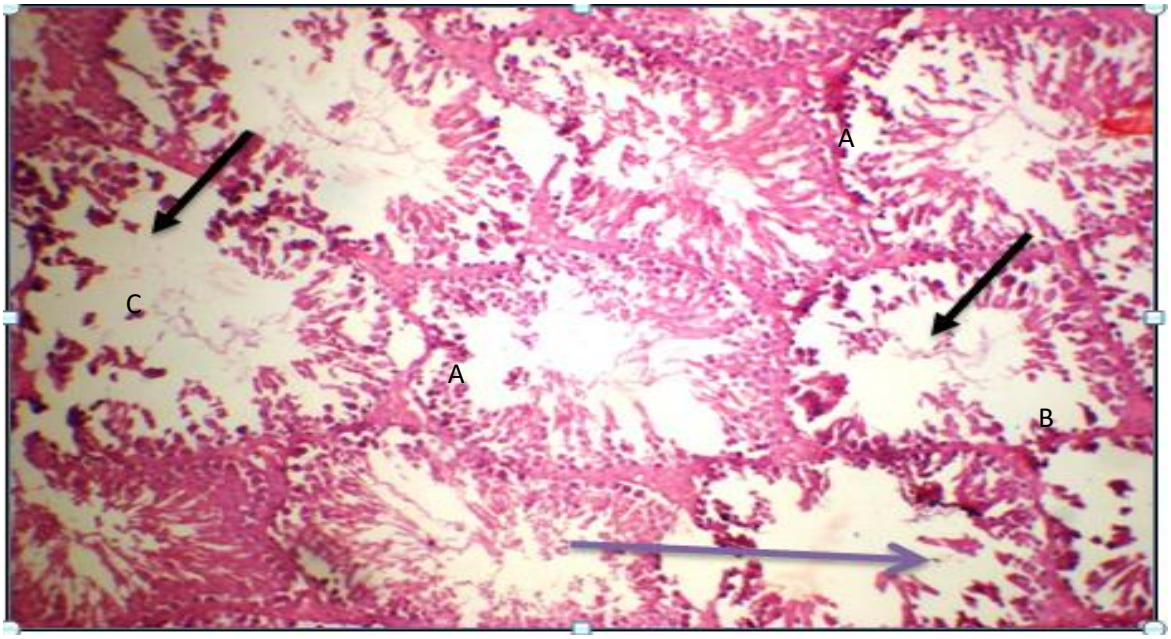
ظهر تنكس وتنخر لمعظم خلايا النبيبات النوية الملفوفة (المولدة للنطف) والساندة لها (صورة 3 و 4).



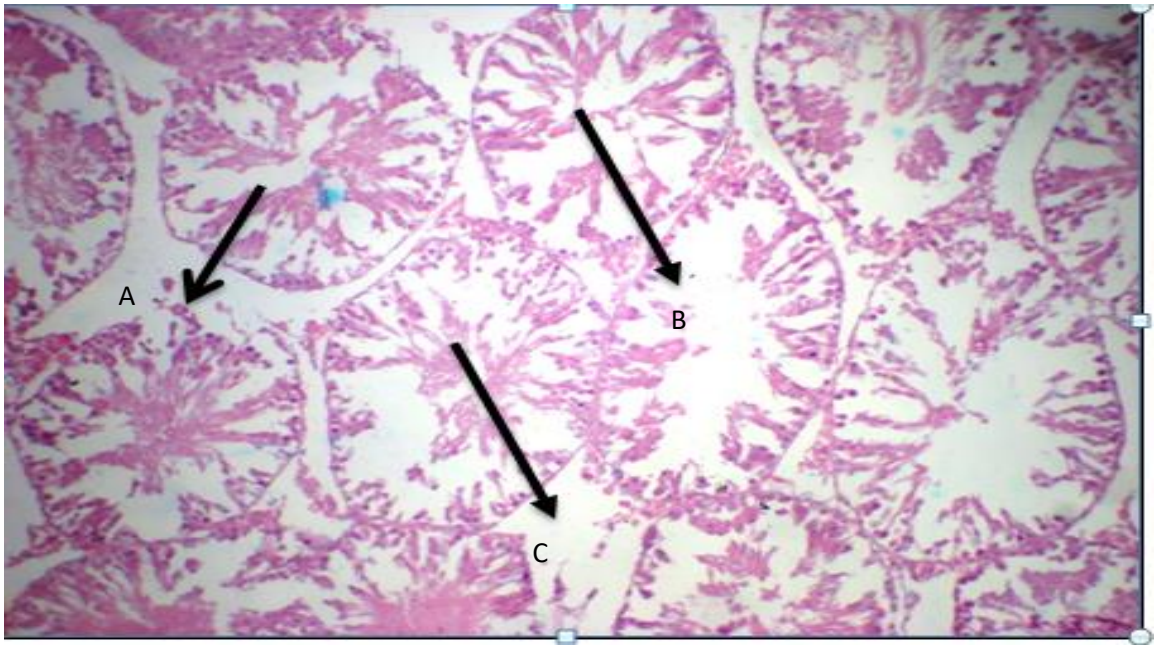
الصورة (1): خصية جرذ بالغ من مجموعة السيطرة يوضح التركيب السوي للخصية المتكون من النبيبات المنوية وخلاياها 115 X ،H&E



الصورة (2): خصية جرذ بالغ معامل بالحديد يوضح تنكس وتنخر الخلايا مولدة النطف بمراحلها المختلفة 240 X ،H&E



الصورة (3): خصية جرذ بالغ معامل بالحديد يوضح تنخر الخلايا النطفية الابتدائية والثانوية وخلو التجاويف من النطف H&E X 165.



الصورة (4): خصية جرذ بالغ معامل بالحديد يوضح تحطم الغشاء القاعدي لمعظم النبيبات وتنكس ونخر الخلايا مولدة النطف H&E ، 165 X .

المناقشة:

من خلال الفحص النسجي لنسيج الخصية المعامل بالحديد ، اظهرت النتائج تغيرات تنكسيه حادة في الخلايا سليفات النطف مع تنخر اعداد كبيرة من الخلايا للنطف الابتدائية والثانوية وظهرت كذلك بأعداد قليلة جداً وهذا يؤيد ما ذكره Hipler واخرون (2000) عند دراسته لتأثير استخدام الحديد في غذاء الجرذان على الخصية ، وكذلك ثبت من خلال هذه الدراسة تحطم

الغشاء القاعدي لبعض النبيبات المنوية للخصية حيث ان استخدام مادة الحديد قد يكون سبب في تحطم الغشاء وخاصته تأثيره على المواد الدهنية المفسفرة phospholipid عند استخدامه بجرع عالية ذات سمية عالية .

سببت المعاملة بالحديد انخفاضا معنويا في وزن الخصى، ويعد تأثير الحديد في وزن الأعضاء الجنسية مؤشرا أوليا لاحتمالية وجود تغير في حالة الاندروجين، كما انه يعمل على تثبيط مستوى التستوستيرون في خلايا ليدك الاولية الا ان الالية غير معروفة .(Amara واخرون 2008), ويعتقد ان سبب ذلك هو ان نمو الغدد الجنسية اللاحقة يعتمد على هرمون التستوستيرون الذي تفرزه خلايا ليدك وبسبب التوليد المتزايد لأصناف الاوكسجين الفعالة والذي احدث بسبب فرط الحديد في الجسم ومهاجمة تلك الاصناف لمعظم خلايا وانسجة الجسم وتعد خلايا ليدك واحدة من تلك الانسجة التي تعرضت للتلف التأكسدي الذي احدثته الجذور الحرة، ان ذلك سيؤدي الى اعاقة كبيرة في وظيفة تلك الخلايا ومن ثم انخفاض انتاج هرمون التستوستيرون (Laskeyو phelps ، 1999) ويؤدي اعطاء الحديد في غذاء الجرذان بشكل مفرط الى حصول تأثيرات بالغة في الخلايا المغذية للنطف (خلايا سيرتولي) بسبب الزيادة الحاصلة في انتاج اصناف الاوكسجين الفعالة التي تعمل على تحطيم الخلايا المبطنة للنبيبات المنوية والذي يتولد عنه اعاقة في نضوج النطف (Hipler واخرون، 2000) واشار Sikka (1996) الى ان غشاء نطف الثدييات يكون غنياً بالأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة والتي تكون حساسة جداً لأصناف الاوكسجين الفعالة التي تودي الى حصول تلف تأكسدي عن طريق بيروكسدة الدهون مما يؤدي إلى انخفاض في حركة النطف والذي يعتقد ان سببه هو فقدان الـATP داخل الخلية مما يودي الى انخفاض في حيوية النطف ومن ثم فقدان الوظيفة الاساسية لها. سببت المعاملة بالحديد انخفاضا معنويا في معدل اقطار وسمك ظهارة النبيبات المنوية وجاءت هذه النتيجة مطابقة لما توصل اليه (Thyagarajuو Muralidhara , 2008) واللذان أشارا الى ان التغيرات الحاصلة في معدل اقطار وسمك ظهارة النبيبات المنوية بفعل الحديد تعود الى التغيرات التنكسية و تجمع الخلايا المبطنة للنبيبات وهذا ما أكدته دراسة المقاطع النسجية للخصى في الدراسة الحالية والتي اوضحت وجود تغيرات نسجية تمثلت بعدم انتظام أشكال النبيبات المنوية إضافة إلى تحطم الغشاء القاعدي للبعض منها مع توقف انقسامات الخلايا المولدة للنطف وخلو تجاويف النبيبات المنوية من النطف sperms. أظهرت المعاملة بالحديد انخفاضا معنويا في معدل أقطار وسمك ظهارة النبيبات المنوية واتفقت هذه النتيجة مع Lucesoli و Fraga (1999) والذي اعزى سبب الانخفاض الى تلف الخلايا المبطنة للنبيبات المنوية في نسيج الخصى نتيجة لتراكم الحديد فيها بوصف ان الخصى من اكثر الاعضاء حساسية لفرط الحديد في الجسم وهذا ما اظهرته واكدته الدراسة النسجية لمقاطع الخصى والذي قد يكون بفعل بيروكسدة الدهون في نسيج الخصى والمحدث بوساطة أصناف الأوكسجين الفعالة المتكونة بتحفيز من الحديد المتجمع في الخصى نتيجة لمعاملة الحيوانات بالحديد.

المصادر:

الصابونجي، احمد. (1984). بيولوجيا التلوث.طبع على نفقة جامعة البصرة. ص 15–18.

قرموش، موسى بن عثمان.(2002). تأثير مادة سترات السيلدينافيل على الخصوبة في ذكر الجرذان. رسالة ماجستير. جامعة الملك سعود

Amara, S.; Abdelmelek, H.; Garrel, C.; Guiraud, C.; Douki, T.; Ravanat, J.; Favier, A.; Sakly, M. and Ben Rhouma, K. (2008). Preventive effect of zinc against cadmium-induced oxidative stress in the rat testis. J. Rep. Dev., 54 (2):18110

Bahuguna, A. and Bedwal, R.S. (2007). Testicular protein profile (SDS-PAGE) study of zinc deficient Wister albino rat.Ind J Exp Bio,46:27-34

Hijova, E. (2004). Metallothioneins and Zinc :their functions and interactions.Bratisl Lek Listy, 105(5-6):230-234.

Hipler, U.C.; Gornig, M.; Hipler, B.; Romer, W. and Schreiber, G. (2000). Stimulation and scavestrogen-induced inhibition of reactive oxygen species generated by rat Sertoli cells . Arch. Androl. 44:147-154.

Laskey, J.W. and Phelps, P.V. (1991). Effects of cadmium and other metal cations on other metal cations on *in vitro* leydig cell testosterone production. Toxicol. Appl. Pharmacol., 108:296–306.

Lucesoli, F.and Fraga, C.G. (1999). Oxidative stress in testes of rats subjected to chronic iron intoxication and α-tocopherol supplemention. Toxicology, 132 :179-186.

Sikka, S.C. (1996). Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function . Front . Biosic . 1:78-86.

Sreedhar, B.; Subramaniyan, R.and Madhavan, N. K. (2004). A protective role for zinc on intestinal peroxidative damage during oral iron repletion. Bioch. Biophy. Res. Com., 318 : 992–997.

Stohs, S.J.and Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. Free Radical Biol Med, 18(2): 321-336.

Thyagaraju, B. M. and Muralidhara, D. (2008). Vulnerability of prepubertal mice testis to iron induced oxidative dysfunction *in vivo* and functional implications. Int. J. Fert. Stert. 1(4): 145-154.

Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M.T.; Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell. Biol.,39:44–84.