نقص البروتين على اوزان الجسم وانسجة الخصى وبعض المعايير الدموية والكيموحيوية في ذكور الفئران البيض

تاريخ الاستلام 2014/11/19 تاريخ القبول 2015/2/8

* نسم عماد الفؤادي فرع التشريح/ كلية الطب/ جامعة القادسية
na-user73@yahoo.com
فاضل فرهود الجبوري قسم علوم الحياة/ كلية علوم البنات/ جامعة بابل
هاشم محمد عبد الكريم قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة القادسية

الخلاصة :

اجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير نقص البروتين على ذكور الفئران البيض من خلال دراسة التغيرات في اوزان اجسام الفئران وأوزان الخصى والتغيرات النسجية المرضية في الخصية، فضلاً عن دراسة بعض المعايير الدمية والكيموحيوية .

استخدم في هذه الدراسة 90 من ذكور الفئران البيض بأعمار من 28-30 يوماً تم تقسيمها الى ثلاث مجاميع كل مجموعة تحتوي على 30 فأراً ، وكالاتي : المجموعة الاولى (السيطرة) اعطيت 18% بروتين كلي حاوياً على بروتين حيواني بنسبة 7 % بينما المجموعة الثانية اعطيت 13% بروتين كلي حاوية على 3.5% بروتين حيواني ، واما المجموعة الثالثة فقد اعطيت 10% بروتين كلي وخالية من البروتين الحيواني ولثلاث مدد مختلفة هي (15 ، 30 ، 45) يوماً .

بينت النتائج حصول انخفاض معنوي ($p<0.05$) في معدل اوزان اجسام الفئران في المعاملة الاولى للمدتين (30, 45) يوماً والمعاملة الثانية للمدة (15, 30, 45) يوما مقارنة مع مجموعة السيطرة , وكذلك وجد انخفاض معنوي($p<0.05$) في معدل وزن الخصية للمعاملتين الاولى والثانية للمدتين (30, 45) مقارنة مع مجموعة السيطرة . واظهر الفحص النسجي حدوث تغيرات في كلا المعاملتين للمدتين (30, 45)يوماً, في حين لم تظهر اي تغيرات مرضية في المقاطع النسجية في كلا المعاملتين الاولى والثانية في المدة الاولى (15) يوماً.

من جانب آخر اظهرت المعايير الدمية والمتمثلة بتركيز خضاب الدم والنسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوص انخفاض معنوي ($p<0.05$) في دم الحيوانات المعاملة بنقص البروتين في كلا المعاملتين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وللمدة (15, 30, 45) يوماً. واظهرت الاختبارات الكيميوحيوية وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز البروتين الكلي في مصل الدم في المعاملة الثانية في المدة (15, 30, 45) يوما مقارنة مع مجموعة السيطرة, ووجد انخفاض معنوي ($P<0.05$) في المعاملة الاولى في المدتين (30, 45) يوما مقارنة مع مجموعة السيطرة, بينما لم يسجل انخفاض معنوي في المعاملة الاولى في المدة الاولى (15) يوما مقارنة مع مجموعة السيطرة.

كلمات مفتاحية : نقص البروتين, انسجة الخصى , معايير الدم, الفئران البيضاء.

Physiology Classification QP_1 -345

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول.

المقدمة Introduction :

يعد سوء التغذية Malnutrition من اهم المشاكل التي يواجهها العالم حتى وقتنا الحاضر ، حيث انه يمثل مشكلة صحية خطيرة عالمية الانتشار ويؤثر على كلا البلدان النامية والمتطورة . ووفقاً لمنظمة الغذاء والزراعة FAO هنالك 1.02 بليون (billion) شخص يعانون من سوء التغذية في انحاء العالم (13) .حيث ان الجوع يؤثر على واحد من بين خمس اشخاص في البلدان النامية والذي يعتبر عائق للتقدم والتطور على مستوى الفرد والمجتمع (11).

ويعرف سوء التغذية المرتبط بنقص البروتين Protein malnutrition بأنه اختلال التوازن ما بين تزويد البروتين والطاقة وحاجة الجسم لهما لضمان الوظيفة والنمو الامثل للجسم ، حيث ان التغذية المبكرة في الحياة تمثل واحدة من اهم المتغيرات الرئيسية المرتبطة مباشرةً بالتكوين والنمو والتنظيم الوظيفي للكائن الحي ، ان الغذاء غير الملائم خلال الفترة الاولى من الحياة له تأثير عكسي محتمل على تطور كافة الاعضاء وبالاخص الدماغ (20) . ووجد بأن سوء التغذية المرتبط بنقص البروتين Protein malnutrition يكون شائعاً في كل من الاطفال والبالغين (29) ، وهو مقترن بموت حوالي مليون طفل كل سنة (12) . يعتبر البروتين من اهم المركبات الغذائية التي يحتاجها الجسم للنمو والادامة وتأتي اهميته للجسم بالدرجة الثانية بعد الماء ، ويعتبر المادة الاكثر وفرة في اجسام الكائنات الحية حيث ان كل خلية مفردة في الجسم تحتوي على كمية من البروتين (35) ، ان كلمة البروتين مشتقة من الكلمة اليونانية (Proteios) والتي تعني الاهمية الاساسية حيث اطلق مصطلح Protein لاول مرة عام 1838م والبروتينات هي جزئيات عضوية كبيرة معقدة التركيب تتكون من وحدات بنائية صغيرة تدعى الاحماض الامينية Amino acids والتي ترتبط مع بعضها البعض باواصر ببتيدية والاحماض الامينية تتكون من الكاربون والاوكسجين والهيدروجين والنتروجين ويمثل النتروجين حوالي 16% من البروتين ، ويمكن ان تحتوي البروتينات على الكبريت والفسفور والحديد (36) . ان البروتينات توفر الاحماض الامينية الاساسية والتي تعتبر المواد الاولية للانسجة وعليها يعتمد بناء وتكوين بروتين الجسم ، ويعد البروتين بالاضافة الى كونه من اهم المركبات الغذائية مصدراً مهماً من مصادر الطاقة حيث ان كل غرام من البروتين يوفر اربع سعرات حرارية للجسم (35).

للبروتين وظائف عديدة لا يمكن ان يقوم بها اي مركب غيره حيث انه يعد المكون الاساسي لخلايا الجسم وانسجته , يساهم في بناء الانسجة وادامتها واصلاح التلف الحاصل لمختلف الانسجة نتيجة لحدوث اضرار داخلية وخارجية , يلعب دوراً مهماً في نقل المواد الغذائية والاوكسجين داخل الجسم مثل الهيموكلوبين والمايوكلوبين (التي تنقل الاوكسجين بين الدم والعضلات) ، وتحافظ على توازن السوائل في الدم , يكوّن العديد من المواد والمركبات التي تسيطر على فعاليات الجسم مثل الانزيمات والتي تسهم في الايض (بناء المواد الغذائية وهدمها) , الهرمونات هي بروتينات حيث تعمل البروتينات كمنظمات كيميائية لفعاليات الجسم مثل الانسولين الذي يعمل على تنظيم مستوى الكلوكوز في الدم وهرمونات النمو التي تنظم النمو في الجسم , يساهم في فعاليات الجهاز المناعي حيث يلعب دوراً اساسياً في تكوين الاجسام المضادة والتي تؤدي دوراً حيوياً في حماية الجسم من الجزيئات الغريبة الداخلة اليه , يؤدي دوراً مهماً في تقلص العضلات حيث يعد بروتين الاكتين والمايوسين اساس حدوث التقلص العضلي في العضلات ويعمل على تعويض البروتينات المهدومة واستبدالها لاعضاء الجسم كافة (37) .

عملية تكوين النطف spermatogenesis

تشتمل عملية تكوين النطف على مرحلتين هما :

- المرحلة الاولى : عملية نشأت الخلية النطفية Spermatocytogenesis

وهي سلسلة من الانقسامات التي تحدث للخلايا الجرثومية المكونة للنطف (سليفات النطف) حتى تكون ارومة النطف(Spermatids) ويطلق على هذه العملية بالطور التكاثري (Proliferative phase) .

- المرحلة الثانية : عملية حؤول النطف Spermiogenesis

وهي المرحلة التي تخضع فيها ارومة النطفة الى عمليات تحول شكلي metamorphosis لتكوين النطف ، ويطلق عليها بالطور التمايزي Differentiative (4) ان اكتمال عملية تكوين النطف بمرحلتها تحتلف باختلاف انواع اللبائن فهي تحتاج الى 46-49 يوماً في الخراف بينما في الخنازير البرية تصل الى 36-40 يوماً ، وفي الثيران تبلغ 56-63 يوماً (7), اما في الفئران فتكون حوالي 34 يوماً (27) ، وفي الانسان تبلغ 74 يوماً (21) .

يبطن كل نبيب منوي من الداخل غشاء قاعدي تصطف عليه ثلاث او اربع طبقات من الخلايا. الطبقة الاولى والتي تستند على الغشاء القاعدي مباشرة تدعى سليفات النطف Spermatogonia وتحتوي على العدد الكلي من الكروموسومات (30) ويمكن تمييز ثلاثة انواع من سليفات النطف وهي :

1. نوع أ - Spermatogonia – type A
2. النوع الوسطي Intermediate spermatogonia
3. النوع ب - Spermatogonia – Type B

تعاني سليفات النطف نوع أ انقساماً خيطياً وينتج عنه خليتان احدهما فعالة تكون بداية السلسلة المنشئة للنطفة والخلية الثانية تكون ساكنة الى ان تتكون الخلية النطفية الاولية primary spermatocyte من الخلية الاولى ، وعندها تنقسم لاعطاء خلية جديدة ساكنة وخلية اخرى تكون بداية السلسلة المنشئة للنطفة مرة اخرى. تخضع الخلايا النطفية الاولية الى انقسامين اختزاليين لاختزال الكروموسومات وانتاج طلائع النطف spermatid (34) يطلق على عملية تحول طلائع النطف الى نطف اسم حؤول النطف Spermiogenesis وتحدث هذه العملية في الطيات العميقة لسايتوبلازم خلايا سرتولي (3) تعاني ارومات النطف تحولات معقدة في سايتوبلازم الخلية ونواتها لتكوين نطفة كاملة spermatozoa وتتلخص هذه العملية بتحرك المادة النووية الى الجزء الامامي من الخلية مكونة رأس النطفة Head ، بينما تتطاول بقية الخلية مكونة الذيل Tail ، ويتكون الجسم الطرفي Acrosome بمقدمة رأس النطفة من جهاز كولجي Golgi Apparatus لطلائع النطف ، وتصبح المتقدرات Mitochondria بشكل حلزوني في الجزء الوسطي Middle piece ، ثم تنفصل النطف لتخرج من خلايا سرتولي بعملية تدعى بالتنظيف Spermation ، لتصل تجويف النبيب المنوي ومنه الى شبكة الخصية (7). **الهدف من الدراسة :** صممت التجربة لمعرفة تأثير نقص البروتين في العليقة على اوزان الجسم والتغيرات النسجية للخصية وعملية تكوين النطف والمعايير الدموية والكيموحيوية في الفئران البيض.

المواد وطرائق العمل:

- حيوانات التجربة Experiment animals

استخدمت في هذه الدراسة الفئران البيض السويسرية من سلالة Balb/c التي تم جلبها من المركز الوطني للرقابة الدوائية / بغداد وكان عددها 90 فأراً جميعها من الذكور وبعمر (28-30) يوماً ، وتتراوح اوزانها ما بين 17-18 غم جمعيها غير بالغة وفي فترة نمو ، حيث تم ايواء الحيوانات في البيت الحيواني التابع لفرع الفسلجة / كلية الطب البيطري / جامعة القادسية , في غرفة مساحتها 2×3م مجهزة بساحبة هواء بقطر (12) انج ومكيف هواء عدد اثنان ومحرار, ثم عرضت الحيوانات لنقص البروتين في الغذاء للمدة ما بين 2014/1/5 ولغاية 2014/2/19 ، حيث وضعت الحيوانات بواقع 5 فئران في كل قفص بلاستيكي خاص بتربية الفئران ذات ابعاد (50×35×15) سم مزودة بغطاء حديدي مشبك ومجهز بنظام خاص لشرب الماء عن طريق قناني خاصة ذات سعة

500 مللتر مزودة بحلمة بنهايتها ، ويحتوي ايضاً على معلف امامي مشبك ، وتراوحت درجة حرارة الغرفة اثناء مدة التجربة ما بين (21-24) درجة مئوية والرطوبة مابين (40-60%) ، اما الاضاءة فكانت بواسطة شمعة ضوئية قدرتها (40) واط لمدة (12) ساعة ابتداءً من الساعة السادسة صباحاً وحتى الساعة السادسة مساءاً .

- العلائق الغذائية :

استعملت ثلاث علائق تجريبية تمثل معاملات التجربة اذ كانت :

- العليقة الاولى كسيطرة (Control) : تكونت من دقيق الحنطة جريش الشعير ، جريش الذرة الصفراء ، جريش الحنطة ، حليب مجفف كامل الدسم بالاضافة الى ملح وخليط من المعادن والفيتامينات ، وكانت قيمة البروتين الكلي Total protein في هذه العليقة هي 18% منها 7 % بروتين حيواني.
- العليقة الثانية : تكونت من دقيق الحنطة ، جريش الشعير ، جريش الذرة الصفراء ، جريش الحنطة ، حليب مجفف كامل الدسم بالاضافة الى زيت الذرة وملح وخليط من المعادن والفيتامينات ، وكانت قيمة البروتين الكلي TP في هذه العليقة 13% ومنها 3.5% بروتين حيواني .
- العليقة الثالثة : لم يتم اضافة الحليب كبروتين حيواني مع بقاء المكونات الاساسية في عليقة التجربة وهي دقيق الحنطة ، جريش الشعير جريش الذرة الصفراء ، جريش الحنطة, زيت الذرة ، ملح وخليط من المعادن والفيتامينات وكانت قيمة البروتين الكلي TP في هذه العليقة 10% .

تم حساب هذه العلائق على وفق الاحتياجات الغذائية للحيوانات المختبرية /الفئران وبالاعتماد على جداول التحليل الكيميائي للمواد العلفية (23) .

- تصميم التجربة Experiment Design

قسمت حيوانات التجربة الى ثلاث مجاميع تضمنت كل منها 30 فأراً وكما يلي :

- **المجموعة الاولى (السيطرة)** : تمت تغذيتها على العليقة الاولى والحاوية على بروتين حيواني 7% طيلة مدة التجربة (45) يوماً.
- **المجموعة الثانية** : تمت تغذيتها على العليقة الثانية والحاوية على بروتين حيواني بنسبة 3.5% طيلة مدة التجربة(45) يوماً .
- **المجموعة الثالثة** : تمت تغذيتها على العليقة الثالثة (غير الحاوية على بروتين حيواني) طيلة مدة التجربة (45) يوماً.

- قياس وزن الجسم Body Weight Measurement

تم قياس وزن الجسم لجميع الفئران بصورة مفردة لكل معامله قبل بداية التجربة ثم تم وزنها كل مدة 15 يوماً ، 30 يوم و 45 يوم المتمثل بنهاية الدراسة وقد منعت الفئران من الغذاء لمدة (3) ساعات قبل الوزن مع توافر الماء باستمرار وتم الوزن بواسطة ميزان كهربائي حساس نوع Mettler PM 30 سويسري الصنع ولمرتبة عشرية واحدة . علماً ان الفئران كانت في فترة نمو خلال كافة مراحل الدراسة .

- التضحية بالحيوانات Animal Sacrificing

تمت التضحية بالحيوانات على ثلاث مراحل بعد (15 ، 30 ، 45) يوماً وذلك بعد تخديرها بمادة الكلوروفورم بطريقة الاستنشاق ، ثم تم تشريح الحيوانات بفتح القفص الصدري وتثبيته على الجوانب وسحب كمية من الدم من القلب مباشرةً عن طريق طعنة القلب Heart

puncture تم وضع قسم من الدم في انبوبة حاوية على مانع تخثر EDTA (Ethylene diamine tetra acetic acid) لاجراء الاختبارات الدموية ووضعت كمية اخرى في انبوبة غير حاوية على مانع التخثر ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي centrifuge (بسرعة 3000 دورة/ الدقيقة لمدة 15 دقيقة) ثم سحب مصل الدم بواسطة

- الدراسة النسجية Histological study

تحضير المقاطع النسجية

بعد استاصال الخصية اليمنى تم تحضير المقاطع النسجية منها باتباع طريقة (2).

- المعايير الدموية والكيموحيوية Hematological and Biochemical Parameter

حجم الخلايا المرصوص Packed Cell Volume

تم حساب حجم الخلايا المرصوص بحسب طريقة (17) .

قياس خضاب الدم Determination of Hemoglobin Blood (Hb)

تم قياس خضاب الدم لكل عينة من العينات بحسب طريقة (9) .

تقدير البروتين الكلي في مصل الدم Determination of serum protein

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (6) حيث وجد عند تغذية الجرذان الفتية على غذاء ذو مستوى بروتيني واطئ ولمدة 28 يوماً حدوث انخفاض معنوي في وزن الجسم حيث وصلت الزيادة الوزنية في هذه المجاميع حوالي 40% من اوزان مجموعة السيطرة , وكذلك توافقت النتائج الحالية مع (31) والتي وجدت حصول انخفاض

ماصة دقيقة micropipette ونقلت الى انابيب معقمة ونظيفة وحفظت بدرجة (-20) مئوية لحين اجراء الفحوص الكيموحيوية Biochemical tests .وبعد اخذ عينة الدم تم فتح التجويف البطني وستاصال الخصية اليمنى ثم تم حساب اوزانها باستخدام ميزان حساس وحفظت في محلول الفورمالين 10% لحين اجراء التقطيع النسجي .

استخدمت طريقة بايوريت Biuret Method لتقدير البروتين الكلي في مصل الدم بحسب (32).

التحليل الاحصائي

حللت تجارب البيانات وفق نموذج التجارب العاملية والتصميم العام العشوائي . وتم استعمال اختبار اقل فرق معنوي Leas Significant Difference L.S.D لبيان معنوية النتائج عند مستوى احتمال $p<0.05$ حيث تم استعمال البرنامج الاحصائي Spss (28) .

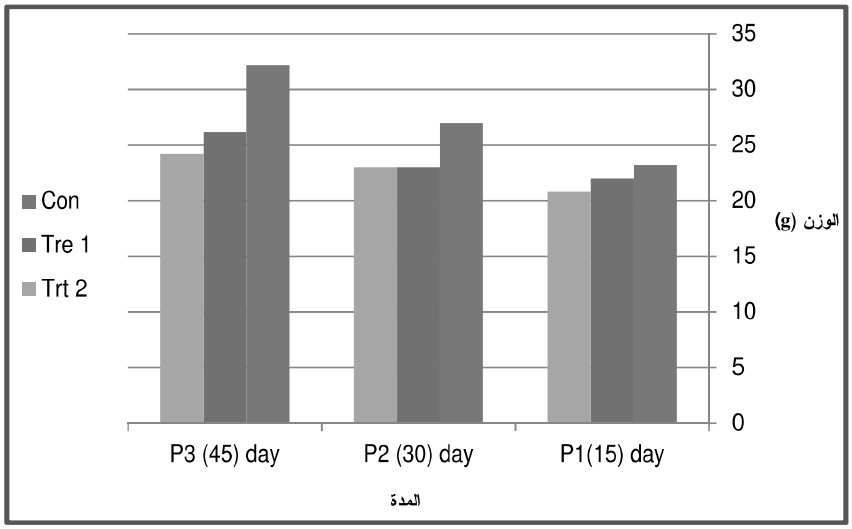
<u>النتائج والمناقشة :</u>

اظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل الوزن العام للجسم في الفئران المعاملة بنقص البروتين مقارنة مع مجاميع السيطرة وان هذا الانخفاض ازداد مع زيادة نقص البروتين وزيادة مدة المعاملة (شكل1) , ولكن لوحظ بأن هذا الانخفاض لم يكن ذو قيمة معنوية من الناحية الاحصائية في المعاملة الاولى مقارنة بمجموعة السيطرة في المدة الاولى 15 يوماً للتعرض ، والذي ربما يعود السبب في ذلك الى قصر مدة التعرض وكون نقص البروتين في هذه المعاملة اقل شدة من المعاملة الثانية .

معنوي في اوزان الفئران عند تغذيتها على حمية منخفضة البروتين .

ان الانخفاض العام في معدل وزن الجسم الذي لوحظ على الحيوانات مقارنة مع مجاميع السيطرة يمكن ان يعزى الى ان البروتين اليومي في الغذاء يزود الجسم بالاحماض الامينية الضرورية والتي تؤدي الوظائف

الايضية الرئيسية في الجسم والتي تمثل المواد الاساسية Substrates لتخليق بروتينات الجسم ولبناء الانسجة والنمو (33) وبالتالي فإن نقصه ربما يؤدي الى خلل في تلك الوظائف الحيوية مما يؤدي الى انخفاض معدل الزيادة الوزنية للجسم, وكذلك ذكرت بعض الدراسات بأن الحيوانات المتغذية على حمية منخفضة البروتين تميل الى الاكل اقل وبالتالي تستهلك بروتين اقل (26) مما قد يسبب نقصان الوزن ، وقد يعود السبب الى ان البروتين يعتبر المكون الرئيسي للأنسجة العضلية في الجسم وان البروتين يعتبر المكون الرئيسي للانسجة العضلية في الجسم وان البروتين المهضوم ضروري لتخليق البروتين العضلي وادامة الكتلة العضلية (5) لذلك فإن نقص البروتين في الغذاء ربما يؤدي الى عمليات تقويض البروتين الموجود في العضلات لسد حاجة الجسم من البروتين مما يسبب تنكس وضمور في العضلات الهيكلية للجسم وبالتالي ربما ينتج عنهُ نقص في الوزن العام للجسم.

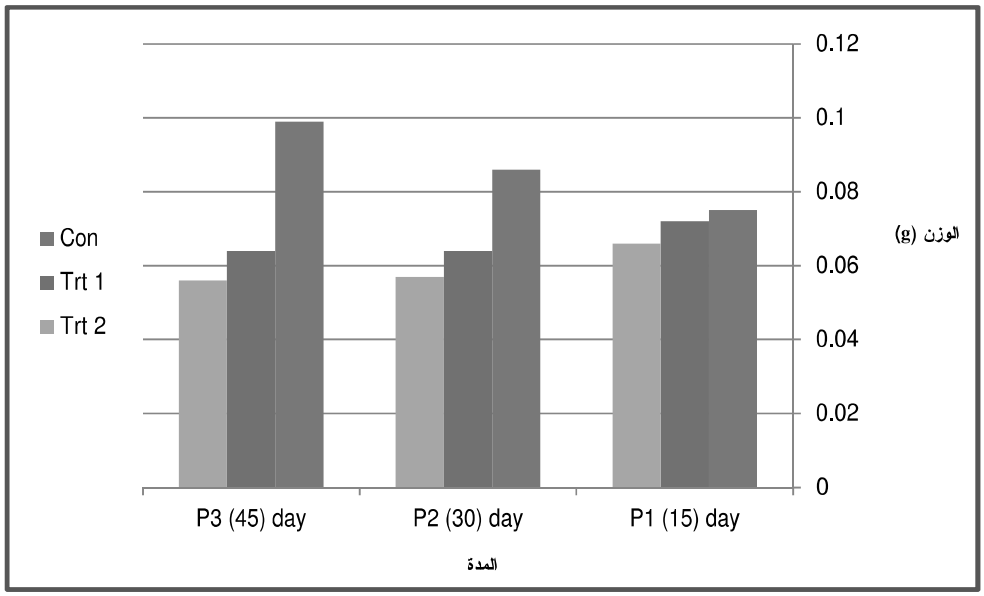


شكل (1) تأثير مستوى البروتين في معدل وزن الجسم للمدة (15 ، 30 ، 45) يوماً من التعرض قيمة اقل فرق معنوي L.S.D للتداخل عند مستوى احتمال 5% =1.792

كما اوضحت النتائج شكل (2) عدم وجود فروقات معنوية عند ($p<0.05$) في معدل وزن الخصية للمعاملتين الاولى والثانية مقارنة بمجموعة السيطرة في المدة الاولى (15 يوماً) من التعرض بينما سجلت نتائج الدراسة الحالية حدوث انخفاض معنوي($P<0.05$) في معدل وزن خصية الفئران المعاملة بنقص البروتين في المعاملتين الاولى والثانية مقارنة بمجموعة السيطرة في المدتين (30, 45) يوما, والتي اتفقت مع ما توصل اليه (18) حيث وجد بأن الجرذان الفتية بعمر (28- 30) يوماً والتي تم تغذيتها على علائق تحتوي تراكيز مختلفة من البروتين (3% ، 10%) قد انخفض وزن الخصية معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة, ولم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما ذكره (19) في دراسته حيث وجد عند تغذية الارانب الفتية على حمية منخفضة البروتين عدم حصول انخفاض معنوي في وزن الخصية مقارنة بمجموعة السيطرة.

قد يعزى حدوث الانخفاض في وزن الخصية الى ان عدم وجود البروتين الكافي لسد حاجة الجسم له تأثيرات بعيدة المدى وشديدة على عملية تكوين النطف وربما يؤدي الى حدوث انخفاض في قطر النبيبات الناقلة للمني (14) ، وربما يعود السبب لكون نقص البروتين يؤثر عكسياً على

وظيفة الخصية Tisticular function وحدوث انخفاض في مستوى هرمون التستوستيرون في الدم (24) وشدة هذا التأثير يعتمد على درجة نقص البروتين والذي قد يؤدي الى تأخير في نضج ونمو ووظيفة الاعضاء التناسلية الذكرية في الفئران وبالتالي انخفاض وزن الخصية .



شكل (2) تأثير مستوى البروتين في معدل وزن الخصية للمدة (15 ، 30 ، 45) يوماً من التعرض ، قيمة اقل فرق معنوي L.S.D للتداخل عند مستوى احتمال 5%=0.008

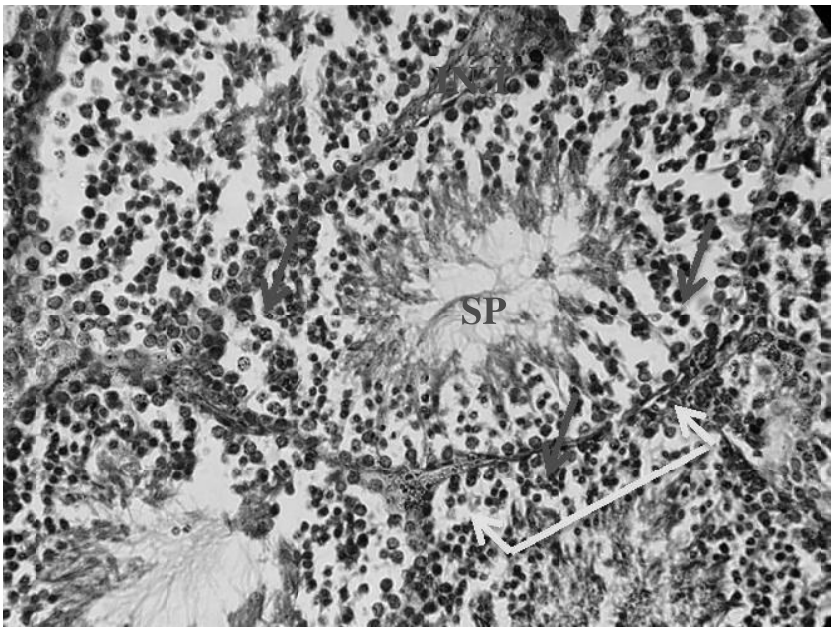
التغيرات النسجية في الخصية

بينت نتائج الدراسة الحالية عدم تأثر خصية الفئران المعاملة بنقص البروتين في المدة (15) يوماً للمعاملة الاولى (الصورة 2) والمعاملة الثانية (الصورة 5) مقارنة مع عينات السيطرة (الصورة 1) ,حيث لوحظ بأن النبيبات المنوية طبيعة وحاوية على سليفات النطف والخلايا النطفية الاولية والثانوية وخلايا سرتولي وكذلك اوضحت المقاطع النسجية حدوث عملية انطاف طبيعية واحتواء تجويف النبيبات المنوية على النطف, في حين أوضحت المقاطع النسجية حدوث تغيرات مرضية في نسيج الخصية في المعاملة الاولى(الصورة 3, 4) والمعاملة الثانية (الصورة 6, 7) للمدة (30 ، 45) يوماً على التوالي , والتي تمثلت بوجود تثبيط في عملية تكوين النطف وتوسف الخلايا الجنسية (germ cells) واحتقان في النسيج البيني Interstitial connective tissue وفقدان لسليفات النطف والخلايا النطفية الابتدائية والثانوية وتوسع تجويف النبيبات المنوية وتباينت حدة هذه التغيرات مع ازدياد شدة نقص البروتين ومدة المعاملة.

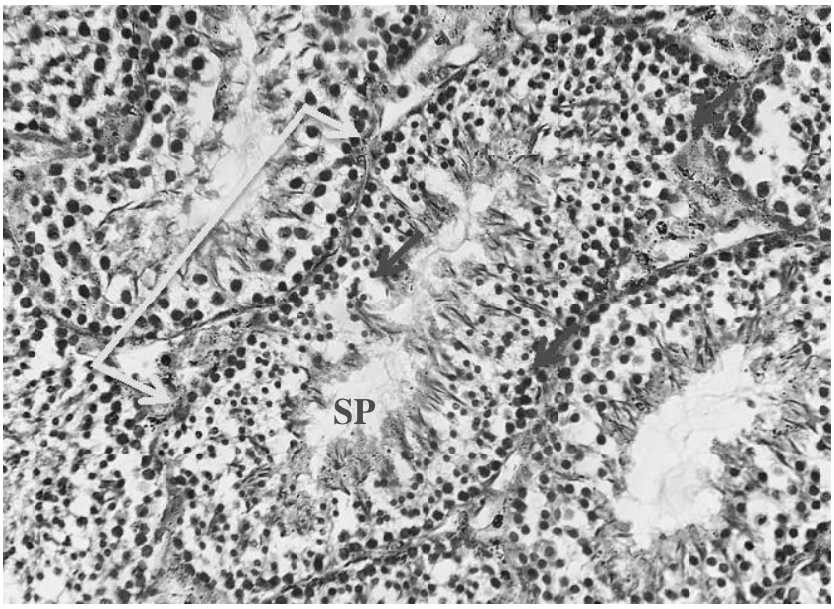
وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (18) حيث وجد بأن نقص البروتين اثر على انسجة الخصية وعلى عملية تكوين النطف ، واتفقت التغيرات النسجية في الدراسة الحالية مع دراسة قام بها (16) حيث وجد بأن

الفحص المجهري للمقاطع النسجية للخصية اظهر فشل في النضوج الطبيعي للخلايا الجنسية في الجرذان المتغذية على حمية منخفضة البروتين . وكذلك وجد (14) حدوث انخفاض في مراحل تطور عملية تكوين النطف في النبيبات المنوية لخصى الجرذان المتغذية على حمية منقوصة البروتين.كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع (24) والذي وجد بأن المقاطع النسيجية لخصية الجرذان المعاملة بنقص البروتين اظهرت توسع في تجويف النبيبات المنوية الناقلة وكذلك حدوث انخفاض معنوي في ارتفاع الطبقة الطلائية الجرثومية للنبيبات المنوية .

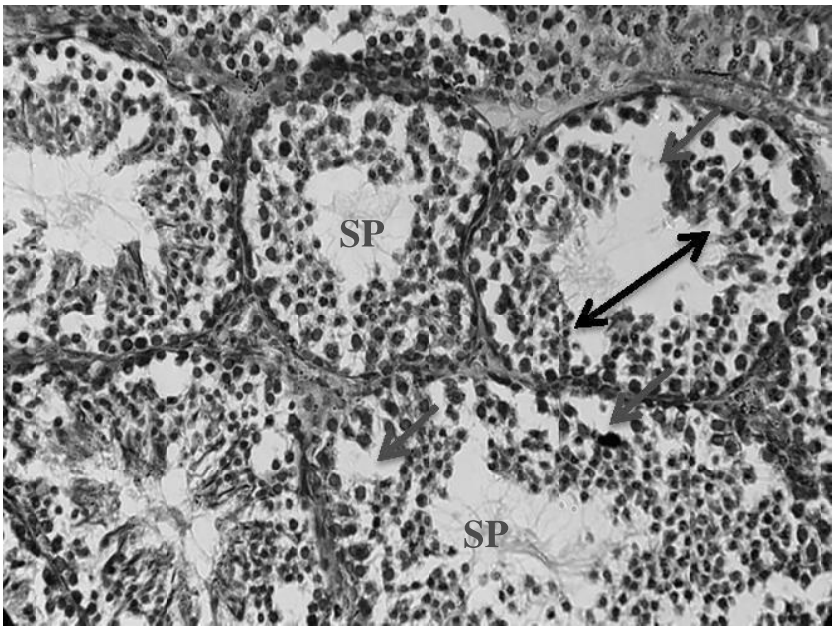
قد يعزى عدم تأثر الخصية نسيجاً في المدة 15 يوماً لكلا المعاملتين الى قصر مدة التعرض وكذلك الى ان الخصية تتأثر بعدة هرمونات مما قد يتطلب فترة زمنية اطول من التعرض لنقص البروتين لاظهار التأثيرات المرضية وقد تعزي التغيرات النسجية المرضية لخصية الفئران في هذه التجربة الى ان نقص البروتين له تاثيرات عكسية على وظيفة الغدد التناسلية داخلية الافراز Gonadal endocrine(18) مما قد يؤثر على نمو ونضج الاعضاء التناسلية وعلى عملية تكوين النطف . ويمكن ان يفسر التثبيط في عملية تكوين النطف وفقدان الخلايا الجنسية الى ان نقص البروتين في الغذاء ادى الى عدم سد حاجة الجسم منهُ مما ادى الى انخفاض في مستويات هرمون الذكورة Testosterone مما قد سبب كبت في فعالية الغدد الصماء في الخصيتين وبالنتيجة حصول تأخير في نمو ووظيفة الخصية مما قد ادى بدوره الى احداث التغيرات النسجية المرض.



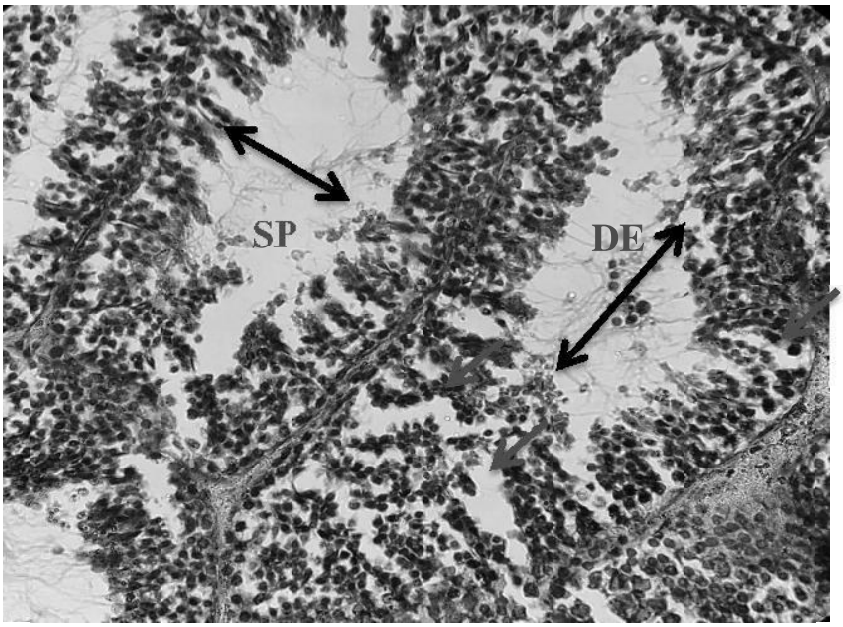
الصورة (1) مقطع عرضي في خصية فار من مجموعة السيطرة لمدة (15) يوم يوضح وجود نبيبات منوية طبيعية ( ) حاوية على خلايا جنسية طبيعية ( ) ونطف (SP) في تجويفها ونسيج بيني رابط (IN.T) (H&E 400X)



صورة (2) مقطع عرضي في خصية فئران المعاملة الاولى لمدة (15) يوم يظهر وجود نبيبات منوية طبيعية ( ) حاوية على خلايا جنسية طبيعية ( ) ونطف (SP) في تجويفها (H&E , 400X)

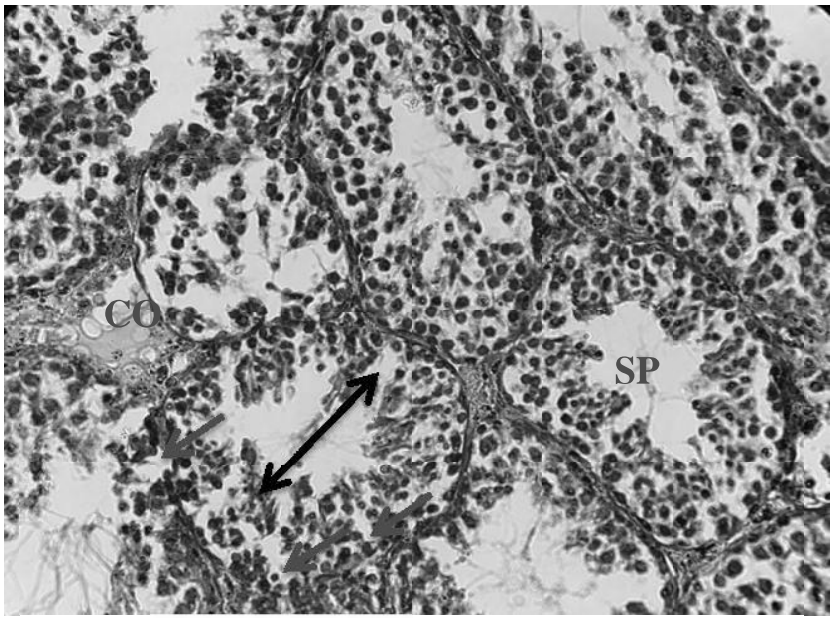


صورة (3) مقطع عرضي في خصية فئران المعاملة الاولى لمدة (30) يوم يظهر تثبيط بسيط في عملية تكوين النطف ( ) توسع بسيط في تجويف النبيبات المنوية ( ) ووجود القليل من النطف فيه (SP) (H&E , 400X)

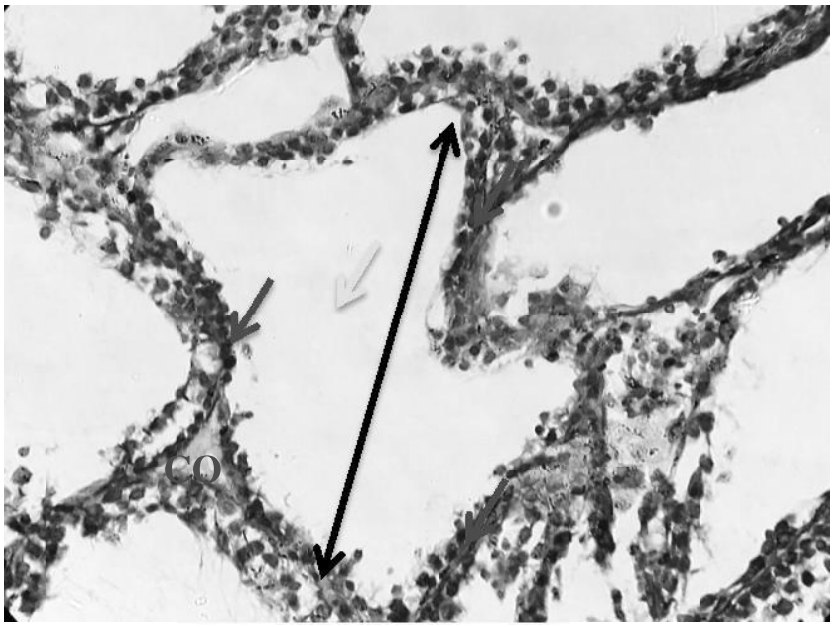


صورة (4) مقطع عرضي في خصية فئران المعاملة الاولى لمدة (45) يوم يظهر تثبيط بسيط في عملية تكوين النطف ( ) وتوسع في تجويف النبيبات ( )ووجود القليل من النطف ( ) وتوسف (DE) الخلايا الجرثومية الى داخله (H&E , 400X)

صورة (5) مقطع عرضي في خصية فئران المعاملة الثانية لمدة (15) يوم يظهر وجود نبيبات منوية طبيعية ( ) حاوية على خلايا جرثومية طبيعية ( ) ونطف (SP) في تجويفها (H&E , 400X)



صورة (6) مقطع عرضي في خصية فئران المعاملة الثانية لمدة (30) يوم يظهر تثبيط بسيط في عملية تكوين النطف ( ) واحتقان بسيط (CO) في النسيج البيني وتوسع تجويف النبيبات المنوية ( ) ووجود قليل من النطف فيها (SP) (H&E , 400X)



صورة (7) مقطع عرضي في خصية فئران المعاملة الثانية لمدة (45) يظهر تثبيط شديد في عملية تكوين النطف وفقدان الخلايا الجنسية( )وتوسع واضح في تجويف النبيبات المنوية ( ) واحتقان (CO) في النسيج البيني واختفاء النطف ( ) (H&E , 400X)

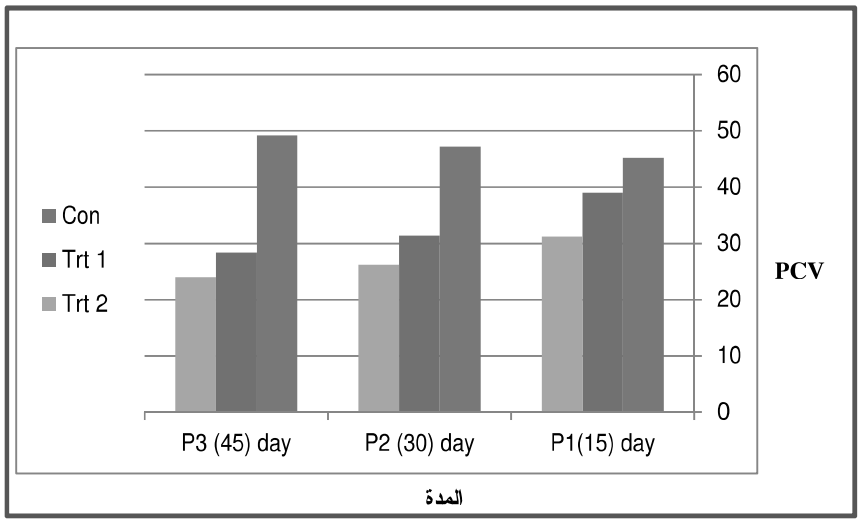
- **التأثيرات في المعايير الفسلجية للدم (Hb ,PCV)**

بينت النتائج في الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في حجم خلايا الدم المرصوص (شكل 3) وتركيز خضاب الدم (شكل 4) في حيوانات المعاملة الاولى والثانية مقارنةً مع مجموعة السيطرة للمدة (15 ، 30 ، 45) يوماً .

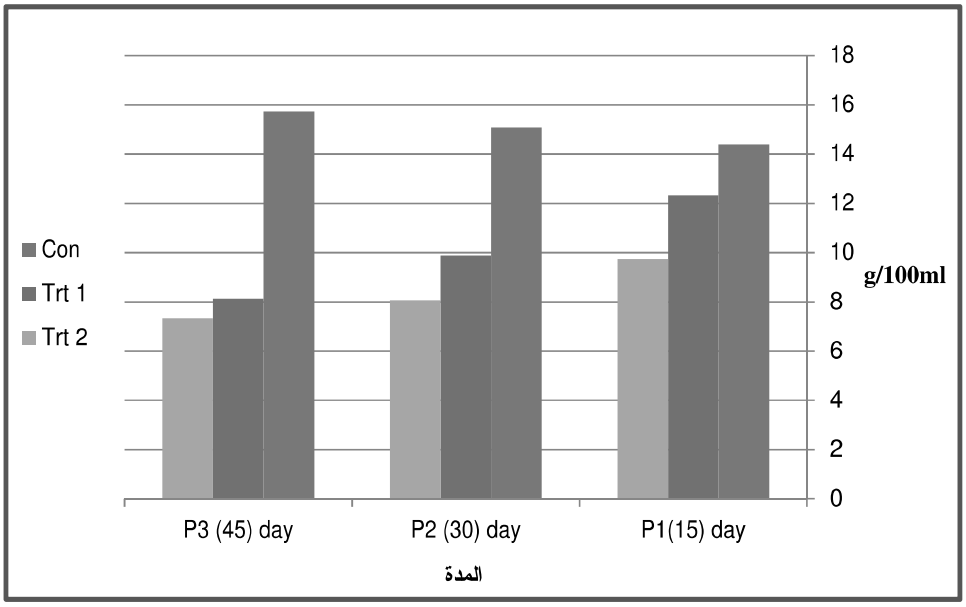
قد يفسر انخفاض تركيز خضاب الدم ومستوى حجم الخلايا المرصوص لقلة عدد كريات الدم الحمراء نتيجة لتأثير نقص البروتين على التركيب النسجي للكلية الذي اظهرته الدراسة الحالية حيث ان ذلك يؤثر على تصنيع هرمون الارثروبيوتين Erythropoietin اذ ان 90 % من هذا الهرمون يصنع في الكلية والذي يكون مسؤولاً عن تحفيز الخلايا المكونة للدم على الانقسام وتكوين كريات دم حمر جديدة (25) ، وقد يعزى الانخفاض الحاصل كنتيجة

واتفقت هذه النتائج مع ما توصلت اليه (10) الى ان قيمة Hb , PCV في الافراخ المتغذية على مستوى بروتيني منخفض كانت اقل مما هو عليه في مجاميع السيطرة, كما تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (1) فقد وجد بأنه عند تغذية الجرذان على عليقة ذات محتوى بروتيني عالي ولمدة ستة اسابيع حصول ارتفاع معنوي في قيمة كل من Hb و PCV.

لاعاقة امتصاص الحديد بالجسم بسبب نقص البروتين ومن ثم حصول بعض حالات فقر الدم (15) ، وبما ان الجسم يحتاج الى البروتين لبناء الاطار الخارجي لكريات الدم الحمراء (الغشاء الخلوي يحتوي على البروتينات) ولتركيب الهيموكلوبين المتكون بدوره من بروتين الكلوبين globin والحديد (الهيم) فلذلك ربما اثر نقص البروتين على تركيب وادامه هذه البروتينات مما ادى الى تحلل كريات الدم الحمراء وانخفاض قيمة كل من Hb و PCV .



تأثير مستوى بروتين العليقة في معدل حجم الخلايا المرصوص للفئران للمدة (15 ، 30 ، 45) يوماً من التعرض، قيمة اقل فرق معنوي L.S.D 4.072 =5 % للتداخل عند مستوى احتمال



شكل (4) تأثير مستوى بروتين العليقة في معدل تركيز خضاب الدم في الفئران للمدة (15 ، 30 ،45) يوماً من التعرض، قيمة اقل فرق معنوي L.S.D للتداخل عند مستوى احتمال5%=1.347.

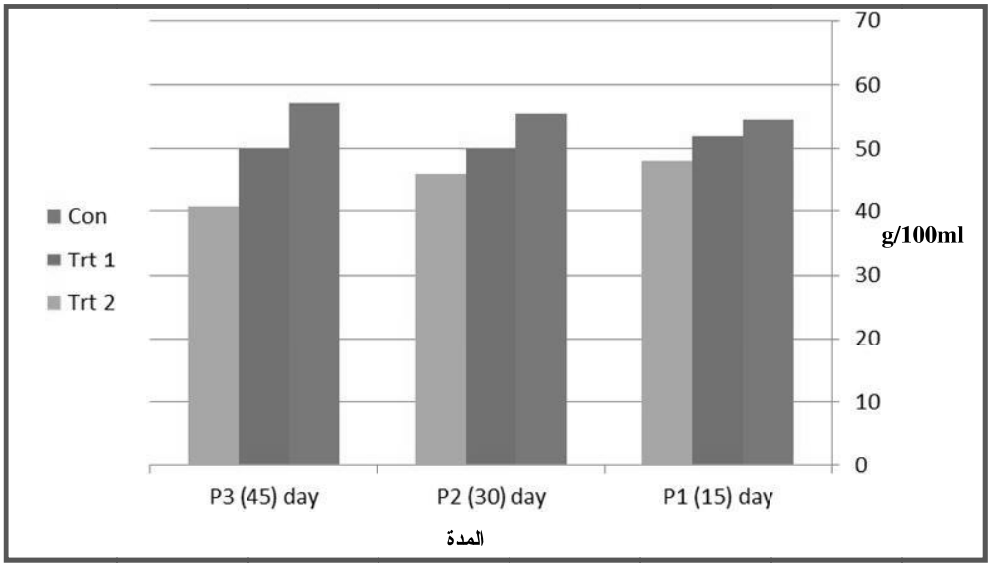
التأثيرات الكيموحيوية في الدم

بروتين المصل الكلي

بينت نتائج الدراسة الحالية (شكل 5) حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى بروتين المصل الكلي T.S.P في الفئران المعاملة بنقص البروتين مقارنة مع مجاميع السيطرة ولوحظ بأن هذا الانخفاض ازداد مع زيادة شدة نقص البروتين وزيادة مدة المعاملة ، ولكن وجد بأن هذا الانخفاض لم يكن ذو قيمة معنوية في المعاملة الاولى مقارنة بمجموعة السيطرة في المدة الاولى (15) يوماً ، والذي قد يعود السبب فيه الى قصر مدة التعرض ولكون نقص البروتين في هذه المعاملة اقل شدة من المعاملة الثانية .

ان نتائج الدراسة الحالية جاءت موافقة لما توصل اليه (22) والذي لاحظ بأن انخفاض مستوى البروتين في عليقة الجرذان ادى الى انخفاض تركيز البروتين الكلي واتفقت النتائج ايضاً مع ذكره (8) في دراسة اجراها على 50 طفل بعمر (6 اشهر الى 5 سنوات) ومن كلا الجنسين يعانون من نقص البروتين في الغذاء حيث وجد انخفاض معنوي في تركيز البروتين الكلي TSP مقارنة مع مجموعة السيطرة .

ربما يعزى الانخفاض في قيمة البروتين الكلي الى ان نقص البروتين في الغذاء يسبب نقصاً في الحوامض الامينية الاساسية (26) مما قد يؤدي الى ضعف في تخليق البروتينات في انسجة الجسم ومن ضمنها الدم.



شكل (5) تأثير مستوى بروتين العليقة في معدل قيمة البروتين الكلي في دم الفئران للمدة (15 ، 30 ، 45) يوماً من التعرض ، قيمة اقل فرق معنوي L.S.D للتداخل عند مستوى احتمال 5% = 4.032

References

1. **Alada , A.R.A; Akande , O.O. and Ajayt , F.F. (2004) .** Effect of soya bean diet preparations on some hematological and biochemical indices in the rat . Afri . J. Biomed . Res . 7:71-74.
2. **Bancroft, J.D. and Stevens, A. (1982).** Theory and Practice of Histological Techniques. 2nd Ed.,Churchill living stone, Edinburgh, London.662 pp.
3. **Barrett , K.E.; Barman , S.M.; Biotano , S. and Brooks , H.L. (2012) .** Ganong's Review of Medical Physiology. 24th Ed., Lange Basic Science, New York. McGraw Hill. 33-36 PP.
4. **Beamer, W.; Wilson, M. and Leiter , E. (1983) .** Endocrinology in: Normative Biology Immunology and Husbandry (Foster, H. eds). American College of Laboratory. New York. 218-224 pp.
5. **Bolster, D.R.; Pikosky , M.A.; Gaine , P.C. (2005) .** Dietary protein intake impacts human skeletal muscle protein fractional synthetic rates after endurance exercise. Am .J. Physio. Endoc. Metab , 289: E678-83.
6. **Boualga , A.; Bouchenak , M. and Belleville , J. (2000).** Low-protein diet prevents tissue lipoprotein lipase activity inerease in growing rats . Brit . J. Nutr , 84: 663-671.

) .(2009) . The state of Food Insecurity in the World . http://www.fao.org/docrep/012/i0680eli0680e.pdf.

14. **Guaragna , R.; Rosa , N.B.S.; Moraes , G.G.S.; Perry , M.L.S. and Bernard , E.A. (1986) .** Effect of protein malnutrition on glycoprotein synthesis by testes of 20-day- old rats . Int . J. Androl ,9:467-476.
15. **Hanlon, P.; Byers, M.; Walker, B.R. and Summerton, C. (2006).** Environmental and Nutritional Factors in Diseases. In Principles and Practice of Medicine, 20th Ed., Elsevier limited. India .461 pp.
16. **Herbert, D.C. (1980).** Growth patterns and hormone profile of mal rate with protein – calories malnutrition. Anat. Res, 197(3):339-354.
17. **Hillman, R.S. and Ault, K.A. (2002).** Hematology in Clinical Practice, 3rd Ed., McGraw –Hill Co. New York.
18. **Karaca , F. ; Donmez , H.H. and karsli , M.A. (2003)** . Effects of protein deficiency on testosterone levels semen quality and testicular histology in the developing male rat. Scand . Lab . Anim . Sci , 30(1):7-13.
19. **Ladokun , A.O. ; Egbunike , G.N.; Adejumo , D.D. and Sokunbi , O.A. (2006)** . The effect of three dietary
7. **Chemineau , P.; Malpaux , B.; Delgadillo , J.A.; Guerin , Y.; Ravault , J. p.; Thimonier , J. and Pelletier , J. (1992) .** Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. Anim. Repro. Sci, 30: 157-184.
8. **Chowdhury , M.S.I.; Akhter , N. ; Haque , M.; Aziz , R. and Nahar , N. (2008) .** Serum total protein and albumin levels in different grades of protein energy malnutrition . J. Bangladesh . Soc . physio, 3 :58-60.
9. **Dacie , J.V. and Lewis , S.M. (1995) .** Practical Hematology , 8th Ed ., Charcoal living ston, Edinburgh , Hong Kong , London , Madrid , Melbourne , New York and Tokyo , 57-62 pp.
10. **Dairo , F.A.S.; Adesehinwa , A.O.K. and Oluwasola , T.A. (2010) .** High and low dietary energy and protein levels for broiler chickens . African . J. Agri. Res , 5(15) : 2030-2038.
11. **Evans , G.W. (2004) .** The environment of childhood poverty. Am .Psychol, 59: 77-92.
12. **FAO (Food and Agriculture Organization). (2000).** The state of Food and Agriculture 2000. Rome : FAO.
13. **FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations**

protein levels on digestibility and testes function in male pubertal rabbits . Tropicultura . J , 24(1) :3-6.

20. **Laus , M.F.; Vales , L.D.M.F.; Costa , T.M.B and Almeida , S.S. (2011) .** Early postnatal protein- calorie malnutrition and cognition : Areview of human and animal studies . Int. J. Environ . Res . Public Health , 8 : 590-612.
21. **Marieb , E. (1987) .** Human Anatomy and Physiology Laboratory Manual, 2nd Ed ., The Benjamin / Cummins publishing company , Inc . California.
22. **Matsaoka , C., Tanaka , N. and Arakowa , Y. (2006).** Beneficial effects of branched – chain amino acid on altered protein and amino acid metabolism in liver cirrhosis: evaluation in model of liver cirrhosis induced in rats with carbon tetrachloride . Hepato. Res, 27: 117-123.
23. **National Research Council (NRC). (1995).** Nutrient Requirements of Laboratory Animals, 4th Ed., National Academy Press , Washington , D.C.
24. **Ozegbe , P.C. and Omirinde , J.O. (2012) .** Comparative morphophysiological evaluation of the testis of adult Wistar rats fed low protein – energy diet and dosed with aqueous extracts of *Cuscuta australis* . Niger . J. Physio. Sci, 27:149-155.
25. **Porth , C.M. and Matfin , G.(2009)** . Pathophysiology, Concepts of Altered Health states , 8th Ed ., Wolter Kluwer Health and Lippincott Williams and Wilkins , 1686p.
26. **Rocha , S.W.S.; Santos , A.C.O.D.; Silva , B.D.S.; Torres , D, O.C.; Ribeiro , E.L.; Barbosa , K.P.S.; Gomes , F.O. and Peixoto , C.A. (2012) .** effect of diethylcarbamazine (DEC) on hepatocytes of (C57BL/6J) mice submitted to protein malnutrition . J. Food . Drug . Ana , 20(2) 524-531.
27. **Russell , L.; Ettlin , R.; Sinha , A. and Clegg , E. (1990) .** Histological and histopathological evolution of the testis . Cache River press . Clearwater , FL.
28. **SPSS: SPSS 10.0 user guide. (1999).** SPSS Inc. USA, Chicago, IL.
29. **Stephenson , L.S; Lathan , M.C and Ottesen , E.A. (2000).** Global malnutrition . J. Parasi , 121 : 55-s22.
30. **Subramanyam , S. and Madhavankutty , k. (1987) .** Text book of Human Physiology . Subramanian , S. and Madhavankutty , K. (eds). Chand company , New Delhi. 339-346 pp.
31. **Suker , D.K.; Al-Hadithi , H.T. and Abdul- Hussein , Z.R.(2006)** . The

effect of dietary high fat and low protein on body weight and histological nature of colon in Balb IC mice . Bas . J. Vet. Res , 5(1) :92-96.

32. **Tietz , N.W. (1982) .** Fundamentals of Clinical Chemistry , 2nd Ed., W.B. Saunders Company , Philadelphia , 70: 70, 271,294,314,335,337.,510 pp.
33. **Tome , D. (2004)** . Protein , amino acids and the control of food intake . Brit. J. Nutr , 92 (1) : S27-S30.
34. **Tortora , G.J. and Anagostakos , N.P. (1987) .** The Reproductive System . In: Principle of Anatomy and Physiology . Tortora , G.J. and Anagostakos , N.P. (eds.) Harper and Row publishers , New York . 705-739 pp.
35. **Whitney , E.N. and Rolfs , S.R. (2013).** Understanding Nutrition , 13th Ed ., Thomson /wads worth publishing Co. Belmont , CA.
36. **William , H.E and Daphne , C.E. (2003) .** Biochemistry and Molecular Biology , 2thEd . Hong Kong .
37. **Wu, G. (2009).** Amino acids**:** metabolism, functions, and nutrition. Amino Acids. J, 37: 1-17.
38.

Effect of protein deficiency on body weight, testes tissues and some parameters in male Balb/c mice

Receved :19/11/2014 Accepted :8/2/2015

Al- Nassam E. AL-Foaady Dept. Anatomy. /College of Mid. Qadisiya Univ.
na-user73@yahoo.com

Babylon Univ. Fadhil F. AL- Joborae Dept.Biol./College of Scie. for women

Hashim M .A-Kareem Dept. Biol. / College of Scie .
Al-Qadisiya Univ.

Abstract:

The present study is designed to know the effect of protein deficiency on mice males through study the changes in body and testes weight, clinical histological changes of testes. In addition of study the blood and biochemical parameters. Using 90 males of mice aging 28-30 days. These animals were divided into three groups, each group contains 30 mice, first group (control) was give 18% total protein contains animal protein 7%, while the second group was given 13% total protein contain 3.5% animal protein, and the third group was given 10 % total protein without any animal protein for different periods as follow (15,30,45) days. Results showed significant decrease ($p<0.05$) in weight body rate of animals in first treatment for periods (30, 45) days and second treatment for periods (15,30,45) days compared with control group , also in the rate of testes weight means in first and second treatment for periods (30,45)days compared with control group. Histological procedures showed that clinical and histological changes in both treatments for periods (30,45)days, while there is no any changes in both first and second treatment in period of (15) days.

In contrast, the blood parameters showed that the concentration of Hb,PCV significant decrease ($p<0.05$) in blood of treatment animals which correlated with protein deficiency compared with control group, and the second treatment for (45) days showed the most significant in the parameters compared with the first treatment and for all periods.

Biochemical tests obtain a significant decrease ($P <0.05$) in the total serum protein in the second treatment period (15, 30, 45) days compared with the control group, and found a significant decrease ($P <0.05$) in the first treatment in the two periods (30, 45) days compared with the control group, while did not score a significant decrease in the first treatment in the first period (15) days, compared with the control group.

*The Research is a Part of MSc. Thesis in the Case of the First Researcher.

Key words: Protein deficiency, testes tissues, blood parameters, white mice.