مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الخامس والعشرون - المجلد الخامس - علوم الحياة - آذار 2025 م
doi.org/10.52866/esj.2025.05.25.03

السمية التكاثرية الناتجة عن الجرعات المختلفة من النيكوتين والنتروسامين في ذكور الجرذان البيض ونسلها

عبدالله ظاهر عبدالله العكلاوي ,
وزارة التربية
مديرية تربية صلاح الدين, العراق

أ.م.د قاسم عزيز رزوقي
جامعة تكريت
كلية التربية للعلوم الصرفة قسم علوم الحياة

Correspondence: mm230090ued@st.tu.edu.iq1

* بحث مستل من أطروحة دكتوراه

مستخلص:

صممت هذه الدراسة لمعرفة تأثير الجرعات المختلفة من النيكوتين و النتروسامين على ذكور الجرذان البيض ونسلها ،اذ استخدمت الجرع في استحثاث الاجهاد التأكسدي عند الذكور و تحديد تأثيرها على الخصوبة وبعض المعايير الكيموحيوية والنسجية ومن ثم معرفة بعض المتغيرات الكيموحيوية و التشوهات في الاجنة لإناث الجرذان البيض السليمات المتزاوجات مع الذكور المجرعة .اجريت الدراسة في بداية شهر أيار (5/ 1 / 2024) في البيت الحيواني لكلية الطب البيطري / جامعة تكريت ، شملت الدراسة 30 ذكراً تراوحت اعمارها بين (16–14) اسبوعاً و اوزانها بين (180–170 غرام) ، وزعت ذكور الجرذان عشوائياً الى خمسة مجاميع ، 6 حيوانات لكل مجموعة : المجموعة الاولى السيطرة ، اما المجموعة الثانية والثالثة جرعت فموياً بجرعة نيكوتين اعتيادية 10 ملغم / كغم ونيكوتين مضاعفة 20 ملغم/ كغم على التوالي لمدة 30 يوماً ، اما المجموعة الرابعة والخامسة، جرعت بجرعة نتروسامين اعتيادية 5 ملغم/ كغم و نتروسامين مضاعفة 10 ملغم / كغم ولثلاثة ايام متتالية من كل اسبوع ولمدة 4 اسابيع. بعد انتهاء مدة التجريع شُرحت 4 ذكور من كل مجموعة و تُرك ذكرين لمزاوجتها مع الاناث السليمات وتم الحصول على الدم عن طريق الطعنة القلبية وأُخذت الخصية لمعرفة التغيرات النسجية نتيجة التجريع المباشر للذكور.اما المحور الثاني من التجربة، أُخذت 25 انثى بالغة و وزعت الى خمسة مجاميع لكل مجموعة 5 اناث، تم مزاوجة الاناث السليمات مع ذكرين والتي تم تجريعها بتراكيز مختلفة من النيكوتين والنتروسامين في المجاميع سابقة الذكر، وبعد اجراء التزاوج وملاحظة السدادة المهبلية التي تدل على اتمام التزاوج وبداية الحمل، تم تعليم الاناث المتزاوجات بعلامات في الاذن Ear Tagging تحمل رقم معين وتدوين رقم الحيوان وتاريخ التزاوج في سجل الملاحظات ، بعدها اتمام مدة الحمل الطبيعية والبالغة 21 يوماً تم تشريح الاناث قبل الولادة بيوم وتم اخذ الدم والاجنة لأجراء الاختبارات الكيموحيوية و دراسة التشوهات المظهرية للأجنة .اذ بينت نتائج الدراسة الحالية ان معاملة ذكور الجرذان بالنيكوتين والنتروسامين بتراكيز مختلفة ادى الى ارتفاع معنوي ($P \leq 0.01$) في معايير الاجهاد التأكسدي للذكور و الاناث السليمات ، في المالون ثنائي الديهايد Malondialdehyde (MDA) ومستوى الاجهاد التأكسدي للحامض النووي 8- (8-OHdG) hydroxy-2-deoxyguanosin ما عدا مجموعة النتروسامين 10 ملغم / كغم للإناث المتزاوجات لم يظهر تغير معنوي فيها مقارنة بالسيطرة ، بالإضافة الى انخفاض معنوي في تركيز مضادات الأكسدة للذكور والاناث الحوامل ، في تركيز الكاتليز Catalase (CAT) و كلوتاثايون بيروكسد Glutathione Peroxdease (GPx) و سوبر اوكسيد ديسميوتيز Super Oxide Dismutase (SOD) ما عدا مجموعة النتروسامين 10 ملغم / كغم للإناث المتزاوجات لم يظهر تغير معنوي فيها مقارنة مع السيطرة ، كما وجد انخفاض في تركيز الهرمونات الذكرية ، منها التستوستيرون Testosterone hormone و الهرمون المحفز للنطف Sperm Stimulating Hormone (SSH) و الهرمون المحفز للخلايا البينية Interstitial Cell Stimulating Hormone (ICSH) ، كما وجدت تغيرات نسجية في الخصية. كما انه وجد تشوهات في اجنة الاناث التي تم مزاوجتها مع الذكور المجرعة بجُرع مختلفة من النيكوتين والنتروسامين اما مجموعة النتروسامين المضاعفة 10 ملغم / كغم فلم يُلاحظ حمل فيها .

Reproductive toxicity resulting from different doses of nicotine and nitrosamine in male albino rats and their offspring

Abdullah Dhaher Abdullah Al-Aklawi1, Asst. Prof. Dr. Qasim Azeez Razooqi2
1Republic of Iraq Ministry of Education, Directorate of Education of Salah Al-Din, Iraq
2Tikrit University College of Education for Pure Sciences -Department of Biology
Correspondence: mm230090ued@st.tu.edu.iq1

*Research extracted from a doctoral thesis

Abstract :

This study was designed to know the effect of different doses of nicotine and nitrosamine on male white rats and their offspring. The doses were used to induce oxidative stress in males and determine their effect on fertility and some biochemical and histological parameters, and then to know some biochemical parameters and Malformations in the embryos of healthy female white rats mated with dosed males. The study was conducted at the beginning of May (1/5/2024) in the animal house of the College of Veterinary Medicine / Tikrit University. The study included 30 males whose ages ranged between (14-16) weeks and their weights between (170-180 grams). Male rats were randomly distributed into five groups, 6 animals per group: the first group was the control, while the second and third groups were oral administration with a single nicotine dose of 10 mg/kg and double nicotine dose of 20 mg/kg, respectively, for 30 days. The group Fourth and fifth, dosed with a single nitrosamine dose of 5 mg/kg and double nitrosamine dose of 10 mg/kg for three consecutive days each week for 4 weeks. After the end of the dosing period, 4 males from each group were dissected and two males were left to mate with healthy females. Blood was obtained by cardiac stab and the testicles were taken to know the histological changes resulting from direct dosing of the males. As for the second axis of the experiment, 25 adult females were taken and distributed into five groups, each group containing 5 females. The healthy females were mated with two males that were dosed with different concentrations of nicotine and nitrosamine in the aforementioned groups. After mating and observing the vaginal plug indicating the completion of mating and the beginning of pregnancy, the mated females were marked with ear tags bearing a specific number and the animal number and mating date were recorded in the note book log After completing the natural gestation period of 21 days, the females were dissected one day before birth, and blood and fetuses were taken for biochemical tests and study of the morphological abnormalities of the fetuses. The results of the current study showed that treating male rats with nicotine and nitrosamine at different concentrations led to a significant increase ($P \leq 0.01$) in the oxidative stress parameters of healthy males and females, in malondialdehyde (MDA) and the level of oxidative stress of DNA (8-hydroxy-2-deoxyguanosine) (8-OHdG), except for the nitrosamine group of 10 mg/kg for mated females, in which no significant change was shown compared to the control group, in addition to a significant decrease in the concentration of antioxidants for males and pregnant females, in the concentration of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), and superoxide dismutase. Oxide dismutase (SOD) levels in mated females, except for the 10 mg/kg nitrosamine group, did not show significant changes compared to the control group. A decrease was also found in the concentration of male hormones, including testosterone, sperm-stimulating hormone (SSH), and interstitial cell-stimulating hormone (ICSH). Histological changes were also found in the testes. Abnormalities were found in the fetuses of females that were mated with males dosed with different doses of nicotine and nitrosamine. However, no pregnancy was observed in the 10 mg/kg double nitrosamine group.

1.1. المقدمة:

يسهم التدخين بشكل واضح لا لَبسَ فيه بالإصابة بالعديد من الامراض منها امراض القلب (Poudel و آخرون 2022). و امراض الرئة المتمثلة بسرطان الرئة وغيرها (Taucher و آخرون 2022) .بالإضافة الى امراض الجهاز العصبي (Taylor and Treur, 2023) وامراض الجهاز التناسلي مثل انخفاض تعداد النطف، وزيادة تكرار ظهور نطف مشوهه وغيرها Houda) وآخرون (2022 وذلك لكون التبغ ودخانه يحتوي على الآلاف من المواد الكيمياوية، الكثير منها معروف جيداً بأنه سام، و مسرطن، ومُعصِّد، و ماسخ، و مسبب للإدمان، اذ تشتمل المواد الكيميائية التي يحتويها التبغ على النيكوتين و النتروسامين (Konstantinou. وآخرون 2018) إن النيكوتين الموجود في التبغ هو العقار المسبب للإدمان، أما أنه ذو تأثير مؤثر نفسي شبيهة بتلك التي تسبب حدوث الإدمان على العقاقير المخدرة كالهيروين والكوكائين وبشكل تجريبي، أشار متطوعون من المدخنين أعطوا كمية من النيكوتين عبر الوريد إلى حدوث آثار شبيهة بتلك التي تحدثها العقاقير المشبوهة الأخرى، كالمورفين والكوكائين (West and Cox, 2022). فهو القلويد الرئيسي المتواجد في التبغ، ويعد أحد أكثر القلويدات وفرة فيه، اذ يعد النيكوتين مادة سامة وقوية، يتم امتصاصه بسرعة عبر الجلد والأغشية المخاطية بتركيبته الأساسية، النيكوتين ينتمي إلى فئة الأمينات الثانوية (Hecht and Hoffmann, 1988). تُعتبر هذه الأمينات المسؤولة عن تكوين النتروساميات الخاصة بالتبغ من خلال تفاعلها مع العوامل المؤكسدة، وتُعرف هذه النتروساميات الخاصة بالتبغ Nitrosamines Specific to Tobacco هي Nitrosamines، وهي مركبات كيميائية مستقرة تحت الظروف الفسيولوجية (Kim and Shin, 2013) الا انها تتكون أثناء تفاعل النترجة للأمينات الثانوية، عند استبدال N-H بـ N-N=O (Hecht and Hoffmann, 1988). ان مادة النتروسامين هي مواد مسرطنة تتشكل في جسم الثديات من سلائف الامينات الموجودة في العديد من المنتجات الغذائية ومستحضرات التجميل والادوية (Rietjens و آخرون 2022) ، والتي تظهر بشكل رئيسي اثناء تخزين المنتجات الغذائية وخاصة في الأسماك واللحوم المدخنة (Schrenk وآخرون 2023). اذ يمكن أيضاً تحويل النتريت إلى نتروسامين في الجسم وفي الظروف الحمضية للمعدة (Kotb وآخرون 2023). يمكن أن يتشكل النتروسامين عبر آلية النترتة Nitrosation Mechanism في البيئة الحمضية، والتي تتضمن تكوين كاتيون النيتروزيل Nitrosyl cation (NO+) أو الأنواع المماثلة المحتوية على النيتروجين أثناء تحمض النتريت، يليها تكوين النتروسامين من التفاعل بين كاتيون النتروزيل وأمين (Choi and Valentine, 2003) تلاحظ هذه الآلية بشكل رئيسي في معالجة الأغذية، لمنع نمو البكتيريا على الاغذية ومياه الشرب باستخدام النتريت ، يكون معدل تكوين النتروسامين بطيئًا عند درجة الحموضة المتعادلة والقلوية، (Lv وآخرون 2007). حيث تحفز هذه المادة الإجهاد التأكسدي ويسبب تضرر الحمض النووي، أكسدة الدهون، وتوليد أنواع الأكسجين التفاعلية (Ejike and Liman, 2022). اذ وجدت العديد من الدراسات ان للتدخين تأثير مدمر على الجهاز التناسلي الذكري، منها ما يسبب انخفاض في عدد النطف الحية والسليمة، وزيادة في

نسبة الحيوانات المنوية المشوهة، بالإضافة إلى ارتفاع في تركيز النطف وتغيرات في الشكل الطبيعي للنطف بعد إعطاء النتروسامين (Somade و آخرون 2021) .

2.1. اهداف الدراسة:

هدفت الدراسة الحالية الى معرفة الضرر التي قد تسببه مخلفات الملوثات الناتجة من استخدام السجائر والناركيلة وذلك بسبب الاستهلاك المفرط لهذه المواد من خلال:

1. البحث عن الاضرار الفسلجية والنسجية التي تحدثها جرعات مختلفة من النيكوتين والنتروسامين على ذكور الجرذان البيض .

2. البحث عن التغيرات الفسلجية والكيموحيوية للإناث غير المعرضات لجرعات النيكوتين والنتروسامين والمتزاوجات مع الذكور المجرعة بتلك المواد.

3. الكشف عن التشوهات المظهرية لنسل ذكور الجرذان البيض الناتجة عن أمهات غير معرضات للنيكوتين والنتروسامين.

المواد وطرائق العمل:

الحيوانات وتصميم التجربة:

استخدمت في هذه الدراسة 30 من ذكور الجرذان البيض Sprague dawley بوزن (170-180 غم) ووزعت عشوائيا الى 5 مجاميع بعد تعرضها الى الظروف المختبرية القياسية للتأقلم. كانت المجموعة الاولى هي السيطرة (control) التي عوملت بالعليقة القياسية وماء الشرب، اما المجموعة الثانية عوملت بجرعة نيكوتين اعتيادية (NIC 10 mg/kg) فموياً، اما المجموعة الثالثة عوملت بجرعة نيكوتين مضاعفة (NIC 20 mg/kg) ولمدة شهر (Ogunnaike and Owolabi ,2021). في حين عوملت المجموعة الرابعة بجرعة نتروسامين اعتيادية (DMN 5 mg/kg) فموياً ثلاثة ايام متتالية من كل اسبوع ولمدة 4 اسابيع (Schook و آخرون 1992) كما عوملت المجموعة الخامسة بجرعة نتروسامين مضاعفة (DMN 10 mg/kg) فموياً ثلاثة ايام متتالية من كل اسبوع ولمدة 4 اسابيع (Shin and Moon,2010). بعد انتهاء مدة التجريع للذكور كما ذكر سابقاً ، شرحت 4 ذكور و ترك ذكرين من كل مجموعة لغرض التزاوج مع 5 اناث غير معرضات للنيكوتين والنتروسامين.

جمع عينات الدم

بعد انتهاء التجربة التي استمرت 30 يوما لمجموعة النيكوتين و4 اسابيع لمجموعة النتروسامين، جمعت عينات الدم من الذكور عن طريق الطعنة القلبية و وضع الدم في أنابيب حاوية على الجل Jell tube فضلاً عن ذلك تم اخذ عينات الدم من اناث الجرذان البيض بعد حصول التزواج والحمل، بعد ذلك تم نقل العينات إلى جهاز الطرد المركزي لفصل المصل بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة 15 دقيقة وبعد ذلك و باستخدام الماصات الدقيقة تم توزيع المصل الناتج إلى أربعة أجزاء في أنابيب إيبندورف (لتجنب تكرار تجميد وإذابة العينة) وتخزينها في درجة حرارة (20^{0} -م) لغرض إجراء الاختبارات الفسيولوجية الكيميائية الحيوية و الهرمونية .

الفحص النسيجي والجنيني:

تم تثبيت نسيج الخصية مباشرة بالفورمالين 10 ٪ ولمدة 24 ساعة، ثم تم غسلها باستخدام ماء الصنبور، تليها عملية التجفيف باستخدام سلسلة تراكيز من الكحول ٪80 ، ٪90 ، ٪95 لمدة 45

دقيقة و100 ٪ إيثانول لمدة ساعة، مرتين، روقت العينات بالزايلين ثم شربت وطمرت باستخدام شمع البرافين، ثم قطعت باستخدام المقطاع الدوار الى مقاطع نسجية وبسمك 5 مايكروميتر، بعد ذلك صبغت باستخدام صبغة الهيماتوكسلين والايوسين ثم فحصت تحت المجهر الضوئي. (الطرادة و آخرون 2009) بالإضافة الى انه عند اقتراب موعد الولادة للإناث المتزاوجات شرحت واخذت الاجنة ووضعت في الفورمالين 10 ٪ ولمدة 24 ساعة لغرض تثبيت الاجنة.

الفحوصات الكيموحيوية والهرمونية:

تم استخدام عدة التقدير الجاهزة ELISA kit من شركة Cloud-clone crop الامريكية لتقدير تركيز كل من GPX,SOD,CAT, MDA,8-OHdG SSH, ICSH and testosterone,

التحليل الاحصائي:

تم استخدام برنامج SPSS الإحصائي لفحص النتائج إحصائياً، كما تم استخدام برنامج ANO-VA الإحصائي لتقييم البيانات إحصائياً، وتم استخدام Duncan Multiple Range ز(DMR) لمقارنة المتوسطات الحسابية، كما ذكر (Fried وآخرون 1972).

النتائج والمناقشة:

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان هناك ارتفاعا معنوياً عند مستوى معنوية ($P \leq 0.01$) في تركيز MDA و 8-OHdG في المجاميع المعاملة بالجرعة الاعتيادية والمضاعفة للنيكوتين والنتروسامين مقارنة مع مجموعة السيطرة الطبيعية، في حين اظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاضا معنويا في كل من GPX,-SOD,CAT عند مقارنتها بمجموعة السيطرة الطبيعية في مصل ذكور الجرذان البيض وكما في الجدول 1.

GROUPS / PARAMETERS	Control Male Mean ± SD	NIC 10 mg/kg Male	NIC 20 mg/kg Male	DMN 5 mg/kg Male	DMN 10 mg/kg Male
MDA	0.815±11.211 d	4.23±19.08 c	3.54 ± 49.14 b	47.974±1.62 b	86.2±2.48 a
8-OHdG	3.03 ± 94.1 d	1058.6±178.9 c	453 ± 2809 a	1917±192.8 b	1979.8±111 b
GPX	88.85±2.13 a	69.63±2.07 b	3 ±30.89 d	3.28 ±44.04 c	3.36 ±43.54 c
CAT	3.4165±0.1143 a	0.0576 ±0.312 b	0.691±0.0438 c	0.295±0.0602 b	0.8768±0.175 c
SOD	8.665±0.076 a	0.361 ±6.904 b	0.322 ±2.554 d	0.696 ±4.042 c	3.998±0.352 c

الاحرف المختلفة تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى معنوية ($P \leq 0.01$)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان هناك ارتفاعا معنويا في تركيز MDA و 8-OHdG في مصل اناث الجرذان البيض المتزاوجة مع ذكور الجرذان البيض المعاملة بالجرعة الاعتيادية والمضاعفة للنيكوتين والنتروسامين مقارنة مع مجموعة السيطرة الطبيعية، في حين اظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاضا معنويا في كل من GPX,SOD,CAT عند مقارنتها بمجموعة السيطرة الطبيعية في مصل اناث الجرذان البيض وكما في الجدول 2.

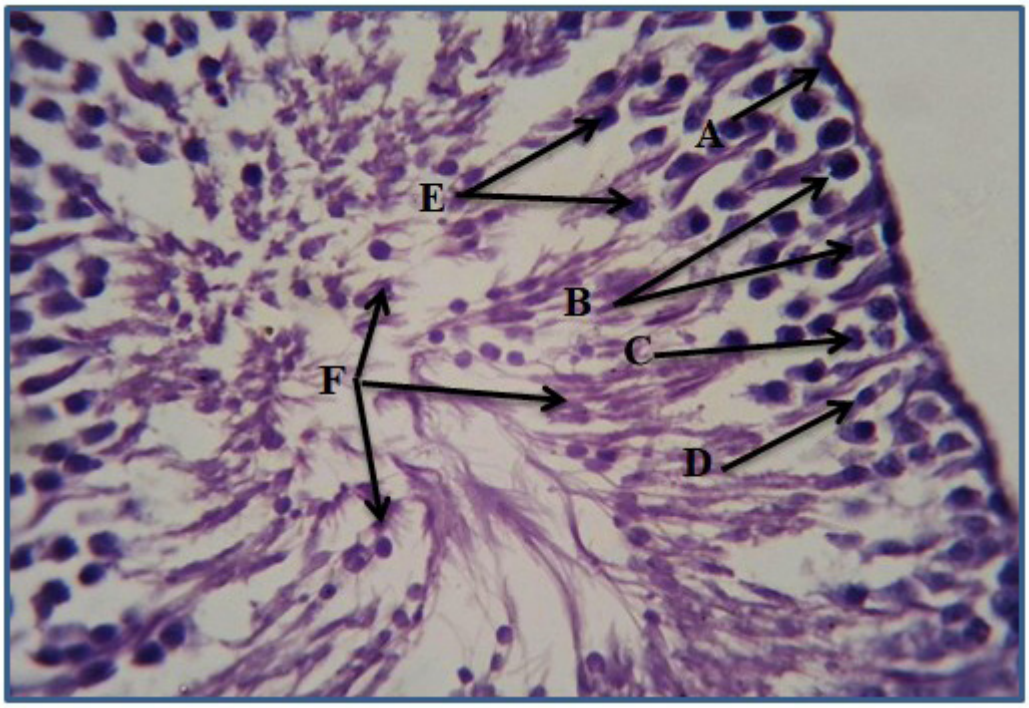
GROUPS / PARAMETERS	Control Female Mean ± SD	NIC 10 mg/kg Female	NIC 20 mg/kg Female	DMN 5 mg/kg Female	DMN 10 mg/kg Female
MDA	12.16±2.28 c	16.11±3.5 b	44.747±0.973 a	40.692±0.1659 a	12.9±2.58 c
8-OHdG	15.73 ± 99.75 c	11.46 ± 1254.2 b	149.4 ± 1710 a	0.547 ± 1354.2 b	99.55±14.85 c
GPX	2.45 ± 86.01 a	9.04 ± 40.22 c	8.16 ± 52.73 b	3.45 ± 28.09 d	2.07 ± 83.2 a
CAT	3.304±0.1346 a	0.384 ± 1.384 c	0.416 ± 1.851 b	0.8423±0.1065 d	3.1063±0.1081 a
SOD	8.414±0.317 a	3.81±1.233 c	5.389±1.127 b	2.044±0.492 d	8.147±0.132 a

الاحرف المختلفة تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى معنوية ($P \leq 0.01$)

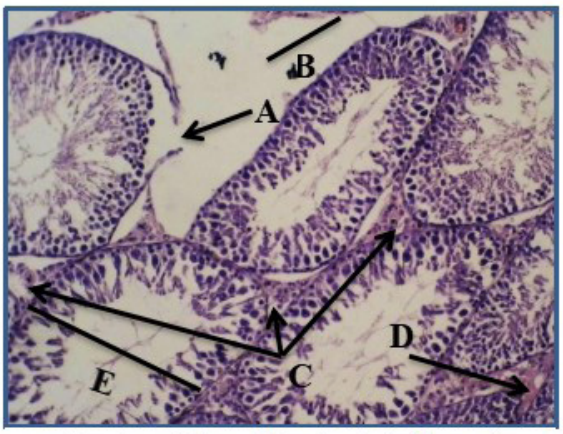
كما اظهرت النتائج الهرمونية لهذه الدراسة ان هناك انخفاضا معنويا في تراكيز، SSH, ICSH and testosterone في المجاميع المعاملة بالجرعة الاعتيادية والمضاعفة للنيكوتين والنتروسامين مقارنة مع مجموعة السيطرة الطبيعية في مصل ذكور الجرذان البيض وكما في الجدول 3.

GROUPS / PARAMETERS	Control	NIC 10 mg/kg	NIC 20 mg/kg	DMN 5 mg/kg	DMN 10 mg/kg
Testosterone	11.343±0.985 a	0.281 ±9.795 b	3.12±0.218 c	3.776±0.554 c	0.281 ±3.383 c
ICSH	3.21 ± 87.23 a	61.34±1.263 b	22.585±1.229 d	2.94 ±26.27 c	1.154 ±27.261 c
SSH	3.71 ±108.33 a	98.57±1.396 b	7.96 ± 55.94 d	64.48±1.89 c	2.76 ±64.17 c

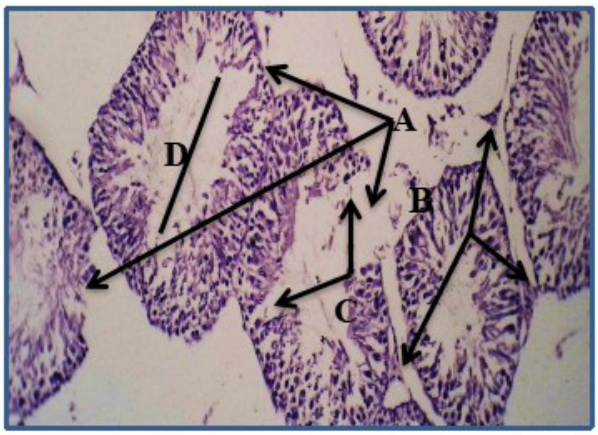
الاحرف المختلفة تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى معنوية ($P \leq 0.01$)



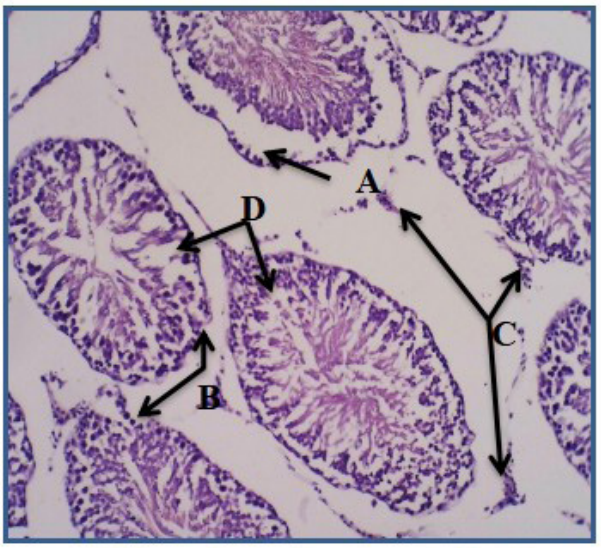
صورة (1) مقطع في خصى مجموعة السيطرة يظهر الشكل الطبيعي للخصى، النطف الناضجة والتي ملأت تجويف النبيب والتي تظهر بشكل اللهب (A) و الغشاء القاعدي للنبيب المنوي (B) وخلايا ليدك (C) ومراحل تكون النطف (D) H&E, 400X.



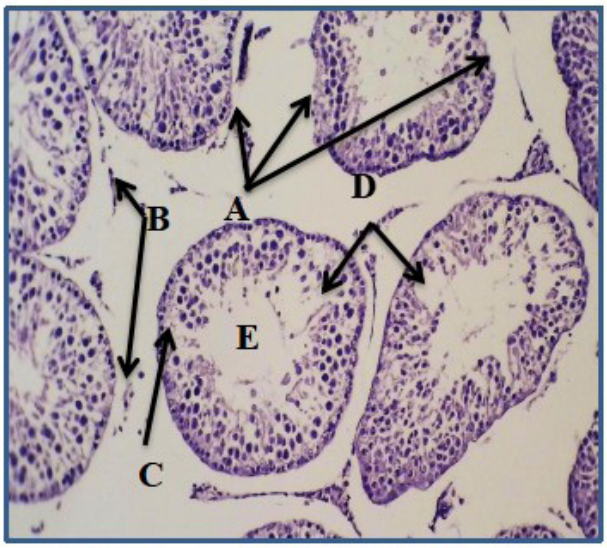
صورة (2) مقطع في خصية معاملة بجرعة نيكوتين اعتيادية 10 ملغم /كغم، تبين تحطم الغشاء القاعدي للنبيب المنوي (A) وتلف النسيج الخلالي للخصية (B) وتنكس وضمور خلايا ليدك (C) مع تحلل الاوعية الدموية الشعرية المحيطة بخلايا ليدك(D) ونخر للخلايا التطفية بمراحلها مع اختفاء الخلايا التطفية في تجويف النبيب المنوي (E) H&E , 100X



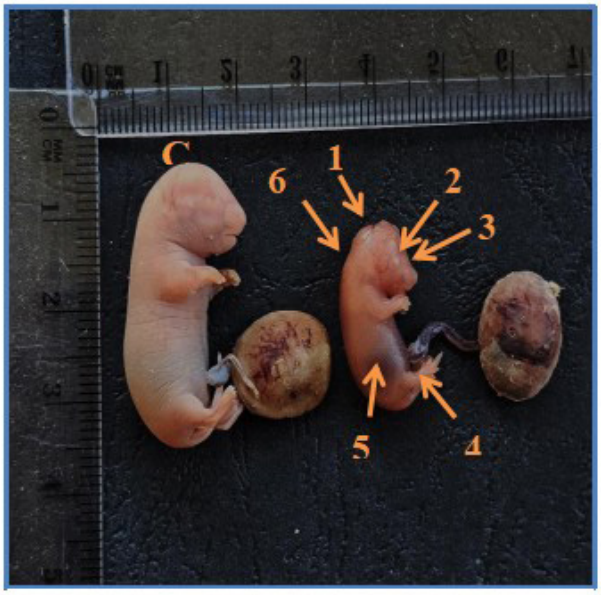
صورة (3) مقطع في خصية معاملة بجرعة نيكوتين مضاعفة 20 ملغم /كغم، تبين تحطم الغشاء القاعدي للنبيب المنوي (A) وتلف النسيج الخلالي للخصية ونخر خلايا ليدك (B) ونخر الخلايا المنوية بمراحلها (C) ، مع نخر واختفاء النطف (D) H&E , 100X



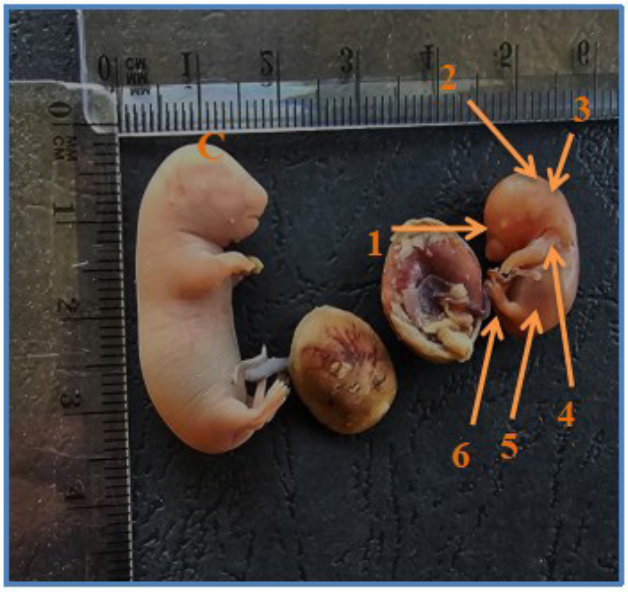
صورة (4) مقطع في خصية معاملة بجرعة نتروسامين اعتيادية 5 ملغم /كغم، تبين نخر وتنكس وقلة سليفات النطف (A) وتحطم الغشاء القاعدي للنبيب المنوي (B) ونخر النسيج الخلالي للخصية وضمور خلايا ليدك (C) ونخر الخلايا المنوية بمراحلها (D) ، H&E, 100X



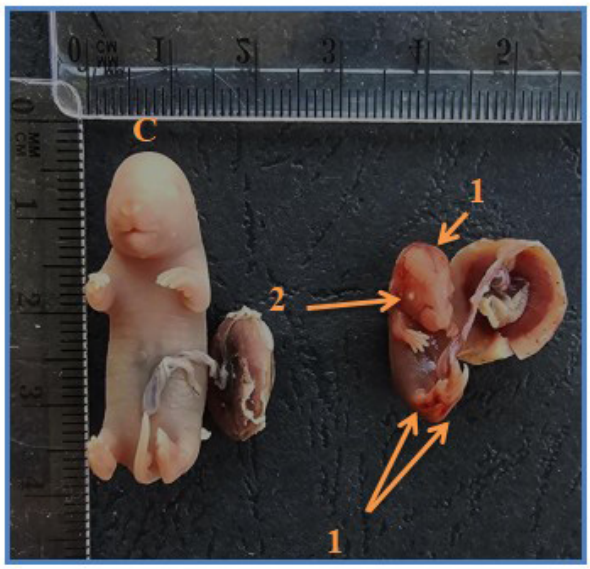
صورة (5) مقطع في خصية معاملة بجرعة نتروسامين مضاعفة 10 ملغم /كغم، تبين تحطم الغشاء القاعدي للنبيب المنوي (A) ونخر النسيج الخلالي للخصية و خلايا ليدك (B) نخر وتنكس وقلة سليفات النطف (C) و ونخر الخلايا المنوية بمراحلها (D) وندرة النطف في تجويف النبيب المنوي (E)، H&E, 100X



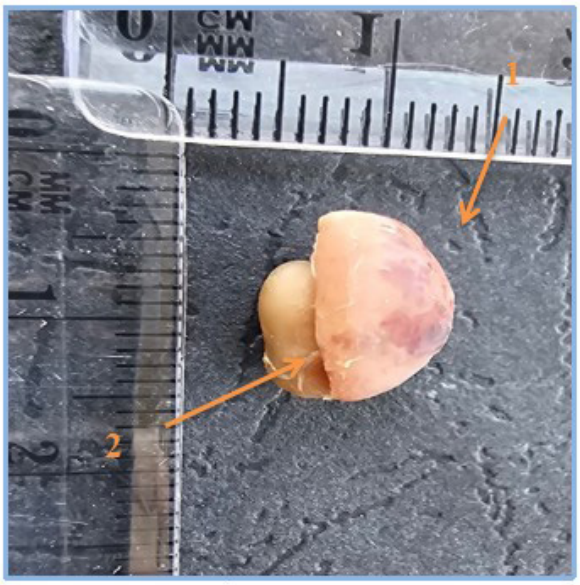
صورة (6) منظر جانبي لجنين انثى تم مزاوجتها مع ذكر جُرع بنيكوتين 10 ملغم /كغم.
1 .عدم تعظم الجمجمة مع وجود انخفاض في القحف
2. جحوظ العين 3. تقوس منطقة الانف. 4.قصر في عظام الساق5. احتقان في البطن وانتفاخها6. انخفاض في منطقة الجذع مع صغر حجم الجنين مقارنة مع جنين السيطرة(C)



صورة (7) منظر جانبي لجنين انثى تم مزاوجتها مع ذكر جُرع بجرعة نيكوتين مضاعفة 20 ملغم /كغم.
1. جحوظ في العينين.2. انخفاض في منطقة القحف. 3.تحدب وتقوس منطقة الجذع وانحناء الراس الى الامام. 4.تشوه منطقة الكتف5.احتقان في البطن6. صغر عظم الفخذ مع صغر حجم الجنين مقارنة مع مجموعة السيطرة.(C)



صورة (8) منظر امامي لنفس الجنين لانثى تم مزاوجتها مع ذكر جُرع بجرعة نتروسامين اعتيادية 5 ملغم /كغم. 1. اعوجاج بسيط في الراس عن المستوى الطبيعي مع احتقان في الدماغ و القدم والذيل مع عدم تمايز اصابع القدم 2. جحوظ في العينين مع انحناء الرأس نحو البطن. مع صغر حجم الجنين مقارنة مع جنين مجموعة السيطرة(C)



صورة (9) جنين انثى تم مزاوجتها مع ذكر جُرع بجرعة نتروسامين اعتيادية 5 ملغم /كغم. 1. تظهر جنين مشوه بالكامل 2. المشيمة

المناقشة:

ان دخول المادة الكيميائية كالنيكوتين والنتروسامين الى داخل الجسيمات الحالة يسبب نفاذيتها وطرح انزيماتها الى داخل سايتوبلازم الخلية فيحدث تحلل ذاتي وموت خلايا الكائن الحي (Lewis ,1980) بالإضافة الى ان النيكوتين والنتروسامين يسببان زيادة في انتاج السيتوكينات الالتهابية مما يؤدي الى انتاج مواد سامة اثناء العملية الالتهابية مثل اصناف الاوكسجين الفعالة (ROS) واصناف النتروجين الفعالة (RNS) و-C-Re active Protein التي تعزز موت الخلايا (Emma و آخرون 2022 ; Zheng و آخرون2020) اظهرت العديد من الدراسات التي تتفق مع الدراسة الحالية ان التدخين وما يحتويه من مكونات ضارة كالنيكوتين والنتروسامين له آثار ضارة على نظام الدفاع المضاد للأكسدة في جسم الكائن الحي مما يسبب زيادة الإجهاد التأكسدي اذ يحفز انتاج الجذور الحرة وبالتالي يؤدي الى إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) في جسم الإنسان، مما يحدث اجهاد تأكسدي فيؤدي الى زيادة مستوى المالون ثنائي الديهايد (MDA) و مؤشر الاجهاد التأكسدي للحامض النووي (8-OHdG)، لأنه عندما لا يتمكن نظام مضادات الأكسدة من مقاومة تكوين ROS سيؤدي الى انتاج مفرط من الـ ROS التي تؤدي الى إتلاف المعلمات الهيكلية والوظيفية لأنسجة الجسم والنطف ، بما في ذلك الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة والبروتينات والأحماض النووية، والتي تعد أهدافًا محتملة لـ ROS ، تلعب مضادات الأكسدة، بما في ذلك (SOD) و (GPx)، والكاتلاز(CAT)، دورًا دفاعيًا مهمًا في تحييد ROS (Omolaoye و آخرون2022) وان

سبب انخفاض مضادات الاكسدة في المجموعات المعاملة بالنيكوتين والنتروسامين هو هذين المادتين التي تزيدان من انتاج ROS التي ترتبط بمجموعة السفاهيدرال مما يؤدي الى استنزافه مضاد الاكسدة و زيادة المالون ثنائي الديهايد (MDA) (Otamere و آخرون2023) .

اما فيما يخص الارتفاع الحاصل في نواتج الاكسدة وانخفاض مضادات الاكسدة لدى اناث الجرذان السليمات عند مزاوجتها مع ذكور الجرذان البيض المعرضة للجرعات المختلفة من النيكوتين والنتروسامين، قد يعود سبب الانخفاض في مضادات الاكسدة الى أن زيادة متطلبات الطاقة التي تحتاجها الام الحامل نتيجة نمو الجنين مما يؤدي الى زيادة الإجهاد التأكسدي نتيجة زيادة كمية استهلاك الأوكسجين، لإنتاج الطاقة المطلوبة للحمل مما يؤدي الى زيادة عمليات نقل الالكترون في المايتوكوندريا ومن ثم زيادة تكون أصناف ROS مثل جذر سوبر أوكسيد السالب وبيروكسيد الهيدروجين الذين يعملان بتفاعلاتهم التأكسدية المختلفة على تكوين المواد المؤكسدة لتشارك في مهاجمة المركبات الحيوية داخل للجسم و زيادة نشاط سلسلة نقل الإلكترون للميتوكوندريا و زيادة الفعالية التأكسدية للجنين (الهلالي 2021) و أُعزي سبب ارتفاع نواتج الاكسدة و انخفاض مضادات الاكسدة الى انه قد يكون سببه تراكم المواد السامة في السائل المنوي وانتقاله الى الانثى اثناء التزاوج، فمن المحتمل انه سبب الاجهاد التأكسدي لدى الاناث وهذا يفسر ارتفاع نواتج الاكسدة وانخفاض مضادات الاكسدة لدى اناث الجرذان البيض، او ان النطف التي ساهمت في عملية الاخصاب هي نطف متضررة الحامض النووي DNA وهذا الضرر بعد عملية الاخصاب يصبح جزءاً من المادة الوراثية للجنين مما يؤدي الى تكوين اجنة مشوهه خلقياً كما في (صورة 6 و صورة 7) في اجنة الاناث المتزاوجات مع ذكور الجرذان المجرعة بجرعات مختلفة من النيكوتين و كما في (صورة 8 و صورة 9) في اجنة الاناث المتزاوجات مع ذكور الجرذان المجرعة بالنتروسامين.

وجدت العديد من الدراسات ان النيكوتين ومستقلبة الكوتنين يمكنه عبور حاجز الدم في الخصية testicular blood- barrier عند تجريع الحيوانات به ، لذلك وجدت تراكيز عالية منه في البلازما المنوية تتناسب مع تلك الموجودة في المصل (Marinucci وآخرون 2020) اذ تسبب تلف النبيبات المنوية، مما يؤثر على بنية الخلايا الجرثومية ووظيفتها لدى الذكور وبالتالي تسبب تعطيل تكوين النطف ، (Jana و آخرون2010) بالإضافة الى تقليل مستويات البروتين التنظيمي الحاد الستيرويدي المنشأ Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) الذي يلعب دوراً مهماً في التخليق الحيوي لهرمون التستوستيرون المهم في تخليق النطف(Duca و آخرون2013) اذ تتفق هذه الدراسة مع ما توصلت اليه الدراسة الحالية ان تجريع الجرذان بجرعات مختلفة من النيكوتين ادى الى احداث اضرار نسجية في نسيج الخصية كما في الصورة (2) والصورة (3)،اذ ان هذه الاضرار متمثلة بتحطم الغشاء القاعدي للنبيب المنوي وتلف النسيج الخلالي للخصية وتنكس وضمور خلايا ليدك وتحلل الاوعية الدموية الشعرية المحيطة بخلايا ليدك وهذا يفسر انخفاض مستوى هرمون التستوستيرون لدى ذكور الجرذان كما في الجدول (3) بالإضافة الى نخر للخلايا النطفية بمراحلها

مع اختفاء الخلايا النطفية في تجويف النبيب المنوي ، وان هذه الاضرار كفيلة بان تفقد النبيب المنوي من انتاج نطف سليمة على المستوى المظهري والمستوى الجيني ، فالتغير الحاصل على مستويات الهرمونات الجنسية، بسبب تأثيرات النيكوتين على محور الوطاء – الغدة النخامية – الغدد التناسلية (الخصى) Hypo-thalamic Pituitary Testicular –Axis واستقلاب الهرمونات الجنسية الستيرويدية (Heidary وآخرون Sinha and Haider, 2024; 2012) فينخفض تحفيز الغدة النخامية الأمامية، وبالتالي ينخفض أيضًا إنتاج SSH ، فعندما ينخفض هرمون ICSH ينخفض أيضًا تحفيز خلايا لايدك وبالتالي تنخفض لديهم مستويات هرمون التستوستيرون ، بالأضافة الى انه يسبب انخفاض SSH (Devita, 2019)

وجدت العديد من الدراسات ان النتروساميات مركبات معروفة بتأثيراتها المسرطنة و السامة مما يزيد من الاجهاد التأكسدي و زيادة اصناف الاوكسجين التفاعلية ROS مما يحدث آفات تنكسية وتكاثرية في العديد من الاعضاء (Dong و آخرون2020) وهذا يتفق مع ما توصلت الية الدراسة الحالية ان تجريع الجرذان بجرعات مختلفة من النتروسامين ادى الى احداث العديد من التأثيرات الضارة في نسيج الخصية كما في الصورة (5) وصورة (6) والتي تظهر نخر وتنكس وقلة سليفات النطف بالإضافة الى تحطم الغشاء القاعدي للنبيب المنوي ونخر النسيج الخلالي للخصية وضمور خلايا ليدك ونخر الخلايا المنوية بمراحلها. وان الزيادة الحاصلة في التغيرات النسيجية في الخصى زيادة طردية بزيادة تركيز الجرع ، كما ان النتروساميات يمكن ان تتداخل مع خلايا تحت المهاد مما قد تسبب تلفاً فيها مما يؤدي الى انخفاض افراز الهرمون المحرر للهرمون الموجه القند Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) مما يقلل من الهرمونات المنبهة للغدد التناسلية ICSH و SSH كما في جدول (3) من الغدة النخامية مما ينتج عنه انخفاض في انتاج التستوستيرون جدول (3) فضلاً عن ذلك، قد لا يؤثر تلف الحمض النووي بشكل مباشر على وظيفة النطف فقط ، وانما يظهر التأثير عند الاخصاب و اندماج الحمض النووي للأم والأب مما يؤثر على التطور الجنيني وتشوهه في مراحله الاولى (Hanson, Olsen,2001 : 2020) .

الاستنتاج:

أدى تجريع ذكور الجرذان البيض بجرعات مختلفة من النيكوتين والنتروسامين الى تأثيرات سلبية متمثلة بارتفاع نواتج الاكسدة وانخفاض مضادات الاكسدة للذكور والاناث الحوامل المتزاوجة معها، مما أدى الى تلف نسيج الخصى لذكور الجرذان البيض وبالتالي ساهم في تلف نسيج الخصى للذكور مما ادى الى انخفاض في مستوى الهرمونات الذكرية نتيجة للتغيرات النسجية في الخصى ، علاوة على ذلك فان تجريع الجرذان بتلك المواد ادى الى انتقال التأثير السلبي للمواد عبر السائل المنوي الى اناث الجرذان السليمة والمتزاوجة مع تلك الذكور، مما ادى زيادة نواتج الاكسدة وانخفاض مضادات الاكسدة وانتقال الضرر الى النسل عبر النطف التي تحمل الحامض النووي DNA المتضرر مما أحدث تشوهات مظهرية في الاجنة مما يدل على ان لهذه المواد لها تأثير على الصحة الأنجابية.

المصادر:

- لؤي، عبد علي الهلالي، (2021) . الإجهاد التأكسدي في الصحة والمرض، كلية العلوم/ جامعة الموصل.

- الطرادة، محمود محمد، الرطروط، أسامة خالد، عثمان، جمال محمد، ابودية، محمد. (2009). اساسيات علم التحضير النسيجي، دار الثقافة، عمان. الأردن.

- Choi, J., and Valentine, R. L. (2003). N-nitrosodimethylamine formation by free-chlorine-enhanced nitrosation of dimethylamine. Environmental science and technology, 37(21), 4871-4876.

- Devita, H.(2019) Effect of Smoking on Follicle-Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone and Testosterone in Men. International Journal of Research and Review (Vol.6 .PP448-452)

- Dong, X., Zhao, S. X., Yin, X. L., Wang, H. Y., Wei, Z. G., and Zhang, Y. Q. (2020). Silk sericin has significantly hypoglycaemic effect in type 2 diabetic mice via anti-oxidation and anti-inflammation. International journal of biological macromolecules, 150, 1061-1071.

- Duca, Y., Aversa, A.,Oyeyipo, I. P., Raji, Y., and Bolarinwa, A. F. (2013). Nicotine alters male reproductive hormones in male albino rats: The role of cessation. Journal of human reproductive sciences, 6(1), 40-44.

- Ejike, U. D. I., and Liman, M. L. (2022). Role of Dietary Antioxidants in Chemoprevention of Nitrosamines-Induced Carcinogenesis. In Handbook of Oxidative Stress in Cancer: Therapeutic Aspects (pp. 253-275). Singapore: Springer Nature Singapore.

- Emma, R., Caruso, M., Campagna, D., Pulvirenti, R., and Li Volti, G. (2022). The impact of tobacco cigarettes, vaping products and tobacco heating products on oxidative stress. Antioxidants, 11(9), 1829.

- Fried Wald, W .T; Levy, R. I. and Fredrickson, D. S.,)1972(. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of activities of varios herbal Teas. Food Chem., preparation ultra-centrifuge. clin. chem , 18: 4999-502.

- Hanson, L. (2020). Biological Significance and Mechanisms of Alkyl DNA Damage in Human Sperm and Fertility.

- Hecht, S. S. (1998). Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. Chemical research in toxicology, 11(6), 559-603.

- Heidary, F., Ahmadi, R., and Lotfi, A. (2012). The effects of cigarette or hookah smoking on serum levels of LH, FSH or testosterone in male rats. In International Conference on Medical, Biological and Pharmaceutical Sciences (Vol. 12, pp. 103-105).

- Houda, A., Michael, J. P., Romeo, M., and Eid, H. M. (2022). Smoking and its consequences on male and female reproductive health. In Studies in family planning. IntechOpen.

- Jana, K., Samanta, P. K., and De, D. K. (2010). Nicotine diminishes testicular gametogenesis, steroidogenesis, and steroidogenic acute regulatory protein expression in adult albino rats: possible influence on pituitary gonadotropins and alteration of testicular

fects on Retina suggestive of Potential Functional Consequences. Ophthalmology Research: An International Journal, 15(1), 1-12.

- Olsen, A. K., Bjørtuft, H., Wiger, R., Holme, J., Seeberg, E., Bjørås, M., and Brunborg, G. (2001). Highly efficient base excision repair (BER) in human and rat male germ cells. Nucleic Acids Research, 29(8), 1781-1790.

- Omolaoye, T. S., El Shahawy, O., Skosana, B. T., Boillat, T., Loney, T., and Du Plessis, S. S. (2022). The mutagenic effect of tobacco smoke on male fertility. Environmental Science and Pollution Research, 29(41), 62055-62066.

- Otamere, H. O., Akpamu, U., Adisa, W. A., Shelu, O. J., and Imhantabhunu, E. S. (2023). Oxidative stress in testis of rats exposed to cadmium. African Journal of Biomedical Research, 26(1), 95-99.

- Poudel, R., Daniels, L. B., DeFilippis, A. P., Hamburg, N. M., Khan, Y., Keith, R. J., ... and Bhatnagar, A. (2022). Smoking is associated with increased risk of cardiovascular events, disease severity, and mortality among patients hospitalized for SARS-CoV-2 infections. PloS one, 17(7), e0270763.

- Rietjens, I. M., Michael, A., Bolt, H. M., Siméon, B., Andrea, H., Nils, H., ... and Gerhard, E. (2022). The role of endogenous versus exogenous sources in the exposome of putative genotoxins and consequences for risk assessment. Archives of toxicology, 96(5), 1297-1352.

- Schook, L. B., Lockwood, J. F., Yang, S. D., and Myers, M. J. (1992). Dimethylnitroantioxidant status. Toxicological Sciences, 116(2), 647-659.

- Kim, H. J., and Shin, H. S. (2013). Determination of tobacco-specific nitrosamines in replacement liquids of electronic cigarettes by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1291, 48-55.

- Konstantinou, E., Fotopoulou, F., Drosos, A., Dimakopoulou, N., Zagoriti, Z., Niarchos, A., ... and Poulas, K. (2018). Tobacco-specific nitrosamines: A literature review. Food and chemical toxicology, 118, 198-203.

- Kotb, D. A., Abdellateif, A. E. K. M., and Zaghloul, K. H. (2023). Reproductive Toxicity of Sodium Nitrite and Its Modulation by Ascorbic Acid as An Antioxidant in Pregnant Female Mice. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, B. Zoology, 15(1), 19-51

- Lewis, D. J. (1980). Experimental pathology of the rat larynx following exposure to tobacco smoke. University of Surrey (United Kingdom).

- Lv, C. L., Liu, Y. D., Zhong, R., and Wang, Y. (2007). Theoretical studies on the formation of N-nitrosodimethylamine. Journal of Molecular Structure: THEOCHEM, 802(1-3), 1-6.

- Marinucci, L., Balloni, S., Bellucci, C., Lilli, C., Stabile, A. M., Calvitti, M., ... and Arato, I. (2020). Effects of nicotine on porcine pre-pupertal sertoli cells: An in vitro study. Toxicology In Vitro, 67, 104882.

- Ogunnaike, P. O., and Owolabi, J. O. (2021). Caffeine, Nicotine and MDMA Ef-

cal and health psychology, 23(1), 100335

- West, R., and Cox, S. (2022). The 1988 US Surgeon General's report 'Nicotine Addiction': How well has it stood up to three more decades of research?. Addiction, 117(8), 2346-2350.

- Zheng, C. M., Lee, Y. H., Chiu, I. J., Chiu, Y. J., Sung, L. C., Hsu, Y. H., and Chiu, H. W. (2020). Nicotine causes nephrotoxicity through the induction of nlrp6 inflammasome and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor. Toxics, 8(4), 92.

samine (DMN)-induced IL-1β, TNF-α, and IL-6 inflammatory cytokine expression. Toxicology and applied pharmacology, 116(1), 110-116.

- Schrenk, D., Bignami, M., Bodin, L., Chipman, J. K., del Mazo, J., ... and Grasl-Kraupp, B. (2023). Risk assessment of N-nitrosamines in food. EFSA Journal, 21(3), e07884.

- Shin, M. O., and Moon, J. O. (2010). Effect of dietary supplementation of grape skin and seeds on liver fibrosis induced by dimethylnitrosamine in rats. Nutrition Research and Practice, 4(5), 369-374.

- Sinha, S. K., and Haider, M. N. (2024). Tobacco and health effects. TOBACCO and PUBLIC HEALTH: Tobacco and Community Well-being: A Worldwide Health Crisis, 101.

- Somade, O. T., Ajayi, B. O., Adeyi, O. E., Adeshina, A. A., Adekoya, M. O., and Abdulhameed, R. O. (2021). Oxidative stress-mediated induction of pulmonary oncogenes, inflammatory, and apoptotic markers following time-course exposure to ethylene glycol monomethyl ether in rats. Metabolism Open, 9, 100075.

- Taucher, E., Mykoliuk, I., Lindenmann, J., and Smolle-Juettner, F. M. (2022). Implications of the immune landscape in COPD and lung cancer: smoking versus other causes. Frontiers in Immunology, 13, 846605.

- Taylor, G. M., and Treur, J. L. (2023). An application of the stress-diathesis model: A review about the association between smoking tobacco, smoking cessation, and mental health. International journal of clini-