J. Plant Prot. and Pathology, Mansoura Univ., Vol. 2 (3): 361 - 378, 2011

Histological and histochemical study on adult mail rate and new born puberal exposure to alkylphenol (octylphenol) on the subsequent development of epididymus .

Batarfi, Nafisa M.; Al-Saydah H. Abdel–Aziz and Rahma A. Alelyani
Girls Faculty of Science, King Abd El-Aziz University, KSA.
P.O.Box.(127334) Jeddah (21352)

دراسات هستولوجية وهستو كيميائية على ذكور الجرذان البالغة والمواليد من الفئران البيضاء عند تعرضها للفينول المقلون(أوكتيل فينول) وتأثير ذلك على ذيل البربخ .

نفيسة محمد باطرفي، السيدة حافظ عبد العزيز و رحمة على العلياني
كليـــة العلـــوم للبنـــات - جامعـــة الملـــك عبـــد العزيـــز، جـــدة. ص . ب.(١٢٧٣٣٤) الرمـــز البريدي(٢١٣٥٢) Dr.nafisa_m@hotmail.com

الملخـص

يعد الاوكتيل فينول 4-tert-octylphenol (OP) من الملوثات البيئية المنتشرة والذى اتضح تأثيره السام والاستروجينى على خلايا الثدييات في المزارع النسيجية ولم يعرف على وجهه التحديد تأثير التعرض للـ OP على الجهاز التناسلي الذكرى للفقاريات البالغة ومنها الإنسان ولذلك تم في الدراسة الحالية:

اولا: معاملة ذكور الجرذان من اليوم الأول إلي اليوم 21 بعد الولادة بجرعات فمية قدرها 0 ، 40 أو 120 ملجرام/كيلوجرام من الاوكتيل فينول لفحص تأثير المعاملة خلال الفترة الأولى بعد الولادة على البربخ لذكور الجرذان عند البلوغ.

ثانيا معاملة ذكور الجرذان البالغة بالاوكتيل فينول (0، 40 أو 120 ملجرام/كيلوجرام) لمدة ثلاث أشهر لدراسة تأثير المعاملة المزمنة على الخصوبة الذكرية.

بالإضافة إلي تقدير تركيز هرمون التستوسترون بالبلازما، عدد الحيوانات المنوية والتغيرات النسيجية المرضية والكيمياء نسيجية بالبربخ لذكور الجرذان المعاملة عند البلوغ ومقارنتها بالضابطة.

وتتلخص نتائج الدراسة في النقاط التالية.

- أحدثت المعاملة بالجرعة المنخفضة نقص معنوى في الوزن النسبي والمطلق في الخصي و البربخ عند ذكور الجرذان عمر ١٢ أسبوع بينما زاد الوزن المطلق والنسبي للخصي، البربخ للجرذان بالمجموعة المعاملة بالجرعة العالية (G_3) .
- ينخفض متوسط تركيز هرمون التستوسترون في بلازما الدم لذكور الجرذان بعد البلوغ بالمجموعة المعاملة بالجرعة المنخفضة (4.680±1.892 ng/L) والعالية (3.145±0.321 ng/L) مقارنة بالضابطة 5.981±0.569 ng/L مع وجود فرق معنوى بين المجموعتين (G_2 و G_3) المعاملة.
- ينخفض معنوياً عدد الحيوانات المنوية ويزيد النسبة المئوية للحيوانات غير الطبيعية في ذيل البربخ لذكور الجرذان بالمجموعة المعاملة بالجرعة العالية (G_3) مقارنة بالمجموعة المعاملة بالجرعة المنخفضة (G_2) والضابطة (G_1). وتتمثل التشوهات في الحيوانات المنوية بانفصال الرأس، الانثناء أو الكسر عند منطقة اتصال الرأس بالذيل وانثناء الذيل

المقدمة Introduction

يعد العقم حقيقة محزنة infertility is a sad reality وقد أصبح من المؤكد الآن أن الصحة التناسلية الذكرية قد تغيرت إلى الأسوء خلال الأربعين عام الأخيرة حيث سجلت التقارير من الاقطار المختلفة الانخفاض العالمى في صفات المني semen quality والذى اشتمل على انخفاض عدد الحيوانات المنوية وحجم المني في الرجال hypospadias (Who, 1992, Raloff, 1994a,b; Auger *et al.,* 1995) وزيادة حدوث سرطان الخصى واختفاء الخصى cryptorchidism (Safe, 1994; Toppari *et al.,* 1996) مما أدى إلى تركيز الضوء على الكيماويات التي يصنعها الإنسان (عقاقير وكيماويات زراعية وصناعية) والتي أثبتت الدراسات تواجد وبقاء العديد منها في البيئة ومقدرتها على إحداث اضطراب

في جهاز الغدد داخلية الإفراز endocrine system في الكائنات الحية (Raloff, 1994a,b, Stone, 1994, Sharp *et al.,* 1995, Jobling *et al.,* 1995, Laws *et al.,* 2000; Katsuda *et al.,* 2000; Nagao *et al.,* 2000 & 2001).

وحيث أنه من المعروف أن الوظائف الطبيعية لكل أجهزة الجسم تنظم عن طريق الهرمونات التي يفرزها جهاز الغدد الصماء فإن الاضطرابات البسيطة في وظائفها وخاصة خلال المراحل الهامة من دورة الحياة مثل التكوين t والحمل والإرضاع سوف يؤدى إلى اضرار بالغة وبعيدة المدى على تلك الأجهزة في الحيوانات البرية والانسان (Laws *et al.,* 2000; Nagao *et al.,2001ab*)

وحيث أن التأثير الفسيولوجى للهرمونات متعددة فإن الكيماويات التي تحاكي عمل الهرمونات أو تضادها تحدث تأثير مباشر على تصنيع الهرمونات وذلك من خلال تأثيرها على العلاقة بين تحت المهاد البصرى والغدة النخامية والمناسل hypothalamic-pituitary – gonadel axis وأيض الهرمونات وإفرازها واستنساخها لخصت بواسطة (Nimrod & Benson, 1996) .

وقد أوضحت الدراسات أن بعض تلك الكيماويات تحاكى الهرمونات الاستروجينية في عملها (Colborn & Clement, 1992, Stone, 1994, Rolaoff, 1994a, Sumpter & Jobling, 1995, Wistuba *et al.,* 2003, Furuya *et al.,* 2006) بينما يظهر البعض الآخر تأثير ذكري t ويعمل البعض الآخر كمضاد للاندورجين (Laws *et al.,* 2000) كما تحدث الكيماويات شبيهة dioxin اضطراب في هرمونات الغدة الدرقية بالإضافة إلى الهرمونات الاسترويدية الجنسية sex steroids (Safe, 1994).

وقد تم تصنيف العديد من الكيماويات المصنعة كاستروجينات بينية xenoestrogens أو environmental estrogens تؤدى إلى إحداث اضطراب في العمل الطبيعي للهرمونات التي يفرزها أو يصنعها جهاز الغدد الصماء في الكائن الحى. كما تحدث طبيعتهم المحبة للدهون Lipophilic nature تجمع لهذه المواد في دهون وأغشية الكائنات الحية (Sumpter and Jobling 1995) مما ينتج عنها بقاءها في تيار الدم مما يستحث العمليات الحساسة للاستروجين (Petit *et al.,* 1999).

. ويعد زيادة الاضرار بالجهاز التناسلى الذكرى للانسان ناتج عن زيادة التعرض خلال النمو الجنينى للذكور fetal exposure إلى الاستروجينات البينية (Toppari *et al.,* 1996) وتشتمل الاستروجينات البينية على الاستروجينات النباتية Phytoestrogenus.

وتشمل الاستروجينات البينية environmental estrogens على بعض المركبات الكلورنية العضوية مثال بعض المبيدات الحشرية (DDT ونواتج أيضه، dieldrin, toxaphene, (polychlorinated biphenyls) bisphenol-A, المستخدم في مواد الطمر epoxy resins والمبيد الفطرى Vinclozolin ومضاد الحشف tributyltin وبعض phthalates المستخدمة في صناعة البلاستيك والمركبات الفينولية المقلونة alkylphenols مثل Octylphenol و nonylepheno (Waldock, 1986, McLachlan 1980, Blake *et al.,* 2004 Furuya *et al.,* 2006).

وقد اشتملت الدراسة على:

أ- تسجيل التغيرات المظهرية والسلوكية والتغير في وزن الجسم والأعضاء التناسلية لذكور الجرذان البالغة نتيجة المعاملة الفمية بـ OP ومقارنتها بالضابطة في التجارب السابقة.

ب: تقدير عدد الحيوانات المنوية والتشوهات بها في ذيل البربخ لذكور الجرذان البالغة في المجموعات التجريبية السابقة المعاملة بـ OP ومقارنتها بالضابطة.

حـ: تقدير مستوى الهرمون الذكرى التستوسترون في بلازما الدم لذكور الجرذان البالغة لكل من المجموعات المعاملة بـ OP ومقارنتها بالضابطة.

د: دراسة التغيرات النسيجية المرضية والكيميائية النسيجية والتركيبية الدقيقة للبربخ في للجرذان المعاملة بـ OP للمجموعات التجريبية

المواد والطرقMATERIALS AND METHODS

1- حيوانات التجارب Experimental animals

استخدمت في الدراسة الحالية جرذان التجارب البيضاء نوع Swiss albino rats. وقد تم وضع ذكور الجرذان البالغة عمر شهرين والذكور الرضع مع امهاتها في أقفاص منفصلة داخل حجرة تربية الحيوانات في ظروف مناسبة من درجة الحرارة والرطوبة وتقديم لها الماء والغذاء المناسب .

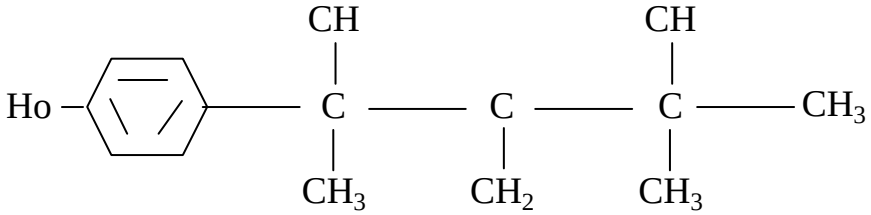
2- الكيماويات المستخدمة: Chemicals

أجريت الدراسة الحالية على أحدى الملوثات البيئية وهو الاوكتيل فينول 4-Tert-octylphenol (OP) إعتماداً على الدراسات السابقة التى أوضحت أن له تأثير إستروجينى ومضاد للاندروجين مما تأثير ضار على الجهاز التناسلى للكائنات الحية (Mueller and Kime, 1978; Soto *et al.,* 1991; Whit *et al.;*1994; Jobling and Sumpter, 1993)

الاسم الكميائى: Chemical name

4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl) phenol or 4-(tert-Octylphenol)

الصيغة البنائية: Structural formula



لصيغة الكيميائية: Chemical formula

$C_{14}\ H_{22}O//(CH3)_3\ CCH_2\ C(CH3)_2\ C_6H_4OH$

3- الجرعات والمعاملة Dosing and treatment

بناء على الدراسات السابقة تم اختيار جرعتان من الأوكتيل فينول (OP) لمعاملة الجرذان في الدراسة الحالية وهما الجرعة المنخفضة وقدرها ٤٠ ملجرام/كجم والجرعة العالية وقدرها ١٢٠ ملجرام/كجم من وزن الجسم.

حيث أوضحت تلك الدراسات أن:

- أحدث إعطاء الجرذان حديثى الولادة جرعة يوميه من OP تزيد عن ١٠٠ ملجرام/كجم من وزن الجسم نقصاً حاداً فى الوزن بعد ٦ أيام من المعاملة (PND_6) مقارنة بالضابطة (Nagao *et al.,* 2001) وكما أوضحت دراسة Katsuda *et al.,* (2000) أن أنسب جرعة مؤثرة في الحفاظ على الدورة التناسلية في الجرذان هى ١٠٠ملجرام/جرام من وزن الجسم.

وقد تم إعطاء جرعات OP للجرذان في الدراسة الحالية عن طريق الفم Oral gavage باستخدام الأنانيب المعدية المناسبة Stomach tubes وحساب الجرعة المعطاة لكل من الجرذان حسب وزنه يوم المعامله وقد تمت المعامله يومياً وحسب الفترة المحددة لكل تجربه.

وقد استخدم زيت الذرة كمذيب للأوكتيل فينول حيث يعد مذيب قياسى Standard vehicle في دراسات السمية عند الإعطاء الفمى (de Jager *et al.,* 2001) وقد تم تدفئة المحلول المحضر لاتمام عملية الذوبان قبل التخفيف للتركيز المطلوب.

4- تصميم التجارب Experiments design

١- اهتمت بدراسة تأثير معاملة ذكور الجرذان حديثى الولادة neonates بالـ OP خلال فترة الارضاع وحتى الفطام (PND_{21}) على نمو البربخ حيث أنه من المعروف أن خلايا سيرتولى تبدأ في التكاثر في الفترة الجينية المتأخرة وحتى اليوم الخامس عشر بعد الولادة (PND_{15}) وقد تستمر حتى اليوم ٢١ بعد الولادة ولا يحدث تضاعف لخلايا سرتولى بعد ذلك (Sharpe, 1994) وبالتالى يكون الحجم النهائى الذى سوف تنمو إليه الخصى قد تحدد مبكراً.

في هذه التجربة تم استخدام ٣٠ فرداً من إناث الجرذان الحوامل التى تركت حتى تلد طبيعياً وقد قُسمت إلى ثلاث مجموعات تحتوى كل منها على عشرة من الأمهات dams مع صغارها new born (60 حتى تمام فترة الارضاع و الفطام weaning.

المجموعة الضابطة (G_1) المجموعة من الجرذان حديثى الولادة والتى تم أعطائها المذيب (زيت الذرة) بالقدر الذى استخدم مع المجموعات المعاملة..

- (G_2) تم معاملة الجرذان حديثى الولادة بجرعة فمية منخفضة من OP قدرها ٤٠ ملجرام/كجم.

- (G_3) تم معاملة الجرذان حديثى الولادة بجرعة عالية قدرها ١٢٠ملجرام/كجم من وزن الجسم.

وقد بدأت المعاملة من اليوم التالى للولادة (PND_1) واستمرت المعاملة يومياً خلال فترة الارضاع وحتى الفطام (PND_{21}) حيث تم استبعاد الأمهات وإناث الجرذان الصغيرة ورعاية الذكور الصغيرة حتى ١٢

أسبوعاً من العمر (ثلاث شهور). وقد تم وزن الجرذان أسبوعياً وتسجيل حيويتها ونسبة الوفيات إن وجدت وكذلك التغيرات التي طرأت عليها خلال فترة التجربة.

ثم تخدير بعض الجرذان بعد ٢٤ ساعة من توقف المعاملة (PND_{22}) والباقي عند البلوغ (والذى تم إختباره من الأسبوع الثامن في المجموعة الضابطة) باستخدام الأثير والتشريح لنزع البربخ ووزنه وتثبيته للدراسة النسيجية والكيمياء نسيجية. وكما تم حساب متوسط الوزن المطلق والنسبى للعضو بالنسبة لوزن الجسم) للأعضاء بالمجموعتين المعاملة (G_3, G_2) والضابطة (G_1).

وقد تم حساب متوسط وزن الجسم ومعدل الفقد أو الاكتساب في متوسط وزن الجسم للجرذان المعاملة والضابطة كل أسبوعين من العمر من المعادلة التالية:

$$\frac{W_n - W_o}{W_o} x100$$

W_o= متوسط وزن الجسم للجرذان حديثى الولادة (PND_1).

W_n= متوسط وزن الجسم للجرذان بعد كل فترة معاملة (كل أسبوعين).

٢-استخدم في هذه التجربة ٣٠ من ذكور الجرذان البالغة عمر شهرين وقُسمت إلى ثلاث مجموعات تحتوى كلاً منها على ١٠ جرذاً.

(G_1) الضابطة هي التي تم إعطائها زيت الذرة بالقدر المستخدمم مع المجموعتين المعاملة .

(G_2) تم معاملتها بجرعة فميه يومية منخفضة من OP قدرها ٤٠ملجرام/كجم من وزن الجسم ولمدة شهر أو ثلاث شهور.

(G_3) تم معاملتها بجرعة فميه يومية عالية من OP قدرها ١٢٠ ملجرام/كجم من وزن الجسم ولمدة شهر أو ثلاث شهور.

وقد تم وزن الجرذان في المجموعة الضابطة والمجموعتين المعاملة عند بداية مدة المعاملة وأسبوعيا حتى نهاية فترة المعاملة وتسجيل حيويتها وأى تغيرات تطرأ عليها وعدد الميت منها خلال فترة المعاملة.

وحساب متوسط وزن الجسم ومعدل الفقد أو الاكتساب في متوسط وزن الجسم أسبوعياً بالمجموعات المعاملة والضابطة، تم تخدير بعض الجرذان البالغة من المجموعات الضابطة والمعاملة بعد شهر أو ٣ أشهر من المعاملة. يلي ذلك تشريح الجرذان ونزغ والبربخ ، ا ثم وزنهما إلى أقرب مليجرام وحساب متوسط الوزن المطلق والنسبى relative weight لكل منها في المجموعات الضابطة والمعاملة بالتجارب السابقة وتسجيل أى تغيرات مورفولوجية طرأت على الأعضاء نتيجة المعاملة.

كما تم جمع عينات من الدم من الجرذان البالغة لتقدير مستوى هرمون التستوسترون به وكما تم أخذ عينات من ذيل البربخ لعمل المسحات وعد الحيوانات المنوية وتسجيل التغيرات المورفولوجية بها ثم تثبيت أجزاء من والبربخ في المثبتات المناسبة للدراسة النسيجية والكيمياء نسيجية (Bancroft and Stevens, 1977).

تقييم التغيرات المورفولوجية للحيوانات المنوية وعددها في البربخ

Evaluation of epididymal sperm morphology and their numbers

تم استخدام مستخلص ذيل البربخ الأيسر لذكور الجرذان البالغة لتقدير عدد الحيوانات المنوية في المجموعات المعاملة بالجرعة المنخفضة والعالية من OP ومقارنتها بالمجموعات الضابطة بالتجارب السابقة وطبقاً لطريقة (Wyrobek *et al.*, 1983) حيث تم فصل ذيل البربخ Cauda epididymas عن باقي البربخ ووزنه لا أقرب مليجرام وهرس النسيج في ١ مليلتر من المحلول الملحى (٠.٩%) ثم الترشيح للتخلص من بقايا الأنسجة ومن ثم وضع المستخلص في حضانة لمدة ١٥ دقيقة عند درجة حرارة ٣٧م^{o}. وخلال هذه الفترة تنفصل الحيوانات المنوية عن النسيج وتنتشر في المحلول الملحى ويتم صبغ ١ مللتر من المستخلص باستخدام الايوسين المائي (Eosin Y., 0.05) ولتحديد التغيرات المرضية في رؤوس وذيول الحيوانات المنوية تم وضع بعض القطرات من المستخلص على شرائح نظيفة وتترك لتجف ثم تثبيت الشرائح وتفحص باستخدام العدسة الزيتية للميكروسكوب الضوئى حيث تسجل التغيرات المورفولوجية غير الطبيعية بالحيوانات المنوية (plate1) وحساب النسبة المنوية للحيوانات غير الطبيعية في المجموعتين المعاملة والضابطة ولعد الحيوانات المنوية تم استخدام شريحة عد كريات الدم الحمراء Haemocytometer.

وقد تم عد الحيوانات المنوية في ٣ مجالات ميكروسكوبية لكل حيوان وبمعدل ٣ حيوانات من كل مجموعة (الضابطة والمجموعات المعاملة) ثم حساب عدد الحيوانات المنوية لكل جرام من ذيل البربخ.

تقدير تركيز الهرمون الذكرى التستوسترون

Evaluation of testosterone concentration

تم جمع عينات من دم القلب في انابيب بها مادة تمنع التجلط مثل الهيبارين أو EDITA من كل المجموعات المعاملة والضابطة للجرذان البالغة في التجارب السابقة وتم فصل البلازما باستخدام الطرد المركزى (عدد اللفات ثلاثة الاف لفة /دقيقة) لمدة ١٥ دقيقة . وحفظها عند درجة حرارة ٢٠°م حتى وقت الاستخدام، وقد تم تعيين هرمون التستوسترون باستخدام العبوات الكيماوية المجهزة للتقدير المناعى الإشعاعى testosterone enzyme-immunoassay kits وتم استخدام جهاز Elecsys (قياس الهرمون)

-الدراسة النسيجية Histological study

تم تقطيع أجزاء صغيرة البربخ ووضعها في مثبت الفورمالين المنظم المتعادل بتركيز ١٠% وقد تم إتباع الطرق القياسية لنزع الماء Dehydraion والترويق Clearing والطمر في شمع البرافين وتم عمل قطاعات نسيجية عرضية Cross sections بسمك ٣ ميكرون من أنسجة العينات الضابطة والمعاملة. وصبغها بالهيماتوكسلين والأيوسين (H &E Hematoxylin & Eosin (Bancroft & Stevens, 1977)

- الدراسات الكيمياء نسيجية Histochemical studies

١. دراسة المحتوى الكربوهيدراتى (Bancroft and Stevens 1977

تم ذلك في القطاعات المثبتة بالفورمالين المنظم للمجموعات الضابطة والمعاملة طبقاً لتقنية تفاعل شيف حمض البريوديك (PAS technique, MC)للكشف عن المواد الكربوهيدراتية الكلية ثم استخدام طريقة Alcien blue/pastechnique acid technique AB/PAS للكشف عن المواد عديدة التسكر المخاطية حيث تصبغ المواد عديدة التسكر الحمضية Acid mucin باللون الأزرق والمواد عديدة التسكر المتعادلة باللون البنفسيجى Magnta.

الكشف عن الجليكوجين:تم استخدام صبغة كارمن بست Carmin Best بالقطاعات المثبته بالفورمالين المتعادل حيث يصبغ أماكن تواجد الجليكوجين باللون الوردى المحمر بينما تصبغ أنوية الخلايا باللون الأزرق.

دراسة المحتوى البروتينى الكلى:

تم صبغ القطاعات المثبتة في الفورمالين المنظم في أزرق البروموفينول Mercuric pronophenol blue وذلك لتقدير التغيير في المحتوى البروتينى الكلى بزيل البربخ التى تم دراستها للمجموعات المعاملة ومقارنتها بالضابطة.

النتائـــج RESULTS

تأثير معاملة الجرذان حديثى الولادة بالأوكتيل فينول علىذيل البربخ لذكور الجرذان عند البلوغ.

II. Effect of neonatal exposure of malrats to 4-tert-octylphend on the epididymus of during puperity.

أهتم هذا البحث بدراسة تأثير المعاملة الفمية للجرذان حديثى الولادة خلال فترة الرضاعة (PND_1 إلى PND_{21}) بالأوكتيل فينول على نمو ذيل البر بخ لذكور الجرذان عند البلوغ (١٢ أسبوع من العمر).

١- الحيوية Viability

يوضح (جدول١) لم تحدث معاملة الجرذان من PND_1 إلى PND_{21} بالجرعة المنخفضة (40 mg/kg bw) والعالية (120 mg/kg bw) من الاوكتيل فينول تغيرات مظهرية أو حركية واضحة خلال فترة المعاملة أو الرعاية حتى ١٢ أسبوع من العمر (بعد البلوغ). وكانت نسبة الوفيات خلال فترة الرضاعة والمعاملة تعادل 7.79% (6/77) في الجرذان المعاملة (♀ & ♂) بالجرعة المنخفضة و(G_2) 9.709% (10/103) في الجرذان المعاملة بالجرعة العالية (G_3)، مقارنة بـ 6.18% (6/87) في المجموعة الضابطة(G_1) مما يدل على أن الجرعات المستخدمة ليس لها سمية جهازية حادة systematic toxicity

Table (1): Number and length (mean +SD) of newlyborn rats (PND_1) from control and treated groups f pregnant fermales

Animal groups	Number of litter (range, mean + S.D)	Body weight (gm) at birth (PND_1)
Control G1	8------13	8.6------14.4
n= 10	10.40+0.50	10.55+0.77
Lowdose G2	8------12	8.4-11.2
n= 10	9.60+1.14	9.78+0.86
Highdose G3	6------12	6.5------11.1
n= 10	8.04+1.74	8.53+1.58

n: number of pregnant females

٢- التغير في وزن الجسم Body weight chang

يوضح (جدول٢) متوسط وزن الجسم للجرذان عند بداية التجربة وبعد أسبوع PND_1 وأسبوعين PND_7 وثلاث أسابيع PND_{14} بعد الولادة ثم عند ٤، ٦، ٨، ١٠، ١٢ أسبوع من العمر والنسبة المئوية للاكتساب في وزن الجسم وذلك بالنسبة لوزن الجرذان (pups) عند بداية التجربة (PND_1) وذلك بالنسبة للمجموعة الضابطة (G_1) والمجموعتين المعاملة (G_3, G_2) ويتضح التالى:

يزيد وزن الجسم في الجرذان حديثى الولادة بالمجموعة الضابطة (G_1) مع زيادة العمر خلال فترة التجربة ويصل متوسط الوزن بعد الفطام (PND_{22}) 23.15±3.30 جرام وبعد ١٢ أسبوع من العمر 93.5±11.70 جرام ومعدل الاكتساب في الوزن ,169.18% 9872 بعد الفطام والبلوغ لذكور الجرذان على التوالى وذلك بالنسبة لوزن الجرذان يوم الولادة (PND_1).

في الجرذان المعاملة بالجرعة المنخفضة (G_2) يزيد وزن الجسم خلال فترة التجربة ويبلغ متوسط الوزن 17.6±2.50 بعد ٣ أسابيع (PND_{22}) وبنقص معنوى ($P<0.05$) مقارنة بالمجموعة الضابطة و ٧85.6+19.2 جرام بعد ١٢ أسبوع ويصل معدل الاكتساب في الوزن لذكور الجرذان 102.67 و 886.1 بعد الفطام وعند البلوغ بالنسبة لوزن الجرذان حديثى الولادة وبنقص غير معنوى ($P<0.05$) بالنسبة للمجموعة الضابطة.

في الجرذان المعاملة بالجرعة العالية (G_3) يصل متوسط وزن الجسم بعد الفطام وتوقف المعاملة 17.8±2.5 جرام وفي نهاية التجربة يبلغ متوسط الوزن 78.66±13.11 جرام وبنقص معنوى ($P<0.01$) مقارنة بالمجموعة الضابطة بنهاية التجربة ويكون معدل الاكتساب في الوزن بالنسبة للوزن عند بداية التجربة يعادل % 116.01 و %854.61 عند الفطام والبلوغ لذكور الجرذان على التوالى..

تركيز هرمون التستوستيرون بالبلازما Testosterone blasma level

- يبلغ متوسط تركيز هرمون التستوسترون في بلازما الدم لذكور الجرذان البالغة للمجموعة (G_1) الضابطة 0.569 ±5.981 ng/L (جدول٣). - ينخفض متوسط تركيز هرمون التستوسترون بالبلازما لذكور الجرذان عمر ١٢ أسبوع للمجموعة (G_2) المعاملة بالجرعة المنخفضة (1.892 ±4.680 ng/L) والمجموعة (G_3) المعاملة بالجرعة العالية (0.321 ±3.145 ng/L) مقارنة بالمجموعة الضابطة ويوضح (جدول٣) وجود فرق معنوى قوى ($P>0.05$) في تركيز هرمون الستتوسترون بين ذكور المجموعتين (G_3) المعاملة بالاوكتيل فينول والمجموعة الضابطة.

عد د الحيوانات المنوية والشكل المظهرى لها برأس البربخ

يوضح جدول (٣) وزن ذيل البربخ بالجرام وعدد الحيوانات المنوية في ذيل البربخ والنسبة المئوية للحيوانات غير الطبيعية في ذكور الجرذان البالغة للامهات المعاملة (G_2 & G_3) والمجموعة الضابطة ويتضح الآتي:

يبلغ متوسط عدد الحيوانات المنوية في ذيل البربخ لذكور الجرذان البالغة للمجموعة (G_1) الضابطة 688 (±37)x10^6 لكل جرام من ذيل البربخ والنسبة المئوية للحيوانات غير الطبيعية تعادل ٦.٩٧%.

يلاحظ نقص معنوى مرتفع ($P<0.01$) في عدد الحيوانات المنوية (486±50)x10^6 وارتفاع معنوى في النسبة المئوية للحيوانات غير الطبيعية (33.91%) بديل البرخ للجرذان البالغة بالمجموعة المعاملة بالجرعة العالية مقارنة بالمجموعة المعاملة بالجرعة المنخفضة والمجموعة الضابطة .(Fig 1 a) تتمثل التشوهات في الحيوانات المنوية برأس البربخ للجرذان البالغة للمجموعة المعاملة بالجرعة المنخفضة (Fig 1,b,c) باتثناء الذيل (7.895%)، إنفصال الرأس (3.684%) والإتثناء والكسر عند اتصال الرأس بذيل (2.632%) وذلك بالنسبة لعدد الحيوانات المنوية بمسحات البربخ .

II- البربخ Ductus epididymis

المجموعة الضابطة:

يتكون البربخ نسيجياً من قناة أو أنبوبة طويلة ملتفة تبدو في القطاعات العرضية (Fig s2.3) على شكل مقاطع دائرية أو بيضاوية وتبطن بطلائية عمودية بسيطة أو عمادية طبيعية كاذبة حيث تظهر في بعض المناطق مستويين من الأنوية وتحاط طلائية قناة البربخ بغشاء قاعدى يحتوى على بعض نويات طويلة للخلايا الشبه عضلية myoepithelial cells وتحاط بطيقة رقيقة من العضلات الملساء الدائرية ويفصل بين قطاعات القناة حشوة من نسيج ضام يحتوى على خلايا ليفية والياف كولاجين ويصبغ بوضوح بـ PAS و HgBPB.

ويوضح (Fig 2) في الجرذان عمر ٣ أسابيع (PND_{22}) صغر حجم تجويف قناة البربخ وخلوة من الحيوانات المنوية. بينما يتسع التجويف ويمتلئ تجويف القناة بالحيوانات المنوية بينما يتسع التجويف ويمتلئ بالحيوانات المنوية والأجسام المتبقية من الطلائع المتحولة وكما تحتوى طلائية البربخ على العديد من الحبيبات الافرازية في الجرذان عند عمر ١٠-١٢ أسبوع (Fig 3). وقد أوضحت القياسات الستيوميترية أن متوسط أقصى قطر لتجويف البربخ يبلغ 1022µm ± 159.99 وسمك طلائية البربخ يبلغ 71.36±11.21µm في الجرذان عمر ٣ أسابيع و 671µm ±50.21 و 671µm ± 38.8 على التوالى في الجرذان عند البلوغ للمجموعة الضابطة .

أوضح فحص القطاعات النسيجية لقناة البربخ بالمجموعة (G_1) الضابطة التركيب النسيجى الطبيعى (Fig 2 a &3,a) وكما ورد في الدراسات السابقة للجرذان (Feagans *et al.,* 1961) والثدييات الأخرى (Junquiera *et al.,* 1998).

حيث تبطن أنابيب البربخ بطلائية عمودية وتحتوى على القليل من خلايا قاعدية ولها حافة فرجونية على السطح الداخلى للتجويف وتحتوى الطلائية على بعض الخلايا الرائقة ويمتلئ التجويف بالحيوانات المنوية في الجرذان عمر ١٠-١٢ أسبوع (البالغة) ثلاث أشهر من المعاملة مقارنة بالضابطة والتى تبلغ 6.39%(Fig.3a).

Table(3): Body weight (rang and mean ±S.D.) in gram and percent gain in body weight for adult male rats after prental exposure to 4-tert octylephenol and that of control.

Time of exposure (weeks) / Animal groups	Weeks of age								
	0(PND_1)	1(PND_6)	2(PND_{14})	3(PND)	4	6	8	10	12
	n= 96			n= 89 , ♂=20					
G1	8.6–14.4	14.30–17.41	17.92–19.32	21.03–22.71	24.06–27.04	34.63–37.04	43.08–47.08	65.34–75.03	81.49–97.14
control	10.58±1.77	15.24±0.91	18.69±0.51	21.89±0.59	26.14±1.37	35.77±0.78	50.59±1.28	81.25±11.37	90.67±16.9
		44.05%	76.65%	106.90%	147.07%	238.09%	378.17%	667.96%	756.99%
	n= 104			n= 86, ♂=18					
low dose	8.4–11.2	13.21–15.91	15.86–19.02	18.32–23.16	21.21–28.08	27.92–34.03	35.73–41.03	51.49–71.2	70.12–83.6
40mg/kg/day	9.78±0.86	14.71±0.97	18.022±0.95	20.86±1.24	24.71±1.87	31±1.6	37±1.55	57.62±10.77	74.706±16.3
G2		50.41%	84.27%	113.29%	152.63%	216.77%	288.24%	489.16%	663.86%
	n= 85			n= 64, ♂= 14					
high dose	6.5–11.1	11.30–14.63	14.12–18.26	17.62–21.26	20.81–24.07	27.19–35.02	35.92–42.61	59.32–64.2	75.29–80.41
120mg/kg BW	8.53±1.58	12.8±1.171	16.21±1.34	19.41±1.25	22.23±1.24	30.48±2.35	39.09±2.18	60.36±10.06	78.51±19.62
G3		50.059%	90.350%	127.55%	160.610%	257.730%	358.200%	607.620%	820.401%

n= number of animals (♀,♂)
♂= males
PND= postnatal day

Table (5): Serum testosterone concentration and caput epididymal weight, sperm count and percentage of abnormal sperms of adult male rats in control and treated groups.

Groups / Parameters	Control	Treated (OP (mg/kg/day)	
		40 mg/kg/day	120 mg/kg/day
n	3	6	6
Testosterone conc. (ng/l)	5.981±0.569	4.680±1.892	3.145±0.321**
Caput epididymis (g)	1.933±0.311	1.336±0.112*	1.980±0.28
Sperm count (x10^6 g^{-1} caput epididymis)	688±37	609±46	486±50**
Sperm counted in EPI smears	402	380	289
Abnormal sperm (%)	28 (6.97)	71 (18.68)*	98 (33.91)**
Head without tail (%)	8 (1.99)	14 (3.684)	30 (10.381)
Head sticking (%)	2 (0.498)	7 (1.842)	15 (5.190)
Bent at cephalocaudal junction (%)	6 (1.493)	10 (2.632)	24 (8.304)
Bent tail	8 (1.99)	30 (7.895)	15 (5.190)
coiled tail	4 (0.995)	8 (2.105)	4 (1.384)
Hypertrophord or assymetrical tail	-	2 (0.526)	10 (3.460)

Data are means ± S.D.
n: number of male rats examined
*: significantly different from control group *P<0.05 **P<0.01

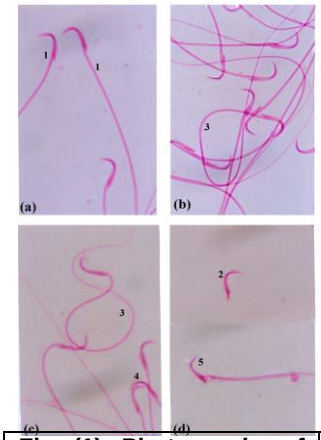


Fig. (1): Photographs of epididymal sperm smears stained with eosin Y. sperms from (G1)

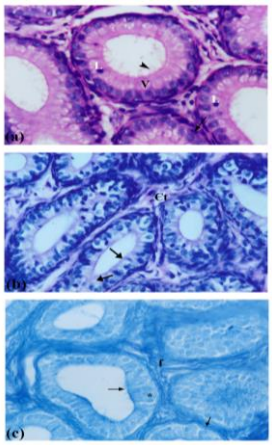


Fig. (2a-c): Cross sections in ductus epididymis (EPI) of male rats of control group (G1) which sacrified after 3 weeks. of age (PND_{22}).

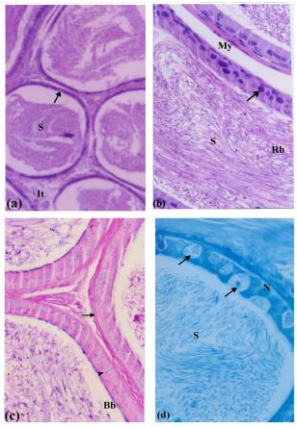
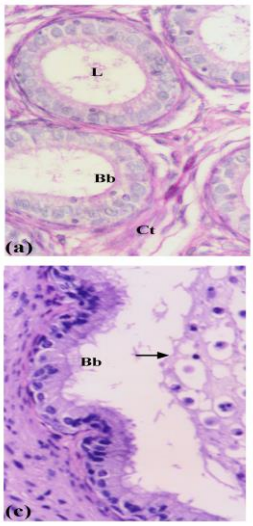


Fig. (3): Cross sections in ductus epididymis of male rats of control group (G_1) .



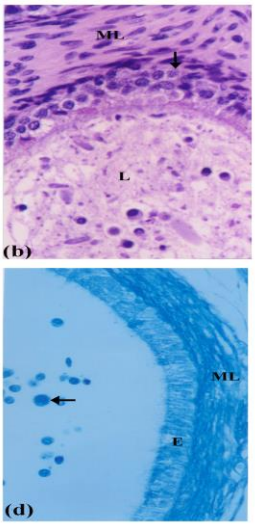


Fig. (4a-d): Cross sections of ductus epididymis (EPI) (G_2,

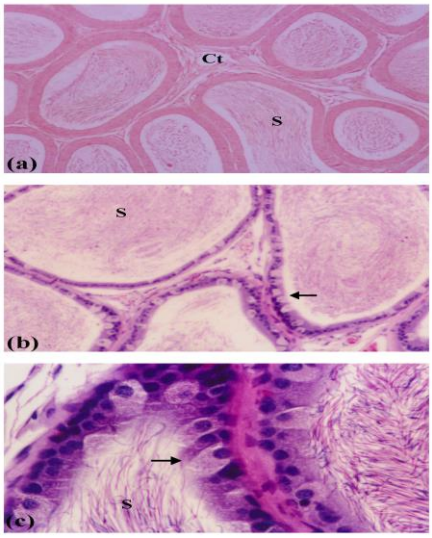


Fig. (5a-c): Cross sections of ducts epididymis of male rats.) (G_2,

المجموعات المعاملة (G_2-G_3)

أوضحت الدراسة الحالية عند فحص قطاعات البربخ للجرذان الصغيرة عمر ٣ أسابيع المعاملة بالجرعة المنخفضة (G_2) امتلاء تجويف البربخ بالخلايا المنوية الميتة necrotic cells وبقايا الطلائية الجرثومية المتقشرة بالخصى (Fig 4 b-d) ونقص ارتفاع الطلائية المبطنة للقناة وتحطم واضطراب بالحافة الفرجونية لها وزيادة سمك الغشاء القاعدى والطبقة العضلية المحيطة به وزيادة قابليتها للاصطباغ بـ (Fig 4 c) HgBPB و PAS

وفي جرذان المجموعة (G_2) المعاملة بالجرعة المنخفضة عند عمر ١٢ أسبوع لوحظ كبر حجم قناة البربخ ونقص في ارتفاع الطلائية المبطنة لها واحتوائها على خلايا مكعبة بها أنوية صغيرة داكنة ويلاحظ كثرة الخلايا الرائقة في بعض القطاعات (Fig 5 b,c) وقلة تواجدها في البعض الآخر (Fig 6) ويحتوى تجويف قناة البربخ على محتوى من الحيوانات المنوية أقل من الضابطة وقد لوحظ تحطم العديد منها وتواجد الخلايا الجرثومية الميتة والأجسام المتبقية في التجويف وتقصر الخميلات القمية في بعض المناطق وتتحطم في البعض الآخر (Fig 5, 6c) وقد تتحلل الطبقة العضلية المحيطة بالقناة ويسمك الغشاء القاعدى ويشتد اصطباغه HgPBP وكما تزيد قابلية طلائية القناة للاصطباغ بـ PAS و HgBPB مقارنة بالضابطة مع شدة اصطباغ الحبيبات القمية القليلة للخلايا الرائقة (Fig 6) وتشتد التغيرات النسيجية المرضية بقناة البربخ في المجموعة المعاملة بالجرعة العالية (G_3) بعد توقف المعاملة (PND_{22}) وبعد ١٢ أسبوع .

- وجد في الجرذان عمر ٣ أسابيع (Fig 7) أن قناة البربخ تتمدد ويتسع التجويف ويحتوى بداخله على بعض الخلايا الميتة والمتقشرة من الطلائية الجرثومية وأحياناً قليل من الافراز موجب الاصطباغ PAS (Fig 7a). وتقل قابلية خلايا الطلائية للاصطباغ في بعض القطاعات (Fig 7 a,c) وتصبغ بشدة في البعض الآخر ويلاحظ تحطم بعض أجزائها وتشوهها(Fig 12 b,d) وقد تتحلل طبقة العضلات الملساء المحيطة بالقناة (Fig 7a,d) أو تتحطم بعض أجزائها (Fig 7b).

وبالرغم من ظهور الحيوانات المنوية بقناة البربخ بعد ١٢ أسبوع من العمر لوحظ تحطم العديد منها وتواجد كميات كبيرة من الأجسام المتبقية بالتجويف وتقل بصورة واضحة الخلايا الرائقة بالطلائية المبطنة للأنبيبات (Fig 8 a-d). وقد تتشوة الانبيبات ويصعب تمييز خلايا الطلائية المبطنة لها (Fig 8 c,d).

- تأثير المعاملة الفمية المزمنة بالأوكتيل فينول على البربخ لذكور الجرذان البالغة

Effect of chronic administration of 4-tert-Octylphenol on the epididymus of adult male rats

أهتم هذا الجزء من البحث بدراسة تأثير المعاملة الفمية اليومية لمدة ثلاثة شهور بالأوكتيل فينول على ذيل البربخ لذكور الجرذان البالغة.

١-الحيوية Viability

لم يلاحظ تغييرات مظهرية أو سلوكية واضحة في الجرذان البالغة المعاملة يوميا بالجرعة المنخفضة (40 mg/kg bw) أوالعالية (120 mg/kg bw) خلال فترة المعاملة، كما لم تسجل حالات وفيات mortality خلال تلك الفترة وكما هو الحال في المجموعة الضابطة. بينما لوحظ نقص في معدل استهلاك الغذاء في الجرذان مع زيادة فترة المعاملة

٢- تركيز هرمون التستوسترون بالبلازما وعدد الحيوانات المنوية بالبربخ والتغيرات المظهرية في الحيوانات المنوية

يوضح جدول(٣)انخفاض معنوى ($P<0.01$) في متوسط تركيز هرمون التستوسترون بالبلازما وعدد الحيوانات المنوية بالبربخ في الجرذان المعاملة بالجرعة المنخفضة (G_2) والعالية (G_3) لمدة ١٢ أسبوعا مقارنة بالضابطة مع وجود فرق معنوى ($P<0.01$) بين المجموعة (G_2) والمجموعة (G_3) المعاملة بالاوكتيل فينول

وكما يتضح من جدول(٣) ارتباط النقص في متوسط عدد الحيوانات المنوية بذيل البربخ في الجرذان المعاملة بارتفاع نسبة الحيوانات المنوية غير الطبيعية بمسحات البربخ للجرذان المعاملة مقارنة بالضابطة ويبلغ نسبة الحيوانات المشوهه 27.20% و 68.02 في الجرذان المعاملة بالجرعة المنخفضة والعالية على التوالى بعد ثلاث أشهر من المعاملة مقارنة بالضابطة والتى تبلغ 6.39%.

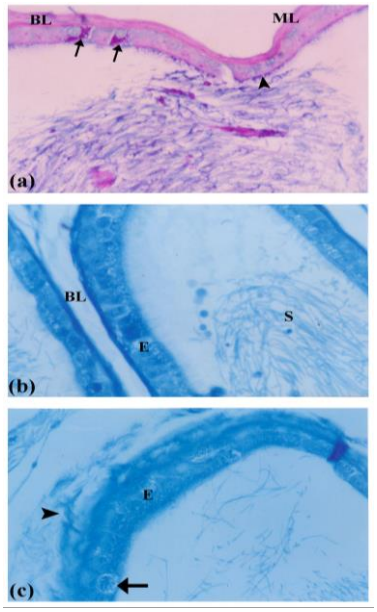


Fig. (6a-c): Portions of ductus epididymis of group G_2 treated male rats aged 12 weeks.

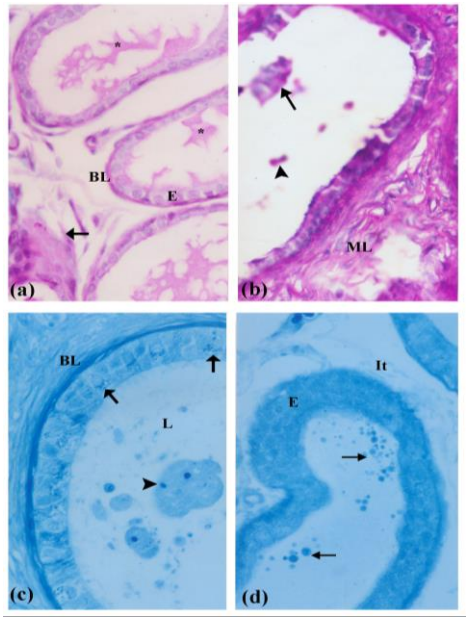


Fig. (7a-d): Transverse sections of ductus epididymis of male rats treated with high dose (G_3)

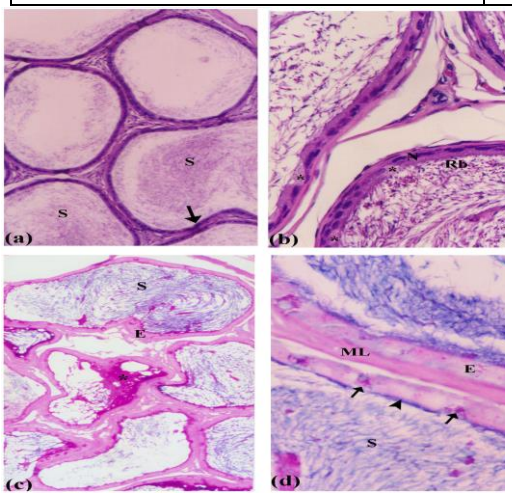


Fig. (8a-d): Transverse sections of ductus epididymusd of male rats trerated neonatally with Octylphenol and sacrified after 12 weeks of age.

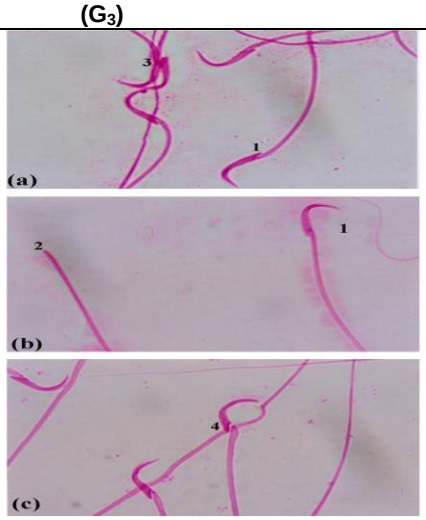
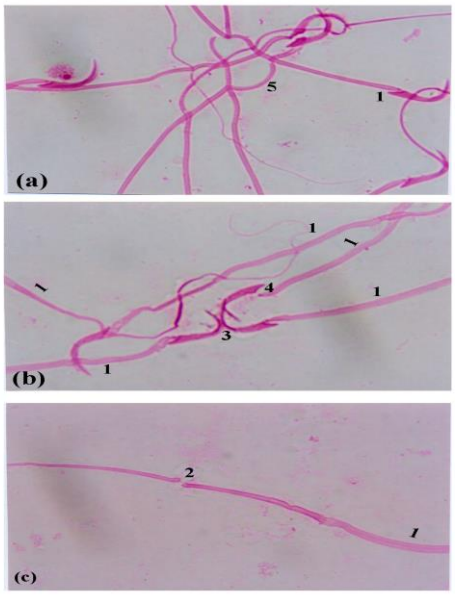


Fig.(9): Photographs of epididymal smears of adult male rat, stained with Eosin Y



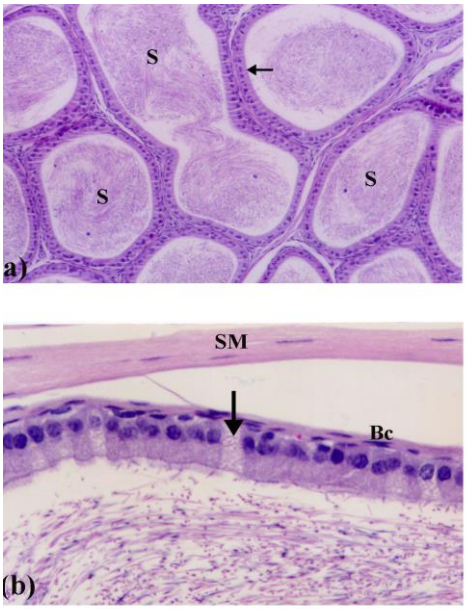
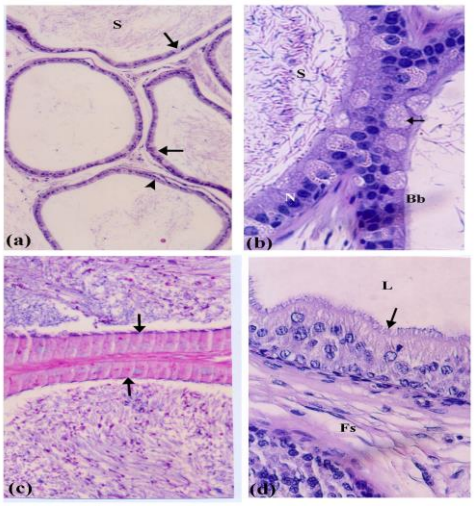


Fig. (10a,b): Photographys of epididymal smears of adult male rat, treated with high dose (G3)	Fig. (11a&b): Transverse sections of the ductus epididymis (EPI) of (G_1).



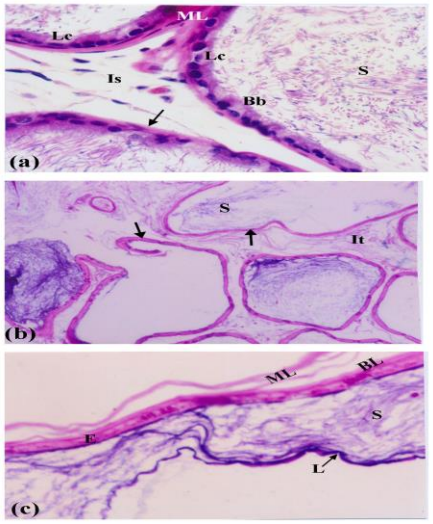


Fig. (12a-d): Transverse sections of the cauda epididymis (EPI) of adult male rat (G2).	Fig. (13a-c): Transverse sections of ductus epididymis (EPI) of adult male rats (G3) .

وتتمثل التشوهات في الحيوانات المنوية في الجرذان المعاملة بالجرعة المنخفضة (Fig e 9) بتضخم الذيل أو عدم تماثله في القطر(10%)وانفصال الرأس(7.20%) والانثناء أو الشق عند اتصال الرأس بالذيل(6.40%). وفي الجرذان المعاملة بالجرعة العالية (Fig 10) تمثل التشوهات بذيول بالحيوانات المنوية 45.69% من العدد الكلى للحيوانات المنوية بالمسحات بالإضافة إلى الانثناء أو الشق عند اتصال الرأس بالذيل(7.11%)وتجزئة الذيل(6.09%) وانفصال الرأس (5.08%).

*** التغيرات النسيجية المرضية في البربخ**

Histopathological changes in the epididymis

المجموعة الضابطة: (G_1)

أوضح فحص القطاعات العرضية لأنبوبة ذيل البربخ بالمجموعة الضابطة(Fig 11`a,b) تركيب نسيجى طبيعى وكما ورد في الدراسات السابقة للجرذان. حيث أنبوبة البربخ بطلائية عمودية تحمل حافة فرجونية على السطح المطل على التجويف. وتحتوى الطلائية العمودية على القليل من الخلايا القاعدية و بعض الخلايا الرئقة التى تتميز بسيتوبلازم محبب ولا تحمل اسطحها الحرة الخميلات الطويلة وتحاط انبوبة البربخ بغشاء قاعدى رقيق وطبقة من الخلايا الطلائية العضلية وطبقة من العضلات الملساء.

المجموعات المعاملة : (G_3 , G_2)

أوضح فحص قطاعات ذيل البربخ للجرذان البالغة بعد شهر من المعاملة بالجرعة المنخفضة (G_2) من OP نقص بالحيوانات المنوية بتجويف الانابيب.وتظهر الطلائية المبطنة للقطاعات طبيعية مع زيادة واضحة فى عدد الخلايا الباهتة فى البعض منها و التى تظهر متضخمة و مليئة بالحبيبات الايوسينية الاصطباغ وبعض الفجوات (Fig 12 a,b). وتؤدى زيادة مدة المعاملة نتيجة لزيادة الجرعة التراكمية إلى نقص ارتفاع الطلائية المبطنة لأنبوبة البربخ ونقص محتواها من الخلايا الرائقة ويلاحظ نقص حجم الخلايا الأساسية و صغر حجم أنويتها مع اندفاع البعض منها للحافة (Fig 12 c) بينما لوحظ في بعض القطاعات زيادة سمك الطلائية وتحولها إلى طلائية طبقية كاذبة واضحة حيث ظهرت الأنوية بها في مستويات مختلفة والحافة الفرجانية غير مستوية ومضطربة نتيجة نقص محتواها من الخميلات الطويلة (Fig 12,c) و قد ظهرت بعض قطاعات البربخ مليئة بالأجسام المتبقية وبعض الحيوانات المنوية(Fig 12 b,c) بينما لوحظ خلو التجويف في بعض القطاعات من الحيوانات المنوية(Fig 12a,d).

وتشتد الاضرار النسيجية بانبوب البربخ مع زيادة الجرعة المعطاه ويلاحظ عدم انتظام قطاعات البربخ و تحطم البعض منها ونقص واضح في سمك طلائية البربخ وتحطم الحافة الفرجونية وعدم تميز حدود الخلايا وتحلل العديد منها و تظهر الحيوانات المنوية قليلة و محطمة ومشوهة (Fig 13,a-c) و يحتوى التجويف على إفراز موجب الأصطباغ ب PAS ويزيد المحتوى الليفى بنسيج الحشوة بينما يقل الامداد الدموى بها. وقد يسمك الغشاء القاعدى ويشتد اصطباغه بـ PAS وقد تتحلل الطبقة العضلية المحيطة بالانبيبات (Fig 13 b,c).

المناقِشــة DISCUSSION

- أوضحت القياسات السيتوميترية نقص معنوى في متوسط قطر أكبر تجويف بذيل البربخ وزيادة غير معنوية بارتفاع الطلائية المبطنة له في الجرذان عمر ١٢ أسبوعاً للمجموعة المعاملة بالجرعة المنخفضة ونقص معنوى في المجموعة المعاملة بالجرعة العالية.
- أوضح الفحص النسيجى عدم انتظام وزيادة سمك الغشاء القاعدى لأنبوبة البربخ وتحطم بالحافة الفرجونية للطلائية المبطنة له وامتلأ التجويف بالخلايا المنوية المتقشرة والميتة وتحلل بنسيج الحشوة في الجرذان عمر ٣ أسابيع للمجموعة G_3, G_2 المعاملة.
- نقص في محتوى البربخ من الحيوانات المنوية وتشوهها واختفائها كلياً في بعض القطاعات للجرذان عمر 12 أسبوع للمجموعة (G_3) المعاملة بالجرعة العالية بالإضافة إلي تشوة بؤرى بطلائية البربخ وتقشر بعض أجزائها وإندافاعها للتجويف وتحطم بالخلايا الرائقة ونقص محتواها الحبيبى.

أحدثت معاملة الجرذان البالغة بالجرعة المنخفضة من الاوكتيل فينول نقص بالحيوانات المنوية بتجويف الانبيبات وزيادة الخلايا الرائقة ومحتواها الحبيبى بالطلائية المبطنة للانبيبات واضطراب بحافتها الفرجونية ومع زيادة مدة المعاملة قل سمك طلائية البربخ نتيجة صغر حجم الخلايا الأساسية واضطراب الحافة الفرجونية وتحطمها ونقص محتوى الطلائية من الخلايا الرائقة ومحتواها الحبيبى وأمتلأ التجويف بالأجسام المتبقية من الطلائع المتحولة وبعض الحيوانات المنوية بينما لوحظ زيادة بؤرية في سمك طلائية البربخ وتحطم حافتها الفرجونية في بعض القطاعات.

أدت زيادة الجرعة المعطاه (G_3) ومدة المعاملة إلي نقص واضح في ارتفاع طلائية البربخ وتحطم حافتها الفرجونية وزيادة سمك الغشاء القاعدى لانابيب البربخ وظهرت الحيوانات المنوية بالتجويف مشوهه ومحطمة واختفت كلياً من بعض القطاعات وقل المحتوى الخلوى وزاد المحتوى الليفى بالنسيج البينى وكما قل الامداد الدموى للخصى.

وعلى الرغم من أن الهرمونات الذكرية تلعب دور سائد في نمو الغدد التناسلية فإن العديد من الهرمونات الأخرى وعوامل

النمو يمكن أن تؤثر على وزن الغدد التناسلية ونشاطها الإفرازى وتشمل على الغدة الدرقية، هرمونات النمو، الهرمون المدر للبن (Luke and Golley, 1994) وكما يحدث الاعرض للمواد الاستروجينية ومنها OP نقص في حجم الغدد التناسلية (Boockfor and Blake, 1997). وتوضح الدراسة الحالية أن المقارنة المظهرية لحجم الغدد التناسلية ومستوى هرمون التستوسترون بالبلازما يحدث بهما تثبيط متوازى في الجرذان المعاملة بـ OP خلال الحياة الجينية والإرضاع والفترة المبكرة بعد الولادة.

كما أوضحت الدراسة أن متوسط وزن الجسم في الجرذان البالغة (عمر شهرين) المعاملة بالجرعة المنخفضة والعالية يزيد مع زيادة العمر خلال فترة التجربة ولكن بمعدل أقل مقارنة بالضابطة ويصل معدل الاكتساب في الوزن بعد ثلاث أشهر من المعاملة 20% في الجرذان المعاملة بالجرعة المنخفضة والعالية مقابل 40% في الجرذان الضابطة وذلك بالنسبة للوزن عند بداية التجربة وقد أعزى de Juger *et al.,* (1999) الانخفاض في وزن الجرذان البالغة المعاملة بـ NP إلى تأثير على الشهية أو الصحة العامة وبالتالى وزن الجسم وأن التأثير عند الجرعة المنخفضة يعزى إلى التجمع البيولوجى للملوث نتيجة طول فترة المعاملة. كما أوضحت دراسة Blake and Boockfor (1997) أن كل من OP و EV يثبط استهلاك الغذاء.

كما أحدثت معاملة ذكور الجرذان البالغة بـ OP في الدراسة الحالية نقص في الوزن المطلق والنسبي للأعضاء بالقناة التناسلية مقارنة بالضابطة. وقد ارتبط معدل النقص بزيادة الجرعة المعطاه ومدة المعاملة وقد أكدت القياسات السيتوميترية والتي تعد عامل حساس لسمية القناة التناسلية هذه النتيجة حيث تناقص متوسط قطر الانبيبات المنوية وارتفاع الطلائية الجرثومية بالخصي وارتفاع الطلائية المبطنة للبربخ ونقص ارتفاع الطبقة المخاطية وسمك الطبقة الطلائية لها في الغدد التناسلية المساعدة كان النقص معنوياً قويا مع زيادة مدة المعاملة والجرعة المعطاه.

وكما ينخفض متوسط تركيز هرمون التستوسترون بالبلازما وعدد الحيوانات في الجرذان المعاملة بـ OP وخاصة المعاملة بالجرعة العالية مقارنة بالجرعة المنخفضة والضابطة بعد ٣ شهور وتمثلت بالتشوهات بذيول الحيوانات المنوية في حوالى 45.7 من العدد الكلى للحيوانات المنوية بذيل البربخ بعد ٣ شهور من المعاملة في الجرذان المعاملة بالجرعة العالية مما يؤثر مؤشر لتأثير OP على الخصوبة الذكرية وتتفق النتائج الحالية مع دراسة Boockfor & Blake, 1997 التي أوضحت أن معاملة ذكور الجرذان البالغة بجرعة قدرها 80 mg/kg من OP أو جرعة قدرها 8µg من الهرمون الطبيعى لمدة ١ أو ٢ شهر تحدث تغيرات مرضية بالقناة التناسلية متمثلة في صغر حجم الأعضاء، إضطراب في التنظيم التركيبي النسيجي والقياسات السيتوميترية لها ونقص عدد الحيوانات المنوية وزيادة المظاهر غير الطبيعية برءوس وذيول الحيوانات المنوية. وقد استنتجوا من دراستهم أن كل من OP و EV تثبيط القدرة التناسلية الذكرية بطريقة مماثلة بينما لم تحدث معاملة ذكور الجرذان البالغة بالاوكتيل فينول لمدة ٤ شهور مضافاً إلي ماء الشرب وحتى عند الجرعة العالية (1×10^{-3}M) أى تأثير على الصحة العام أو على الجهاز التناسلى أو عدد الحيوانات المنوية بالبربخ بينما لوحظ زيادة المظاهر غير الطبيعية بذيول الحيوانات المنوية مما يؤثر على الخصوبة الذكرية (Blake *et al.,* 2004).

وربما يدعم حدوث التشوهات في ذيول الحيوانات المنوية وخاصة في الجرذان البالغة المعاملة بـ OP في الدراسة الحالية استخدام NP و OP كمبيد للتطاف لمنع الحمل وخفض معدل الاخصاب حيث تثبط حركة الحيوانات المنوية (Leung & Bllantyne, 1999). كما يدل تلاصق الحيوانات المنوية على حدوث بعض التغيرات الانحلالية على سطح الحيوان المنوى (Aydogan and Barlas, 2006) .

وكما ذكر العلماء Blake and Bookfor (1997) أن المعاملة المزمنة لذكور الجرذان البالغة OP بتداخل مع إفراز هرمونات الفص الأمامى للغدة النخامية (PLH, FSH, LH) والهرمون الذكرى التستوسترون ويحدث نقص في وزن الجسم والأعضاء بالقناة التناسلية ومماثلا في عملية للهرمون الطبيعي EV (Kalra *et al.,* 1973).

وقد أوضحت دراسة White *et al.,* (1994) أن OP يتحد ضعيفاً مع مستقبلات الاستروجين في المزارع النسيجية invitro وبالرغم من أن التجارب على الكائنات الحية أوضحت أن OP يحدث تأثير مماثل

للمواد الاستروجينية (Gray and Ostby, 1998) والتي تعادل تقريباً أو تزيد السعة الأيضية للكبد (Certa *et al.,* 1996) فإن قوة التأثير الاستروجيني للـ OP تتراوح بين مائة ضعف أقل من الهرمون الطبيعي في التجارب غير الحية وإلى أقل من عدة مرات في الأنظمة الحية.

ومن المعروف أن الجزء الأكبر من الجهاز التناسلي الذكرى يعتمد على هرمون التستوسترون T أولاً: تتوقف عملية تكوين الامشاج الذكرية في غياب هذا الهرمون. فقد ذكر Sharpe *et al.,* (1990) أن توقف إفراز هرمون T بتحطيم خلايا ليدج يحدث اضطراب في عملية تكوين الامشاج الذكرية والذي يظهر بوضوح في الطلائية المنوية عند مرحلة الطلائع المتحولة والتي تحدث قبل إطلاق الحيوان المنوى مباشراً والتي تؤثر أساساً على الخلايا المنوية الأولية في مرحلة Pachytene من الانقسام الختزالى الأولى والطلائع الدائرية والطويلة، حيث يؤدى تحطم الخلايا المنوية في مرحلة pachytene والطلائع الدائرية إلي نقص واضح في عدد الحيوانات المنوية ويؤدى تحطم الطلائع المتقدمة إلي ظهور التغيرات الغير طبيعية بالحيوانات المنوية مثل نمو الاكروسوم والذيل (Ghadially, 1996).

ثانياً: يحدث نقص أو غياب هرمون T تغيرات مرضية في الغدد التناسلية كما يحدث عند إزالة الخصى (Moore *et al.,* 1930) والمعاملة بالاستروجينات الخارجية مثل OP (Bookfor and Blake, 1997) وتؤكد الدراسة الحالية النتائج السابقة فقد أحدث المعاملة بالجرعة المنخفضة لمدة ٣ اشهر صغر حجم الانبيبات المنوية ونقص حاد بالحيوانات المنوية واضطراب بالطلائية الجرثومية وتنكرز بالخلايا المنوية وتقشر بقمم خلايا سيرتولى واندفاع البعض منها بعيد عن الغشاء القاعدى. كما لوحظ الرشح البلازمى وتكاثر الأوعية الدموية وزيادة عدد خلايا ليدج وظهور الفجوات بها وتؤدى المعاملة بالجرعة العالية إلي انتاشر بؤر من الخلايا المنوية المتنكرزة وتواجد الخلايا الضخمة عديدة الأنوية والنقص الحاد بخلايا سيرتولى وأمهات المنى وظهرت خلايا ليدج قليلة بأنوية ضامرة وسيتوبلازم شديدة الاصطباغ.

وربما يعزى تواجد الخلايا الضخمة عديدة الأنوية إلى التحام أكثر من خلية التهابية قدمت إلى الانبيبات للتخلص من الخلايا المنوية التالفة أو التحام بعض الخلايا المنوية التالفة في مدمج خلوى (Ghadially *et al.,* 1996).

وقد أثبت العديد من الدراسات موت الخلايا المنوية وتقشر الخلايا السليمة والطلائع غير الناضجة والحيوانات المنوية في خصى الحيوانات المعاملة بجرعات غير حادة متكررة من الكيماويات (لخصت بواسطة العلماء Saraiva *et al.,* 2006).

وقد أعزى Sun *et al.,* (1990) تقشر الخلايا السليمة إلي نقص مستوى هرمون FSH بينما أعزى Russell *et al.,* (1981) تقشر الخلايا إلي تثبيط تكوين الانبيبات الدقيقة في خلايا سيرتولى مما يؤدى إلي اضطراب الارتباطات الخلوية الطبيعية وتثبيط الانقسام الميتورى للخلايا المنوية الثانوية. وذكر العلماء Boockfor and Blake, (1997) أنه عند نقص أو عدم وجود هرمون LH فإن خلايا ليدج تضمر وبتوقف إنتاج هرمون التستوسترون بها.

REFERENCES المراجع

Auger, J., Kunstmann, J.M., Czyglik, F. and P. Jouannet (1995): Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past during the past 20 years - New Eng. J. Med., 332: 281 – 285**.**

Aydogan, J.T. and L.C. Barlas (2006): Effect of prenatal exposure to 4-tert-octylphenol on the reproductive tract of male rat at puperity. J. Anat. 207: 797-811.

Blacke, C.A.; Boockfor, F.R.; Nair J.U. and G.L. Mccoy (2004): 4-tert-Oclylphenol given in drinking water for 4 months on the male reproctuctive system of fischer 344 rats. Reproduction 122, 277-234.

Blake, C.A. and F.R. Boockfor (1997): Chronic administration of the environmental pollutant 4-tert-octylphenol to adult male rats interferes with the secretion of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, prolactin, and testosterone. Biology of Reproduction 57: 255-266.

Bancroft, J.D. and A. Stevens (1977): Theory and practice of histological techniques. Longman Inc. New York, 1st Ed. P240.

Blacke, C.A.; Boockfor, F.R.; Nair J.U. and G.L. Mccoy (2004): 4-tert-Oclylphenol given in drinking water for 4 months on the male reproctuctive system of fischer 344 rats. Reproduction 122, 277-234.

Cavazos, L.F. (1975): Fine structure and functional correlates of male accessory sex gland of rodents. Department of Anatomy, Tufts University, School of Medicine, Boston, Massachusetts.

Certa, H. Fedtke, N. Weighand, H.J. Muller A.M.F. and H.M. Blot (1996): Toxicokinetics of p-tert-octylphenol in male Wistar rats. Arch Toxicol, 71: 112-22.

Chvapil, M., Ulreich J.B., O. Dea and K. Betts (1985): Studies on nonoxynol-9 III Effects on fibroblasts and spermatozoa. Fertil steril, 33: 521-525.

de Jager. C., Bornman M.S., Wandrag S., and V.W. Sharpe (2001): The lethal dose and potential reproductive effect of p. nonylphenol in rats:a prilimanary study. Arch Androl. 46: 183 - 187

de Jager C., Boruman M.S. and G. Vander Horst (1999): I. The effect of p-nonylphenol, an environmental Toxicant with oestrogenic properties on fertility parameters in male rats. Andrologia 31: 99-106.

Furuya, M., Adachi K. Qgawa K. and Y. Tsukamota (2006): Inhibition of spermatogenesis by Bisphenol-A. life Science, 78, 1767-1776.

Feagans, W.M., L.F. Cavazos and A.T. Ewald (1961): A morphological and histochemical study of estrogen-induced lesions in the hamster male reproductive tract. Am. J. Anat. 108: 31-46.

Ghadially, F.N. (1996): Ultrastructure pathology of the cell and matrix. Atext and Atlas of physiological and pathological alterations in cell fine structure. Butter worths London and Boston, 790 pp.

Gray, L.E. and J. Ostby (1998): Effects of pesticides and toxic substances on behavioral and morphological reproductive development endocrine versus nonendocrine mechanisms. Toxicol Ind Health, 14: 159-84.

Jobling, S. and Sumpter, JP, (1993): Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: An in vitro study using rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) hepatocytes, Aquat. Toxicol., 27, 361-372.

Junqueira, LC, Carneiro J, and RO, Kelley, (1998): Basic Histology, a LANGE medical book ninth edition, Copyright by Appleton and lange 260pp.

Katsuda, S., Yoshida M., Watanabe G., Taya K. and A. Maekawa, (2000): Irreversible effects of neonatal exposure to *p-tert*-octylphenol on the reproductive tract in female rats. Toxicol Appl Pharmacol; 165:217-226

Laws, S.C., Carey S.A., Ferrell J.M., Bodman G.J. and R.L., Cooper, (2000): Cooper RL, Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. Toxicol Sci; 54: 154 - 67.

Luke, M.C., and D.S., Coffey, (1994): The male sex accessory tissues: structure androgen action, and physiology. In: Knobil E, Neill J.D. the physiology of Reproduction second Edition, New York: Raven Press; 1: 1435-1487.

Moore, C.R., Price, D., and T.F., Gallaghar, (1930a): Rat rostate cytology as testis-hormone indicator. Anat. Record 37: 18-22.

Moore, C.R., W., Hughes and T.F., Gallagher, (1930b): Rat seminal-Vesicle Cytology as a Teseis-hormone indicator and the Prevention of Castration Changes by testis-extract injection. AM. J. Anat. 45: 109-135, 1930.

Nagao T., Saito Y., Usumi K., Nakagomi M., Yoshimura S., and H., Ono, (2000): Disruption of the reproductive system and reproductive performance by administration of nonylphenol to newborn rats. Hum. Exp. Toxicol.19:284-96.

Nagao T., Yoshimua S., Saito Y., Nakagomi M., Usumi K. and H. Ono, (2001): Reproductive effects in male and female rats of neonatal exposure to Genistein. Reprod Toxicol; 15:399 -411.

Nagao T., Yoshimura S., Saito Y., Nakagomi M. Usumi K. and H. Ono (2001b): Reproductive effects in male and female rats from neonatal exposure to *p*-octylphenol. Reprod Toxicol 15: 683-92.

Nimrod A.C., and Benson W.H., (1996): Environmental estrogenic effects of alkylphenol ethoxylates. Crit Rev Toxicol; 26:335-64.

Petit, F., LeGoff, P., Cravedi, J., Kali, O., and F. Pakdel, (1999): Trout oestrogen receptor sensitivity to xenobiotics as tested by different bioassays. Aquaculture, 177: 353-365.

Raloff, J. (1994 b): The gender benders Are environmental (hormones) enasculating wildlife? science News 145:24-27.

Russell, L.D., Malone, J.P. and S.L. Karpas, (1981). Morphological pattern elicited by agents affecting spermatogenesis by disruption of its hormonal stimulation. Tissue and Cell 13, 369-380.

Safe, S. (1994): Dietary and environmental estrogens and antiestrogens and their Possible role in human disease, Environ Sci. Pollut. Resl, 29

Saraiva, K.L., Silva, V.A., and C.A., Peixoto, (2006): Morphological changes in the testis induced by diethylcarbamazine. J. Medi, 542: 18-32.

Sharpe, R.M. (1994): Regulation of spermatogenesis. In: The physiology of reproduction, 2nd ed (Knobil E, Neill JD, eds). New York: Rven Press; 1363-1434.

Sharpe R.M., Fisher J.S., Millar M.M., Jobling S., and J.P., Sumpter (1995): Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production. Environmental Health Perspectives; 103: 1136-1143

Sun Y.T., Wreford N.G., Robertson D.M., and de D.M., Kretser Quantitative (1990): Cytological studies of spermatogenesis in intact and hypophysectomized rats: Identification of androgen-dependent stages. Endocrinology; 127: 1215-1223.

Toppari, J., Larsen, J.C., Chris Tianseu, P., Giwercmau, A.P., Grandjean and *et al* (1996): Male reproductive health and environmental xenoestrogens. Environ. Health prospect, 104: 741 - 803.

White, R., Jobling, S., Hoare, S.A., Sumpter, J.P., and M.G. Parker (1994): Environmentally persistent alkyphenolic compounds are estrogenic, Endocrinology 135 (l), 175-182.

Wistuba, J., Brinkwrth, M.H.; Schlatt, S.; Chahoud, I. and E. Nieschlag (2003). Intrauterine bisphenol A exposure leads to stimulatory effects on Sertoli cell number in rats. Environ. Resear., 91: 95 - 103.

Wyrobek, A., Gordon L.A., Burkhert M.W., Kapp R.W. and *et al*., (1983): An evaluation of the mouse sperm morphology test and other sperm tests in non human mammals. Mutation Resear., 115: 1-72. Elsevier Biomodic.Press.

HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL STUDY ON ADULT MAIL RATE AND NEW BORN PUBERAL EXPOSURE TO ALKYLPHENOL (OCTYLPHENOL) ON THE SUBSEQUENT DEVELOPMENT OF EPIDIDYMUS .

Batarfi, Nafisa M.; Al-Saydah H. Abdel–Aziz and Rahma A. Alelyani
Girls Faculty of Science, King Abd El-Aziz University, KSA.
P.O.Box.(127334) Jeddah (21352)

[

ABSTRACT

4-tert-octylphenol is a prevalent environmental pollutant that has been shown to expert both toxic and estrogenic effect on mammalian cells in culture. The effects of OP on the reproductive system of adult male vertebrates especially humn., rats were administered OP orally at doses of 40 or 120 mg/kg once daily on postnatal day 1 through 21 to examine the effects of neonatal exposure to OP on reproductive tract of male rats at pupertyadult male rats were treated orally with OP (40 or 120 mg/kg bw) daily for either 1 or 2 months to study the effect of chronic exposure to OP on the reproductive potential and fertility of adult male rats. In addition, serm testosterone concentration, sperm count and morphology and histopathological and ultrastructural changes of reproductive organs of male rats were examined.**:**

- Relative weights of testis, epididymis diameter of maximum epididymal lumen, insignificant Cytometrmeasurements revealed decrease in the average increase in lininge epithelial height in the group treated by the lower dose and a significant decrease in the G_3 treated group..
- In male rats of treated group G_3 reduction and deformation of epididymal sperm were observed compared to control at 12 weeks of age. In addition to, deformation and sloughing of lining diameter of maximum epididymal lumen, insignificant - Cytometric measurements revealed decrease in the average increase in lininge epithelial height in the group treated by the lower dose and a significant decrease in the G_3 treated group..

قام بتحكيم البحث

أ.د / عمر عبد الحميد نصار	**كلية الزراعة – جامعة المنصورة**
أ.د / سامي إبراهيم أبو العلا شلبي	**المركز القومي للبحوث**

Table (2):

Table (3):

Table (2):

Table (3):

Table (2):

Table (3):

Table (2):

Table (3):