تأثير المعاملة بجرع مختلفة من كلوريد الزئبق الميثلي على الجهاز التكاثري لذكور الفئران البيض

سهير عبدالفتاح محمد البنا

معهد الطبي التقني/ المنصور

تاريخ استلام البحث:2011/1/9 - تاريخ قبول النشر: 2011/1/14

المستخلص

تناولت الدراسة تأثيرات حقن كلوريد الزئبق المثيلي تحت الجلد (Subcutaneous S/C) في ذكور الفئران البيض السويسرية من سلالة (بالب سي) على الجهاز التكاثري. وحقنتان بالتراكيز 2ر1، 2 و8ر2 ملغم/ كغم من وزن الجسم بالاضافة الى مجموعة السيطرة (zero) على المؤشرات الحياتية الاتية:

1- المظهر العام للخصى واوزانها.
2- التغيرات لكل من معدل اقطار النبيبات ناقلة المني والنسبة المئوية للنبيبات المتضررة.
3- التغيرات من معدل اعداد الخلايا المكونة للنبيبات ناقلة المني المسؤولة عن نشأة النطف (أسلاف النطف، الخلايا النطفية الاولية والثانوية، طلائع النطف وخلايا سرتولي).

أظهرت المعاملة بكلوريد الزئبق المثيلي تأثيراً سمياً ضاراً على خصية الحيوانات وتناسب طردياً مع التراكيز والجرع المستعملة.

وكما اوضحت الدراسة النسيجية ان لكلوريد الزئبق المثيلي عند المعاملة بالتراكيز المستعملة ادت اي حدوث انخفاض معنوي ملحوظ في معدل اقطار النبيبات ناقلة المني وحدوث تضرر واضحاً فيها ازداد تدريجياً بزيادة التراكيز والجرع المعطاة.

وبينت الدراسة حدوث تضرر معنوي ملحوظ في الخلايا المكونة للنطف حيث كانت خلايا طلائع النطف اشدها تضرراً وخاصة في المجاميع المعاملة بالتراكيز العالية، بينما كانت كل من الخلايا النطقية الاولية والثانوية وأسلاف النطف اكثر مقاومة للتأثير الضار للزئبق العضوي.

المقدمة:

رغم قلة الدراسات التي أجريت لمعرفة تأثير الزئبق على عمل الجهاز التكاثري الذكري، الا ان هناك دلائل الى ان الزئبق واحد من أهم العناصر الملوثة، كونه يدخل في صناعات عديدة، ويتميز بصفة تراكمية في السلسلة الغذائية (Who, 2006). وتعد مركبات الزئبق العضوية من أخطر ملوثات البيئة كونها ذات سمية شديدة على مختلف الافعال الايضية للكائن الحي (Guyton and Hall, 2006)، ومن الممكن تعرض الانسان للتسمم البطئ بالزئبق العضوي اذا ما تناول كميات كبيرة ومتواصلة من السمك الاعتيادي لكونه يحتوي على تراكيز متراكمة من الزئبق تشكل جرعة يومية مقدارها 5ملغم/ كغم من وزن الجسم (Berlin, 1979). واشارت بعض الدراسات على قلة النطف وحدوث عقم على كل خمسة رجال من اصل سبعة عشر عاملاً من الذين يتعرضون لاكاسيد الزئبقيك الذي يدخل في صناعة الخلايا الكهربائية في معامل البطاريات (Nriagu, 1979)، وكما لاحظ ورين وجماعته (Wren et al., 1987) وجود تشوهات مظهرية في ذيول النطف المأخوذة من رحم اناث المنك مباشرة بعد مزاوجتها مع ذكور معاملة بـ 5ر0، 1 مايكرو غرام من الزئبق الميثلي/ كغم من وزن الجسم عن طريق الغذاء.

صممت هذه التجربة لدراسة تأثير الجرع المتباينة من كلوريد الزئبق الميثلي على الجهاز التكاثري وخاصة الخصى ومعدل اقطار النيبات ناقلة المنى (خلايا سرتولى، الخلايا أسلاف النطف، والخلايا النطفية الاولية والثانوية، وطلائع النطف).

المواد وطرائق العمل:

استخدم في هذه التجربة 112 فأراً أبيض ذكراً، سويسرياً من سلالة Balb C وتم ايواء الحيوانات في ظروف معيشية متشابه ودرجات حرارة متساوية (20-30 ْم)، وكانت تتغذى عليقة القوارض والماء بالطريقة الحرة ad libitume ومنذ اسبوع قبل بداية الحقن لغرض التعود على ظروف التجربة، قسمت هذه الحيوانات الى اربع مجاميع رئيسية، احتوت كل مجموعة منها على 28 فأراً، عوملت كل مجموعة اساسية منها كما يأتي:

- **المجموعة الرئيسية الاولى:** حقنت بالمحلول الملحي الفسيولوجي (9ر0%) كغم من وزن الجسم.
- **المجموعة الرئيسية الثانية:** حقنت بتركيز 2و1 ملغم/ كغم من كلوريد الزئبق المثيلي/ كغم من وزن الجسم.
- **المجموعة الرئيسية الثالثة:** حقنت بتركيز 2ملغم/ كغم من كلوريد الزئبق المثيلي/ كغم من وزن الجسم
- **المجموعة الرئيسية الرابعة:** حقنت بتركيز 8و2 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي/ كغم من وزن الجسم

ثم وزعت كل مجموعة رئيسية الى اربع مجاميع ثانوية تضمنت كل منها سبعة فئران، حقنت المجموعة الثانوية الاولى بجرعة واحدة وشرحت بعد اسبوع، وحقنت المجموعة الثانية بجرعتين وشرحت بعد اسبوعين، والثالثة حقنت بثلاث جرع وشرحت بعد ثلاث اسابيع والمجموعة الثانوية الرابعة حقنت باربع جرع وشرحت بعد اربعة اسابيع.

وجميع الحيوانات حقنت بـ 1ر. مليلتر من كل تركيز من التراكيز السابقة وتم الحقن قرب نهاية الجهة الظهرية المجاورة للذنب تحت الجلد (Subcutanaus S/C).

(Okada and Oharazawa, 1967)

تم وزن الذكور في بداية كل تجربة قبل الحقن مباشرة ثم وزنت مرة اخرى في نهاية التجارب وبعدها تم تخديرها باستعمال محلول ثنائي ايثيل اثير Diethyl ether. تم التشريح وفتح التجويف البطن ثم استئصال الخصى وتم وزنها بميزان حساس (Mettler Balance PII)، ودراسة وتسجيل التغيرات المظهرية الطارئة للخصية ثم ثبتت بأستخدام المثبت باون (Boun's Fixatur solution) لغرض تحضير شرائح مجهرية منها (Culling, 1980).

حضرت المقاطع النسيجية بأستخدام طريقة هيوماسون (Humasan, 1967) وصبغت جميع المقاطع النسجية بأستعمال الصبغة المزدوجة الهيماتوكسالين والايوسين الكحولي، وتمت عملية الارساء (Mounting) وتغطية المقاطع النسيجية بالغطاء الزجاجي باستعمال الكندا بلسم (Canada balsam).

أختيرت خمس شرائح نسيجية من كل حيوان للدراسة النسيجية المرضية، وبمعدل 35 شريحة نسيجية لكل مجموعة ثانوية (كل مجموعة تحتوي على 7 فأرا)، ثم اختير مقطعين من مقطع الخصية في كل شريحة ومن المواقع نفسها في جميع الشرائح، فبلغ معدل ما تمت دراسته من المقاطع النسيجية 70 مقطعاً لكل مجموعة ثانوية من المجاميع الثانوية الستة عشر لمجموعات الحيوانات المعاملة بالجرعات المختلفة من الزئبق الميثلي والمحلول الملحي الفسيولوجي. بلغ بذلك عدد المقاطع النسيجية المدروسة 1120 مقطعاً للمعاملات المختلفة.

فحصت أثنين من النبيبات ناقلة المنى (Seminiferous tubules) من كل مقطع من هذه المقاطع وبمعدل اربع نبيبات ناقلة للمنى لكل شريحة نسيجية، اي عشرون نبيباً ناقلاً للمنى للحيوان الواحد (خمس شرائح لكل حيوان)، و140 نبيباً لكل مجموعة ثانوية، وبلغ معدل ما درس من نبيبات ناقلة للمنى في هذه الدراسة 2240 نبيباً ناقلاً للمنى [7 عدد

الفئران في كل مجموعة ثانوية × 5 عدد الشرائح المدروسة لكل فأراً × 4 عدد النبيبات ناقلة المنى المدروسة في مقطعين لكل واحدة من هذه الشرائح × 16 عدد المجموعا الثانوية].

حسبت الخلايا المسؤولة عن نشأة النطف والمكونة للنبيبات ناقلة المنى في الخصية حسب طريقة العلوجي وجماعته (Alwachi and balash, 1988; Alwachi et al., 1986). والتي شملت

1- خلايا سرتولى ..... Sertoli- cells

2- أسلاف النطف..... Spermatogonia

3- الخلايا النطفية الاولية والثانوية ..... Pri, and sec. spermatocytes

وقد تم حساب اعداد الخلايا النطفية الاولية والثانوية كمتغير واحد لصعوبة التميز بينها بالمجهر الاعتيادي (Alwachi and Balash, 1988) وقورنت النتائج على هذا الاساس.

4- طلائع النطف Spermatids

فحصت جميع المقاطع بالمجهر المركب

تم قياس قطر 20 نبيباً ناقلاً للمني في كل شريحة وبمعدل 100 نبيب للحيوان الواحد (20 نبيباً × 5 عدد الشرائح لكل حيوان = 100 نبيب لكل حيوان. وبمجموع 700 نبيباً لكل مجموعة ثانوية واحدة من المجاميع المختلفة في التجربة (100×7 عدد الفئران في كل مجموعة ثانوية واحدة).

وقيست النبيبات ناقلة المنى بأخذ متوسط القطرين العمودي والافقي وذلك بأستخدام المقياس العيني الذي تم تعيره بأستخدام الدقيق المتري المسر حي (Micrometer stage).

حسبت النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المنى المتضررة حسب الطريقة التي اتبعها بلاش (Balash et al., 1987) وذلك بحساب العدد الكلي للنبيبات ناقلة المني والمتضررة منها، ثم حساب النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المني المتضررة.

النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المنى المتضررة = عدد النيبات المتضررة/ عدد النيبات الكل × 100.

شكل-١: مقطع عرض لخصية فأر من المجموعة المعاملة بأربع جرع من المحلول الملحي الفسيولوجي، لاحظ سمك الظهارة المنوية الطبيعي (١) وتواجد النطف في مركز النبيب (٢) ووجود خلايا ليدج (٣) وعدم تضرر الخلايا.
H+E-X560

شكل-٢ : مقطع عرضي لخصية فأر معامل بثلاث جرع من تركيز ٢ ملغم/ كغم من كلوريد الزئبق المثيلي ، نلاحظ اختفاء النطف وخلايا الظهارة المنوية كلياً وضمورها (١) ووجود الحطام النخري في معظم النبيبات (٢).
H+E- X560

التصوير المجهري:

صورة المقاطع النسيجية باستعمال المجهر المركب أولمبس Olympus Compound Microscope BH_2. المزود بألة تصوير (كاميرا) C35AD Camera كما في (الشكل 1و2).

التحليل الاحصائي:

حللت جميع نتائج التجربة بأستعمال التحليل ذو العامل المنفرد للتغير (Single factor analysis of variance) كما استعملت الاختبارات الاحصائية الاتية:

X-chi-square test, Student st-test and SNK (student neymen-Keuls multiple range test (zar, 1974). باستخراج المعاير الاتية:

المتوسط الحسابي (Mean X) والانحراف المعياري (Standard deviation SD) والخطأ المعياري (Standard error SE).

النتائج

التغيرات المظهرية والوزنية في الخصى بعد المعاملات المختلفة

اظهرت المجاميع المعاملة بالزئبق العضوي تغيرات في لون الخصى وحجمها وقوامها وازدادت شدة هذه التغيرات مع زيادة التراكيز والجرع المستعملة. فقد لوحظ ان المعاملة بجرعة واحدة او جرعتين 2ر1 و2 ملغم من كلوريد الزئبق الميثلي او جرعة واحدة من تركيز 8ر2 ملغم من كلوريد الزئبق الميثلي/ كغم من وزن الجسم. تؤدي الى احتقان وتوتر طفيف في الاوعية الدموية المنتشرة في كيس الصفن (Scrotum) الذي يغلف الخصية. اما المعاملة بثلاث جرع من التركيز 2ر1 وجرعتين من التركيز 2 ملغم/ كغم او جرعة واحدة من 8 و2 ملغم/ كغم ادت الى زيادة درجة الاحتقان، حيث اصبح قوام الخصية شديد الليونة وغير متماسك (هش) وعند المعاملة بأربع جرع من التراكيز 2ر1 و 2 ملغم/ كغم وثلاث جرع من التركيز 8ر2 ملغم/ كغم بدأ حجم الخصى يصغر بدرجة كبيرة وتغير لونها الى ابيض شاحب مائلاً للاصفرار. وقد ازداد هذا الشحوب والاصفرار بدرجة كبيرة في خصى الحيوانات المعاملة بثلاث او اربع جرع من التراكيز2 و8ر2 ملغم/ كغم، اما حيوانات مجموعة السيطرة فلم تظهر اي تغيرات في لون وقوام وحجم الخصى.

ويظهر (الجدول -1) حدوث انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل وزن الخصى للمجموعة المعاملة بجرعتين من التراكيز 2 و 8ر2 ملغم/ كغم من وزن الجسم وثلاث جرع من التراكيز 2ر1 و2 ملغم/ كغم من وزن الجسم، كما يظهر انخفاض معنوي مقداره ($P<0.01$) للمجموعة المعاملة بثلاث جرع من أعلى تركيز (8ر2 ملغم/ كغم) ولوحظ أشد انخفاض معنوياً ($P<0.001$) عند المعاملة بجرعة واحدة من أعلى تركيز (8ر2 ملغم/ مغم من وزن الجسم) وكذلك عند المعاملة بأربع جرع من التراكيز 2ر1 و2 و8ر2 ملغم/ كغم من وزن الجسم (الجدول -1).

الجدول -1 التغيرات في معدل وزن الخصية للمجاميع الاربع المستعملة بعد المعاملة بالجرع المختلفة (7 ذكور لكل مجموعة)

المجاميع الحيوانية المعاملة	معدل وزن الخصية (ملغم) ± S.D			
	جرعة واحدة	جرعتان	ثلاث جرع	أربع جرع
مجموعة السيطرة (9ر0%) المحلول الملحي الفسيولوجي	5ر91	3ر87	4ر90	3ر88
	± 1و 7	± 7ر7	± 2ر15	± 4 و9
2ر1ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الحجم	4ر85	9ر81	*4ر77	*** 4ر65
	± 2ر18	± 9ر15	± 7ر11	± 2ر7
2ملغم من كلوريد الزئبق الميثلي لكل كغم من وزن الجسم	0ر82	*4ر76	* 3ر72	*** 3ر67
	± 6ر15	± 6ر14	± 2ر16	± 2ر11
8ر2 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الجسم	*** 3ر78	* 3ر68	** 3ر67	*** 6ر59
	± 6ر8	± 5ر17	± 1ر15	± 7ر15

Student's test t* P value < 0.05 significant

** P value < 0.01

*** P value < 0.001 Highly significant

التغيرات في معدل اقطار النبيبات ناقلة المنى:

لم يحدث أي انخفاض معنوي ملحوظ في معدل أقطار النبيبات ناقلة المنى عن المعاملة بجرعة واحدة او جرعتين من التراكيز 2ر1، 2 ملغم/ كغم وثلاث جرع من التركيز 2ر1 من وزن الجسم (الجدول -2) بينما يظهر انخفاض معنوي (P<0.001) عند المعاملة بثلاث جرع من التركيز 2 ملغم/ كغم من وزن الجسم وكذلك عند المعاملة بجرعة واحدة او جرعتين او ثلاث جرع من التركيز 8ر2 ملغم/ كغم في معدل اقطار النبيبات. واظهرت جميع المجاميع المعاملة بأربع جرع لكل التراكيز انخفاضاً ملحوظ (P<0.001) بلغ اشدة في المجموعة المعاملة بأربع جرع لاعلى تركيز (الجدول -2).

حساب النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المنى المتضررة

يشير (الجدول -3) الى عدم حدوث تضرر في النبيبات ناقلة المنى في مجموعة السيطرة الا بنسبة ضئيلة جداً لم تتجاوز 4ر0% .

أما في حالة المجاميع المعاملة بالزئبق العضوي حدث تضرر واضح، ازداد تدريجياً بزيادة الجرع والتراكيز المعطاة ففي المجموعة المعاملة بتركيز 2ر1 ملغم/ كغم تراوحت النسبة ما بين 4ر68% عند المعاملة بجرعة واحدة 5ر82% عند معاملة بأربع جرع. أما في المجموعة المعاملة بـ 2 ملغم/ كغم من وزن الجسم فقد ازدادت نسبة التضرر بزيادة الجرع المعطاة حيث بلغت اعلى نسبة في المجاميع المعاملة بأربع جرع (6ر83%). وعند المعاملة بتركيز 8ر2 ملغم/ كغم من وزن الجسم، كانت نسبة النبيبات المتضررة ما بين (5، 80%) عند المعاملة بجرعة واحدة وبين 94% عند المعاملة بأربع جرع. وتشير التحليلات الاحصائية باستعمال مربع كاي (×) الى حدوث انخفاض معنوي ملحوظ (p<0.001) للمجاميع المختلفة وبالتراكيز والجرع المستعملة من حيث النسب المئوية للنبيبات ناقلة المنى المتضررة (الجدول-3).

الجدول -2 معدل اقطار النبيبات ناقلة المنى للمجاميع الاربع المستعملة بعد المعاملة بالجرع المختلفة (700 قطر لكل مجموعة)

المجاميع الحيوانية المعاملة	معدل اقطار النبيبات ناقلة المنى (مايكروميتر) ± S.D			
	جرعة واحدة	جرعتين	ثلاث جرع	أربع جرع
مجموعةالسيطرة(9ر0%) المحلول الملحي لفسيولوجي	50ر168 ± 623ر0	50ر157 ± 458ر0	40ر168 ± 512ر0	10ر177 ± 471و0
2ر1 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الحجم	60ر171 ± 549ر0	20ر173 ± 635ر0	05ر171 ± 433ر0	90ر174* ± 520ر
2 ملغم من كلوريد الزئبق الميثلي لكل كغم من وزن الجسم	40ر179 ± 633ر0	10ر178 ± 543ر0	40ر159* ± 571ر0	80ر149 * ± 497ر0

2ر8 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الجسم	*157ر90 ± 0ر391	* 151ر20 ± 0ر693	*143ر10 ± 0ر441	* 136ر50 ± 0ر270

Student's t-test * P value <0.001 Highly Signilecant

الجدول -3 النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المنى المتضرر نتيجة للمعامل بالجرع المختلفة (35 مقطعاً لكل مجموعة)

المجاميع الحيوانية المعاملة	جرعة واحدة			جرعتان			ثلاث جرع			أربع جرع		
	معدل العدد الكلي للبنيات	معدل النبيبات المتضررة	% للنبيبات المتضررة	معدل العدد الكلي للنيات	معدل النبيبات المتضررة	% للنبيبات المتضررة	معدل العدد الكلي للبنيات	معدل النبيبات المتضررة	% للنبيبات المتضررة	معدل العدد الكلي للبنيات	معدل النبيبات المتضررة	% للنبيبات المتضررة
مجموع السيطرة (0.9%) المحلول الملحي الفسيولوجي	287.920	صفر	صفر	254.900	10	0.39%	292.500	صفر	صفر%	249.3	1.0	0.40%
1.2 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الجسم	235.0	159.9	68.4%	242.3	174.1	71.9%	245.1	199.6	81.4%	239.4	197.5	82.5%
2 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الجسم	277.4	175.1	63.1%	216.3	172.9	79.9%	245.6	196.5	80%	235.7	197	83.6%
2.8 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الجسم	204.8	164.9	80.5%	191.5	163.2	85.2%	174.7	158.9	91%	179.1	168.3	94%

Chi- square x^2 * P value <0.001 Highly significant

التغيرات في معدل اعداد الخلايا المكونة للنبيبات ناقلة المنى

خلايا سرتولى:

أظهرت كافة المعاملات انخفاضاً معنوياً($P<0.001$) في معدل اعداد خلايا سرتولى وذلك حسب اختبار SNK. ازداد هذا الانخفاض تدريجياً بزيادة التراكيز والجرع المستعملة، حيث بلغ اشدة في المجاميع المعاملة بأعلى تركيز من الجرعة الرابعة وذلك عند المقارنة بمجموعة السيطرة (الجدول -4).

أسلاف النطف:

أدت المعاملة بالزئبق العضوي سواء عن اعطائه بجرعة واحدة او جرعتين او ثلاث وأربع جرع ولكافة التراكيز الى ظهور انخفاض معنوي ملحوظ بـ ($P<0.001$) في معدل اعداد خلايا اسلاف النطف، ازداد تدريجياً بزيادة التراكيز والجرع المعطاه وحسب اختبار SNK (الجدول-5).

الخلايا النطفية الاولية والثانوية

أظهرت نتائج تطبيق اختبار SNK ان المعاملة بتراكيز الزئبق العضوي المختلفة وبجميع الجرع المستعملة حدوث انخفاض معنوي ملحوظ ($P<0.001$) في معدل اعداد الخلايا النطفية الاولية والثانوية (الجدول -6). ازداد هذا الانخفاض بزيادة التراكيز والجرع المعطاه حيث ظهر على اشدة في المجموعة المعاملة بأربع جرع من التركيز 2ر8 ملغم/ كغم من وزن الجسم.

طلائع النطف

أدت المعاملة بتراكيز الزئبق العضوي المختلفة سواء بجرعة واحدة او جرعتين او ثلاث وأربع جرع الى حدوث انخفاض معنوي ملحوظ ($P<0.001$) في معدل اعداد النطف. وكانت هذه الخلايا اشد تأثيراً من أي نوع آخر من الخلايا المكونة للنبيبات ناقلة المنى. حيث ازداد هذا التأثر تدريجياً بزيادة الجرع والتراكيز المستعملة (الجدول -7).

الجدول-4 التغيرات في معدل خلايا سرتولى للمجاميع الاربع المستعملة بعد المعاملة بالجرع المختلفة (140 نبيباً ناقلاً للمنى لكل مجموعة)

المجاميع الحيوانية المعاملة	معدل خلايا سرتولى ± S.D			
	جرعة واحدة	جرعتان	ثلاث جرع	أربع جرع
مجموعة السيطرة (9ر0%) المحلول الملحي الفسيولوجي	61ر19	35ر19	24ر20	31ر19
	± 35ر1	± 24ر1	± 36ر0	± 55و
2ر1 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الحجم	*91ر11	* 96ر9	*ر63ر7	* 86ر6
	± 28ر0	± 14ر4	± 51ر2	± 25ر1
2 ملغم من كلوريد الزئبق الميثلي لكل كغم من وزن الجسم	*ر69ر8	* 16ر8	* 19ر6	* 79ر4
	± 41ر0	± 33ر0	± 96ر1	± 67ر0
2ر8 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الجسم	*29ر7	*65ر7	* 73ر5	* 86ر3
	± 34ر1	± 87ر0	± 66ر0	± 48ر0

SNK- test * P value <0.001 Highly significant

الجدول-5 التغيرات في معدل اسلاف النطف للمجاميع الاربع المستعملة بعد المعاملة بالجرع المختلفة (140 نبيباً ناقلاً للمنى لكل مجموعة)

المجاميع الحيوانية المعاملة	معدل اسلاف النطف ± S.D			
	جرعة واحدة	جرعتان	ثلاث جرع	أربع جرع
مجموعة السيطرة (9ر0%) المحلول الملحي الفسيولوجي	51ر94	62ر36	60ر42	60ر31
	± 6ر19	± 2ر87	± 4ر96	± 3و15
2ر1 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الحجم	*29ر13	* 36ر35	* 31ر92	* 28ر55
	± 4ر92	± 6ر81	± 1ر68	± 2ر32
2 ملغم من كلوريد الزئبق الميثلي لكل كغم من وزن الجسم	*36ر72	* 28ر53	* 26ر27	* 23ر47
	± 5ر59	± 5ر28	± 3ر95	± 4ر65
8ر2 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الجسم	* 26ر19	23ر42	* 22ر16	* 18ر24
	± 4ر45	± 2ر97	± 4ر15	± 2ر91

SNK- test * P value <0.001 Highly significant

الجدول-6 التغيرات في معدل الخلايا النطفية الاولية والثانوية للمجاميع الاربع المستعملة بعد المعاملة بالجرع المختلفة (140 نبيباً ناقلاً للمنى لكل مجموعة)

المجاميع الحيوانية المعاملة	معدل الخلايا النطفيه الاولية والثانوية ± S.D			
	جرعة واحدة	جرعتان	ثلاث جرع	أربع جرع
مجموعة السيطرة (9ر0%) المحلول الملحي الفسيولوجي	65ر62	74ر22	73ر33	63ر69
	±3ر61	± 7ر53	±7ر28	±3ر21
2ر1 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الحجم	* 43ر56	* 41ر49	* 35ر91	*31ر61
	±4ر54	±5ر43	±6ر52	±1ر58
2 ملغم من كلوريد الزئبق الميثلي لكل كغم من وزن الجسم	* 42ر61	* 31ر51	* 33ر71	* 26ر53
	±7ر10	±6ر08	±2ر49	±2ر52
8ر2 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الجسم	*39ر15	* 35ر58	*31ر10	*22ر11
	±5ر61	±4ر69	±5ر47	±1ر93

SNK- test * P value <0.001 Highly significant

الجدول-7 التغيرات في معدل طلائع النطف للمجاميع الاربع المستعملة بعد المعاملة بالجرع المختلفة (140 نبيباً ناقلاً للمنى لكل مجموعة)

المجاميع الحيوانية المعاملة	معدل طلائع النطف ± S.D

	جرعة واحدة	جرعتان	ثلاث جرع	أربع جرع
مجموعةالسيطرة (9ر0%) المحلول الملحي الفسيولوجي	269ر63	221ر35	208ر57	217ر26
	±18ر46	± 10ر68	±20ر44	±22ر04
1ر2 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الحجم	* 75ر087	*76ر54	*67ر51	* 48ر57
	±21ر82	±11ر53	±3ر44	±1ر84
2 ملغم من كلوريد الزئبق الميثلي لكل كغم من وزن الجسم	*57ر39	*78ر50	* 65ر21	*43ر38
	±16ر67	±18ر94	±6ر87	±13ر95
8ر2 ملغم من كلوريد الزئبق المثيلي لكل كغم من وزن الجسم	*43ر29	*32ر73	*17ر89	*13ر26
	±3ر26	±8ر19	±4ر45	±3ر77

SNK- test * P value <0.001 Highly significant

المناقشة

أظهرت البحوث السابقة آراء متناقضة حول التغيرات التي يمكن ان يسببها التعرض لمركبات الزئبق المختلفة على الجهاز التكاثري والخصوبة في الفئران. فقد اشار راميل (Ramely, 1967) الى عدم حدوث تشوهات في الخلايا الجرثومية لذكور الفئران المعاملة بالزئبق بينما اوضح لي وديكسون (Lee and Dixon, 1973) حدوث انخفاض في خصوبة ذكور الفئران البيض عند المعاملة لمدة شهر بجرعة واحدة مقدارها 1 ملغم من الزئبق المثيلي/ كغم من وزن الجسم.

بينما اظهرت التجارب الاولية لهذه الدراسة عدم تأثر خصى الحيوانات المعاملة بالتراكيز المنخفضة جداً من الزئبق العضوي حيث ظهرت طبيعية واتفق هذا مع ما توصل اليه راميل (Ramd, 1967). وعند المعاملة بالتراكيز العالية من الزئبق العضوي ظهر تضرر بشكل واضح، وهذا ما أكده الفحص المجهري واتفق مع ما توصلت اليه بحوث عدة (Suter, 1975; Lee & Dixon, 1975; Frolen & Ramel, 1969). والتي اشارت الى ان معاملة الفئران بمركبات الزئبق العضوية تسبب نقص في درجة خصوبتها فضلاً عن تضرر النبيبات ناقلة المنى. واشارت دراسة اخرى الى ان معاملة الجرذان لمدة سبعة ايام متتالية بجرعة مقدارها 5ر0 أو1 ملغم/ كغم من كلوريد الزئبق الميثلي تؤدي الى زيادة في فقدان الزيجه قبل الغرس (Khera, 1973 a,b).

التغيرات المظهرية والوزنية في الخصى

أدت المعاملة بالزئبق العضوي الى توتر واحتقان في الاوعية الدموية المنتشرة في كيس الصفن، ازداد بزيادة المعاملة ويعزى ذلك الى قدرة الزئبق على اختراق الاغشية الخلوية وخاصة أغشية كريات الدم الحمر والذي اكدة كل من جرنيير وجوسيف (Greener & Joseph, 1983) في تجاربهم على الانسان. ويؤدي الزئبق ايضاً الى ترسب الانواع المختلفة من بروتينات الدم وخاصة خضاب الدم (Haemoglobinc) مما يسبب ركوداً دموياً يؤدي الى احتقان الاوعية الدموية وتوترها كما يسبب تراكم الزئبق المستمر في النسيج الطلائي الداخلي لشبكة الممرات المعقدة المبطنة للاوعية الدموية تغيرات في نفاذية جدار الاوعية الدموية وحدوث تحطم في جدارها الخلوي مع زيادة كثافة سايتوبلازم هذه الخلايا (Dym & Cavicchi, 1977; Anniko & Sarkady, 1977) مما يؤدي الى حدوث الوذمة (Oedema) وانتشار السائل الوذمي في الحيزات البينية، فضلاً عن احتقان اوعيتها الدموية وانتشار آحين المصل (Surum-albumin) مما يجعل الخصية ذات قوام لين وغير متماسك.

ويرجع انخفاض وزن الخصى وصغر حجومها وشحوب الوانها وبخاصة المجاميع المعاملة بالتراكيز والجرع العالية الى التحلل الخلوي والتنكس الحاد في الانسجة النبيبية وضمور معظم النبيبات وتحللها وهذا ما لوحظ عند الفحص المجهري لنسيج الخصية والذي اتفق مع ما اشار اليه لي وديكسون (Lee & Dixon, 1973) عند معاملة الفئران بالزئبق الميثلي.

التغيرات القياسية في معدل اقطار النبيبات ناقلة المنى

أظهرت الدراسة انخفاض معدل اقطار النبيبات ناقلة المنى، وازداد هذا الانخفاض بزيادة عدد الجرع والتراكيز المستعملة، وقد بلغ اشدة في المجموعة الثانوية الرابعة من المجاميع المعاملة بأعلى التراكيز وان ما يؤكد حدوث هذا الانخفاض هو تحلل محتويات النبيبات وتنخرها وضمورها وما يسببه انتشار السائل الوذ مي من ضغط على جدارها وبالتالي حدوث انكماش فيه،ولقد لوحظت نفس التاثيرات في دراسة على الفئران البيض المعاملة بالكادميوم (Al-Azzawi, 1989).

النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المنى المتضررة

أوضحت نتائج هذه الدراسة ان الزيادة في النسبة المئوية للنبيبات ناقلة المنى المتضررة تتناسب طردياً مع الزيادة في عدد الجرع والتراكيز المعطاة. فقد أدت المعاملة بالزئبق العضوي الى تضرر النبيبات وتحلل مكوناتها الخلوية. ولقد أظهرت النتائج ان اقل نسبة للنبيبات المتضررة كانت عند المعاملة بجرعة واحدة من أقل تركيز بينما بلغت النسبة 94% عند المعاملة باربع جرع من اعلى تركيز. مما يدل على ان ازدياد نسبة التضرر في النبيبات الى مثل هذا الحد كان سببه حدوث تحطم وتنكس حاد في أنسجة الخصية، مما يشير الى حدوث عقم في الحيوانات المعاملة بجرعات عالية. وهذا ما اكده سويتر (Suter, 1975) عند معاملة الفئران بجرع عالية من الزئبق الميثلي. ويغزى سبب هذا التضرر الحاد الى زيادة كميات الزئبق الميثلي المتراكمة في نسيج الخصى نتيجة لتعدد الجرعات وزيادة التراكيز المستعملة (Lee & Dixon, 1975) وهذا ما اكدته هذه الدراسة.

ولقد أظهرت بعض البحوث (Al-Azzawi, 1989; Balash et al., 1987) زيادة نسبة تضرر النبيبات ناقلة المنى بزيادة الجرع والتراكيز المستعملة عند معاملة الفئران بمادة الكلوريدين وأستيتات الكادميوم على التوالي مما يدل على حساسية النبيبات للمعاملة بالزئبق الميثلي والكادميوم فضلاً عن الكلوريدين.

التغيرات في اعداد الخلايا المكونة للنبيبات ناقلة المنى

اكدت هذه الدراسة ان للزئبق العضوي تأثيرات عالية السمية على أنسجة الخصية بشكل عام والخلايا المكونة للنبيبات والمسؤولة عن نشأة النطف بشكل خاص والمتمثلة بخلايا سرتولى، أسلاف النطف، الخلايا النطفية الاولية والثانوية وطلائع النطف، مما يدل على حساسية الخلايا للتأثر بهذا العنصر.

فقد أدت المعاملة بالزئبق الميثلي الى حدوث انخفاض معنوي في معدل اعداد خلايا سرتولى، وتأثر كل من اسلاف النطف والخلايا النطفية الاولية والثانوية وطلائع النطف وتناسب هذا الانخفاض مع الزيادة في الجرع والتراكيز المستعملة، حيث لوحظ تحلل الخلايا واختفائها في مقاطع خصى الحيوانات المعاملة وبخاصة المعاملة بالتراكيز العالية.

وتطابقت نتائج هذه الدراسة مع ما توصل اليه سويتر (Suter, 1975) ان معاملة ذكور الفئران بجرعة واحدة مقدارها 10 ملغم من الزئبق الميثلي/ كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن داخل الغشاء البريتوني يؤدي الى حدوث عقم في الحيوانات خلال 5ر7 يوم من العاملة. ولا تتفق نتائج هذا البحث مع مالاحظه احد الباحثين (Raml, 1967) من عدم

تأثر نسيج الخصى وبعض الخلايا المسؤولة عن نشاة النطفه مثل اسلاف النطف والخلايا النطفية الاولية والثانوية وبالتالي خصوبة المجاميع، ويرجع هذا الاختلاف الى استعمال الباحث المذكور تراكيز منخفضة جداً من الزئبق العضوي مقارنة بالتراكيز المستعملة هنا. وقد لاحظ ورين وجماعته (Wren et al.,1987) قلة عدد النطف في حيوانات المنك المعاملة بجرعات من الزئبق الميثلي مقدراها 5ر0، 1مايكرو غرام/ كغم من وزن الجسم ولعدة شهور عن طريق الاكل.

أظهرت نتائج هذا البحث ان خلايا طلائع النطف هي اشد الخلايا تضرراً وخاصة في المجاميع المعاملة بالتراكيز العالية. وقد اتفق هذا مع ما اشار اليه كل من لي وديكسون (Lee & Dexion, 1973) من نقص في خصوبة ذكور الفئران المعاملة لمدة شهر بجرعة مقدارها 1 ملغم من الزئبق العضوي كغم من وزن الجسم، بينما تكون كل من الخلايا النطفية الاولية والثانوية واسلاف النطف اكثر مقاومة اثناء التعرض للمركبات الكيميائية المختلفة.

المصادر

Al-Azzawi, l. N. W. (1989). The effects of different doses of cadmium on the reproductive system of the male albinomice. B.Sc Thesis, College of Science, Univ . of Baghdad, PP. 116 (In Arabic) M.sc.

Alwachi, S. N., Al-Kobaisi, M. F., Mahmoud, F.A. and Zahid, %. R. (1986). Possible effect of nicotine on the spermatogensis and testicular activity of the mature albion mice, J. Biol. Sci. Res. 17, 185-194.

Alwachi, S. N. and Balash, J.J. (1988). Induced alteration in spermatogenesis of mature albino mice injected with Caffeine, J. Biol. Sci. Res. 19. 457-468.

Anniko, M . and Sarkady, L. (1977). Morphological changes of labyrinthine blood vessels following metal poisoning Acta-Otolaryngol, 83, 441-448.

Balash, K.J., Al-Omar, M.A. and Abdul Latif, B.M. (1987). Effect of chlordane on testicular tissue of Swiss mice. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 39, 434-442.

Berlin, M. (1979). Mercury. In: Handbook on the toxicology of metals. Eds: Friberg L. Norderg G.F. Vouk V.B. Elsevier/ North Holland Biomedical Press PP. 503-530.

Culling, C.F.A., (1980). Handbook of histopathology and Histochemical techniques, 3rd ed. Batter worths pp. 712.

Dym, M. and Cavicchia, J.C. (1977). Further observation on the bloodtest is barrier in monkeys. Biol Reprod. 17, 390-403.

Frolen, H., and Ramel, C. (1969). Genetic and metabolic effects of mercury (c) in mice, in: Methylemercury, Ecological research Committee, Bull, No. 4, pp. 17.

Greener, Y. and Joseph, A.K., (1983). In Vitro stuidies on methyl mercury distribution in human blood. Teratology, 28, 375-387.

Guyton, A.C. and Hall, JE. (2006). Reproductive and hormonal function of male and the pineal gland. In: textbook of Medical physiology. Guytonm A.C. and Hall, JE. (Eds.) WB Saunders Company. Philadelphia, Pp: 996-1006.

Humason, G.L. (1967). Animal tissue techniques, 2nd ed. Freemand, W.H. and Company, Sanfrancisco and London, PP569.

Khera, K. S., (1973a). teratogenic effects of methylmercury in the cat: Note on the use of this species as a model for teratogenicity studies. Teratology, 8, 293-304.

Khera, K.S., (1973b). Reproductive capability of male rats and mice treated with methlmercury. Toxicol. Appl. Pharmacol, 24, 167-177.

Lee, I.P. and Dixon, R.L., (1973). Effects of mercury on mouse spermatogenesis studied by cell separation and sderial mating, Toxicol, App1, Pharmacol., 25, 464.

Lee, I.P., and Dixon, R.L., (1975). Effcts of mercury on spermatogenesis studies by velocity sedimentation cell separfation and serial mating, J. Pharmacol. Exp. Therap, 194, 171-181.

Nriagu, J.O., (1979). The biogeochemistry of mercury in the environment. Amsterdam: Elsevier/ north Holland.

Okada, and Oharazawa (1967). Diagnosis of mercury poisoning Influence of ethylmercuric phosphate on pregnant mice and their fetuses, in; report on the Cases of Mercury Pposoning in Nugata, Ministry of Health and Welfare, Tokyo, Stencil, 63.

Ramel, I. C., (1967). Genetic effect of organic mercuric compounds. Hereditas, 57, 445-447.

Suter, J.E., (1975). Studies on the dominant-lethal and fertility effects of the heavy metal compounds methyl mercurichydroxide, mercuric chloride and cadmium choride in male and female mice. Mutat. Res., 30, 365-374.

WHO/ UNECE, (2006) Health Risks of Heavy metals from Long-Range Trans Boundary Air pollution: Incorporating first Addendum Recommendations. 3rd eds. World Health Organization, Geneva, Switzerland 1:113.

Wren, C.D., Hunter, D.B. leatherland, J.F. and stokes, P.M. (1987). The effects of polychlorinated biphenyls and methyl mercury, single and in combination on mink, II: Reproduction and Kit Development. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 16, 449-454.

Zar, J.H., (1974). Biostatistical analysisi. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs. New Jersy.

Summary

This study was achieved in order to study the effects of methyl mercury chloride, injected subcutaneously on the some of the reproductive parameters of the strain: Balb C. The following biological parameters were studied in the animals that received either one are several injection of zero (contral), 1. 2, 2 and 2.8mg of methyl mercury chloride/ Kg body weight:

1- Morphology and body weight of the testes.
2- Diameter of seniniferous tubules and percentage of affected tubules.

3- Numbers of different spermatogenic cells in each tubule such as spermatogonia, primary and secondary spermatocytes, spermatids and sertali- cells.

Treatment with methyl mercury chloride have produced significant degress of damage in the testes & that these effects were proprtionated with the concentration.

Histological studies of these testes showed that methyl mercury chloride induced significant reductions in the diameters of the seminiferous tubules particulary in the testes of animals that received the highest concentration.

Methyl mercury chloride was also found to induce a conspicuous damage in these tubules.

The study showed that treatment with methyl mercury chloride coused significant reductions in the mean number of the different spermatogenic cells (spermaogonia, primary and secondary spermatacyts, speratides and sertoli- cells). These reductions were proportionated with the concentration of the injected substance.