دراسة تأثير مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية في خصوبة إناث الفئران البيض

عذراء باقر حسن

كلية العلوم / جامعة الكوفة

الخلاصة :

أجريت هذه الدراسة في مختبر الفسلجة الحيوانية في كلية العلوم / جامعة الكوفة لتقييم تأثير الأشعة فوق البنفسجية Ultra violet radiation في خصوبة إناث الفئران السويسرية البيضاء Mus musculus من سلالة Bulb/c وبواقع (12) فأراً ، قسمت الإناث الى ثلاث مجموعات اعتماداً على الفترات الزمنية للتعرض (24 ، 48 ، 72) ساعة وقورنت مع مجموعة السيطرة .

وقد أظهرت نتائج هذه الدراسة :

وجود انخفاض معنوي($P<0.05$) في أقطار المبايض وأعداد الجريبات المبيضية الأولية والثانوية وأعداد حويصلات كراف لإناث الفئران المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية مقارنة مع مجموعة السيطرة .

المقدمة :

تعد الأشعة فوق البنفسجية Ultra violet radiation من اهم انواع الأشعة غير المتأينة المنخفضة الطاقة فهي تستعمل في التطهير والقضاء على الأحياء المجهرية اما تأثيرات الإشعاع على الإنسان والكائنات الحية ناتجة عن اتلاف الخلايا بحيث تؤدي إلى موت الخلية ومنع أو تأخر انقسام الخلية او زيادة معدل انقسامها وحصول تغيرات مستديمة في الخلية تنتقل وراثياً إلى الخلايا الوليدة ويمكن ان تتجلى هذه التأثيرات في نفس الشخص المتعرض للإشعاع نتيجة إتلاف الخلايا العادية لجسمه وتعرف هذه التأثيرات بالذاتية Somatic effects كذلك يمكن أن تنتقل هذه التأثيرات إلى الأبناء أو الأجيال التالية للشخص المتعرض وتعرف هذه التأثيرات بالوراثية Hereditary effects وتنتج هذه التأثيرات الوراثية عن إتلاف خلايا الأعضاء التناسلية للشخص المتعرض للإشعاعات المؤينة (Bothwellوجماعته ,2000 ; Guerci وجماعته ,2004).

تكون الأشعة فوق البنفسجية ذات اطوال موجية تتراوح مابين (330 nm – 290) تصل الى سطح الأرض اقصر من ذلك لترشيحها وامتصاصها في طبقة الأوزون في الأجزاء الخارجية من الغلاف الجوي بحيث تخرب الخلايا مؤدية الى موتها اضافة الى تأثيرات مؤذية على مكونات الخلية الأخرى (Radiat Biol , 2002) .

وللتعرف على تأثيرات الأشعة فوق البنفسجية في خصوبة إناث الفئران البيض تم اجراء هذه الدراسة واتي تضمنت حساب اعداد كل من الجريبات المبيضية الأولية Primary follicles والثانوية Secondary follicles واعداد حويصلات كراف Graffian follicles وقياس اقطار المبايض وكما تم قياس سمك طبقتي الرحم (عضل الرحم وبطانته) .

المواد وطرائق العمل:

شملت الدراسة (12) من إناث الفئران السويسرية البيضاء تراوحت اعمارها مابين (8 – 12) اسبوعاً ، وبلغ معدل اوزانها مابين (25 – 30) غراماً ، وضعت الحيوانات تحت ظروف مختبرية مناسبة تراوحت درجة الحرارة فيها مابين(21 – 30) مْ وعند نظام إضاءة ثابت بمعدل(13) ساعة ضوء و (11) ساعة ظلام ، واعطيت الحيوانات بإستمرار وبحسب الإحتياج الماء والغذاء بشكل عليقة .

عرضت إناث الحيوانات للأشعة فوق البنفسجية بمدد زمنية مختلفة (24 ، 48 ، 72) ساعة وبطول موجي مقدار (300nm) في طور ماقبل الشبق Proestrus وذلك لغرض متابعة الجريبات وعملية الإباضة تحت تأثير الأشعة .

للتعرف على انتظام الدورة الشبقية في إناث الفئران المستعملة في هذه الدراسة ، أخذت مسحات مهبلية من جدار المهبل بوساطة ناقل معدني Loop معقم ، وذلك بتسخينه حتى الإحمرار ثم ترك ليبرد ، نشرت المسحة بعد أخذها من المهبل على شريحة زجاجية حاوية على قطرة من الماء المقطر ثم تركت لتجف وتم صبغها بصبغة أزرق المثلين لمدة (3-5) دقائق وغسلت بعد ذلك بالماء الجاري ، وفحصت تحت المجهر واستمرت العملية لفترات زمنية مختلفة ، إذ تم اختيار الحيوانات التي أظهرت إنتظاماً في دورتها الشبقية (الحسناوي ،2002).

شرّحت إناث الحيوانات بعد تخديرها بمادة الكلوروفورم بعدما عرضت للأشعة فوق البنفسجية ولثلاث فترات زمنية مختلفة (24 ، 48 ، 72) ساعة وتم فتح التجويف البطني واستئصال الأعضاء المختلفة للجهاز التناسلي الأنثوي والتي شملت المبايض وقرني الرحم ، ووضعت في محلول الفورمالين (10%) وبعد ازالة المواد الدهنية الملتصقة بها نشفت بواسطة ورق ترشيح بعدها تمت دراسة المظاهر النسيجية والفسلجية . تم استعمال المجهر المركب (Olympus , CH3O , Japan) في قياس معدلات اقطار المبايض في إناث الفئران باستعمال المقياس الدقيق للعدسة العينية Ocular micrometer بعد معايرته بالمقياس الدقيق للمسرح Stage micrometer ولقوة التكبير 4x (4x x 10 x 1.250 = 50) وقورنت مع مجموعة السيطرة .
تم حساب اعداد الجريبات المبيضية الأولية والثانوية وحويصلات كراف بشكل شرائح متسلسلة ولثلاث فترات زمنية مختلفة (24 ، 48 ، 72) ساعة وبحسب معدلاتها في (3) إناث من الفئران وقورنت مع مجموعة السيطرة .

تم قياس سمك طبقتي الرحم في إناث الفئران بإستعمال المقياس الدقيق للعدسة العينية بعد معايرته بالمقياس الدقيق للمسرح ولقوة التكبير 10x (10x x 10 x 1.250 = 125) وقورنت مع مجموعة السيطرة .

حضرت المقاطع النسيجية في مختبر مستشفى الصدر التعليمي التابع قسم الأمراض النسيجية واتبعت طريقة Bancroft و Stevens (1982) وذلك بوضع النماذج في مثبت بوين لمدة (24) ساعة وتم غسلها بالكحول الأثيلي (70%) لعدة مرات من اجل زوال اللون الأصفر للمثبت وحفظت في كحول (70%) وبعدها اجريت خطوات الإنكاز (سحب الماء) Dehydration ، الترويق Clearing ، التشريب Infiltration ، الطمر Embedding ، التقطيع Sectioning ، التصبيغ Staining ، ومن ثم التحميل Mounting .

حللت نتائج التجارب بحيث شملت فترات زمنية مختلفة للأشعة فوق البنفسجية (24 ، 48 ، 72) ساعة وبعدد (3) مكررات من إناث الفئران وذلك بإستعمال البرنامج الإحصائي (SPSS 10.01) الإصدار 1999 في تحليل النتائج ، بإستخراج المتوسط الحسابي واختبار اقل فرق معنوي Least Significant Difference (L.S.D) ، كذلك تم إستعمال اختبار F- test لتحليل الإختلافات المتواجدة بين المجاميع تحت مستوى احتمال (0.05) . (George وجماعته , 2003) .

النتائج :

1- تأثير تداخل الإختلاف لفترات زمنية مختلفة بعد المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية في اقطار المبايض لإناث الفئران البيض (قطر المبيض بالمايكروميتر) : يتضح من نتائج جدول (1) وجود انخفاض معنوي في اقطار المبايض بعد المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية ولجميع الفترات الزمنية مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ بلغت(µm 922.8) وقد ابدت الفترات الزمنية (48 ، 72) ساعة انخفاضاً معنوياً اعلى في اقطار المبايض إذ بلغت (µm 201.66) و (µm 234.16) على التتالي.

2 – تأثير تداخل الإختلاف لفترات زمنية مختلفة بعد المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية في اعداد الجريبات المبيضية الأولية والثانوية وحويصلات كراف لإناث الفئران البيض: يوضح الجدول (2) حصول انخفاض معنوي في اعداد الجريبات المبيضية الأولية ولجميع الفترات الزمنية مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ بلغت (8.66) . وتشير نتائج الجدول الى حصول انخفاض معنوي في اعداد الجريبات المبيضية الثانوية ولجميع الفترات الزمنية مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ بلغت (5.66) .

وقد دلت النتائج الى حصول انخفاض معنوي في اعداد حويصلات كراف ولجميع الفترات الزمنية مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ بلغت (4.33) .

3- تأثير تداخل الإختلاف لفترات زمنية مختلفة بعد المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية في سمك طبقتي الرحم لإناث الفئران البيض (سمك الطبقة بالمايكروميتر) : يتبين من الجدول (1) حصول زيادة معنوية في سمك طبقتي عضل الرحم وبطانته بعد المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية ولجميع الفترات الزمنية مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ بلغت (µm 629.9) و (µm 533.73) على التتالي وقد ابدت الفترات الزمنية (48 ، 72) ساعة انخفاضاً معنوياً اعلى في سمك طبقتي عضل الرحم وبطانته إذ بلغت µm (193 ، 189.16) وµm (239 ، 182.76) على التتالي .

جدول (1) : تأثير تداخل الاختلاف لفترات زمنية مختلفة بعد المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية في اقطار المبايض وسمك طبقتي الرحم لإناث الفئران البيض (قطر المبيض بالمايكروميتر ، سمك الطبقة بالمايكزوميتر)

مدة التعريض / المعاملات	24 hour	48 hour	72 hour	مجموعة السيطرة
قطر المبيض	149.16	201.66	234.16	922.8
سمك عضل الرحم	155.16	193	239	629.9
سمك بطانة الرحم	143.9	189.16	182.76	533.73

قيمة L.S.D التداخل في قطر المبيض =51.43

قيمة L.S.D التداخل في سمك عضل الرحم = 105.50

قيمة L.S.D التداخل في سمك بطانة الرحم = 56.56

جدول (2) : تأثير تداخل الإختلاف لفترات زمنية مختلفة بعد المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية في اعداد الجريبات المبيضية الأولية والثانوية وحويصلات كراف لإناث الفئران البيض .

مدة التعريض / المعاملات	24 hour	48 hour	72 hour	مجموعة السيطرة
الجريبات المبيضية الأولية	5	2.33	1.66	8.66
الجريبات المبيضية الثانوية	2.33	1.33	1.33	5.66
حويصلات كراف	1	0.33	0.33	4.33

قيمة L.S.D التداخل في اعداد الجريبات المبيضية الأولية =1.07

قيمة L.S.D التداخل في اعداد الجريبات المبيضية الثانوية = 0.875

قيمة L.S.D التداخل في اعداد حويصلات كراف = 0.75

التغيرات النسيجية :

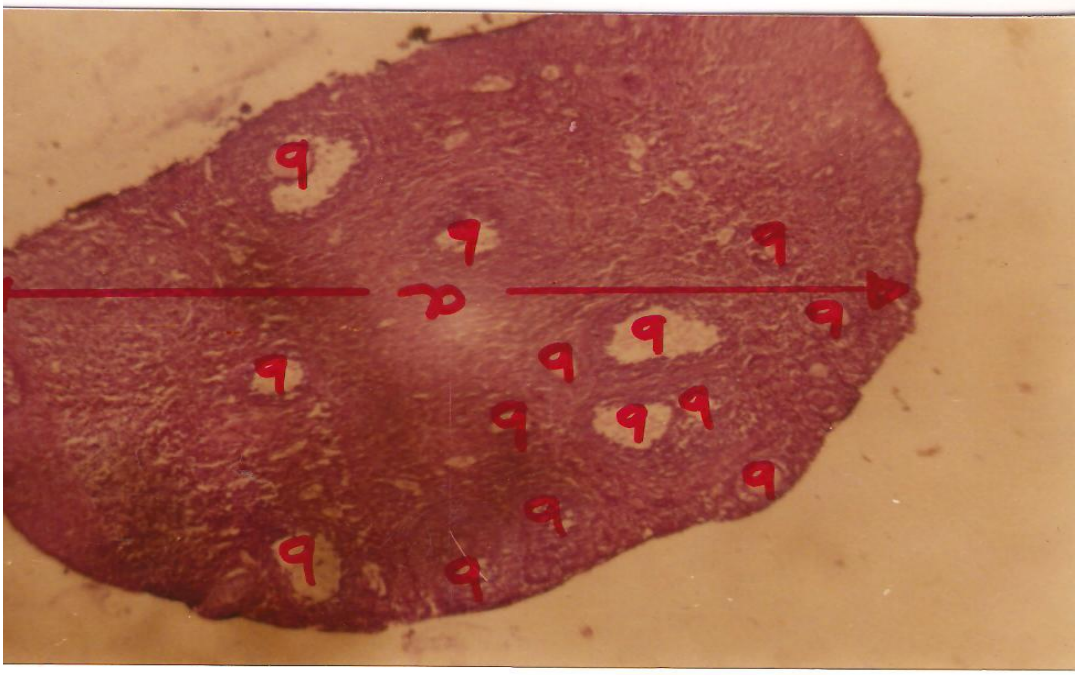
* المبايض :

ظهرت تغيرات نسجية واضحة في انسجة المبايض المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية ولفترات زمنية مختلفة وكانت تلك التأثيرات واضحة في جميع الفترات وبالأخص في الفترات (48 ، 72) ساعة ومن اهم تلك التغيرات : انخفاض في اقطار المبايض واعداد الجريبات المبيضية ، من صورة (2)إلى صورة (4) مقارنة مع مجموعة السيطرة ، صورة (1) .

* الأرحام :

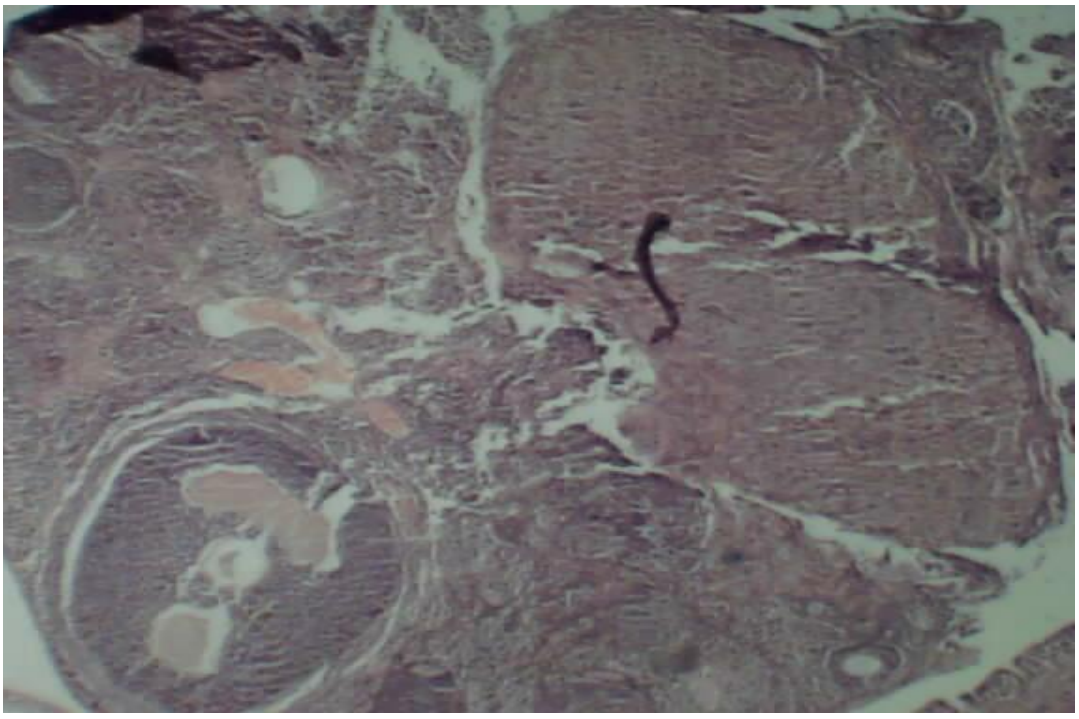
حصلت تغيرات نسجية واضحة في أنسجة الأرحام المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية ولفترات زمنية مختلفة وكانت تلك التأثيرات واضحة في جميع الفترات وبالأخص في الفترات (48 ، 72) ساعة ومن أهم تلك

التغيرات : زيادة في سمك طبقتي عضل الرحم وبطانته ، من صورة (6) إلى صورة (8) مقارنة مع مجموعة السيطرة ، صورة (5) .

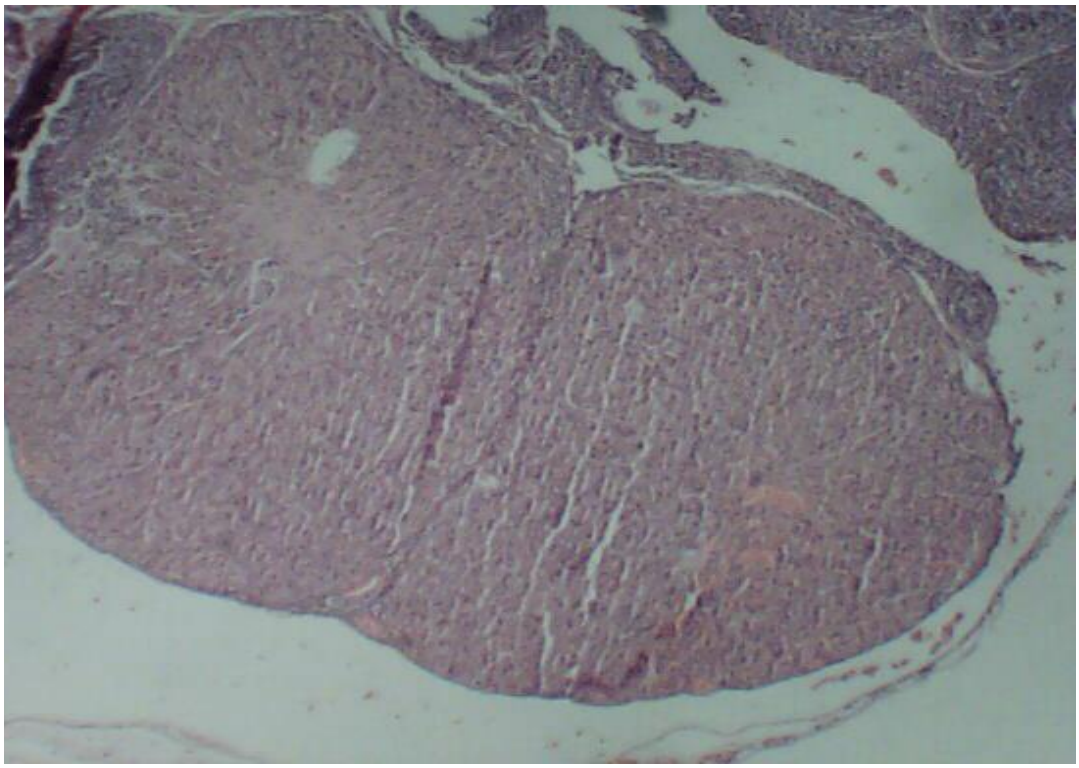


صورة (1) : نسيج مبيض في مجموعة السيطرة لإناث الفئران البيض يظهر فيه :

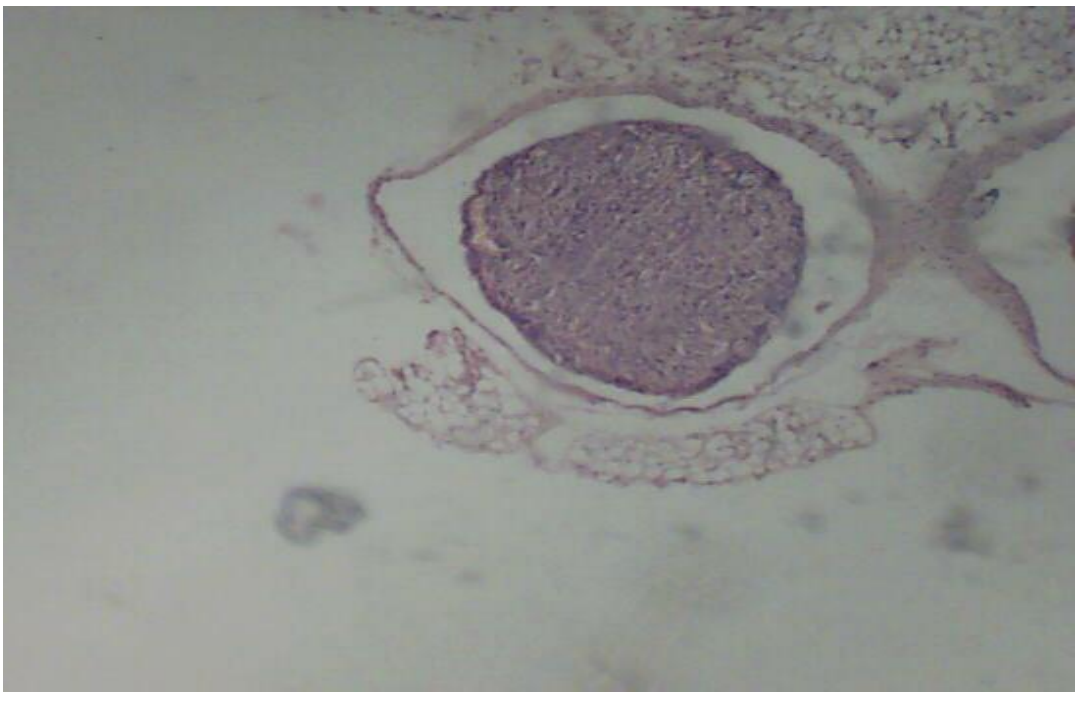
A) قطر المبيض . B) وجود الجريبات المبيضية (هيماتوكسلين – ايوسين X 50) .



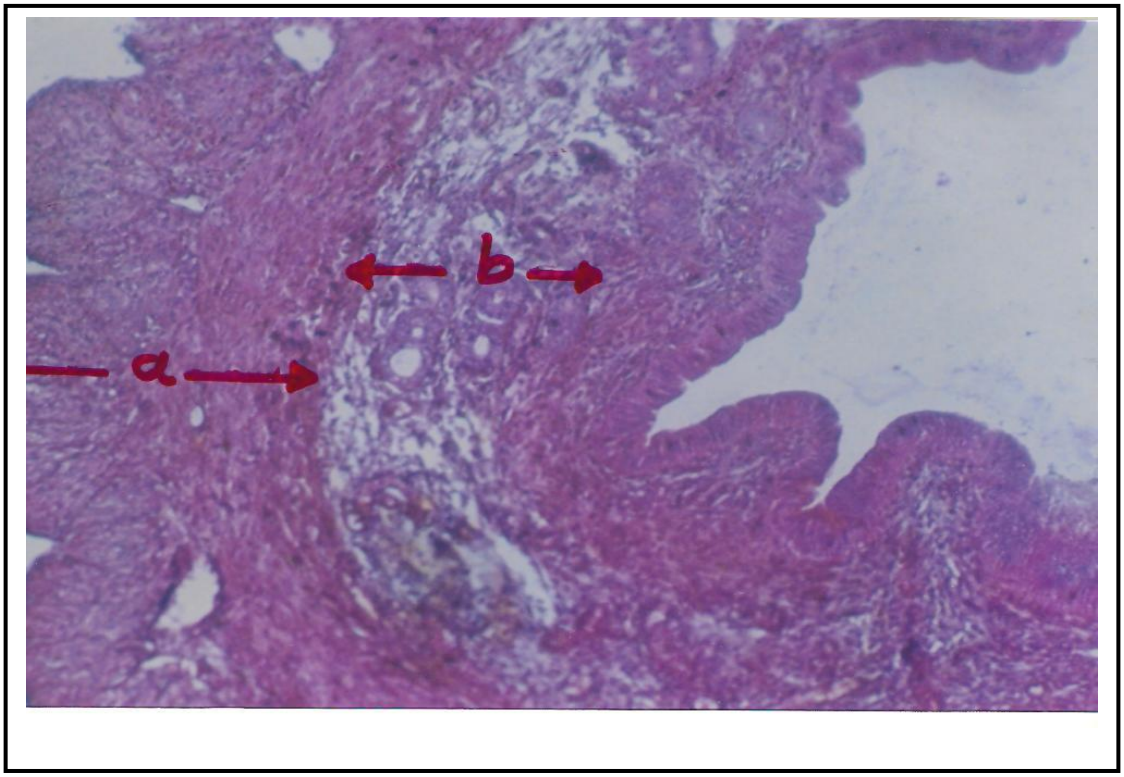
صورة (2) : نسيج مبيض معامل بالأشعة فوق البنفسجية لمدة (24) ساعة لإناث الفئران البيض يظهر فيه :
A)انخفاض في قطر المبيض. B) انخفاض في اعداد الجريبات المبيضية (هيماتوكسلين – ايوسين X 50) .



صورة (3) : نسيج مبيض معامل بالأشعة فوق البنفسجية لمدة (48) ساعة لإناث الفئران البيض يظهر فيه : A)انخفاض في قطر المبيض. B) انخفاض في اعداد الجريبات المبيضية (هيماتوكسلين – ايوسين X 50) .

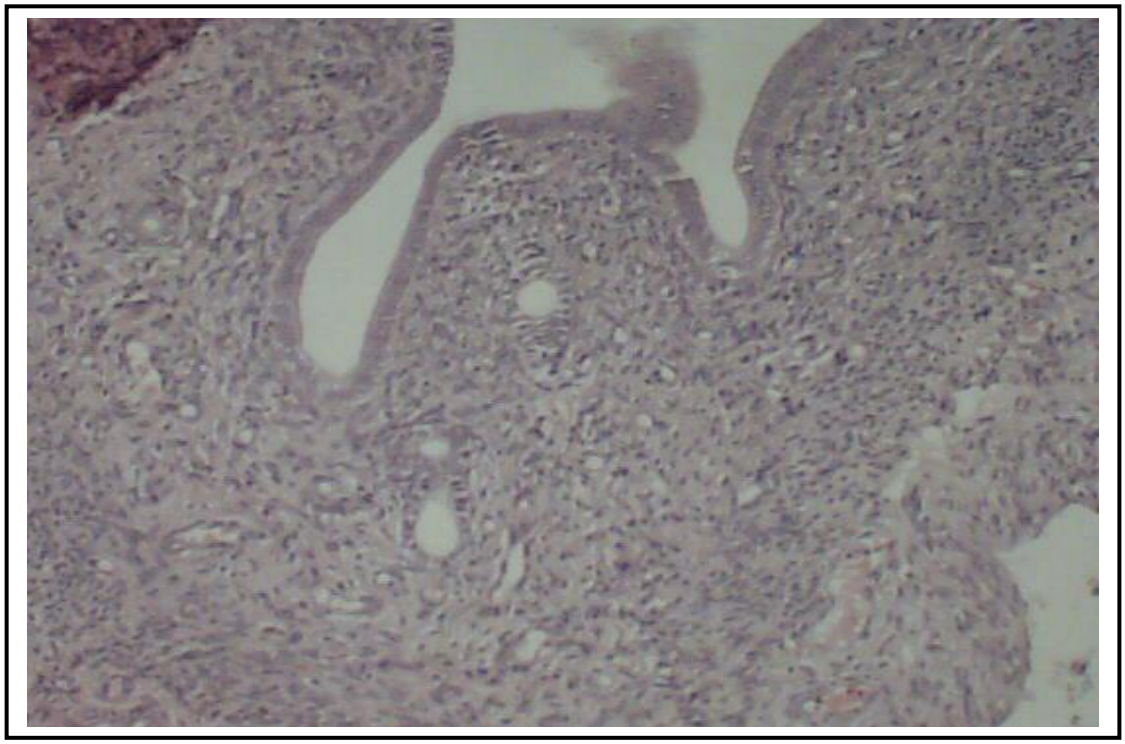


صورة (4) : نسيج مبيض معامل بالأشعة فوق البنفسجية لمدة (72) ساعة لإناث الفئران البيض يظهر فيه : A)انخفاض في قطر المبيض. B) انخفاض في اعداد الجريبات المبيضية (هيماتوكسلين – ايوسين X 50)



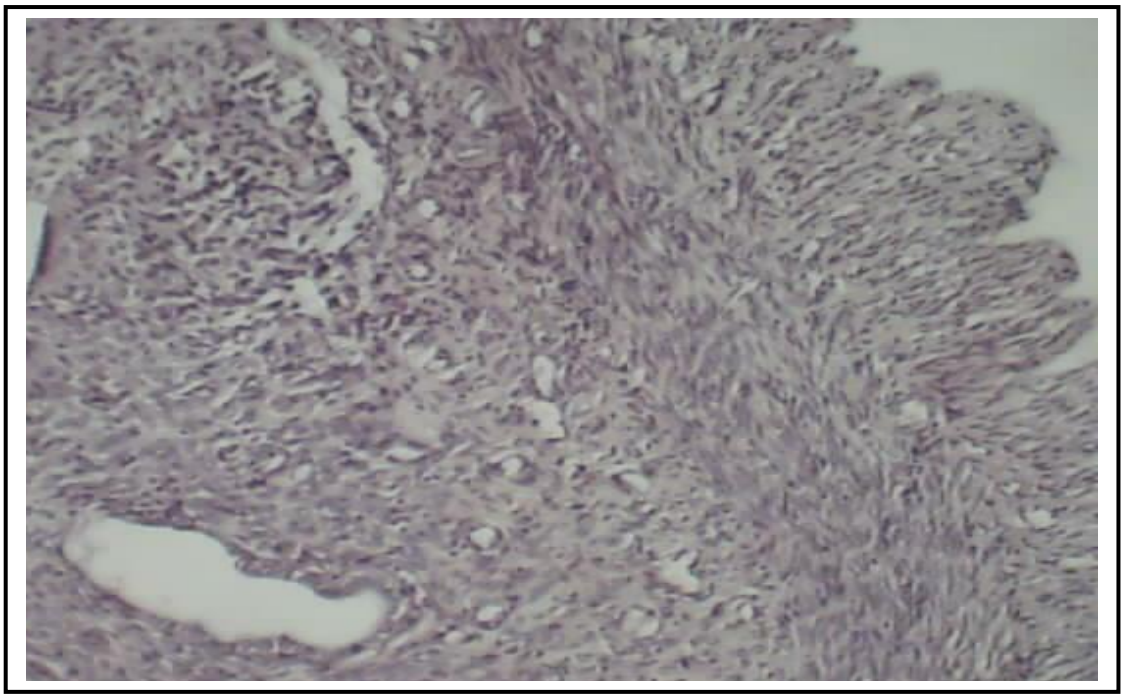
صورة (5) : نسيج رحم في مجموعة السيطرة لإناث الفئران البيض يظهر فيه :

A)سمك طبقتي عضل الرحم . B) وبطانته (هيماتوكسلين – ايوسين X 125) .



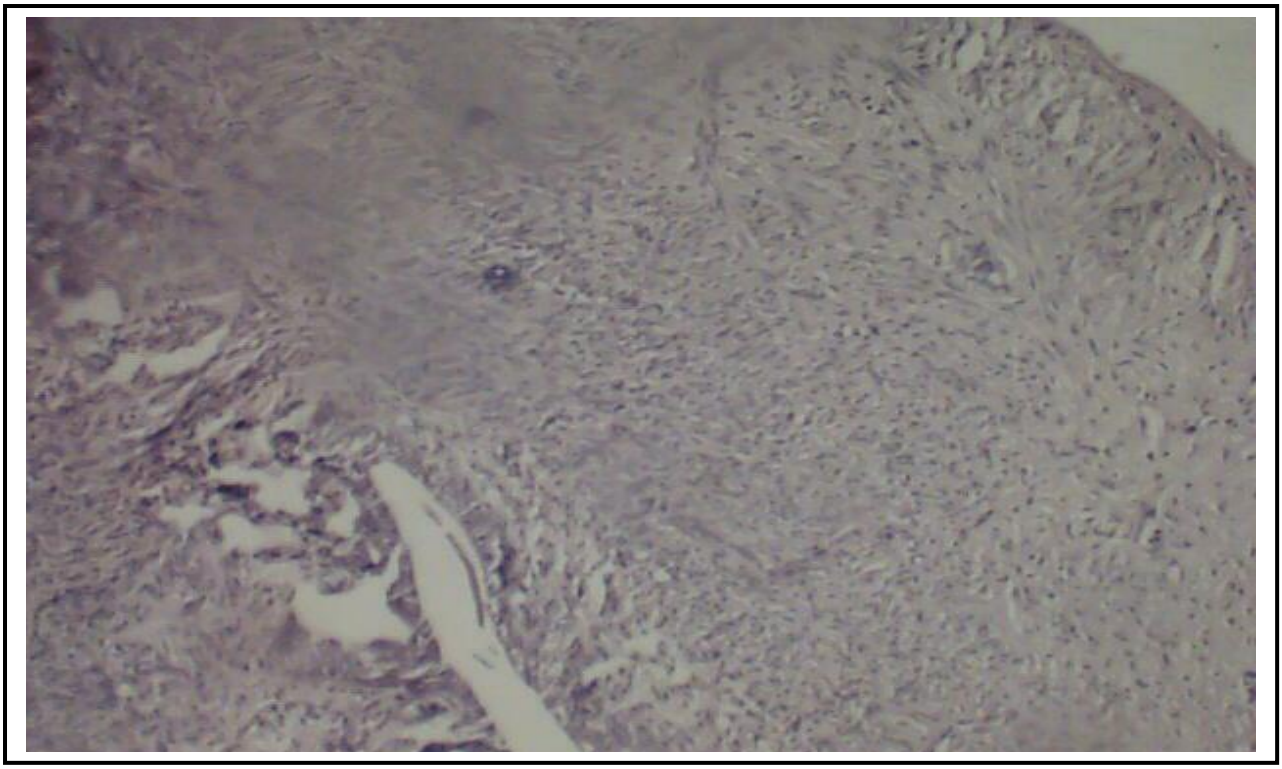
صورة (6): نسيج رحم معامل بالأشعة فوق البنفسجية لمدة (24) ساعة لإناث الفئران البيض يظهر فيه :

A) زيادة في سمك طبقتي عضل الرحم . B) وبطانته (هيماتوكسلين – ايوسين X 125) .



صورة (7): نسيج رحم معامل بالأشعة فوق البنفسجية لمدة (48) ساعة لإناث الفئران البيض يظهر فيه :

A) زيادة في سمك طبقتي عضل الرحم . B) وبطانته (هيماتوكسلين – ايوسين X 125) .



صورة (8): نسيج رحم معامل بالأشعة فوق البنفسجية لمدة (72) ساعة لإناث الفئران البيض يظهر فيه :

A) زيادة في سمك طبقتي عضل الرحم . B) وبطانته (هيماتوكسلين – ايوسين X 125) .

المناقشة:

اتضحت من نتائج الدراسة وجود انخفاض معنوي في اعداد الجريبات المبيضية الأولية والثانوية حويصلات كراف . إن هذه النتيجة تعزى إلى دور الأشعة فوق البنفسجية في التقليل من مستوى الهرمون المحفز للجريب والهرمون اللوتيني عن طريق التقليل من افرازها من الغدة النخامية (Collee وجماعته ,1996). إن التعرض للأشعة فوق البنفسجية يؤدي إلى حصول التهابات بالجسم وبالتالي سوف يؤدي إلى زيادة وزن الجسم (Asad وجماعته ,2003). ذكرت العديد من البحوث في مجال التعرض للأشعة فوق البنفسجية حيث إن هذه الأشعة تعمل على زيادة تحفيز عملية تخليق الستيرويدات داخل الجسم بشكل عام وفي المبايض بشكل خاص اضافة إلى فعاليتها الإستروجينية وقد ينعكس هذا التأثير على المحور الوطائي – النخامي (Miller ,1970). وقد تعمل الأشعة فوق البنفسجية على إحداث اختلال في مدة اطوار الدورة الشبقية وبالأخص في طور ماقبل الشبق Proestrus وطور مابعد الشبق Diestrus نتيجة التأثير في تركيز هرمون الإستروجين والبروجسترون على التتالي وهذا التاثير ينعكس على تطور الجريبات وإحداث الإباضة لدى الفئران المختبرية (Teixeira & Smerage ;1993, Itoh & Fujikawa ;1996) .

إن الإنخفاض في اعداد الجريبات المبيضية وحويصلات كراف يعزى إلى الفعالية البروجستينية للأشعة فوق البنفسجية وهذه الفعالية قد تعمل على إحداث اختلال في توازن الهرمون اللوتيني من خلال التقليل من إفرازه في الغدة النخامية (Bashkirovوجماعته ,2000 ; Peccia وجماعته ,2001) . إن الإنخفاض المعنوي في كل من اعداد الجريبات المبيضية الأولية والثانوية وحويصلات كراف والمثبتة في الصور (من صورة 2 إلى صورة 4) قد يعزى إليها السبب الرئيس في إنخفاض اقطار المبايض إذ إن قطر المبيض يعتمد على محتواه من الجريبات المبيضية وحويصلات كراف والأجسام الصفر (Imrch وجماعته ,2003). ومن ملاحظة الصور النسيجية (من صورة 6 إلى صورة 8) يتبين إن هنالك زيادة معنوية في سمك طبقتي عضل الرحم وبطانته ولجميع الفترات الزمنية المختلفة وذلك كون هذه الاشعة تحفز العضلات الموجودة داخل الرحم وبالاخص زيادة كمية البروتينات المتقلصة وهي بروتين الاكتين والمايوسين بالنسبة لطبقة عضل الرحم (Fennel & Raper , 1965) .

المصادر

الحسناوي ، سعاد محمد جودة (2002). "تاثير محرضات القند في وظائف الجهاز التاسلي الانثوي في الفئران البيض" ; (اطروحة ماجستير) ، كلية العلوم ، جامعة الكوفة.

Asad - ur – R. , Sikander A. and Ikram - ul - Haq (2003) . Phosphate Limitation for Enhanced citric Asid Fermentation Using *Aspergillus niger* Mutant UV - Ma on Semi - pilot Scale . Pakistan Journal of Biological Sciences . 6 (14) . 1247-1249 .

Bancroft, J.D and Stevens, A. (1982) .Theory and practice of histological techniques . Churchill living ston , New York ; 76 (2) : 351-356 .

Bashkirov, V.I , King J.S , Bashkirova E.V , Schmuckli - J , (2000) . DNA repair protein Rad 55 is a terminal substrate of the DNA damage checkpoints . Mol . Cell Biol . 20 : 4393-4404 .

Bothwell, A.M , Whitehouse, C.A and Tawn, E.J (2000) . The application of FISH for chromosome aberration analysis in relation to radiation exposure . Radiat . Protec . Dosimetry 88 : 7-14 .

Collee, J.G , Fraser, A.G , Marmion, B.P and Simmons, A. (1996) . Practical Medical Microbiology Mackie and Macarthey pearson professional limited 14th ed .

Fujikawa, H. and Itoh, T. (1996) .Tailing of thermal inactivation curve of *Aspergillus niger spores* . Applied and Enviromental Microbiology . Vol . 62 (10) . PP 3745-3749 .

George, A. , Darren, G. , Mullery, D. and Paul, C. (2003) . SPSS for windows step by step . Boston , Pearson Education . Inc , 55-65 .

Guerci, A.M , Dulout, F.N and Seoane, A.I (2004) . DNA damage in Chinese hamster cells repeatedly exposed to low doses of X-rays . Cytogenet . Genome Res . 104 : 173-177 .

Imrch, S. , Klein and Zabarovsky (2003) . Search for unknown tumor-antagonizing genes . Genes chromosomes cancer 38 : 307-321 .

Miller, D.R (1970) . Theoretical survival curves for radiation damage in bacteria- Journal of Theoretical Biology . Vol . 26 (3) . PP 383-398 .

Peccia, J. , Worth, H.M , Miller, S. and Hernandez, M. (2001) . Effects of relative humidity on the Ultra violet induced inactivation of airborne bacteria . Aerosol Science and Technology . Vol . 35 (3) .PP 728-740 .

Radiate, Biol Int J. (2002) . Mutagenicity of low filtered 30 KVP X-rays , mammography X-rays and co cells . Sep ; 78 (9) : 781-9 .

Raper, K.B and Fennel, D.I (1965) . The genes *Aspergillus* williams and wilkins company . Baltimore . PP : 686-689 .

Smerage, G.H and Teixeira ,A.A (1993) . Dynamics of heat destruction of spores : Anew view . Journal of Industrial Microbiology . Vol . 12 (3-5) , PP 211-220 .

A study of the effect of exposure time of Ultra violet radiation on the Female Albino Mice Fertility

Adhraa Baqir Hassen

College of Science / University of Kufa

Abstract

This study was performed in the physiological Laboratory in the Science College / University of Kufa to evaluate of the effect of Ultra violet radiation on Swiss Female Albino Mice (Mus musculus) of (Bulb / c) strain including (12) mice , these females were divided into three groups according to different periods (24 , 48 , 72) hour and compared with control group This results were revealed a significant 0.05) in diameters of ovaries and numbers of Primary & Secondary <decrease (p ovarian follicles and numbers of Graffian follicles of female mice that treated with Ultra violet radiation and compared with control group .