جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة

التأثيرات النسجية والكيموحيوية لمبيد البرمثرين في الاجنة والمواليد الحديثة لاناث الجرذ الابيض

اطروحة دكتوراه مقدمة الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء
كجزء من متطلبات نيل درجة دكتوراه فلسفة في
علم الحيوان (الانسجة)

من قبل
وفاء كاظم جاسم الشبلاوي
بكالوريوس علوم حياة – جامعة كربلاء/ 2004
ماجستير علوم حياة - جامعة كربلاء / 2007

باشراف

الاستاذ الدكتور
عبد الامير عودة اسماعيل

الاستاذ الدكتور
فاضل جواد كاظم آل طعمة

2015 م

1436هجـ

بسم الله الرحمن الرحيم

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ

الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

صدق الله العلي العظيم

من سورة البقره - الايه (اثنان وثلاثون)

الاهداء

الى كل من اضاء بعلمه عقل غيره

او هدى بالجواب الصحيح حيرة سائليه

فاظهر بسماحته تواضع العلماء

وبرحابته سماحة العارفين

الى من ساندوني ورافقوني بالسراء

والضراء

اليكم جميعا اهدي ثمرة هذا الجهد

المتواضع

وفاء

الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين, والصلاة والسلام على اشرف المرسلين سيدنا محمد صلوات الله عليه وعلى أهل بيته الطيبين الطاهرين وأصحابه المنتجبين, باسم الخالق سبحانه وتعالى الذي اضاء الكون بنوره البهي وحده اعبد وله وحده اسجد خاشعة , شاكرة لنعمائه وفضائله علي.

لذلك الشكر اولا لله – سبحانه وتعالى- الذي اعانني على اكمال هذا البحث ومن ثم تقديري واحترامي للأستاذين الجليلين المشرفين على الرسالة الاستاذ الدكتور عبد الامير عودة اسماعيل - كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء , والاستاذ الدكتور فاضل جواد كاظم ال طعمة - كلية الطب / جامعة كربلاء, لجهودهما الصادقة معي, وصبرهما علي ,ومتابعتهما الحثيثة , فلولا سعة افقيهما ,ورحابة صدريهما ,وسعيهما ,وثاقب فكرهما, لما اصبح البحث على هذه الصورة.

فالله- سبحانه وتعالى- اسال لأستاذي الفاضلين عمرا مديدا وعيشا رغيدا مع وافر الصحة على ما قدماه لي من عون وجهد وتوصية وان يوفقهما لما فيه الخير...ان ربي قريب مجيب.

ومن باب الوفاء والتقدير والعرفان اقدم شكري وتقديري واحترامي الى كليتي (كلية التربية للعلوم الصرفة) التي دعمتني بكل ما يحتاجه الباحث للوصول الى مبتغاه وأخص بالذكر عمادة الكلية , ورئاسة قسم علوم الحياة ,واساتذتي في القسم , وزملائي وأخص من كان عونا لي في السراء والضراء لحين انجازي هذا الجهد البحثي المتواضع .

كما اتقدم بخالص الشكر الى من تقصر كلمات الشكر, وعبارات الثناء كلها عن الوفاء له وهو المدرس الدكتور عايد حميد حسن - كلية الطب البيطري/ جامعة كربلاء لما قدمه لي من دعم لا محدود طيلة فترة البحث, جزاه الله خير الجزاء واوفاه.

واتقدم بالشكر والتقدير الى كلية الطب البيطري /جامعة كربلاء لما قدمته لي من مساعدات ميدانية لانجاز هذا البحث, واخص بالذكر السيد رائد عبد المهدي, والسيد ولاء العبيدي شاكرة لهم العون والمساعدة.

..... سائلة المولى سبحانه وتعالي أن يوفقهم جميعا لما فيه خير البلاد والعباد.....

وفاء

الخلاصة

اجريت الدراسة الحالية في كلية الطب البيطري / جامعة كربلاء للفترة من 2013/2/10 ولغاية 2014/2/10لدراسة تاثير التجريع لمبيد البرمثرين خلال مراحل مختلفة من الحياة على المعايير الكيميوحيوية وهرمونات التكاثر والتغيرات النسجية في اناث الجرذان, قسمت الدراسة الحالية على اساس مرحلة التجريع للبرمثرين الى تجربتين هما:

اولا: تجربة تجريع الامهات للبرمثرين خلال مرحلة الحمل وامتدت من اليوم السابع من الحمل (المرحلة الجنينية) وصولا الى اليوم 21 من الحمل ,

ثانيا: تجربة تجريع الامهات للبرمثرين خلال مرحلة الرضاعة فقط التي بدات من اليوم الاول من الولادة الى اليوم 21 من العمر.

تتشابه التجربتان فيمابينهما من حيث التصميم والمعايير المدروسة غير انهما تختلفان في المرحلة العمرية التي عرض فيها الحيوان للبرمثرين , في كل تجربة تم استعمال 40 جرذ (28 اناث و 12 ذكور) من الجرذان المختبرية البالغة (لغرض التزاوج) اذ استعمل الفحص المجهري للمسحات المهبلية للتاكد من ان الاناث في مرحلة الشبق , بعد ذلك زوجت الحيوانات وتم التاكد من حدوث الحمل باخذ مسحة مهبلية لغرض التقصي عن وجود الحيوانات المنوية وعدت الاناث في اول يوم حمل عند وجود حيوانات منوية في مسحتها المهبلية , قسمت الاناث الحوامل في كل تجربة (28 انثى حامل لكل تجربة) عشوائيا الى اربع مجاميع بالتساوي (7 اناث حامل لكل مجموعة), المجموعة الاولى اعتبرت مجموعة سيطرة وجرعت عن طريق انبوب تغذية داخل المعدة Intra Gastric Gavage ماء مقطر بتركيز 0.5 مل لكل كغم من وزن الجسم (0.001 من محلول الايثانول) , اما المجاميع الثلاثة الباقية فهي مجاميع المعاملة بالبرمثرين وكما ياتي:

1. جُرعت المجموعة الاولى بـــ 0.02 (ملغم/كغم /يوم)
2. جُرعت المجموعة الثانية بـــ 25 (ملغم /كغم /يوم)
3. جُرعت المجموعة الثالثة بـــ 75 (ملغم /كغم /يوم)

وحسب مدة كل تجربة اذ بدا التجريع في التجربة الاولى للامهات من اليوم السابع الى اليوم 21 من الحمل ثم تركت المواليد الجدد من الجرذان حتى عمر 60 يوم دون تجريع, بينما لم تجرع الامهات الحوامل في التجربة الثانية خلال مدة الحمل غير انها جُرعت عند اليوم الاول من الولادة وصـــــولا للفطام ثم تركت صغار الجيل الاول بعد تقسيمها الى ذكور واناث لكل مجموعة حتى عمر 60 يوم دون تجريع, واخذت المواليد الجدد الاناث بعمر 60 يوم في كلا التجربتين وتم تشريحها واخذ الدم منها للدراسات الهرمونية والكيموحيوية والنسجية .تم قياس بعض المعايير الكيميوحيوية المتمثلة بقياس نشاط انزيم الفوسفاتيز القاعدي ,قياس تركيز البروتين الكلي وتقدير الالبومين في مصل الدم .كما تم قياس بعض الهرمونات منها قياس تركيز هرمون التستوستيرون, قياس تركيز هرمون البروجستيرون , قياس تركيز هرمون الرضاعة , قياس تركيز الهرمون اللوتيني وقياس تركيز الهرمون المحفز للجريبات. كما قيست مضادات الاكسدة المتمثلة بتقدير فعالية انزيم سوبر اوكسيد دسميوتيز وقياس مضاد الاكسدة الكلي.

بينت نتائج التجربتين (التجريع خلال المرحلة الجنينية) و (التجريع خلال مرحلة الرضاعة) تقاربا كبيرا فيمابينهما من حيث التاثير في معايير الدراسة,و اظهرت نتائج التجربة وجود انخفاض معنوي في فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي مقارنة بمجموعة السيطرة وان هذا الانخفاض كان يزداد بزيادة الجرع, في حين ارتفع معنويا تركيز البروتين الكلي في مصل الجرذان المعرضة للبرمثرين مقارنة بمجموعة السيطرة, واظهرتركيز الالبومين انخفاضا غيرمعنوي في مصل الجرذان مقارنة بمجموعة السيطرة.

اظهرت مستويات الهرمونات التكاثرية تغيرا معنويا تمثل بانخفاض مستوى التستوستيرون في مصل جميع اناث الجرذان وارتفاع معنوي في مستوى هرمون البروجيستيرون في مصل اناث الجرذان مقارنة بمجموعة السيطرة, وانخفاضا معنويا في المستوى الهرموني لهرمون الرضاعة والهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات في مصل اناث الجرذان البالغة مقارنة بمجموعة السيطرة , كما اظهرت النتائج انخفاضا معنويا في مستوى مضادات الاكسدة متمثلا بانخفاض معنوي في فعالية سوبر اوكسيد الدسميوتيز SOD ومضاد الاكسدة الكلي Total antioxidant capacity مقارنة بمجموعة السيطرة.

بين الفحص النسجي للأعضاء قيد الدراسة وجود تغيرات نسجية مهمة في انسجة كل من الكبد والكلية والطحال والمبيض والرحم لاناث الجرذان البالغة خلال مرحلتي الحمل ومرحلة الرضاعة متمثلة بالتنخر والتغيرات التنكسية والاحتقان واختفاء البويضة وظهور تراكيب شبيهة بالاكياس.

نستنتج من الدراسة الحالية ان التعرض للبرمثرين خلال المراحل التطورية من حياة اناث الجرذان (الحمل او الرضاعة) يسبب اضطرابا بالوظيفة التكاثرية من خلال انخفاض مستويات هرمونات التكاثر, كما ان التعرض للبرمثرين يسبب الاجهاد التاكسدي للخلايا من خلال حدوث اضطرابات في بعض مستويات فعالية انزيمات مضادات الاكسدة.

نوصي بتجنب تعرض الانسان او الحيوان لهذا المبيد وخصوصا الاناث والاطفال .

قائمة المختصرات

Abberviation Term	Meaning
EDs	Endocrine Disruptors
IUPAC	International Union of pure and applied chemistry 3-Phenoxybenzyl (IRS ,3RS,IRS,3SR) -3(2,2-dicholorviuyl)-2,2dimethyl-cyclopane carboxylate
EPA	Enviromental Protection Agency
RUP	Restricted Use Pesticide
BDNF	Brain Derived neurotrophic Factor
LD50	Lethal dose 50
NOAEL	N0-observed –adverse-effect level
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide Phosphate
ROS	Reactive Oxygen Species
FSH	Follicle stimulating Hormone
LH	Luteinizing Hormone
SHBG	Sex- hormone Binding Globulin
MCF-7	Michigan Cancer Foundation -7
GSH	Glutathione
SOD	Super oxide Dismutase
TAC	Total Anticapacity
ALP	Alkaline Phosphatase
D.P.X	Distrene –Plasticizer Xylene
LDS	Least significant Differences

cAMP	**Cyclic adenosine monophosphate**
STAR	**Steroidogenic acute regulatory**
DA	**Dopamine**
TRH	**Thyrotropin releasing factor**
LH-RH	**Luteinizing hormone releasing hormone**

المحتويات

الصفحة	المـادة	
1	Introduction	1 – الفصل الاول – المقدمـة
3	Literature Review	2 – الفصل الثاني – استعراض المراجع
3	Permethrin	1.2 البرمثرين
3	The chemical and physical properties	1.1.2 الخواص الكيميائية والفيزيائية
4	Permethrin Action	2.1.2 فعالية البرمثرين
4	History of Permethrin	3.1.2 تاريخ البرمثرين
5	Permethrin Toxicity	4.1.2 سمية البرمثرين
6	Acute Toxicity	1.4.1.2 السمية الحادة
7	Chronic Toxicity	2.4.1.2 السمية المزمنة
7	Absorption	5.1.2 الامتصاص
8	Metabolism of Permethrin	6.1.2 ايض البرمثرين
10	Excretion	7.1.2 الاخراج
10	Endocrine Disruptors	8.1.2 معرقلات الغدد الصم
10	Endocrine system	1.8.1.2 جهاز الغدد الصم
12	Disruption Of Endocrine Function	2.8.1.2 اختلال وظائف الغدد الصم
13	The Hormones	3.8.1.2 الهرمونات
13	Hormone classification	1.3.8.1.2 التصنيف الكيميائي للهرمونات
14	The Sex Hormones	2.3.8.1.2 الهرمونات الجنسية
14	Male Sex Hormones	3.3.8.1.2 الهرمونات الجنسية الذكرية
15	female Sex	4.3.8.1.2 الهرمونات الجنسية الانثوية
15	Gonadotropin –relasing Hormone	.5.3.8.1.2 الهرمونات الموجهه للغدد التناسلية
16	Prolactin Hormone	.6.3.8.1.2 هرمون الرضاعة
17	Disruption of female Hormones function	4.8.1.2 اختلال وظائف الهرمونات الانثوية
17	Interference Endocrine Disruptors with Hormones transport	5.8.1.2 تداخل اختلال الغدة الصماء مع نقل الهرمونات
19	Interference Endocrine Disruptors with Hormones receptors and Binding	6.8.1.2 تداخل اختلال الغدد الصماء مع مستقبلات الهرمونات والارتباط بها
20	Interference Endocrine Disruptors with Central Nervous system	7.8.1.2 تداخل اختلال الغدة الصماء مع الجهاز العصبي
21	Effect of Permethrin on Reproduction	9.1.2 تأثير البرمثرين على التكاثر
22	Oxidants	10.1.2 المواد المؤكسدة
24	Antioxidants	1.10.1.2 مضادات الأكسدة

26	Super Oxide Dismutase	1.1.10.1.2.انزيم سوبر اوكسايد دسميوتيز
27	Pyrethroid	2.10.1.2. الاجهاد التاكسدي ومجاميع ال
28	Alkaline Phosphatase	3.10.1.2 انزيم الفوسفاتيز القاعدي
28	Total Protein	4.10.1.2 البروتين الكلي
29	Materials and Methods	3 – الفصل الثالث – المواد وطرائق العمل
29	Materials	1.3 المواد
29	Instruments	1.1.3 الاجهزة
29	Chemical	2.1.3 المواد الكيميائية
31	Experimental animals	2.3 الحيوانات التجريبية
31		3.3 تصميم التجربة
32		4.3 سحب دم
34	Parameters	5.3 المعايير المستخدمة
34	Hormonal Assays	1.5.3 قياس الهرمونات
34	Estimate of follicular stimulating Hormones concentration	1.1.5.3 قياس تركيز هرمون محفز الجريبات
35	Estimate of Luteinizing concentration (LH)	2.1.5.3 قياس تركيز الهرمون اللوتيني
36	Estimate Progesterone Hormone concentration	3.1.5.3 قياس تركيز هرمون البروجسترون
36	Estimate Testosterone Hormone concentration	4.1.5.3 قياس تركيز هرمون التستوستيرون
37	Estimate of Prolactin Hormone concentration	5.1.5.3 قياس تركيز هرمون الرضاعة
37	Biochemical parameters	2.5.3 المعايير الكيميوحيوية
37	Estimate of Alkaline Phosphates (ALP)	1.2.5.3 قياس نشاط انزيم الفوسفاتيز القاعدي
38	Estimate of Serum total protein	2.2.5.3 قياس تركيز البروتين الكلي في مصل الدم
39	Determination of Serum Albumin	3.2.5.3 تقدير الالبومين في مصل الدم
40	Determination of Superoxide Dismutase activity in blood	4.2.5.3 تقدير فعالية انزيم سوبر اوكسيد دسميوتيز
43	Histological Study	6.3 الدراسة النسجية
46	statistical Analysis	7.3 التحليل الاحصائي
47	Results	4 – الفصل الرابع – النتائج
47	Experiment 1	1.4 التجربة الاولى
47		1.1.4 تأثير البرمثرين على بعض المعايير الكيميوحيوية في اناث الجرذان البالغة
49		2.1.4 تأثير البرمثرين على بعض مستويات هرمونات التكاثر في اناث الجرذان البالغة
51		3.1.4 تأثير البرمثرين على بعض مضادات الاكسدة في اناث الجرذان البالغة
52	Histological Study	2.4. الدراسة النسجية
52		1.2.4 تأثير التعرض لتراكيز مختلفة من البرمثرين خلال المرحلة الجنينية

52	The Liver	1.1.2.4 الكبد
54	The Kidney	2.1.2.4 الكلية
57	The Spleen	3.1.2.4 الطحال
58	Ovaries	4.1.2.4 المبايض
61	Uterus	5.1.2.4 الرحم
64	Experiment 2	3.4.التجربة الثانية
64		1.3.4. تاثير البرمثرين على بعض المعايير الكيميوحيوية في اناث الجرذان البالغة
66		2.3.4. تاثير البرمثرين على بعض مستويات هرمونات التكاثر في اناث الجرذان البالغة
68		2.3.4. تاثير البرمثرين على بعض مضادات الاكسدة في اناث الجرذان البالغة
69	Histological Study	4.4. الدراسة النسجية
69		1.4.4. تاثير التعرض لتراكيز مختلفة من البرمثرين خلال مرحلة الرضاعة
69	The Liver	1.1.4.4 الكبد
71	The Kidney	2.1.4.4 الكلية
74	The Spleen	3.1.4.4 الطحال
75	Ovaries	4.1.4.4 المبايض
78	Uterus	5.1.4.4 الرحم
81	Discussion	5 – الفصل الخامس – المناقشة
81	Biochemical Parameters	1.5 المعايير الكيميوحيوية
81	Alkaline Phosphates	1.1.5 انزيم الفوسفاتيز القاعدي
81	Total Protein	2.1.5 البروتين الكلي
82	Albumin	3.1.5 الالبومين
82	Hormones	2.5 الهرمونات
83	Testosterone Hormone	1.2.5 هرمون التستوستيرون
84	Progesteron	2.2.5 هرمون البروجستيرون
84	Follicle stimulating Hormone	3.2.5 الهرمون المحفز للجريبات
85	Prolactin Hormone	4.2.5 هرمون الرضاعة
86	Luteinizing Hormone	5.2.5 الهرمون اللوتيني
86	Antioxidants	3.5 مضادات الاكسدة
88	Histological changes	4.5 التغيرات النسجية
88	The Liver	1.4.5 الكبد
89	The Kidney	2.4.5 الكلية
89	The Spleen	3.4.5 الطحال
89	Ovaries	4.4.5 المبايض
90	Uterus	5.4.5 الرحم
		6 – الفصل السادس – الاستنتاجات والتوصيات
91	Contusions	1.6 الاستنتاجات
91	Recommendations	2.6 التوصيات
93	References	7 – الفصل السابع – المصادر
117		الملاحق

فهرست الصور

صورة (1). توضح الخلايا الكبدية بنسيج الكبد بمجاميع السيطرة بمرحلة الحمل.	52
صورة (2). مقطع عرضي لنسيج الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 يظهر وجود احتقان بالوريد المركزي مع وجود تغيرات تنكسية بمرحلة الحمل.	53
صورة (3). مقطع عرضي لنسيج كبد الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 توضح الوذمة وتغيرات تنكسية وتوضح تنخر تجلطي بمرحلة الحمل.	53
صورة (4). مقطع عرضي لنسيج كبد الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 توضح الاحتقان الدموي وتوضح تغيرات تنكسية كما توضح تنخر تجلطي وتغلظ نووي بمرحلة الحمل.	54
صورة (5). الكبيبة الكلوية والنبيب البولي للكلية لمجموعة السيطرة بمرحلة الحمل.	55
صورة (6). مقطع عرضي لنسيج كلية الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 يظهر وجود الاحتقان الدموي مع وجود تغيرات تنكسية بمرحلة الحمل.	55
صورة (7). مقطع عرضي لنسيج كلية الجرذان المجرعة باللبرمثرين بتركيز 25 توضح انكماش محفظة بومان وتنخرتجلطي بمرحلة الحمل.	56
صورة (8). عرضي لنسيج كلية الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 توضح انكماش محفظة بومان وتوضح تنخر تجلطي بمرحلة الحمل.	65
صورة (9). اللب الاحمر واللب الابيض للطحال لمجموعة السيطرة بمرحلة الحمل.	57
صورة (10). الاحتقان بالاوعية الدموية كما توضح الخلايا العملاقة Giant cellبالطحال بمرحلة الحمل.	58
صورة (11). مراحل مختلفة من نضج البويضة لمجاميع السيطرة بمرحلة الحمل.	59
صورة (12). مقطع عرضي لنسيج المبيض للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 توضح تنخر تجلطي كما توضح قلة عدد الجريبات بمرحلة الحمل...	59
صورة (13). مقطع عرضي لمبيض الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 توضح تنخر تجلطي وقلة عدد الجريبات بمرحلة الحمل.	60
صورة (14). مقطع عرضي لنسيج مبيض الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 توضح قلة عدد الجريبات وتنخرتجلطي بمرحلة الحمل.	60
صورة (15). التركيب الطبيعي للبطانة الرحمية والتجويف الرحمي لمجموعة السيطرة .	61
صورة (16). مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 وتوضح نزف كما توضح انسلاخ البطانة الرحمية وتوضح نخر تجلطي بمرحلة الحمل.	62
صورة (17). مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 توضح تغيرات تنكسية ونزف ونخرتجلطي بمرحلة الحمل.	62
صورة (18). مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 توضح تنخر بالبطانة الرحمية كما توضح نزف بمرحلة الحمل.	63
صورة (19). الخلايا الكبدية والوريد المركزي للكبد لمجاميع السيطرة بمرحلة الرضاعة.	69
صورة (20). مقطع عرضي لنسيج الكبد للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 توضح الاحتقان بالاوعية الدموية وتوضح تنخر تجلطي بمرحلة الرضاعة.	70
صورة (21). مقطع عرضي لنسيج الكبد للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 توضح ارتشاح الخلايا الالتهامية كما توضح تكوين فجوات بمرحلة الرضاعة.	70
صورة (22). مقطع عرضي لنسيج الكبد للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 توضح الاحتقان الدموي وارتشاح الخلايا اللمفاوية وتوضح تنخر تنكسي وتغيرات تنكسية بمرحلة الرضاعة.	71
صورة (23). معظم الكبيبات والنبيبات الطبيعية بمرحلة الرضاعة.	72

صورة (24). مقطع عرضي لنسيج الكلية للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 توضح انكماش محفظة بومان وتحلل الكبيبة وتوضح تغيرات تنكسية بمرحلة الرضاعة.	72
صورة (25). مقطع عرضي لنسيج الكلية للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 توضح توسع في تجويف النبيب البولي وانكماش محفظة بومان وتنخر تجلطي بمرحلة الرضاعة.	73
صورة (26). مقطع عرضي لنسيج الكلية للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 توضح ارتشاح الخلايا اللمفاوية وانكماش محفظة بومان وتنخر تجلطي بمرحلة الرضاعة.	73
صورة (27) اللب الابيض واللب الاحمر للطحال لمجموعة السيطرة بمرحلة الرضاعة.	74
صورة (28). الخلايا العملاقة للطحال وتوسع الجيبانيات بمرحلة الرضاعة.	75
صورة (29). مراحل من نضج البويضة داخل المبيض لمجموعة السيطرة بمرحلة الرضاعة.	76
صورة (30). مقطع عرضي لنسيج المبيض للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 توضح تنخر تجلطي واختفاء البويضة بمرحلة الرضاعة.	76
صورة (31). مقطع عرضي لنسيج المبيض للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 توضح تراكيب شبيه الاكياس وتنخر تجلطي بمرحلة الرضاعة.	77
صورة (32). مقطع عرضي لنسيج المبيض للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 توضح جربية كراف بمرحلة الرضاعة.	77
صورة (33). مقطع عرضي لنسيج الرحم توضح التركيب الطبيعي للبطانة الرحمية والتجويف الرحمي لمجموعة السيطرة بمرحلة الرضاعة.	78
صورة (34). مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 توضح نزف وانسلاخ وتغييرات تنكسية بمرحلة الرضاعة.	79
صورة (35). مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 توضح نزف وانسلاخ الخلايا المبطنة للغدد الرحمية وتغيرات تنكسية بمرحلة الرضاعة.	79
صورة (36). مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 توضح النزف الشديد وتغيرات تنكسية بمرحلة الرضاعة.	80

فهرست الجداول

عنوان الجدول	الصفحة
الجدول (2-4) :- الجذور الاوكسجينية والنتروجينية المهمة	23
الجدول (3-1) :- الاجهزة والادوات المستخدمة	29
الجدول (3-2) :- المواد الكيميائية	29
الجدول (3-3) :- تصميم التجربة	33
الجدول (4-1) :- تأثير البرمثرين على بعض المعايير الكيميوحيوية في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	48
الجدول (4-2) :- تأثير البرمثرين على بعض مستويات هرمونات التكاثرفي اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	50
الجدول (4-3) :- تأثيرالبرمثرين على بعض مضادات الاكسدة في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الجينية	51
الجدول (4-4) :- تأثير البرمثرين على بعض المعايير الكيميوحيوية في اناث الجرذان البالغة خلال فترة الرضاعة	65
الجدول (4-5) :- تأثير البرمثرين على بعض مستويات هرمونات التكاثرفي اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	67
الجدول (4-6) :- تأثير البرمثرين على بعض مضادات الاكسدة في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	68

فهرست الاشكال

الشكل	الصفحة
الشكل (2-1) . التركيب الكيميائي للبرمثرين	3
الشكل (2-2) . التركيب الكيميائي ل Cis-enantiomer	9
الشكل (2-3). التركيب الكيميائي ل trans-acid moiety	9
الشكل (4-1). تأثير البرمثرين على معدل فعالية انزيم (AIP) في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	117
الشكل (4-2). تأثير البرمثرين على معدل فعالية البروتين الكلي في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	117
الشكل (4-3). تأثير البرمثرين على معدل فعالية الالبومين في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	118
الشكل (4-4). تأثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون التسوتسيترون في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	118
الشكل (4-5). تأثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون البروجسيترون في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	119
الشكل (4-6). تاثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون الرضاعة(Prolactin) في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	119
الشكل (4-7). تاثير البرمثرين على معدل تركيز الهرمون اللوتيني (LH) في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	120
الشكل (4-8). تأثير البرمثرين على معدل تركيز الهرمون المحفز للجريبات (FSH) في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	120
الشكل (4-9). تأثير البرمثرين على معدل فعالية السوبر اوكسيد دسميوتيز (SOD) في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	121
الشكل (4-10). تأثير البرمثرين على معدل مضاد الاكسدة الكلي (Total antioxidants) في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية	121
الشكل (4-11). تأثير البرمثرين على معدل فعالية انزيم (AIP) في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	122
الشكل (4-12). تأثير البرمثرين على معدل فعالية البروتين الكلي في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	122
الشكل (4-13). تأثير البرمثرين على معدل فعالية الالبومين في اناث الجرذان البالغةخلال مرحلة الرضاعة	123

الشكل (4-14). تأثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون التستوستيرون في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	123
الشكل (4-15). تأثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون البروجسيترون في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	124
الشكل (4-16). تاثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون الرضاعة(Prolactin) في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	124
الشكل (4-17). تاثير البرمثرين على معدل تركيز الهرمون اللوتيني (LH) في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	125
الشكل (4-18). تأثير البرمثرين على معدل تركيز الهرمون المحفز للجريبات (FSH) في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	125
الشكل (4-19). تأثير البرمثرين على معدل فعالية السوبر اوكسيد دسميوتيز (SOD) في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	126
الشكل (4-20). تأثير البرمثرين على معدل مضاد الاكسدة الكلي (Total antioxidants) في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة	126

الفصل الاول

المقدمة

المقدمة Introduction

ان الاضطرابات التكاثرية الكبيرة الملاحظة في السنوات الماضية كونت مفهوما عن دور المواد المعروفة بمعرقلات الغدد الصم Endocrine Disruptors (EDs) والتي لها القدرة على تحوير او حدوث اضطرابات بجهاز الغدد الصم حيث تعمل هذه المركبات على تثبيط فعالية الهرمون او تغيير العمل الوظيفي الطبيعي له. ان النمط الكلاسيكي لاختلال الغدد الصماء يتمثل بظهور الاثار السلبية بجرعات منخفضة للغاية , وتم ربط الاضطرابات التي زاد انتشارها في السنوات الاخيرة مثل النمو غير الطبيعي للغدد التناسلية والعقم واضطرابات الغدة الدرقية لتعرض الجنين لاختلال الغدد الصماء (Mnif *et al* ., 2011).

ان احدى المواد المسببة للاضطراب في عمل الغدد الصم هو البرمثرين اذ يتداخل مع وظيفة الغدد ويؤثر على طرحها للهرمونات وعلى المستقبلات الخلوية التي تسيطر على وظائف الجسم من الحمل حتى الولادة. يوجد البرمثرين في بيوتنا وفي طعامنا وحتى في الملابس التي نرتديها , وان اثاره ليست واضحة على الفور مما يجعلها تبدوغير مؤذية ولكن لديه القدرة على التسبب بالضرر على الانظمة الحيوية على المدى الطويل , واثاره تشمل الاطفال والنساء والحوامل (Kim *et al*. , 2005).

ولما كان البناء الجزيئي للبرمثرين يماثل بناء الاستروجين اصبح له القدرة على الارتباط مع مستقبلات الاستروجين وبالتالي فان البرمثرين يمتلك القدرة على التاثير على المراحل التطورية المختلفة للاعضاء , وان المسار البيوكيميائي الذي يسمح بادخال تغيرات في تراكيز الهرمون , وبالتالي تنشيطها يعتمد على ارتباط الهرمونات مع مستقبلاتها ثم البدء بسلسلة من الاحداث تؤدي اخيرا الى تنشيط الجينات وان البرمثرين يعمل كمعرقل استروجيني يثبط من فعالية هذه الهرمونات مؤديا الى حدوث تغيير بوظائف جهاز الغدد الصماء ,عن طريق التداخل مع التركيب والتمثيل الغدائي او الاستجابات الخلوية لهرمون الاسروجين الطبيعية (Roy *et al* ., 2009).

اكثر المراحل تأثرا بالمركبات المعرقلة للغدد الصماء ومنها البرمثرين هي سن البلوغ وهي الفترة المهمة من التغيرات الجسمية الفسلجيةالسريعة مثل التسارع في النمو ونضوج الغدد التناسلية والدماغ (Welsoons *et al* ., 2003).

يعتبر الاستروجين من الهرمونات الاساسية المطلوبة في سن البلوغ وهو مهم للتمايز الجنسي , الاستروجينات الطبيعية ترتبط مع مستقبلات الاستروجين , ومن ثم ترتبط مع العناصر المستجيبة الأستروجينية لاحداث التغيرات الجينية في الخلايا المستهدفة , وتوجد هذه الخلايا في الاعضاء التكاثرية (المهبل , الرحم , قناة البيض ,المبيض , الخصية) والغدد اللبنية والدماغ والغدة النخامية والغدة الدرقية وغيرها من الاعضاء (Couse and Korach,1999) .

ان التركيب المتشابه بين المعرقلات الاستروجينية مثل البرمثرين وبين الاستروجين يسمح بالارتباط وتنشيط مستقبلاته واظهار استجابة مماثلة حتى في غياب هرمون الاستروجين , وهذا

يمكن ان يؤدي الى حدوث البلوغ المبكر مما يبين علاقة ووظيفة هذه المعرقلات وتداخلها مع التطور الجنسي خلال فترة البلوغ (Nelson and Bulun , 2001).

الهدف من الدراسة **The Aim Of This Study**

على الرغم من الدراسات التي تناولت التاثيرات الحيوية والنسجية للبرمثرين لدى البالغين , غير انها لم تسلط الضوء بصورة كافية على تاثيراته في المرحلة النشوئية, لذلك استدعى اجراء العديد من البحوث في هذا المجال .

والهدف من الدراسة الحالية هو لمعرفة تاثير البرمثرين كمعرقل استروجيني وبيان تاثيره على فعالية الغدد الصم والتكاثر باناث الجرذان عن طريق متابعة تاثير التعرض له خلال المرحلة الجنينية ومرحلة الرضاعة وكالاتي:

1. تأثير البرمثرين على بعض المعايير الكيموحيويه وبعض مضادات الاكسدة (انزيم الفوسفاتيز القاعدي , البروتين الكلي ,الالبومين ,انزيم اوكسيد الدسيميوتيز الفائق ومضاد الاكسدة الكلي).
2. تأثير البرمثرين على مستويات بعض هرمونات التكاثر تضمنت (هرمون التستوستيرون , البروجستيرون ,هرمون الرضاعة ,الهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات) .
3. متابعة التغيرات النسجية في بعض الاعضاء بعد تعرضها للبرمثرين ومنها (الكبد ,الكلى ,الطحال ,المبايض والرحم).

الفصل الثاني

استعراض المراجع

2. استعراض المراجع Literature Review

2. 1. البرمثرين Permethrin

مبيد حشري من عائلة Pyrethroid الكيميائية , وهو مشتق من نبات الاقحوان Chrysanthemum (U.S. , 2006). ويستعمل لمكافحة الآفات الزراعية والمنزلية وخصوصا في الفواكه والخضروات والقطن والذره الصفراء والبرسيم لأنه مركب كيميائي ذو طيف واسع Broad – Spectrum كما انه يقتل بصوره عشوائية الحشرات المؤذية التي يمكن ان تؤذي الحيوانات الصغيرة والحشرات المفيدة مثل نحل العسل (Red ,2007).

1.1.2. الخواص الكيمائية والفيزيائية

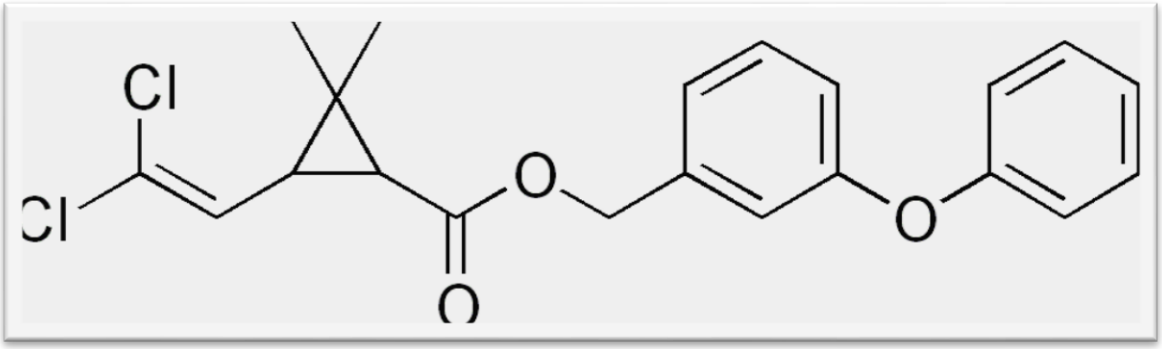
Chemical and Physical Properties

الاسم العلمي للبرمثرين حسب النظام الكيميائي المعتمد عالميا لتصنيف المركبات الكيميائية International union of pure and applied chemistry (IUPAC)

3- Phenoxybenzyl (IRS,3RS,IRS,3SR)-3(2,2-dicholorvinyl)- 2,2 dimethyl – cyclopropane carboxylate.

كما هو واضح في الشكل رقم (2-1) , ويكون البرمثرين بشكل بلورات عديمة اللون بدرجة حرارة الغرفة وموجود بشكل سائل اصفر لزج ضغطه التبخري 2.15×10^{-8} mmHg والوزن الجزيئي 391.3 g/mol بينما قابلية ذوبانه بالماء هي $5.5 \times 10^{-3\ ppm}$ (Vogue *et al* .,2008)

شكل رقم (2-1) يبين التركيب الكيميائي للبرمثرين



2.1.2. فعالية البرمثرين Permethrin Action

البرمثرين من السموم والمركبات الكيميائية التي لها القدره على تحوير الوظيفة العصبية من خلال تداخلها مع قنوات الصوديوم الغشائية حيث تستطيع هذه المركبات غلقها او تغير فعاليتها (Tomlin, 2006) ,وذلك لان البرمثرين يترك هذه القنوات مفتوحة لمدة طويلة مما يؤدي الى ازالة الاستقطاب بعد فرق جهد الفعل الى ان يصل الى حد العتبة Threshold, ان الاضطرابات العضلية العصبية الناتجة عن هذا التاثير تتضمن الإثارة المفرطة hyper excitationوالترنح Ataxia , التشنج Convulsions واخيرا الشلل Paralysis الذي يؤدي الى الموت , كما ان هنالك العديد من الاعراض التي ترافق التعرض للبرمثرين بالجرع العالية في البالغين منها تحسس الجلد والوخز والاضطرابات العصبية والتحسس التنفسي (Fuortes, 2000) . هناك دراسات اخرى بينت حصول تغيرات بفعالية البروتينات العصبية للفئران المتعرضة للبرمثيرين منذ الولادة عن طريق حليب الام (Imamura, 2002).

لذلك فان التعرض للبرمثرين يمكن ان يكون ساما عصبيا خلال فترة النمو والتكاثر كما وجد انه يمكن ان يؤثر على قنوات الصوديوم مسببا الافراغ العصبي المتكرر للأعصاب الحركية والحسية (Kou and Bloomquist , 2007).

3.1.2. تاريخ البرمثرين History of Permethrin

كان اول تسجيل تجاري للبرمثرين في الولايات المتحدة United States عام 1979 وذلك باستعماله في القطن .

اعتبرت مؤسسة حماية البيئة Environmental Protection Agency (EPA) البرمثرين مسرطنا ضعيف weak carcinogenic agent فضلا عن ذلك فان الدراسات المختبرية قد اشارت الى انه يكون شديد السمية للسمك واللافقاريات المائية لذلك فقد صنف كمبيد محدود الاستعمال Restricted use Pesticide (RUP) لاستعماله في القطن من 1982-1989 اضافة لحوالي 55 محصول (U.S.,2003).

لقد صدرت البينات حول التأثيرات البيئية للبرمثرين في عام 1985, وبعد التطور بهذه البيانات فان مؤسسة حماية البيئة EPA ناقشت كيفية استعمال هذه المبيدات كـــمبيد محدود الاستعمال RUP ليشمل كل المنتجات الصناعية الواسعة ما عدا المواشي (Wolters, 2014).

في عام 1988 فان المنظمة العالمية الشاملة طلبت ضرورة وجود العديد من البيانات السمية والبيئية لهذه المبيدات . ومند عام 1994 ,فان انتاج المنتجات الحاوية على البرمثرين للاستعمالات القطنية المطلوبة تضمنت الغاء هذا الاستعمال ومن 1994 الى 2000 فان البرمثرين اصبح موضوعا للتقييم للتعرض السكني والصناعي له (U.S. , 2006) .

4.1.2. سمية البرمثرين Permethrin Toxicity

التأثير السام الناتج من التعرض للبرمثرين يشمل زيادة تكوين الاجسام المضادة غير الواضحة Anti-unclear antibody المرتبطة بأمراض المناعة الذاتية والتحسس الجلدي و التنفسي (Red, 2007). وظهرت علامات سريرية على الجرذان المتعرضة للبرمثرين تمثلت بزيادة العدوانية والتشنج (U.S. , 2006).

يبدا التأثير العصبي بعد تجريع الجرذان للبرمثرين فمويا بجرعه 75ملغم/ كغم / يوم , حيث لوحظ ظهور زيادة معنويه في وزن الكبد والرئة للحيوانات البالغة و نقصان معنوي بفعالية البروتينات العصبية المتضمنة C-Fos and BDNF للجرذان البالغة بعد التعرض للمبيد

. (U.S. , 2003)

وازدادت الوفيات في الجرذان الحديثة الولادة عند تعرضها للبرمثرين بجرعات واطئة ومتتابعة (الجرعة المميتة لـ 50% للجرذان المعاملة هي 34 ملغم لكل كغم من وزن الجسم مقارنه للجرذان البالغة فان الجرعة المميتة LD50 هي 1,500ملغم لكل كغم من وزن الجسم

.(Imamura , 2002)

بصوره عامه يتاثر نحل العسل والسمك واللافقاريات المائية بالبرمثرين اكثر من اللبائن اذ انه يستطيع ان يعيق عمل قنوات الصوديوم فيها مما يؤثر على الجهازالعصبي في حين تكون اللبائن اقل تاثرا بالبرمثرين وعائلته pyrethroid وهذا بسبب القابلية الأيضية العالية للبائن لهذا المركب لذا تزيل اكثر سميته قبل ان يتداخل مع الجهاز العصبي (Kou and Bloomquist , 2007).

1.4.1.2 السمية الحادة Acute Toxicity

1.1.4.1.2. الفموي Oral

بينت الدراسات التي اجريت على الجرذان ان قيمة LD50 تتدرج من 430- 4000 ملغم/كغم بينما تتدرج قيمة LD50 للفئران من 540-2690 ملغم/كغم والسبب في الفرق هي عوامل العمر والجنس ومعدل Isomer (Tomlin , 2006). وقد اعتبرت الـــ U.S. EPA أن البرمثرين قليل السمية عند التعرض الفمي الحاد على اساس ان LD50 الفمي الحاد من 228-3580 ملغم/كغم بالنسبة الى الجرذان (Red , 2007) .

2.1.4.1.2. الجلدي Dermal

ان LD50 الجلدي للبرمثرين في الارانب يكون فوق 2000 ملغم /كغم وقد اعتبرت U.S.EPA ان البرمثرين قليل السمية عند التعرض الجلدي الحاد (FAO , 1999) وان هذا التعرض يسبب زيادة التحسس irritation والحكة Itching بموضع التلامس

(Reigart and Roberts ,1999) كما ان القطط المتعرضة جلديا للبرمثرين او منتجاته يمكن ان تعاني بعض الاعراض مثل الكآبة Depression والترنح Ataxia , التقيؤ Vomiting والتشنج Convulsions الهزات Tremors وفقدان الشهية Anorexia وهذه الاعراض كلها يمكن ان تبدا خلال دقائق قليله او خلال 3 ايام بعد التعرض (Kou and Bloomquist , 2007)

3.1.4.1.2. الاستنشاق Inhalation

لقد تبين ان LD50 للاستنشاق لــ4 ساعات في الجرذان اكبر من 23.5mg/L وان استنشاق البرمثرين يمكن ان يتسبب بالصداع headache والتحسس التنفسي والانفي والتنفس بصعوبة والغثيان والتقيؤ ولكون ضغط البرمثرين التبخري واطئ فان استنشاقه يكون عادة نتيجة الغبار و Droplets spary اكثر من الأبخرة الفعلية (Plumlee , 2004).

2.4.1.2. السمية المزمنة Chronic Toxicity

ان التجارب التي اجريت على الكلاب عند اخذها جرعات يوميه من البرمثرين لـ 500 ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 96 يوم اظهرت زيادة بأوزان الكبد والتأثيرات العصبية (FAO , 1999) . في حين ان الفئران التي تأخذ جرعات برمثرين يومية تتراوح ما بين 28 الى 1400 ملغم / كغم من وزن الجسم كل يوم لمدة 28 يوم لم يلحظ فيها موت هذه الفئران خلال التجربة ولا توجد علامات سريريه معنويه حيث ان NO Observable adverse effected level (NOAEL) لـ 140 ملغم/ كغم كل يوم حسب الجرعة المستخدمة في هذه التجربة .(FAO,1999) بينما الجرذان التي اخذت البرمثرين مع الغذاء لمدة سنتين لم يلاحظ فيها اي اثار للسمية (Tomlin , 2006) .

بينما بينت دراسات اخرى في الانسان من خلال EPA U.S ان الجرعة القياسية Reference does و population Adjuted dose (PAD هي 0.25 mg/kg/day لكل من التعرض اليومي المزمن والحاد للبرمثرين , هذه المستويات استندت الى ان NOAEL لـ 250 ملغم / كغم / يوم للجرذان (Red , 2007) .

5.1.2. الامتصاص Absorption

يكون البرمثرين سريع الامتصاص حيث ان هذه المبيدات تمتص بسهولة خلال الرئتين بعد استنشاقها, ان البرمثرين ينتقل بسرعه خلال الجسم , تؤخذ الكميه الاكبر منه بعد 3-4 ساعات من تناوله (Bradberry *et al.* , 2005).

هناك طريقتان للتعرض لسمية البرمثرين احداها عن طريق الفم والاخرى عن طريق الجلد, ان تحديد معدل الامتصاص الفمي ضروري لتحديد معدل الجرعة الممتصة بالدراسات السرطانية carcinogenicity studies (Tomalik *et al*., 2005).

تم التحقق من امتصاص البرمثرين اذا اعطي عن طريق الفم في الفئران التي اعطيت المبيد ثنائي مثيل سلفوكسيد من 1.6- 4.8 ملغم/كغم من وزن الجسم حيث تم الكشف عن 3-6% فقط من الجرعة في البراز وهذا يعتبر برمثرين غير ممتص ,حيث يوحي هذا ان الممتص الفعلي أعلى من 70% (National Academi, 1994) .

6.1.2. ايض البرمثرين Metabolism of Permethrin

بصورة عامة فان التركيب الاساسي لمركبات البايروثرويد Pyrthroid مكون من كحول وحامض وكل مجموعة من هذه المركبات لها اثنان من الطرق الايضية , الطريقة الاولى تعتمد على اكسدة المادة المختزلة NADPH والطريقة الاخرى تعتمد على التحلل, وان تحللها Hydrolysisيتحفز بواسطة انزيمات السايتوكروم cytochrome P_{450} والاسترات

(Ross *et al*., 2006).

تقسم مركبات البايروثرويد الى نوعين هما : النوع الاول Type-I والنوع الثاني Type-II وان هذه المركبات تكون مزيج من الاشكال المتناظرة Isomers. النوع الاول Type-I cis-isomers تتأيض بمعدل اقل بواسطة الاكسدة ,اما النوع الثاني Type-II يكون لها معدلات ايض واطئة والايض بصورة عامة يحصل بالطريقتين (Crow *et al* ., 2007).

ان الاشكال المتناظرة isomers للبايروثرويد يمكن ان تتداخل مع بعضها في عملية الايض حيث يتفاعل cis –isomers مع trans – isomers وهذه التفاعلات يمكن ان تؤدي الى العديد من النتائج التي تكون مركبات وسطية تؤدي الى التثبيط التنافسي للأيض لأغلب الاشكال المتناظرة Isomers السام العصبي وهذا يؤدي الى رفع السمية العصبية .(Nishi *et al* ., 2006).

ان الاشكال المتناظرة للبرمثرين cis– trans تتايض بسرعة وحلقات الكحول والحامض غالبا لا تتأثر وتبقى مستقرة لايام عدة وان الشكل cis يكون اكثر ثبات من الـــ trans

(WHO , 1999). كما موضح بالشكل رقم (2-2) والشكل رقم (2-3)

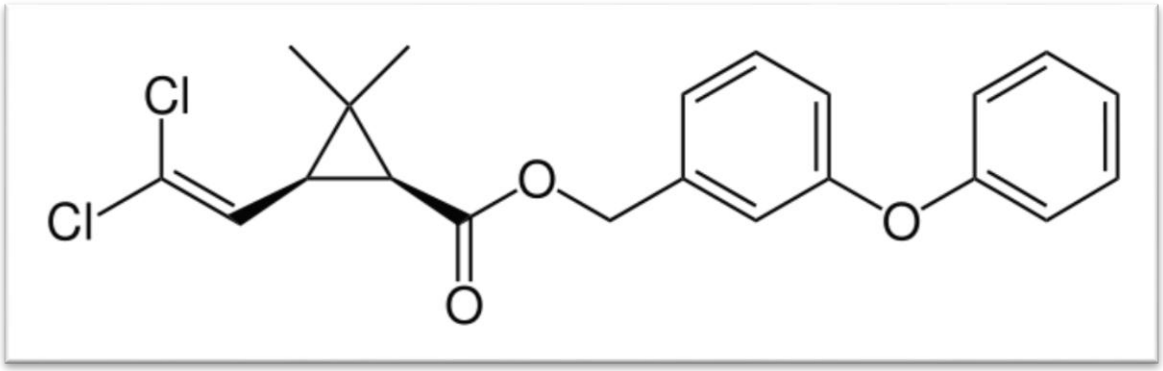
ان البيرمثرين Permethrin يعتبر من النوع الثاني Type-II لمركبات البايروثرويد , ويتايض بسرعة بعد الامتصاص ويتم ذلك بطريقتين من الطرق الأيضية هما التحلل Hydrolysis (انفلاق الجزيئة الى اثنان) , والاكسدة Oxidation . و نتائج أيض هاتين الطريقتين تكون قابلة للذوبان بالماء ولهذا تخرج عن طريق التصفية الكلوية والتي تنتهي بالإدرار

(Loretta *et al* ., 1977).

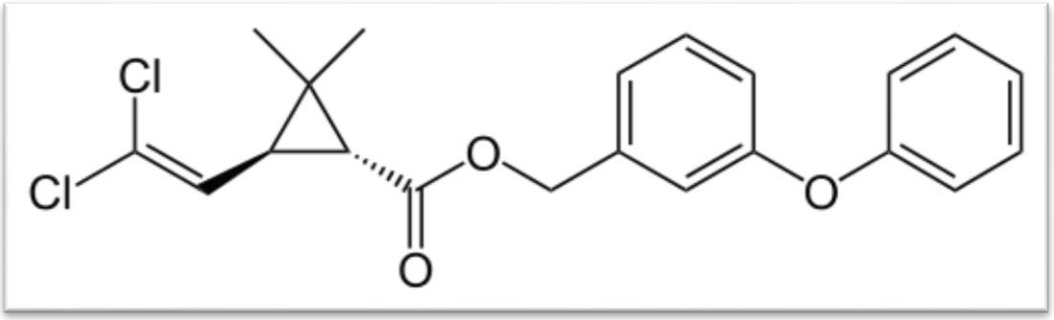
ان الدراسات التي تضمنت استعمال حيوانات مثل الجرذان والبقر بينت ان البرمثرين يتأيض بسرعه في الكبد وان التحلل المائي hydrolysis والاكسدة والاقتران conjugated كلها تدخل ضمن هذه التفاعلات الأيضية(WHO , 2006 , 2011 ,Wissem *et al.*).

وهناك علاقة بين هذا الايض والسمية Toxicity حيث ان معدل الايض للبرمثرين مهم بالسمية الحادة وان trans-isomer سريع التحلل Hydrolytic اكثر سرعة بالإزالة واقل سمية عصبية من الــ cis-isomer وان عدم تحلل هذه المركبات يزيد من السمية العصبية Neurotoxicity, وهذه الحقائق تؤكد ان التحلل والاكسدة مهمة جدا في تحديد السمية الحادة اضافة الى وجود عوامل اخرى مؤثرة (Junquera , 2014).

شكل رقم (2-2) يوضح التركيب الكيميائي ل (cis- enantiomer)



شكل رقم (2-3) يوضح التركيب الكيميائي ل (trans –acid moiety)



7.1.2. الاخراج Excretion

ان نتائج تايض البايروثرويد pyrethroid تكون على هيئة كحول Alcoholsوفينول Phenol وحامض الكاربوكسي carboxylic acids و الكلايسين glycine وكبريتات اخرى مقترنة بحامض الكلوكيويرونيك glcuronide conjugates (Wielgomas , 2013) .

البرمثرين وكل نتائجه الأيضية تخرج بصوره رئيسية عن طريق البول والبراز ,ان 80% من نتائج الايض تشخص بأشكال Cis –Trans للبرمثرين, ان البرمثرين يتايض في الانسان عن طريق الدم وتخرج نواتج الايض ولا تستمر فعاليتها بأنسجة الجسم. عندما يؤخذ البرمثرين فمويا بالجرذان فهو يتايض بسرعة ويزال بصورة كاملة من الجسم خلال عدة ايام ,فقط 3-6% من الجرعة الاصلية تخرج بصورة غير متغيرة بالبراز في حيوانات التجربة .البرمثرين يبقى في الانسجة الدهنية ونصف العمر في الدماغ هو 4-5 يوم

(Aqel and Mohamed, 2011, Heudorf and Angerer, 2001)

8.1.2. معرقلات الغدد الصم Endocrine Disruptors

1.8.1.2. جهاز الغدد الصم Endocrine System

هو الجهاز المسؤول عن انتاج الهرمونات في كل اللبائن و الطيور والاسماك وانواع اخرى من الكائنات. ويتكون هذا الجهاز من :

A. الغدد الموجودة داخل الجسم.
B. الهرمونات التي تصنعها الغدد وتفرز الى مجرى الدم او السوائل المحيطة بالخلايا.
C. المستقبلات بمختلف الاعضاء والانسجة التي تميز وتستجيب لهذه الهرمونات (Bradley *et al* .,2013).

تنتقل الهرمونات التي تفرز بواسطة الغدد الى الجسم والتي تعمل كرسائل كيميائية اذ ترتبط الهرمونات مع المستقبلات بالية القفل والمفتاح , وتحتاج الهرمونات الى مستقبلات مناسبة لتعمل , على الرغم من وصول الهرمونات الى اجزاء الجسم كلها فان الخلايا الهدف Target cell تستجيب للهرمون من خلال ارتباطها بالمستقبلات الخاصة (Heyland *et al* .,2005).

تشمل المكونات الاساسية لجهاز الغدد الصم المبايض والخصى والغدة الكظرية والدرقية والغدة النخامية , وهذه المكونات تنظم العمليات الحياتية بالجسم في المرحلة الجنينية والطفولة والمراحل التالية متضمنا تطور الدماغ والجهاز العصبي ونمو ووظيفة الجهاز التكاثري والايض ومستوى سكر الدم (Tsigos and Chrousos, 2002).

تتداخل الكثير من المواد الكيميائية مع عمل جهاز الغدد الصم سواء كان التداخل مع البناء والافراز و النقل والارتباط وغيرها وبالتالي فانها تؤثرعلى وظيفة هذه الهرمونات , سميت هذه المركبات بمعرقلات الغدد الصم Endocrine Disruptors او المركبات المعرقلة للغدد الصم (EDCs)(Endocrine disrupting Compound)(Poongathaia *et al* ., 2008).

اذ تؤثر هذه المركبات على الاستروجين والاندروجين وهرمونات الثايروید, الاستروجين هو من مجموعة الهرمونات المسؤولة عن التطور الجنسي للإناث وهي تنتج بصورة اساسية من المبايض وبكميات قليلة من الغدة الكظرية

(Nelson and Bulun,2001 , Massaro, 2004).

بينما الاندروجين مسؤول عن الصفات الجنسية الذكرية, ومنها التستوستيرون هو هرمون جنسي ينتج من الخصى (Zuloaga *et al*.,2008 and Holt and Zieve, 2008).

تفرز الغدة الدرقية اثنان من الهرمونات الاساسية هما Thyroxine و Triiodothyronine الى مجرى الدم .وهرمونات الثايروید هذه تحفز خلايا الجسم والعمليات الحياتية المسيطرة مثل النمو والتكاثر والتطور والايض(Hennemann *et al* ., 2001).

تلعب الهرمونات دورا حاسما في التمييز الحاصل بالأشكال الجانبية المبكرة للخلايا الطبيعية في الفترة الحرجة للنمو والتي هي بين الانتقال من البويضة المخصبة وتشكيلها بالكامل عندما تبدا الخلايا بالنمو والتمايز بالنسبة لمعظم الكائنات الحية , وهناك توازنات حرجة تكون بين الهرمونات وتغيرات البروتين التي يجب ان تحدث لذلك جرعة من المواد الكيميائية المعرقلة للغدد الصم يمكن ان يغير العمليات الطبيعية للتطور (Bell *et al* ., 2001).

تعمل العديد من المبيدات الحشرية كمركبات تؤدي الى اختلال وظائف الغدد الصماء والتي تؤدي الى زيادة حدوث الخلل الولادي والحالات غير الطبيعية الجنسية ومنها الفشل التكاثري

(Lemaire *et al* ., 2006) . كما ان لهذه المركبات المعرقلة للغدد الصماء تأثيرات سرطانيه (Bell *et al* ., 2001) .

تعبر هذه المركبات من الام الى جنينها عن طريق الحاجز المشيمي placental barrier بينما في الانواع التي تضع البيوض فان هذه المركبات تنتقل من الام الى مح البيض حيث يمكن ان تسبب اضرارا جسميه خلال فترة الحضن (Andersen *et al* ., 2002).

2.8.1.2. اختلال وظائف الغدد الصم

Disruption OF Endocrine Function

تستطيع المواد الكيميائية ومنها المبيدات كالبرمثرين Permethrin ان تسبب اختلال في الوظيفة الطبيعية للغدد الصم بثلاث طرق مختلفة :

A. تستطيع ان تقلد او تحاكي طبيعة الهرمون وترتبط مع المستقبل الخلوي , بالتالي فان هذه الاشارات قد تكون اقوى من طبيعة الهرمون اوانها تصدر اشارات بالوقت غير المناسب .

B. ترتبط مع المستقبل داخل الخلية لكن لا تؤدي الى تنشيطه , وبهذا تمنع الارتباط الصحيح مع الهرمون مما يؤدي الى فشل الاشارة الطبيعية ومن ثم عدم استجابةالجسم .

C. ممكن ان تتداخل مع العمليات الايضية للهرمونات في الجسم مؤدية الى بناء او هدم للهرمونات الطبيعية.

(Mnif *et al*.,2011;Ormond ,2009 , Martin and Jory,2001).

وتبعا لذلك فان المواد المعرقلة تحفز او تثبط جهاز الغدد الصم ومن ثم تتحكم بزيادة او نقصان كمية البروتينات الممكن انتاجها في بعض الحالات وحتى الكميات الصغيرة من المواد المعرقلة تحدث هذه التأثيرات المتراكمة (Mnif *et al*., 2011).

ان المبيدات الحشريه ومنها البرمثرين التي تسبب تغير بالوظيفة الطبيعية للغدد الصماء على المستوى الخلوي عن طريق الميكانيكيات المذكورة اعلاه تعمل على عدد من المواقع الخلوية الهدف target site والتي تشمل :

A. مستقبلات الهرمونات الستيرويديه: تتوسط التغيرات التي تحدث في بناء البروتينات او الانقسامات .

B. المركبات التي تتداخل مع مستقبلات الاغشية.

C. المركبات التي تتداخل في بناء الهرمونات الاخرى.

D. المركبات التي تغير مجرى الايونات عبر الأغشية داخل انواع من الخلايا المفرزة للهرمونات (Poongothaia *et al* ., 2008).

لاتؤثر المركبات التي تسبب اختلال في وظائف الغدد الصم بهرمونات التكاثرفقط بل تؤثر ايضا على وظيفة الاعضاء غير التكاثريه مثل الجهاز المناعي , لذا فان البرمثرين يستطيع ان يظهر تأثيرا ساما للاعصاب في الانسان واللبائن الاخرى والتعرض له يمكن ان يسبب خللا بالوظيفة التكاثرية والتطورية ويسبب السرطان ايضا (Lyons,2000).

3.8.1.2. الهرمونات The Hormones

الهرمونات هي المادة الكيميائية التي تفرزها الغدد الصماء في الدم مباشرة لأداء وظيفة معينة , فوظيفتها بصورة عامة هي تنسيق عمل اعضاء الجسم وهي تعمل كعوامل كيميائية مهمة لاعضاء الجسم كافة وينبه لا فرازها اعصاب معينة ولاتعمل بالقرب من الاعضاء والخلايا المنتجة لها لذا فهي تدخل الى مجرى الدم ليتم نقلها الى أماكن اخرى في الجسم لتؤثر في الخلايا بعيدا عن اماكن افرازها ويسهل من عملية نقلها وجود العديد من الاوعية الدموية الرئيسة كي تساعدها على اداء وظيفتها بفعاليتها (Heyland *et al* ., 2005).

1.3.8.1.2. التصنيف الكيميائي للهرمونات Hormone Classification

A. الهرمونات الستيرويدية : تفرز اغلب الهرمونات الستيرويدية من :

- القشرة الكظرية : ومنها الكورتيزول والالدوستيرون
- المبيض : ومنها الاستروجين والبروجسترون
- الخصية : ومنها التستوستيرون
- المشيمة : ومنها الاستروجين والبروجسترون (Frank , 2009)

B. الامينات: وهي مشتقات الأحماض الامينية وتشمل هرمونات الدرقية ومركبات الكاتيكول امين التي تفرز من لب الكظر(Walter , 2003).

C. الهرمونات الببتيدية : كل ما تبقى من الهرمونات الصم المهمة وهي اما أن تكون بروتينات او ببتيدات او مشتقات مباشرة منها وهرمونات النخامية وجارات الدرقية والبنكرياسية وهرمونات القناة الهضمية(Wermuth, 2003).

2.3.8.1.2. الهرمونات الجنسية The Sex Hormones

تعتبر الغدد التناسلية من الاعضاء ذات الوظيفتين حيث تنتج الخلايا الجنسية Germ cells والهرمونات التناسلية Sex hormones , وتصنف الهرمونات الذكرية والانثوية على انها استر وجينات او اندر وجينات(Wallen , 2000).

توجد كل من المجموعتين من الهرمونات الانثوية والذكرية الاساسية عند كل من الذكور والاناث بشكل متماثل الا ان الكميات هي التي تختلف كثيرا , ينتج المبيضان هرمونات الاستروجين والبروجسترون وتنتج الخصيتان الحيوانات المنوية وهرمونات التستوستيرون وتفرز ايضا هذه الهرمونات بنسب متفاوتة من الغدة الكظرية Adrenal gland وتفرز الغدة التناسلية هرموناتها تحت النشاط الوظيفي والتكاملي لكل من الغدتين النخامية Pituitaryوتحت المهاد Hypothalamus (Giles ,2008).

3.3.8.1.2. الهرمونات الجنسية الذكرية Male Sex Hormones

هرمون التستوستيرون Testosterone Hormones

يفرز من الخصيتين وبكميات بسيطة أيضا من الغدة الكظرية , وهو مسؤول عن ظهور الصفات الجنسية الاولية والثانوية كما أن له دور في نمو العظام , وينخفض مستواه عند التداوي بالأستروجين وقصور الغدة النخامية الشامل وتشمع الكبد , يتم السيطرة على افراز الهرمونات الذكرية عن طريق الغدة الكظرية بإفراز الهرمون اللوتيني Lutenizing Hormone (LH) (Holteh and Zieve ,2008).

4.3.8.1.2. الهرمونات الجنسية الانثوية Female Sex Hormones

A. هرمون الاستروجين Estrogen Hormone

يتم افرازه بتأثير الهرمون اللوتيني Lutenizing Hormone (LH) والهرمون المحفز للجريبات(FSH)Follicle stimulating Hormone, وتوجد عائلة من هرمونات الاستروجين في الانسجة المختلفة ولكن الهرمون الرئيس الذي يخرج من المبيض هو الاسترادول Estradiol (Whitehead and Nussey, 2001).

والاستروجين مسؤول عن نمو وظائف الاعضاء التناسلية الانثوية وهو مسؤول ايضا عن تسهيل عملية التلقيح وتحضير الرحم للحمل وله دور بسيط في تصنيع البروتينات

(Nelson and Bulun, 2001).

B. هرمون البروجسترون Progesterone Hormones

يفرز من جزء معين من الجسم الاصفر Corpus Leutem وذلك اثناء النصف الثاني من الدورة الشهرية , وهو جزء مهم في تحضير الرحم وتهيئته لعملية زرع البويضات ويحافظ على

الحمل كما انه مهم في تنظيم الدورة الشهرية في الاناث

(Baulieu and Schumacher , 2000).

5.3.8.1.2. الهرمونات الموجهه للغدد التناسلية Gonadotropin-relasing Hormone

هرمونات تصنع وتحرر من قبل عصبونات تحت المهاد و هي المسؤولة عن تحرير الهرمون المحفز للجريب (FSH) و الهرمون اللوتيني (LH) من النخامية الامامية , حيث يلعب هذان الهرمونان دورا مهما وبشكل تازري في التكاثر من خلال تحفيز الغدد التناسلية (المبيضين والخصيتين) لإنتاج الهرمونات الأنثوية والذكرية وتنظيم إنتاج الأمشاج (البويضات والحيوانات المنوية) (Dungan and Cliflon , 2006) .

A-الهرمون المحفز للجريب Follicle Stimulating Hormon

هرمون يُفرز في الإنسان و الحيوان، تنتجه موجهات الغدة التناسلية الخاصة بالغدة النخامية الامامية , وينظم الهرمون المنبه للجريب النمو و البلوغ الجنسي وعمليات التكاثر في الجسم ولها دوراً كبيراً في العمليّة التكاثريّة عند الانسان ولدى كلا الجنسين حيث يُحفز تطوّرالخلايا الخلايا الجنسيّة لدى الجنسين ,فعند الذكور يُحفز هذا الهرمون خلايا سيرتولي الخلايا الحاضنة للخصيتين. أما عند الاناث فيظهر تأثير الهرمون في بدء نمو الحويصلة المبيضيّة داخل المبيض وكمؤشر على بداية الاباضة

.(Jiang *et al* ., 2012) -B

B -الهرمون اللوتيني Lutenizing Hormone

يفرزهرمون (LH) من الغدة النخامية ويخضع إفرازه لسيطره تحت المهاد (Hypothalamus)ويعتبر هذا الهرمون من البروتينات الكاربوهيدراتية (Glycoprotein) وهو المسؤول عن التبويض وإفراز هرموني الاستروجين) (Estrogensوالبروجيستيرون (Progesterone)من المبيض بعد التبويض في الاناث, وفي الذكور يزيد هرمون (LH من انتاج وافراز هرمون التيستستيرون) (Testosteroneمن الخصية والذي يحافظ بدوره على تكوين الحيوانات المنوية , ينخفض مستوى هرمون (LH) عند التداوي بالاستروجين او التستستيرون او الاورام

المبيضية او الكظرية التي تفرز الاستروجين والبروجيستيرون(Jiang *et al* ., 2013)

6.3.8.1.2 هرمون الرضاعة Prolactin Hormone

هرمون بيبتيدي مصنوع من سلاسل الاحماض الامينية المفرزة من الفص الأمامي للغدة النخامية ويلعب دورا بعملية الارضاع اذ يعمل كمحفز لتكوين الحليب من الغدة الثديية ، تسمى العملية الإدرار اللبنيي Lactogensis يتم إنتاج الكمية الأكبر من هرمون البرولاكتين في الخلايا اللبنية الموجودة في الفص الأمامي للغدة النخامية كما ينتج الهرمون بكميات قليلة من كل من الغدة الثديية والغشاء الساقط لبطانة الرحم.

(Grattan *et al* ., 2007)

4.8.1.2. اختلال وظائف الهرمونات الانثوية

Disruption of Female Hormone Function

تكون الكائنات غير المكتملة النمو حساسة لمعرقلات الغدد الصم لكون الجهاز التكاثري تحت التطور ولحدوث تغيرات بمستوى الهرمونات الداخلية التكون بفعل التغييرات الناجمة عن هذه المعرقلات (Diamanti *et al.* , 2009).

يعتمد تطور وظائف الجهاز الانثوي على توازن وتركيز الهرمونات فيه ,اذ ان معرقلات الغدد الصماء تحور الوظائف الهرمونية في الجسم وخاصة الهرمونات الستروييدية , وان التغيرات الفعالة بتراكيز الهرمونات يمكن ان تحصل عن طريق ارتباط هذه المعرقلات مع مستقبلات هرمونيه متخصصة (Lindsey , 2012).

تقوم المواد الكيميائية بتقليد الهرمونات وذلك بغلق الاستجابة الحيوية الطبيعية للهرمون واشغال مواقع المستقبلات. (Mickinlay *et al*., 2008).

يمكن ان تتفاعل معرقلات الغدد الصماء بصورة مباشرة او غير مباشرة مع تركيب الهرمون لتغيير وظيفته كما يمكنها ان تحور عدد مستقبلات الهرمونات وتغير طريقة بناء الهرمون والفتها للجزئيات المتخصصة (Poongothaia *et al* ., 2008).

ان البرمثرين Permethrin من معرقلات الغدد الصماء التي تظهر تأثيرات استروجينية حيث تبين تأثيره على حجم الرحم وعلى تضاعف الخلايا عند سلوكه كاستروجين مما يؤدي الى حصول خلل بالخلية (Kim *et al*. ,2005).

5.8.1.2. تداخل اختلال الغدة الصماء مع نقل الهرمونات

Interference of Endocrine Disruptors with Hormones Transport

الهرمونات الستروييدية في مجرى الدم لا توجد بصورة حرة بل تكون مرتبطة مع ناقل للبروتينات مثل Sex-hormone Binding Globulin (SHBG) والالبومين , وبسبب كون الهرمونات الحرة فقط هي التي تعمل بفعالية لذا فان اية زيادة او نقصان بتركيز حامل البروتين SHBG سوف تضعف فعالية تركيز هرمون الستروييد في الدم (Marty , 2011).

يزيد الاستروجين كما هو معروف من بناء SHBG في الكبد لهذا يزداد تركيز SHBG في البلازما بينما الاندروجين يعمل على تقليل هذه التراكيز(Nelson and Bulun, 2001).

تتم عملية التصفية في الكبد وبمعدل مختلف لكل هرمون وتتاثر بالمركبات التي تغير من فعالية انزيمات وظائف الكبد المطلوبة في هذه التصفية الهرمونية , ان العديد من المبيدات الحشرية يمكن ان تؤثر على انزيمات الكبد Monooxygenase و Glucuronosyltransferase UDP- نتيجة لزيادة التصفية للمبيدات نفسها لغرض ازالة السمية (Marty , 2011).

تتاثر المبيدات المعرقلة للغدد الصم التي تتداخل مع بناء و نقل و ايض وازالة الهرمونات بعوامل عدة فقد لوحظ ان العمر هو اكثر العوامل حساسية حيث ان اجنه الانسان تظهر تحسسات اكثر من البالغين (Cocco , 2002).

كما ان اغلب الضرر المتسبب بوساطة معرقلات الغدد الصم تحصل خلال عملية تكوين الامشاج gametogenesis والمرحلة المبكرة للجنين

(Sharpe, 2006, Skakkebaea , 2002).

ان هذه التأثيرات من المحتمل ان تكون غير ظاهرة حتى مرحلة البلوغ adulthood وان الاجنة والاطفال تستقبل جرعات كبيرة تؤدي الى mobilization للمستودع الدهني للام خلال الحمل ومرحلة الرضاعة (Przyrembel *et al* ., 2000 , Waliszewski *et al* ., 2000)

ان تأثيرات التعرض للمبيدات المعرقلة للغدد الصم على الاطفال يكون كبير جدا سواء خلال المرحلة الجنينية او بعدها لما له من اضرار كبيرة على الصحة متمثلة بالضعف بالوظائف الخلوية لفترة طويلة او التأثيرات المتأخرة لوظائف الجهاز العصبي المركزي(Ribas *et al*., 2003).

6.8.1.2 تداخل اختلال الغدد الصماء مع مستقبلات الهرمونات والارتباط بها

Interference Endocrine Disruptors With Hormone receptors and Binding

تنتقل الهرمونات من منطقة تكوينها خلال مجرى الدم الى الانسجة المختلفة حيث تستلم هناك رسائلها , ومن اجل ان تفسر هذه الرسائل ترتبط الهرمونات مع المستقبلات. ان كل من الهرمون والمستقبل يمتلكان تطابق دقيق لذلك فان كل هرمون يرتبط مع مستقبل خاص به

.(Marty , 2011)

تمتلك العديد من المركبات الكيميائية مثل المبيدات الحشرية قابلية على تغيير عملية ارتباط الهرمون مع المستقبل الخاص به عن طريق تقليد لطبيعة الهرمون او تثبيط مستقبلات الارتباط ,الخطوة اللاحقة هي الغلق الجزئي او الكامل للمستقبلات المتخصصة

.(Poongothaia *et al*., 2008)

وتحدث هذه الميكانيكية عندما تكون تراكيز معرقلات مستقبلات الاستروجين عالية اذ ان لها الفة واطئة تجاه مستقبلات الاستروجين , وهناك ثلاث ميكانيكيات مطلوبة للتداخل بين مستقبلات الاستروجين ومعرقلاتها (Hanke and Jure ,2004):

A. الارتباط مع تنشيط مستقبلات الاستروجين

B. الارتباط بدون تنشيط مستقبلات الاستروجين

C. الارتباط مع مستقبلات الاخرى

من المبيدات الحشرية التي تعمل كمعرقلات هو البرمثرين Permethrin ووجد انه بالتراكيز العالية يثبط الاسترادول estradiol في الجرذ لمستقبلات uterus cystolic (ERs) estrogenic في دراسات الارتباط التنافسي Competitive biniding واستنتج بذلك ان هذه المبيدات ممكن ان تحور تطابق او تماثل مستقبلات الاستروجين دون الارتباط معها

. (Poongothaia *et al* , 2008)

7.8.1.2 تداخل اختلال الغدد الصماء مع الجهاز العصبي

Interference Endocrine Disruptors with Central Nervous System

الجهاز العصبي المركزي مهم جدا لتكامل الفعالية الهرمونية والسلوكية Hormonal and behavior activity لذلك فان عرقلة ميكانيكية هذه الفعاليات يمكن ان تعمل على اضعاف التكيف الطبيعي السلوكي والتكاثري , ولان العديد من المبيدات الحشرية سامة عصبيا Neurotoxic لذا فمن الممكن تصور ان هذه المركبات يمكن ان تعرقل فعاليات الجهاز العصبي المركزي عن طريق عرقلة الوظائف الخلوية للدماغ

. (Poongothaia *et al*., 2008 , Mnif *et al*., 2011)

ويمكن لهذه المبيدات ان تغير وظائف تحت المهاد hypothalamic والغدة المسؤولة عنها الغدة النخامية pituitary gland , لذا فان افراز FSH , GnRH , LH في اكثر الاحوال مباشرة عن طريق تحوير التغذية **الراجعة** للهرمونات داخلية الصنع

.(Tsigos and Chrousos , 2002)

وبالعلاقة بين التطور المبكر للجهاز العصبي المركزي في الاناث والجهاز التكاثري فان اكثر النظريات قبولا هي التي تقول بغياب اي فعالية معنوية لهرمونات الجهاز التناسلي Gonadal hormones (Bakker *et al* ., 2003).

ان التاثيرات السامة لهذه المبيدات على الجهاز العصبي يمكن ان تكون على اساس التفاعل مع الغشاء العصبي والتي تؤدي الى زيادة ازالة الاستقطاب وافراز النواقل العصبية transmitter ,وبصورة عامة فان المركبات الكيميائية التي تتداخل مع النواقل العصبية Neurotransmitter تكون مشابهة للهرمونات (Solomon and Schettler , 2000).

9.1.2. تأثير البرمثرين على التكاثر

Effects of permethrin on reproduction

يؤثر البرمثرين في كل من الجهاز التناسلي الذكري والانثوي, وان وكالة حماية البيئة المركزية صنفته من معرقلات الغدد الصم Endocrine Disruptors حيث وجد ان البرمثرين له فعالية استروجينية و ان هذه المبيدات تظهر نواتج ايضية مشابهة لهرمون الاستروجين

(Solomon and Schettler , 2000).

يرتبط البرمثرين مع مستقبلات الاندروجين Androgen (هرمون الذكورة) في الخلايا الذكرية ويرتبط ايضا مع المستقبلات المحيطة benzodiazepine والذي يحفزبدوره انتاج التستوستيرون ,كما وجد ان التغذية على البرمثرين على المدى الطويل تسبب اختزال الخصى, بينما بالإناث فان التعرض للبرمثرين يسبب فقدان الاجنة (Kim *et a*l., 2005).

معرقلات الغدد الصماء ومنها البرمثرين لها تأثير كبير على الوظيفة التكاثرية و ان العرقلة بوساطة البرمثرين تتأثر او تزداد بتأثير عوامل مختلفة منها نسبة الشكلين المختلفين للبرمثرين (cis :trans) حيث اصبح معروف ان cis-Permethrin اكثر سمية وعرقلة من trans-Permethrin) (WHO,1999).

ان عرقلة هرمون التستوستيرون Testosterone يمكن ان تضعف الجهاز التكاثري الذكري , حيث ان البرمثرين يعرقل البناء الحيوي للتستوستيرون Testosterone عبر تحطيم الاغشية المايتوكندرية لخلايا ليدج Leyding بالفئران الذكور البالغة المعاملة بالبرمثرين فمويا حيث وجد انخفاض معنوي بحركة النطف sperm motility وعدد النطف عن المجاميع العادية

(Zhang *et al* ., 2008).

لقد وجد ان البرمثرين يعمل بصورة مثبطة تنافسيا لارتباط التستوستيرون بمستقبلات الاندروجين والهرمونات الجنسية sex hormone binding globulin وبتراكيز عالية (Jian *et al* ., 2005).

البرمثرين له فعالية استروجينة في الخلايا السرطانية للثدي في الانسان MCF-7 , حيث ان البرمثرين المعطى عن طريق الفم للجرذان المخصبة المعطاة التستوستيرون ادى الى اختزال معنوي في الأنسجة الجنسية الثانوية المعتمدة على الاندروجين (المتضمنة ventral prostate , الحويصلة المنوية وغدد القضيب) , لذلك بينت النتائج ان البرمثرين يمتلك تأثير مشابه للأستروجين بالجرذان الاناث و يمتلك تأثيرا مشابها للاندروجين في الذكور

.(Kim *et al* ., 2005)

ان ميكانيكية عمل البرمثرين على اضعاف الجهاز التكاثري تكون عن طريق عدد من الخطوات حيث ان البرمثرين يتحول اولا: 2,2- dichlorvinyl -2,2- dimethyl cyclopropane -1- carboxylic acid and 3- phenoxybenzyl alcohol (3PBAIc) بواسطة carboxyl esterase ثم بعد ذلك يتبع بالأكسدة ليكون 3- phenoxy benzaldehyde واخيرا 3- Phenoxy benzoic acid (3PBA) نواتج الايض بعدها تصبح من معرقلات الغدد الصماء (Yuan *et al* ., 2010).

10.1.2. المواد المؤكسدة Oxidants

يعتبر الاوكسجين عنصرا اساسيا ومهما في انتاج الطاقة عن طريق اكسدة الغذاء ومع ذلك فان اختزال هذا العنصر لا يكون كاملا حتى تحت الظروف الطبيعية , اذ غالبا ما تنشا مجموعات وسطية من المواد الكيمياوية النشطة الطبيعية من عمليات التحول الطبيعي وهي تلك التي يطلق عليها الجذور الحرة Free radicals , وتعمل الجذور الحرة على مهاجمة وتدمير مكونات الخلايا لتحدث بها اضرار بالغة في مادتها الوراثية ووظائفها الخلوية المختلفة

.(Rhodes , 2000)

والجذر الحر جزئ او ذرة تحتوي على الكترون غير مزدوج في مداره الخارجي وقد تكون تلك الشوارد عضوية او غير عضوية ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر, وتؤدي هذه الجذور الى اتلاف الاغشية الحيوية الاخرى كأغشية المايتوكندريا ونقص نشاط الارتباط الأنزيمية كنقص نشاط مضخات الصوديوم Sodium pumps (Halliwell ,2012).

يستطيع جسم الانسان السيطرة على هذه السلسلة من التفاعلات في الوقت المناسب عن طريق نظام يدعى بنظام المواد المضادة للأكسدة داخل الخلايا والذي يوجد ايضا في بعض الفيتامينات والاملاح التي تعمل كأليات حماية ضد التأثيرات الضارة للجذور الحرة , يتم انتاج العديد من المواد المؤكسدة خلال عمليات الايض في كل من الخلايا الدموية الحمراء ومعظم خلايا الجسم الاخرى.

ان المواد المؤكسدة قد تكون جذور حرة (Free radicals) أو ليست من الجذور الحرة (Non-Free radicals) كبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) وثاني أوكسيد النتروجين (NO_2). تتضمن الجذور الحرة فوق الاوكسجين Superoxide أو ($O_2^{\cdot -}$) وجذر البيروكسيد Peroxy radical (**ROO·**) وجذر الكوكسي الحر (**RO·**) الهيدروكسيل الحر Hydroxyl radical (**$HO^{\bullet}$**) وغيرها (Chatterjee *et al* ., 2011) كما واضح في الجدول رقم (2-4)

جدول رقم 2-4 يبين اغلب الجذور الاوكسجينية والناتروجينية المهمة

Reactive oxygen species (ROS)		Reactive nitrogen species (RNS)	
$O_2^{\cdot -}$	Superoxide	·NO	nitric oxide
OH·	Hydroxyl ·	NO_2	nitrogen dioxide
H_2O_2	Hydrogen peroxide	N_2O_3	dinitrogen trioxide
HOCl	Hypochlorous acid	ONOO-	peroxynitrite
RO·	Alkoxyl	RONOO	alkyl peroxynitrite
ROO·	Peroxyl		

تنشا الجذور الحرة في جسم الانسان من مصادر داخلية Endogenous وخارجية Exogenous ويعتبر النشاط الأيضي داخل الخلايا مصدرا داخليا للجذور الحرة ,كما ان العديد من المركبات في الجسم مثل الادرينالين وبعض مكونات المايتوكندريا يمكن ان تتفاعل مع الاوكسجين لانتاج جذور فوق الاوكسجين , والذي يتم انتاجه كذلك داخل الجسم من خلايا الدم البيضاء كآلية

دفاعية ضد البكتريا , كما تنشا الجذور الحرة في جسم الكائن الحي بتأثير عدة مصادر خارجية اهمها الاشعة فوق البنفسجية والتدخين ومبيدات الحشرات والمواد البتروكيميائية والمذيبات كالبنزين وبعض العقاقير وغيرها , يعمل الجلد على حماية الجسم والحد من تأثير الجذور الحرة خارجية المصدر, اما الجذور الحرة داخلية المصدر فان للجسم الية للسيطرة على سلسلة التفاعلات المنتجة للجذور الحرة والتي تتمثل بوجود مضادات الاكسدة التي تدور داخل الجسم (Harman , 2009).

ويطلق على المركبات التي تعمل على كبح تكوين او توقف تأثير المؤكسدات الاولية بالمواد المضادة للأكسدة Antioxidants ومنها NADPH و GSH , وفي الخلايا الطبيعية هناك اتزان فاعل بين المؤكسدات الاولية ومضادات الاكسدة الا ان هذا الاتزان يمكن ان يتغير باتجاه المؤكسدات الاولية عندما تزيد انتاج انواع الاوكسجين النشطة بدرجة كبيرة او عندما يتم اضعاف او انقاص مستويات المواد المضادة للأكسدة وتسمى هذه الحالة (الاجهاد المؤكسد Oxidative Stress) والتي يمكن ان تؤدي الى دمار شامل في الخلايا اذا كان هذا الاجهاد مكثف او طالت فترته الزمنية (Rhodes , 2000 , Chatterjee *et al* ., 2011).

1.10.1.2. مضادات الاكسدة Antioxidants

جزيئات قادرة على إبطاء أو منع تاكسد الجزيئات الأخرى في الجسم الحي، يتمثل التأكسد بتفاعل كيميائي يقوم بتحويل الالكترونات من مادة معينة إلى عامل مؤكسد وقد يتلف الخلايا , لذا فإن مُضادُّات التَّأَكْسُد تنهي هذه السلسلة من التفاعلات بإزالة الوسيط الأساسي تماماً، ومنع تفاعلات الأكسدة الأخرى من أكسدة أنفسها. ونتيجة لذلك، عادة ما تنزع مُضادُّات التَّأَكْسُد عامل الأكسجين كالثيول أوالبوليفينول .وعلى الرغم من كون تفاعلات الأكسدة تمثل عصب الحياة يمكن أيضاً أن تكون متلفة؛ إذاً، تحافظ النباتات والحيوانات على نظام معقد من شتى أنواع مضادات التأكسد، كالكلوتاثيون ، فيتامين ج بالإضافة لانزيمات كالكتالاز، دِيسمُوتاز فَوقَ الأكسيدي .

توجد مضادات الاكسدة في جسم الكائن الحي على صورة انزيمات او مرافقات انزيمية Co-enzyme او مركبات تحتوي على عنصر الكبريت المختزل مثل الكلوتاثيون كما توجد مضادات الاكسدة بصورة طبيعية في الخضروات والفواكه والحبوب (Benzie , 2003).

وتصنف مضادات الاكسدة في مجموعتين هما :

A. مضادات الاكسدة خارجية المصدر **Exogenous antioxidants**

وهي التي تأتي من خارج الجسم كفيتامينات A , E , C وغيرها من العناصر المطلوبة لنظام مضادات الاكسدة.

B. مضادات الاكسدة داخلية المصدر **Endogenous antioxidants**

وهي على نوعين :-

1- مضادات الاكسدة الانزيمية : Enzymatic antioxidants

وتلعب دورا هاما واساسيا في حماية الخلية من الاجهاد التأكسدي ومنها

(Carbone *et al* ., 2003):

-فوق اوكسيد الديسميوتاز Superoxide Dismutase (SOD)

-الكاتالاز Catalase

-كلوتاثيون بيروكسيداز Glutathione Peroxidase

2- مضادات الاكسدة غير الانزيمية : Non- enzymatic antioxidants

هناك عدة انواع من مضادات الاكسدة غير الانزيمية ومنها:

1- الكلوتاثيون Glutathione

2- عامل الاختزال NADPH

3- البيليروبين

4- حامض اليوريك

5- عنصر السيلينيوم

6- حامض اللايبويك

7- وغيرها من مضادات الاكسدة غير الانزيمية.

وهناك العديد من مضادات الاكسدة غير الانزيمية الاخرى مثل الفلافونويدات والكاروتينات في العديد من الاطعمة كالفواكه والخضروات (Zhiguo *et al* ., 2013).

1.1.10.1.2. انزيم سوبر اوكسايد دسميوتيز Super Oxide Dismutase

احد مضادات الاكسدة الانزيمية الضرورية لتخليص خلايا الكائنات الحية من الاثر الضار للاوكسجين الفعال,الذي ينتج في اجسام الكائنات الحية كناتج وسطي لمعظم العمليات الحيوية,لذا فأن الخلايا تحتاج الى نظام دفاعي لتخليص نفسها من هذا الضرر بواسطة انزيمات Metallo-enzymes ومنها انزيم SOD من خلال تحويل الاوكسجين الفعال الى بيروكسيد الهيدروجين H2O2 بوساطة تفاعلات كيميائية ,ومن ثم يتحول الىH2O2 (Hai-Feng *et al.*,2011).

يلعب انزيم SOD دورا مهما في حماية الخلايا من الضررالحاصل بواسطة الاوكسجين الفعال , لقد أثبتت مختلف الدراسات أن جذر السوبر أوكساید يؤدي دورا هاما في مختلف الحالات الفسلجية والمرضية في الجسم وأن التأثير السمي للأوكسجين الفعال يتم من خلال اليتين هما :

1. التحطيم ويشمل تحطيم مختلف الجزيئات البايولوجية مثل جزيئات الدهون التي تعد الأساس لعملية الاكسدة الفوقية للدهون وتحطيم جزيئات البروتينات والحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA(حدوث طفرة فيها) (Tarhan & Aydemir, 2000).

2.إثارة وتهيج الاستجابة المناعية الالتهابية , ويعد جذر الهايدروكسايل أحد اقوى عوامل الأكسدة المعروفة والتي لها قدرة عالية على اختزال الأشكال عديمة الجذور الى جذور, وعادة يتكون جذر الهيدروكسيل كناتج ثانوي من تفاعل جذر السوبر اوكساید الأساسية. وهو من الجذور ذات العمر النصفي القصير ويتكون في الجسم عادة في حالة وجود إشعاعات عالية الطاقة مثل أشعة X أو بسبب الانشطار الانفلاقي للماء كما قد يتكون بسبب التحفيز المعدني

(Tarhan & Aydemir, 2000).

يعد جذر النتروجين عاملا وسطيا في توليد البيروكسي نايتريت ذو التأثيرات السمية الخلوية من خلال الأكسدة الفعالة لهذا الجذر , وتتكون جزيئة الاوكسجين المفرد أما بسبب التهيج الالكتروني لجزيئة الاوكسجين والتي تحدث غالبا بسبب التفاعلات الحساسة للضوء أو بسبب التهيج الكيمياوي (Hai-Feng *et al.*,2011) .

يتفاعل الاوكسجين المفرد عادة مع الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة أو مع القواعد النايتروجينية لجزيية DNA في الخلايا .أما بخصوص بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2فيتولد كونه

مرحلة ثانوية من النشاط الانزيمي لأنزيم السوبر اوكساید ديسميوتيز (SOD) لجذر الاوكسجين إذ يعمل هذا الأنزيم على تحويل ($\dot{O}_2^-$) إلى (H_2O_2) في الأنظمة البايولوجية . وأن جزيئة (H_2O_2) تنتشر بسرعة بين الخلايا ولها القدرة على التحول الى ماء

.(Tarhan & Aydemir, 2000).

2.10.1.2. الاجهاد التاكسدي ومجاميع Pyrethroid

اشارت بعض الدراسات الى ان اجهاد الخلايا المتسبب عن المبيدات الكيميائية من مجموعة Pyrethroids يمكن ان يسبب خللا في انزيمات مضادات الاكسدة Antioxidant فتتطلب الحاجة الى الجذور الحرة free radical التي تتوسط سمية هذه المبيدات , حيث لوحظ ان الجذور الحرة تقوم باختزال الوظيفة المايتوكندرية لأنسجة الدماغ بالفئران بعد التعرض للبرمثرين

.(Karen *et al* ., 2001)

ان التأثير السام لاصناف الاوكسجين الفعالة oxygen free radicals ومركبات reactive oxygen يمكن ان يؤدي الى العديد من الاضطرابات المتضمنة الشيخوخة aging والسرطان cancer (Grajeda *et al* ., 2004).

كما لوحظ ان مجموعة ال pyrethroid ومنها البرمثرين تتسبب بالكثير من الاضطرابات العصبية المختلفة حيث ان هذه المبيدات تعبر حاجز الدم الدماغي blood – brain وتحصر تأثيرها على الجهاز dopaminergic مؤثر على الاجهاد التأكسدي اذ قد يتسبب بمرض parkinson's disease وبينت الدراسات تاثير البرمثرين على الجرذان حديثي الولادة neonatal من 8-50 يوم من الحياة حيث وجد بانه يعمل على تقليل التأثير الطويل الديمومة longlasting محدثا تغيرات سلوكية وزيادة الاجهاد التأكسدي Oxidative stress حيث يحصل تفاعل مع المواقع داخل خلوية لبروتينات الغشاء البلازمي من خلال اختزاله ل Blood glutathione peroxidase ولاتحدث تغيرات في blood superoxide dismutase

.(Nasuti *et al* ., 2007)

3.10.1.2. انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline Phosphatase

أحد إنزيمات البلازما الذي يعمل في الوسط القلوي.(PH=9-10.5) اذ تزداد فاعلية الفوسفاتات القلوية في البلازما نتيجة لحالات متعددة منها فيزيولوجية طبيعية و منها مرضية تدل على آفات معينة, يتم انتاج انزيم الفوسفاتيز القلوي بشكل أساس في الكبد والعظام ، وبكميات قليلة في الامعاء والكلية , كما يصنع في المشيمة عند المرأةالحامل و الكبد يقوم بتصنيع هذا الانزيم بكميات أكثر من العظام والأعضاء الأخرى.كما يتواجد هذا الانزيم بكميات كبيرة في

الدم وتشمل هذه الحالات : -. نمو العظام السريع (خلال البلوغ و امراض العظام (لين العظام) , المرض الذي يؤثر على كمية الكالسيوم في الدم (فرط الدريقات) وتضرر في خلايا الكبد .

يزداد تركيز هذا الانزيم في الطفولة المبكرة و مراحل النمو الأولى حتى سن البلوغ بما يعادل 3-4 أضعاف تركيزه الطبيعي في البلازما نتيجة لزيادة نشاط الخلايا البانية للعظم, اما في الثلث الأخير من الحمل فيزداد إفراز نظيره المشيمي 2-3 أضعاف و يزداد إفراز نظيره من الغدد الثديية في حالات الإرضاع (Kim and Wyckoff , 1999).

حالات مرضية عدة تسبب خلل في هذا الانزيم منها: داء باجيت :وهو أحد الأمراض التي تصيب كبار السن لاسباب مجهولة تؤدي إلى زيادة نشاط ناقضات العظم و بالتالي زيادة نشاط البانيات (زيادة الفوسفاتاز القاعدي) التي ينتج عنها تشكيل عظم غير منتظم و ثخين مما يسبب آلام شديدة , فضلا عن أمراض الكبد المؤدية إلى ضرر الخلايا الكبدية أو ركودة الصفراء مما يجعل الحوامض الصفراوية أكثر ذوبانية و يكثر في السائل الخلالي و نتيجة لانسداد القنوات الصفراوية ينتقل إلى الدم لذا يزداد تركيزه في المصل (Berk and Korenblat , 2011) .

4.10.1.2. البروتين الكلي Total protein

البروتين الكلي للمصل ويسمى أيضاً البروتين الكامل للبلازما أو البروتين الكامل ,وهوعبارة عن اختبار كيميائي حيوي لقياس الكمية الكاملة للبروتين في بلازما الدم أو مصل الدم , يتكون البروتين في المصل من البومين (Albumin)و غلوبيولين .(Globulin) , ان تراكيزه التي تكون اقل من المعدل الطبيعي تكون عادةً نقص تركيز الالبومين ,على سبيل المثال مرض حاد أو مرض في الكبد , اما التراكيز التي تكون اعلى من المعدل الطبيعي توجد في سرطان الدم مثلا

.(Nayeema *et al* ., 2008)

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

3. المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1.3. المواد Materials

1.1.3. الأجهزة Instrumentations

جدول (1-3) الأجهزة والأدوات المستعملة في الدراسة الحالية حسب المنشأ والشركة

ت	الجهاز	المنشأ	الشركة
1	المجهر الضوئي Light microscope	Japan	Olympus
2	المشراح الدوار Rotary microtome	China	Biocut
3	جهاز الطرد المركزي Centerfuge	Germany	Hettich
4	جهاز تعقيم Auto clave	Japan	Hirayama
5	جهاز ELISA	Austria	Tecan
6	جهاز Minividas	France	BioMerie -ux
7	جهاز Spectrophotometer	Apel	Japan
8	حمام مائي Digital Water bath	Korea	Daihan Labtech
9	سيت تشريح Dissecting tools	Germany	Pakestan
10	ماصات دقيقة Micropipette	Germany	Human company
11	ميزان الكتروني Electronic Balanc	Germany	Sartouris

2.1.3 المواد الكيميائية Chemical and Kits

جدول (2-3) المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة .

ت	المادة	المنشأ	الشركة
1	مادة البرمثرين Permethrin	USA	Sigma Aldrich

Company			
Biorex Diagnostics	United kingdom	Superoxide Dismutase عدة تقدير	**2**
Biorex Diagnostics	United Kingdom	Total Antioxidant Status عدة تقدير	**3**
Monobind Inc.	USA	Follicle Stimulating عدة تقدير هرمون Hormone(ELSA)	**4**
Monobind Inc.	USA	Luteinizing عدة تقدير الهرمون Hormone(ELSA)	**5**
Human	Germany	prolactin (EISA) عدة تقدير هرمون	**6**
Human	Germany	Testosterone (EISA) عدة تقدير هرمون	**7**
Human	Germany	Progesterone (EISA) عدة تقديرهرمون	**8**
Teco Diagonostics	USA	Alkaline Phosphates(ALP) عدة تقدير	**9**
Biolabosa	France	Total Protein(Tp) عدة تقدير	**10**
RNADOX	United Kingdom	Serum Albumin عدة تقدير	**11**
Merck	Germany	Ethanol كحول اثيلي	**12**
TEDIA Company	USA	Formaldehyde الفورمالين	**13**
Scharlau	Spain	زايلول Xylole	**14**
Merck	Germany	ملون الهيماتوكسيلين –الايوسين– Eosin hematoxyline	**15**
Merck	Germany	Paraffin wax شمع البارافيين	**16**

2.3. الحيوانات التجريبية Experimental animals

اجريت هذه الدراسة في البيت الحيواني لكلية الطب البيطري –جامعة كربلاء للفترة من 2013/2/10 ولغاية 2014/2/10, واستخدم فيها 80 جرذا بالغا بحيث قسمت هذه الجرذان على تجربتين كل تجربة تتكون من 4 مجاميع كل مجموعة تتكون من 10 حيوانات 7 اناث و3 ذكور .تم الحصول على هذه الجرذان من البيت الحيواني لكلية الصيدله– جامعة كربلاء.

كانت اعمار هذه الجرذان 14–16 اسبوع مع معدل وزن الجسم (200–250غم) للإناث و (250–300غم) للذكور حيث وضعت الحيوانات في اقفاص معدة لهذا الغرض وتم توفير الماء لها عن طريق قناني زجاجية.وتركت للتاقلم لمدة شهر.

3.3. تصميم التجربة

قسمت الدراسة على تجربتين هما:

1.3.3. التجربة الاولى (المرحلة الجنينية) :

فحصت الجرذان الاناث باخذ المسحة المهبلية للتاكد بان لها دورة شبقية منتظمة (Geoffrey ,2007) و التي تكون بالدورة الشبقية سمح لها بان تلتقي مع الجرذان الذكور بأقفاص منفصله. وبعد الالتقاء اؤخذ منها المسحة المهبلية , وعدت الحيوانات في اول يوم من الحمل عند وجود الحيوانات المنوية في مسحتها المهبلية (Barcelona *et al* .,1977) .

قسمت الجرذان في هذه التجربة عشوائيا الى 4 مجاميع كل مجموعة تتكون من 10 حيوانات 7 اناث و 3 ذكور وقسمت الاناث كالاتي :(جدول رقم 3–3)

1- مجموعة السيطرةC : 7 اناث حوامل صنفت كمجموعة سيطرة تم اعطائها الماء المقطر0.5 مل لكل كغم من وزن الجسم محلول 0.001 محلول الايثانول وحسب مدة العلاج لكل تجربة.

2- المجموعة الاولى T1 : 7 اناث حوامل اعطيت 0,02 ملغم / كغم /يوم من البرمثرين عن طريق انبوب تغذية داخل المعدة Intra Gastric Gavageابتداء من اليوم السابع الى اليوم 21 من الحمل .
3- المجموعة الثانية T2 : 7 اناث حوامل اعطيت 25 ملغم /كغم /يوم من البرمثرين عن طريق انبوب تغذية داخل المعدة Intra Gastric Gavage ابتداء من اليوم السابع الى اليوم 21 من الحمل .
4- المجموعة الثالثةT3 : 7 اناث حوامل اعطيت 75 ملغم /كغم / يوم من البرمثرين عن طريق انبوب تغذية داخل المعدة Intra Gastric Gavage ابتداء من اليوم السابع الى اليوم 21 من الحمل.

اوقف تجريع الامهات في اليوم 22 من الحمل , وبعد الولادة تركت مواليد الجيل الاول الى مرحلة البلوغ (60 يوم من العمر) في نهاية التجربة ضحي بالاناث البالغة من مواليد الجيل الاول لكل مجموعة بوضعها في جار زجاجي حاوي على قطن منقوع بمادة الكلوروفورم وبعد ظهور علامات التخديرعليها تم سحب الدم منها وتشريحها وجمعت عينات الدم لأغراض الدراسات الهرمونية والكيموحيوية والدراسات النسجية .

2.3.3. التجربة الثانية (مرحلة الرضاعة)

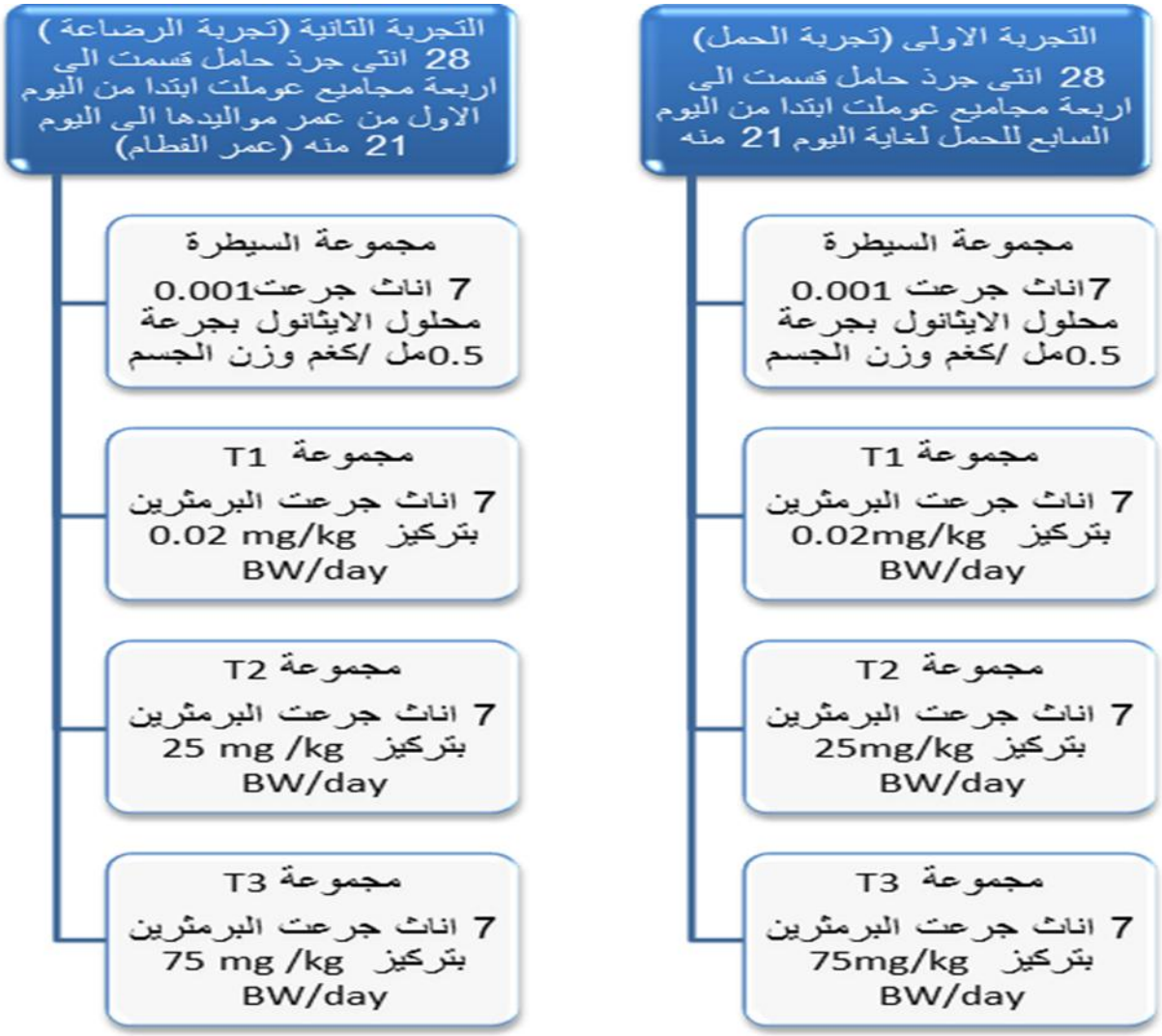
قسمت الحيوانات في هذه التجربة نفس التقسيم المتبع في المجاميع اعلاه , ماعدا موعد التجريع حيث جرعت الامهات من اليوم الاول من الرضاعة الى اليوم 21 من عمر المواليد بعدها تركت الى مرحله البلوغ (60 يوم من العمر) وفي نهاية التجربة ضحي بالاناث البالغة من مواليد الجيل الاول لكل مجموعة بوضعها في جار زجاجي حاوي على قطن منقوع بمادة الكلوروفورم وبعد ظهور علامات التخديرعليها تم سحب الدم منها وتشريحها وجمعت عينات الدم لأغراض الدراسات الهرمونية والكيموحيوية والدراسات النسجية .

4.3. سحب الدم

جمعت عينات الدم عن طريق ثقب في القلب بعدها سحب 3 مل من الدم مباشرة من القلب باستعمال حقنة ووضع جزء منه في أنابيب حاوية على مادة مانعة للتخثر لإجراء الفحوصات الدموية , ووضع الجزء الاخر من الدم في أنابيب وفصل بلازما الدم بوساطة جهاز الطرد المركزي

Centrifuge بسرعة 3000 دورة /دقيقة لمدة 15دقيقة لقياس بعض المعايير الكيموحيوية وقد حفظت الأمصال في ثلاجة Refrigerator في درجة حرارة 4C°

جدول رقم (3-3) تصميم التجربة



5.3 المعايير المستخدمة Parameters

1.5.3 قياس الهرمونات Hormonal Assays

1.1.5.3. قياس تركيز هرمون محفز الجريبات (FSH)
Estimation of Follicular Stimulating Hormones Concentration

تم قياس تركيز الهرمون وذلك بإتباع الخطوات المرفقة مع عدة الفحص الخاصة بهرمون FSH المتكون من المواد الآتية :

1 – أشرطة Strips (STR) الخاصة بهرمون FSH : وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز FSH , لغرض تميزها .

2 - Solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (tip) المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز FSH لغرض تميزها .

3 – FSH control (C1) : حضر باضافة 3 مل من الماء المقطر وترك لمدة 5-10 دقائق .

4 - FSH calibrator (S1) : حضر باضافة 2 ملم من الماء المقطر وترك لمدة 5 – 10 دقائق

5 -FSH dilutant (R1) وهو جاهز للاستعمال .

6 - بطاقة MIe وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز الهرمون المحفز للجريبات .

مبدأ الطريقة :

قيس تركيز الهرمون المحفز للجريبات طبقا لطريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection .

وتعمل مسلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلا عن عملها بوصفها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة, أما المحاليل المستعملة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة مختومة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً , أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل اتوماتيكي عن طريق جهاز Minividas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من والى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة , تم نقل العينة الى داخل الحفرة الحاوية على FSH – antibodes ويتحرك خليط (العينة / الرابط) بشكل دوري من والى

SPRs وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة APR وكذلك بالربط مكوناً بعد ذلك Sandwich خلال الخطوات الدورية من والى SPRs , ويقوم الأنزيم بعد ذلك بتحلل المادة الأساس الى الناتج المشع وهو 4-Methly- umbliliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي (450 نانوميتر) , وتعتمد شدة الاشعاع على تركيز العينة .

وفي نهاية المعايرة حسبت النتيجة اتوماتيكيا عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضا .

طريقة العمل

تتضمن طريقة العمل الخطوات الآتية :

1 - وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل اوتوماتيكي إذ بدونها لا يتمكن الجهاز من إظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .

2 - استخدم شريط SPR & STR واحد لكل من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control ووضعت في المكان المخصص لها في الجهاز .

3 - سحبت 100 µl من عينة مصل الدم ووضعت في الحفرة (1) الخاصة بها على الشريط Strip (STR) وتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .

4 - اتبعت الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ manual الخاص بالجهاز . ليقوم الجهاز بالبدء بعملية المعايرة الاتوماتيكية والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .

5 - بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة تستعمل لمرة واحدة فقط . (Pearse and Reis , 1951)

2.1.5.3 قياس تركيز الهرمون اللوتيني

Estimation of Luteinizing Concentration(LH)

قيس الهرمون اللوتيني بأتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بالهرمون اللوتيني المتكونة من المواد الآتية:

1 -أشرطة Strips الخاصة بالهرمون اللوتيني LH وهي جاهزة للاستعمال ومثلما هو الحال في أشرطة الهرمون المحفز للجريبات FSH , فهي تتكون من عشر حفر .

2 - (SPR2) Solid Phosereceptacles : وهي جاهزة للاستعمال مشابهة تماماً الى SPR2 الخاصة بهرمون المحفز للجريبات الا انها معلمة بالهرمون اللوتيني .

3- (C1) LH Control : حضر بإضافة 3 ملم من الماء المقطر وترك لمدة 5-10 دقائق .

4 - (S1) LH Calibrator : حضر بإضافة 2 ملم من الماء المقطر وترك لمدة 5- 10 دقائق .

5 – (R1) LH dilutant : وهو جاهز للاستعمال .

6 - بطاقة MLe : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسية لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم نتيجة الاختبار الخاص بتركيز الهرمون اللوتيني .

اعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون LH أيضاً على Combines enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection إذ يحدث تنافس بين المستضد الموجود في العينة و المستضد المعلم بـ Anti-LH antibodies المغطية للـ SPR1 وفي النهاية يتكون ناتج مشع تم قياس كمية هذا الإشعاع عن طريق الجهاز بشكل اتوماتيكي , أما بالنسبة لطريقة العمل فقد تم أتباع الطريقة ذاتها المستخدمة في أثناء قياس الهرمون المحفز للجريبات .

3.1.5.3. قياس تركيزهرمون البروجستيرون

Estimation Progesterone Hormone concentration

اعتمد مبدا قياس تركيز هرمون البروجستيرون على التنافس للقياسات المناعية للأنزيم competitive enzyme immunoassay ,طريقة العمل هي نفسها المستخدمة لقياس الهرمونات اعلاه.

4.1.5.3. قياس تركيز هرمون التستوستيرون

Estimation Testosterone Hormone concentration

المبدأ : يعتمد على التفاعل التنافسي لهرمون التستوستيرون والارتباط بين الانزيم والهرمون, تتناسب كمية الارتباط بين الانزيم والهرمون تتناسب عكسيا مع تركيز التستوستيرون بالعينة.

طريقة العمل :هيئت عدد من الحفر ووزع 25 مايكروليتر لكل من العينات sample والسيطرة control والقياسي standard في ال Tip بالحفر المختارة ,ثم وزع 200 مايكروليتر من الانزيم المرتبط بهذه الحفر ثم عمل مزج لمدة 10 ثواني من المهم ان يحصل مزج كامل بهذه الخطوة, ثم

حضن لمدة 60 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة ,رجت محتويات الحفر بشكل سريع بعدها غسلت الحفر 3 مرات بالماء المعقم . ضربت الحفر بحدة على ورق الامتصاص لإزالة القطرات المتبقية .
اضيف 200 مايكروليتر لمحلول المادة الاساس لكل حفرة , وحضن لمدة 15 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة اوقفت التفاعلات الانزيمية بإضافة 100 مايكروليتر من محلول التوقف Stop Solution لكل حفرة ثم بدات بالقراءة بعد 10 دقائق من اضافة محلول التوقف, حسبت النتيجة الاتوماتيكية عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها طبعت النتيجة عن طريق الجهاز أيضا .

5.1.5.3. قياس تركيز هرمون الرضاعة

Estimation of Prolactin Hormone Concentration

المبدأ :مبدا قياس هذا الهرمون يعتمد على التنافس بالقياسات المناعية للإنزيم Competitive enzyme assay, وطريقة العمل المتبعة هي ذات الطريقة المتبعة في قياس تركيز هرمون محفز الجريبات .

2.5.3 المعايير الكيموحيوية Biochemical Parameters

1.2.5.3 قياس نشاط انزيم الفوسفاتيز القاعدي

Estimation of Alkaline Phosphates (ALP)

المبدأ : قيس نشاط انزيم (ALP) في مصل الدم بالطريقة اللونية Colorimetric Methods بقياس الكثافة اللونية (Pearse and Reis, 1951) تبعا للتفاعل الاتي :

Phenylphosphate ----ALP/ PH.10---Phenol.+Phosphate

تم قياس الفينول بوجود 4- amino antipyrine و Potassium Ferricyanide, وجود Sodium arsenate في الكاشف لايقاف الفعالية الانزيمية.

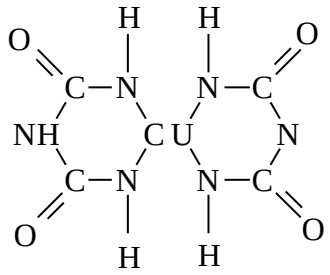
2.2.5.3 قياس تركيز البروتين الكلي في مصل الدم

Estimation of Serum Total Protein

المبدأ :

تم تقدير كمية البروتين باستخدام عدة (Kits) المجهزة من شركة Biolabosa الفرنسية حيث اعتمدت الطريقة التي اشار اليها الباحث (Wotton ,1964)والتي تعتمد على اساس اتحاد الاواصر الببتيدية مع محلول كبريتات النحاس بوجود قاعدة قوية مثل هيدروكسيد الصوديوم فينتج محلول بنفسجي هو المعقد النحاسي.

Protein + $CuSO_4$ + NaOH ⟶ Cu-Proteinate لون بنفسجي



المعقد النحاسي

طريقة العمل :

تم وضع طريقة العمل لتقدير البروتين الكلي حسب الجدول الاتي :

	Reagent Blank	Standard	Test
Standard	-	20µl	-
Serum	-	-	20µl
Blank Solution	20 µl	-	-
Biuret Solution	1 ml	1 ml	1 ml

تمزج وتوضع في حمام مائي عند 20–25 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة ثم بعد ذلك يتم قياس شدة الامتصاص عند 546 نانوميتر .

الحسابات Calculation

تم تقدير البروتين الكلي اعتمادا على العلاقة الاتية :

$$\textbf{Total Protein Conc. (g/l)} = \frac{\mathbf{A}_{\mathbf{Test}} - \mathbf{A}_{\mathbf{blank}}}{\mathbf{A}_{\mathbf{standard}} - \mathbf{A}_{\mathbf{blank}}} * \textbf{Standard Conc. (60 g/l)}$$

3.2.5.3 تقدير الالبومين في مصل الدم

Determination of Serum Albumin in Blood

المبدأ :

قدرت كمية الالبومين باستخدام طريقة بروموكريسول الأخضر (Bromocresol Green Method) التي استخدمت فيها محاليل جاهزة من شركة (RNADOX) البريطانية التي تعتمد على كمية الالبومين الذي يرتبط مع الكاشف (3 ، 3 ، 5 ، 5 – رباعي برومو ميتاكريسول) الأخضر (Bromocresol Green, BCG) ليكون معقد البومين بروموكريسول الأخضر (Albumin – BCG Complex) ذا لون اخضر تقاس شدته عند طول موجي 630 نانوميتر في المطياف الضوئي (Varely *et al*., 1980).

المحاليل المستعملة :

1. محلول بروموكريسول الاخضر BCG Solution

ويتكون من Succinate Buffer 75 mmol/L; pH = 4.2 و o.15 ملي مول/لتر Bromocresol Green(Brij 35 preservation) . يتم تخفيفه الى 250 مليليتر ، اذ يبقى مستقرا لمدة ثلاثة اشهر عند 15–25 درجة مئوية .

2. المحلول القياسي Standard Solution

والمتضمن مصل الالبومين البشري Human Serum Albumin بتركيز (4.5) غرام/100 مليليتر

طريقة العمل

وضعت طريقة العمل لتقدير الألبومين حسب الجدول الاتي:

	Reagent Blank	Standard	Test
Distilled H_2O	0.01 µl	-	-
Standard	-	0.01 µl	-
Serum	-	-	0.01 µl
BCG green	3 ml	3 ml	3 ml

تمزج وتوضع في حمام مائي ($20\text{-}25\ C^o$) لمدة 5 دقائق ، ثم تقاس شدة الامتصاص عند طول موجي 578 نانوميتر .

الحسابات:

قدر الالبومين اعتمادا على المعادلة الاتية :

$$\textbf{Albumin Conc. (g/l)} = \frac{\mathbf{A}_{\mathbf{Test}} - \mathbf{A}_{\mathbf{blank}}}{\mathbf{A}_{\mathbf{standard}} - \mathbf{A}_{\mathbf{blank}}} \textbf{X Concentration of standard (45g/l)}$$

اذ ان A تمثل شدة الامتصاص .

4.2.5.3. تقدير فعالية أنزيم سوبر اوكسيد دسميوتيز (SOD)

Determination of Superoxide Dismutase Activity in Blood

المبدأ : قدرت فعالية انزيم سوبر اوكسيد دسميوتيز باستخدام طريقة

Modified photochemical NitroblueTetrazolum (NBT) method

وتضمنت هذه الطريقة استخدام سيانيد الصوديوم كمثبط لإنزيم البيروكسيديز وتعتمد هذه الطريقة على تقدير فعالية الانزيم SOD بطريقة غير مباشرة من خلال ظهور تغير في الكثافة الضوئية للفورمارين المتكون من اختزال $O_2^{\cdot -}$ لصبغة نايتروبلوتترازوليوم (NBT)الذي بدوره يتولد من تشعيع مصل الدم (Brown & Goldstein, 1983) (إذ ان الانخفاض في الكثافة الضوئية للفورمارين دلالة على زيادة فعالية انزيم SOD) .

تحضير الكواشف Preparation of Reagent

1. محلول الفوسفات المنظم بتركيز (50 mmol) وpH7.8 ويحتوي على 0.1 mmol EDTA و(0.025%)Triton X-100 .

وحضر هذا المحلول من :

- محلول Dipotassium Hydrogen orthophosphate, 50 mM

اخذ 7,8,9 غم وذوب في 250 مل ماء خالي من الايونات ثم اكمل الحجم إلى 1 لتر

- محلول Potassium dihydrogen orthophosphate, 50 mM

اخذ 5,6,8غم وذوب في 250 مل من ماء خالي من الايونات ثم اكمل الحجم الى 1 لتر .

- محلول الفوسفات المنظم Phosphate Buffer (50 mM) pH 7.8

حضر بمزج 800 مل من محلول A مع 200 ml من محلول B وثبتت على الدالة الحامضية بحدود pH = 7.8 .

- المحلول المنظم Working Buffer Solution

حضر بمزج 0.0375غم من EDTA و 0.25 ml من Triton X-100 في محلول الفوسفات المنظم pH 7.8, 50 mM ، ثم اكمل الحجم الى 1 لتر .

2. محلول ميثونين Methionine Solution

ذوب 0.3 غم من الميثونين بكمية قليلة في الماء المقطر الخالي من الايونات واكمل الحجم الى 10 مل .

3. محلول نايتروبلوتترازوليوم ثنائي الهيدروكلوريك

NBT – 2 HCl (1.75 mM)

ذوب 0.0141 غم من NBT. 2HCl بكمية قليلة في الماء المقطر الخالي من الايونات واكمل الحجم الى 10 مل .

4. ترايتون Triton (X-100)

حضر 1% (V/W) في الماء الخالي من الايونات .

5. رايبوفلافين Riboflavin solution, 117 mmol

ذوب 0.011 غم من رايبوفلافين بكمية قليلة من الماء المقطر الخالي من الأيونات ثم اكمل الحجم الى 25 مل

6. محلول سيانيد الصوديوم Sodium cyanide solution , 2 mmol

ذوب 0.011غم من سيانيد الصوديوم بكمية قليلة بالماء المقطر الخالي من الايونات ثم اكمل الحجم الى 10 مل .

7. محلول التفاعلReaction mixture solution حضر بمزج

117 مل من المحلول 1

1.25 مل من محلول 2

o.1 مل من المحلول 3

0.75 مل من المحلول 4

120

طريقة العمل Procedure

وضعت طريقة العمل لتقدير فعالية انزيم سوبر أوكسيد دسميوتيز حسب الجدول الاتي :

	Test	Control
Reaction Mixture	3 ml	3 ml
Sodium Cyanide	39 µl	39 µl
Serum	0.15 Ml	-
Working Buffer Solution	0.523 ml	0.15ml
Riboflavin (B_2)	37.8 µl	37.8 µl

شععت الانابيب باستعمال مصباح فلورسنت 20 واط لمدة 10 دقائق وبدرجة حرارة 25 درجة مئوية ثم قيست شدة الامتصاص عند طول موجي 560 نانوميتر ,وقدرت فعالية الانزيم بأخذ الفرق في الامتصاص قبل وبعد التشعيع .

6.3. الدراسات النسجية Histological Studies

اسئصل الكبدو الكلى والطحال و المبيض والرحم لكل حيوان وحضرت للدراسة النسجية تبعا لطريقة (Mescher ,2010) وفحصت بالمجهر الضوئي بعد الخطوات التالية:

التشريح :

شرحت الحيوانات في نهاية كل تجربة ، عزل الكبد والكلى والطحال والمبايض والرحم ، وثبتت بالفورمالين) (10% لمدة (48) ساعة ، اجريت بعدها الخطوات اللاحقة وحسب التقنيات المستخدمة.

التثبيت Fixation

ثبتت النماذج النسجية بمحلول دارئ الفورمالين Buffered Neutral Formalin (10%) Solution .

وحضر المثبت من المواد الاتية :

Formalin 100 ml فورمالين

Distilled Water 900 ml ماء مقطر

Sodium Phosphate monobasic 0.4 gm فوسفات الصوديوم احادية القاعدة

Sodium Phosohate dibasic 6.5 gm فوسفات الصوديوم ثنائية القاعدة اللامائي

الغسل Washing

غسلت العينات بالماء الجاري لمدة ثلاث ساعات لإزالة بقايا المثبت .

الإنكـاز Dehydration

تمت عملية الانكاز بتمرير العينات بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي لإزالة الماء وهي (30 %، 50 % ، 70% ، 95 % ، 100 %) ولمدة 1-2 ساعة في كل تركيز.

الترويق Clearing

وضعت العينات اولا" بمحلول مكون من الكحول المطلق والزايلول وبنسبة 1 : 1 لمدة ساعة ، ثم مررت بمرحلتين من الزايلين Xylene وبمعدل ساعة لكل مرحلة .

التشريب والطمر Infiltration and Embedding

وضعت العينات في مزيج من الزايلول ووسط التشريب (شمع البارافين Parafin wax) والذي كانت درجة انصهاره (56-60 مْ) وبنسبة 1 : 1 وتركت المقاطع في هذا الخليط داخل الفرن عند درجة حرارة (35 – 40 مْ) لمدة نصف ساعة ، نقلت العينات بعدها الى شمع نقي داخل الفرن عند درجة حرارة (50–55 مْ) لمدة ساعتين ، بعد ذلك استبدل الشمع بشمع جديد وتركت فيه لمدة ساعتين ايضا عند درجة الحرارة نفسها , استعملت قوالب حديدية على شكل حرف L لطمر المقاطع وسكب بداخلها شمع نقي من الشمع المستعمل في التشريب نفسه ، ونقلت العينات الى قوالب الشمع مع مراعاة التخلص من الفقاعات التي قد تتكون حول النموذج باستخدام أداة ساخنة ، وتركت بعدها لتتصلب في جو المختبر .

التقطيع Sectioning

بعد طمر العينات شذبت قوالب الشمع Trimming تشذيبا" دقيقا" باستعمال شفرة حادة لغرض تهيئتها لعملية القطع ، ثم ثبتت على جهاز المشراح الدوّار Rotary Microtome من نوع

Mod 1130 / Biocut وقطعت للحصول على مقاطع نسيجية بسمك (5 – 6) مايكروميتر ، حملت المقاطع على شرائح زجاجية باستعمال وسط البومين ماير Mayer's albumen , حمل شريط المقاطع بوسطة فرشاة صغيرة على شرائح زجاجية بعد عمل مسحة خفيفة عليها من البومين ماير مع بضع قطرات ماء مقطر ثم وضعت الشرائح على Hot plate عند درجة حرارة (35 – 40 مْ) لفرش المقاطع وتسطحها . تركت الشرائح لتجف في درجة حرارة الغرفة لمدة (48) ساعة .

التصبيغ Staining

استعملت ملون هارس هيما توكسلين وايوسين المزدوجة Harris's hematoxylin and Eosin stain وكما يأتي :

1. ازيل الشمع من المقاطع بالزايلين على مرحلتين لمدة (5 – 10) دقيقة لكل مرحلة ، ومررت بسلسلة تنازلية التركيز من الكحول الاثيلي ابتداءاً بتركيز (100 % - 50 %) ولمدة دقيقتين لكل تركيز ثم غسلت بالماء المقطر .
2. وضعت المقاطع في صبغة الهيماتوكسلين لمدة (3 – 5) دقائق مررت الشرائح بالكحول المحمض لبضع ثواني لإزالة الملونة الزائدة ، غسلت بعدها بماء حنفية لمدة (5) دقائق ، ثم مررت بتراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي ابتداءا" بتركيز 50 % - 95 %) لمدة دقيقتين لكل تركيز .
3. لونت المقاطع بالايوسين الكحولي لمدة (2.5) دقيقة ثم مررت بكحول اثيلي تركيز95%لمدة دقيقتين ثم كحول مطلق100 % لمدة دقيقتين .
4. نقلت المقاطع الى الزايلين لغرض الترويق لمدة (5 – 10) دقائق وبمرحلتين .

التحميل Mounting

حملت الشرائح باستعمال وسط التغطية D.P.X (Distrene - Plasticizer Xylene) ثم غطيت المقاطع بغطاء زجاجي (Cover slide)، وضعت الشرائح بعدها على صفيحة ساخنة Hot plate بدرجة حرارة (40مْ) لغرض التجفيف.

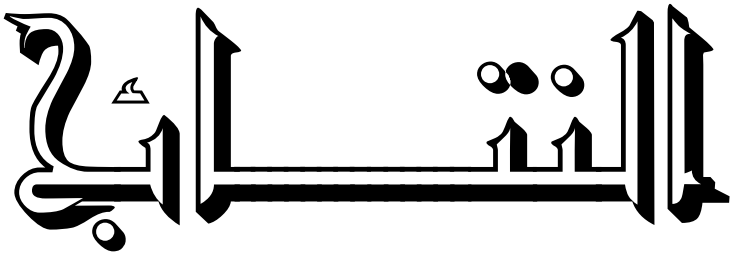
الفحص والتصوير Examination and photography

اجري الفحص المجهري للمقاطع النسجية باستخدام المجهر الضوئي من نوع Olympus ياباني المنشأ ، وبعد الفحص صورت المقاطع النسجية باستعمال مجهر من نوع LuxLeitz - SM مزود بآلة تصوير .

7.3. التحليل الإحصائي Statistical analysis

اجريت التحليلات الاحصائية للدراسة الحالية باستعمال البرنامج الاحصائي SPSS , اذ وضعت النتائج بصيغة المتوسط ± الخطأ القياسي و اوضحت التغايرات بين قيم الدراسة باستعمال تحليل التباين (ANOVA) (Analysis of Variance) بمستوى احتمالية 0.05 وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار الفرق المعنوي الاصغر (LSD) Least significant Differences (Steel and Torries , 1980).

الفصل الرابع



4. النتائج Result

1.4. التجربة الاولى Experiment No. 1

تاثير جرع مختلفة من البرمثيرين على اناث الجرذان خلال المرحلة الجنينية من عمرها

1.1.4. تأثير البرمثرين على بعض المعايير الكيموحيوية في اناث الجرذان البالغة

اظهرت نتائج الدراسة في الجدول (4-1) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في فعالية انزيم الـــ ALP في كل مجاميع الجرذ المجرعة البرمثرين عن طريق انبوب تغذية داخل المعدة بتراكيزه الثلاث 0.02 ,25 ,75 (ملغم /كغم /يوم) خلال المرحلة الجنينية من عمرها مقارنة بمجموعة السيطرة , كما ان هذا الانخفاض كان يزداد كلما ازدادت الجرع حيث ان جرذان المجموعة المجرعة للتركيز الثاني والثالث على التوالي25 ,75 اظهرت انخفاضا غير معنويا مقارنة بمجموعة جرذان التركيز الاول 0.02 .(شكل 4 -1)

كما ان الجدول(4-1) قد اشار الى وجود ارتفاع معنوي $p<0.05$ بتراكيز البروتين الكلي في مصل الجرذان المجرعة البرمثرين خلال مراحلها الجنينية بالتراكيز الثلاثة مقارنة بمجموعة السيطرة, ولم تكن للزيادة بجرع البرمثرين اي تاثير بين المجاميع الثلاثة المعاملة.(شكل 4-2)

واوضح الجدول (4 - 1) وجود انخفاض معنوي في قيمة الالبومين في مصل الجرذان البالغة المجرعة البرمثرين بالتراكيز الثلاثة 0.02 ,25 ,75 مقارنة بمجموعة السيطرة. (شكل 4-3)

جدول (4-1) تاثير البرمثرين على بعض المعايير الكيموحيوية في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية

المجاميع	ALP U/l	البروتين الكلي g/dl	الالبومين g/dl
control	191.66∓2.8	7.57∓0.26	3.80 ∓ 12
T1	150.33∓3.33 A	9.38∓3.1 A	2.22∓20A
T2	128.66∓4.11 B	10.13∓30 A	2.70 ∓ 15 A
T3	125.16∓2.87 B	10.10∓26 A	2.93∓0.13 A

N= 7

تدل الاحرف المختلفة على الاختلافات المعنوية عندمستوى احتمال (P< 0.05)

القيم = Mean ± SD

2.1.4. تأثير البرمثرين على بعض مستويات هرمونات التكاثر في اناث الجرذان البالغة

اوضح الجدول (4 - 2) ان تحليل التباين اظهر وجود انخفاض معنوي P<0.05 في مستوى هرمون Testosterone في مصل جميع اناث الجرذ المجرعة للبرمثرين بتراكيزه الثلاثة 0.02 , 25 , 75 (ملغم /كغم /يوم) مقارنة بمجموعة السيطرة, كما لوحظ ان الانخفاض لم يكن معنويا بين المجاميع نفسها.(شكل 4-4)

بينما اوضح الجدول (4-2) وجود ارتفاع غير معنوي (P>0.05) في مستوى هرمون البروجستيرون في المجاميع المجرعة البرمثرين للتراكيز 25 ,75 مقارنة بمجموعة السيطرة ,في حين اظهر تركيز البروجستيرون ارتفاع معنوي (P<0.05) في مجموعة التركيزالاول 0.02 عند مقارنته بمجموعة السيطرة .(شكل 4 - 5)

وكذلك اشار الجدول (4-2) الى انخفاض معنوي P < 0.005 في المستوى الهرموني لكل من Prolactin , LH, FSH في مصل الجرذان المجرعة البرمثرين بالتراكيز الثلاثة المذكورة أعلاه مقارنة بمجموعة السيطرة . (شكل 4-6) , (شكل 4-7) , (شكل 4-8)

جدول (4-2) تاثير البرمثرين على بعض مستويات هرمونات التكاثر في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية

المجاميع	Testosterone ng/ml	Progesterone ng/ml	Prolactin mU/ml	LH mU/ml	FSH mU/m
control	3.21∓0.50	19.27∓1.03	64.16∓3.17	0.96∓0.10	1.64∓0.03
T1	0.41∓0.10A	24.012.06A	18.17 ∓ 1.38A	0.31 ± 0.02A	0.31∓0.01A
T2	0.23∓0.40A	22.78∓1.50B	15.04∓.94A	0.08∓0.01A	0.08∓0.01A
T3	0.26∓0.03A	22.26∓0.96B	20.26∓0.96A	0.08∓0.01A	0.03∓0.007A

N=7

تدل الاحرف المختلفة على الاختلافات المعنوية عند مستوى احتمال(P<0.05)

القيم = Mean ± SD

3.1.4. تأثير البرمثرين على بعض مضادات الاكسدة في اناث الجرذان البالغة

اوضح الجدول (4-3) وجود انخفاض معنوي P<0.05 في مستوى فعالية super oxide dismutase في مصل اناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين للتراكيز الثلاثة 0.02 , 25 , 75 (ملغم /كغم /يوم) مقارنة بمجموعة السيطرة . (شكل 4-9)

كما بينت النتائج ايضا في الجدول نفسه وجود انخفاض معنوي في مستوى مضاد الاكسدة الكلي Total antioxidant في مصل اناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين للتراكيز الثلاثة مقارنة بمجموعة السيطرة , ولم يكن هناك فروق معنوية في الانخفاض للمجاميع الثلاثة . (شكل 4-10)

جدول (4-3) تاثير البرمثرين على بعض مضادات الاكسدة في اناث الجرذان البالغة خلال المرحلة الجنينية

Total antioxidant Capacity (Unit)	Super oxide dismutase U/Mol	المجاميع
0.73 ∓ 0.02	0.07 ∓ .003	Control
0. 18 ∓ .01 A	0.01 ∓ .008	T1
0.2 4∓.01 A	0.01∓.004 A	T2
0.31∓0.01 A	0.02∓.004 A	T3

N=7

تدل الاحرف المختلفة على الاختلافات المعنوية عند مستوى احتمال(P<0.05)

القيم = Mean ± SD

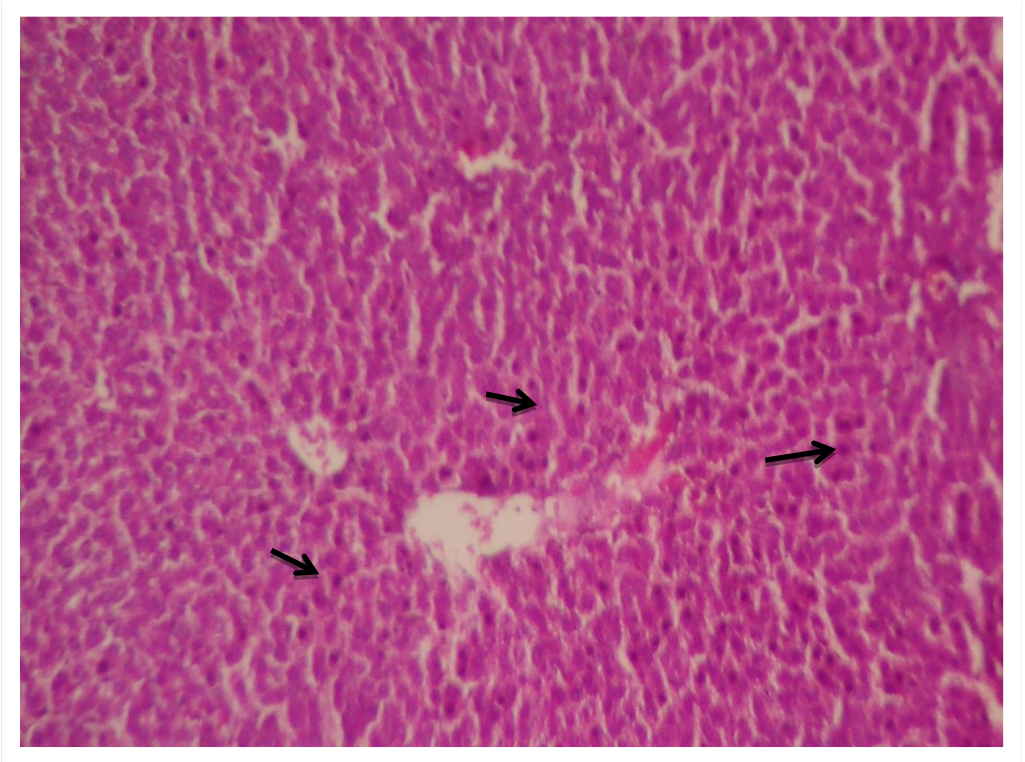
.2.4.الدراسة النسجية Histological Study

1.2.4. تاثير التعرض لتراكيز مختلفة من البرمثرين خلال المرحلة الجنينية

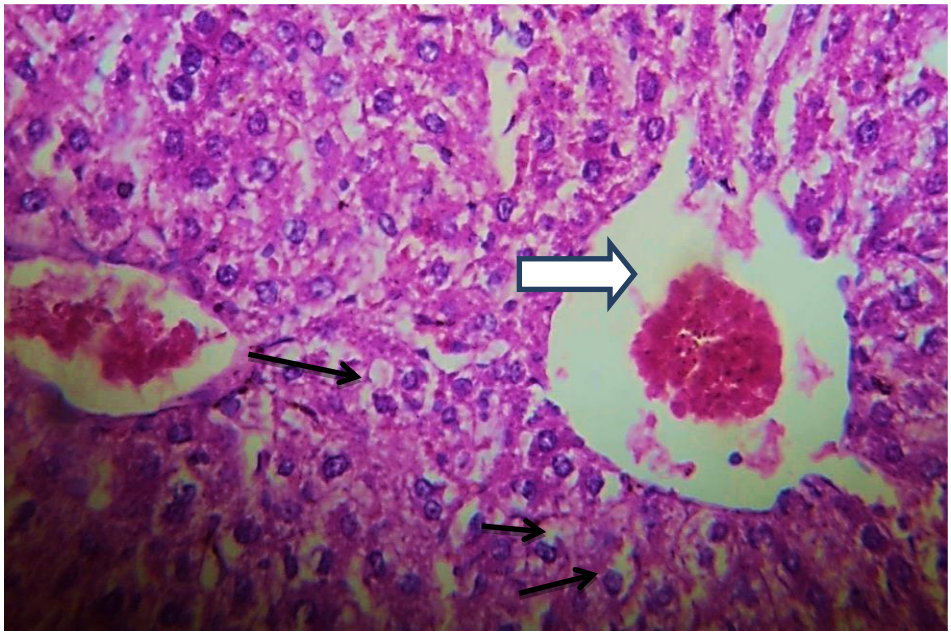
.1.1.2.4. الكبد The Liver

لوحظ من الدراسة النسجية لشرائح اكباد الحيوانات المجرعة بالبرمثرين صورة (1) لمجاميع السيطرة وجود الوريد المركزي الطبيعي Central Vein وما يحيط به من الخلايا الكبدية Hepatocytes مرتبة بشكل شعاعي منتظم, في حين اوضحت المقاطع النسجية للكبد لإناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتركيز 0.02 (ملغم /كغم /يوم) خلال مرحلة الحمل وجود احتقان بالوريد المركزي Central Vein Congestion اضافة الى وجود تغيرات تنكسية من نوع Hydropic degeneration حيث تظهر الفراغات او الفجوات الحاوية على سائل لذلك تكون الخلايا منتفخة وقريبة من بعضها . صورة (2)

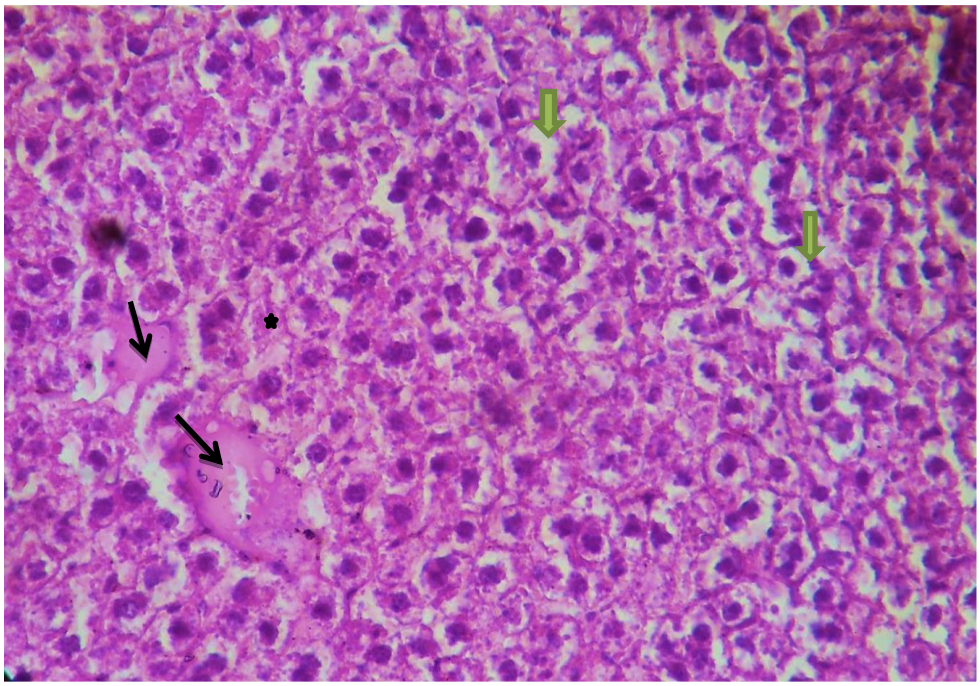
اما الاناث التي تعرضت الى تراكيز اعلى للبرمثرين 25 , 75(ملغم /كغم / يوم) اظهرت تغيرات اكثر شدة مما هو عليه في التركيز (0.02) في الكبد حيث اظهر الفحص النسجي وجود الوذمة Oedema و تنخر تجلطي Coagulative necrosis وتغلظ نووي Pyknotic Nucleus اضافة الى الاحتقان في الوريد المركزي . كما في الصورة (3) و(4)



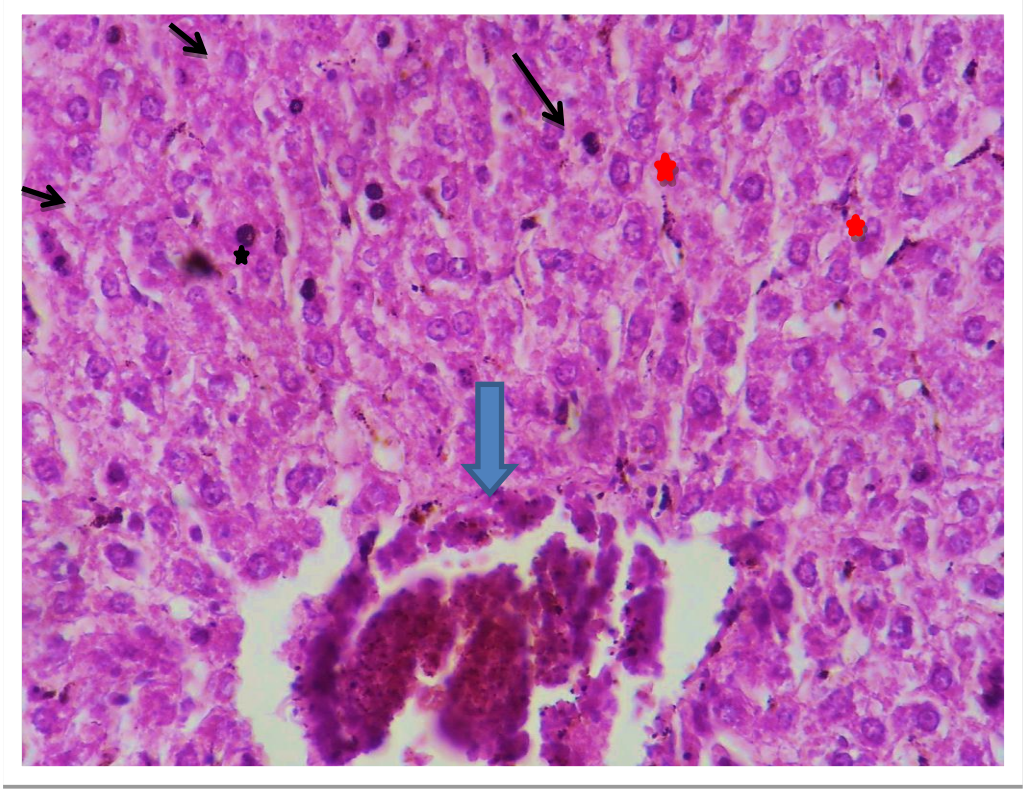
صورة(1) الخلايا الكبدية (السهم باللون الاسود) للكبد للجرذان بمجاميع السيطرة بمرحلة الحمل (10x),(H&E)



صورة (2) مقطع عرضي لنسيج كبد الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز0.02 (ملغم /كغم /يوم) ويظهر وجود احتقان في الوريد المركزي (السهم الازرق) مع وجود تغيرات تنكسية (السهم الاسود) بمرحلة الحمل.(H&E),(40x)



صورة (3) مقطع عرضي لنسيج كبدالجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 (ملغم /كغم /يوم) توضح الوذمة (السهم الاسود) كما توضح تغيرات تنكسية (السهم الاخضر) وتوضح تنخر تجلطي (النجمة) بمرحلة الحمل.(H&E), (100x)

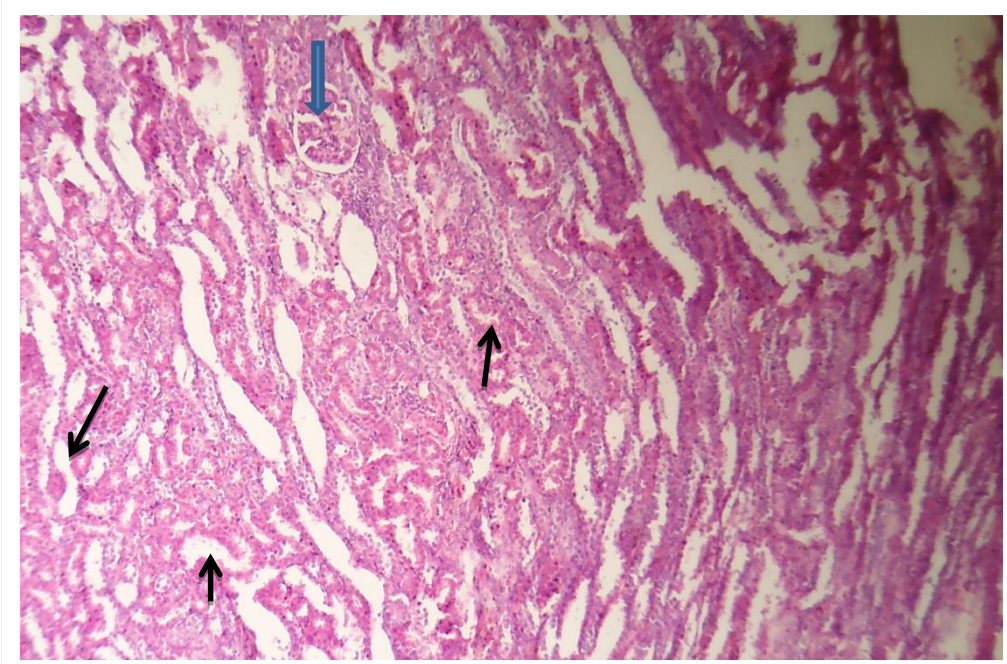


صورة (4) مقطع عرضي لنسيج كبد الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز75 (ملغم /كغم /يوم) توضح الاحتقان الدموي (السهم الازرق) وتوضح تغيرات تنكسية (السهم الاسود) كما توضح تنخر تجلطي (النجمةباللون الاسود) والتغلظ النووي (النجمة باللون البرتقالي)بمرحلة الحمل.
(100x),(H&E)

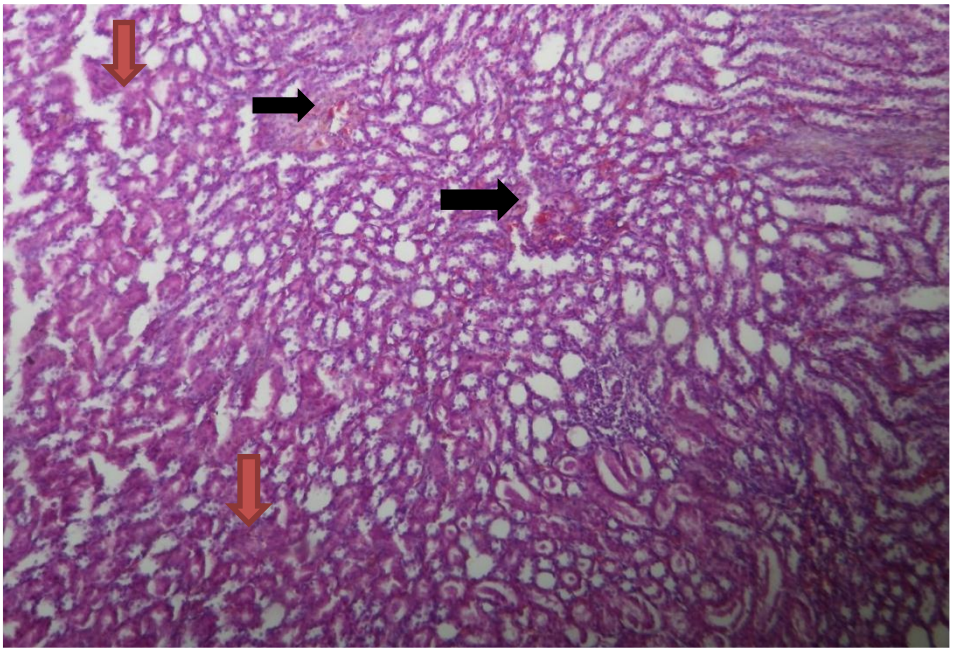
2.1.2.4.الكلية The Kidney

يلاحظ من المقطع النسجي صورة (5) لنسيج الكلية لمجموعة السيطرة التركيب الطبيعي للنبيبات الكلوية Renal tubules و الكبيبة Glomeruli.

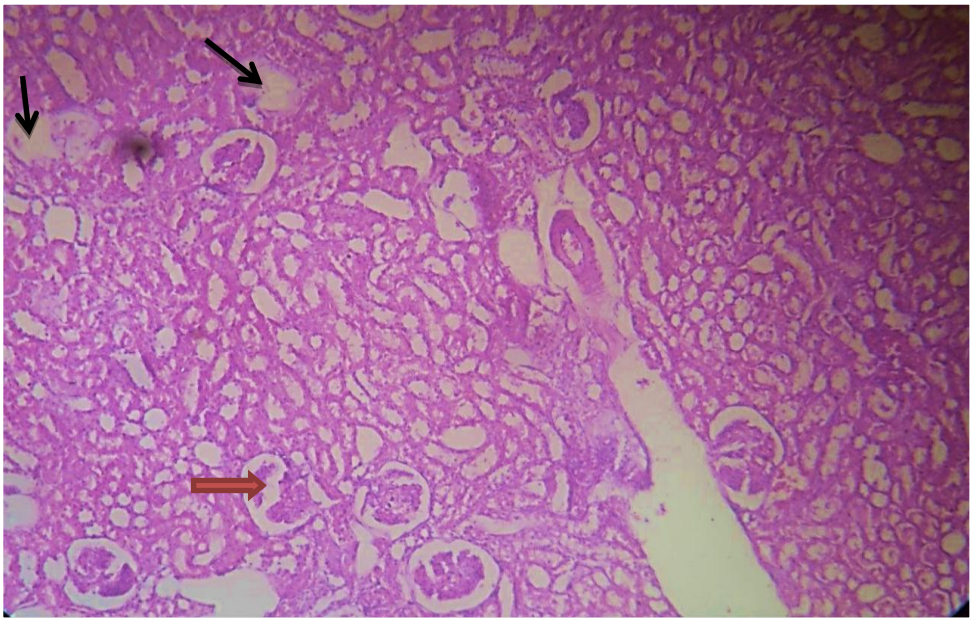
اما المقاطع النسجية للكلية لإناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتركيز 0.02 (ملغم /كغم /يوم) اظهرت احتقان بالأوعية الدموية Congestion كما لوحظ تغيرات تنكسية صو رة(6), و الاناث التي تعرضت للتراكيز العالية من البرمثرين 25 ,75(ملغم /كغم /يوم) لوحظ فيها انكماش محفظة بومان اضافة الى تنخر تجلطي كما في صورة (7) و(8)



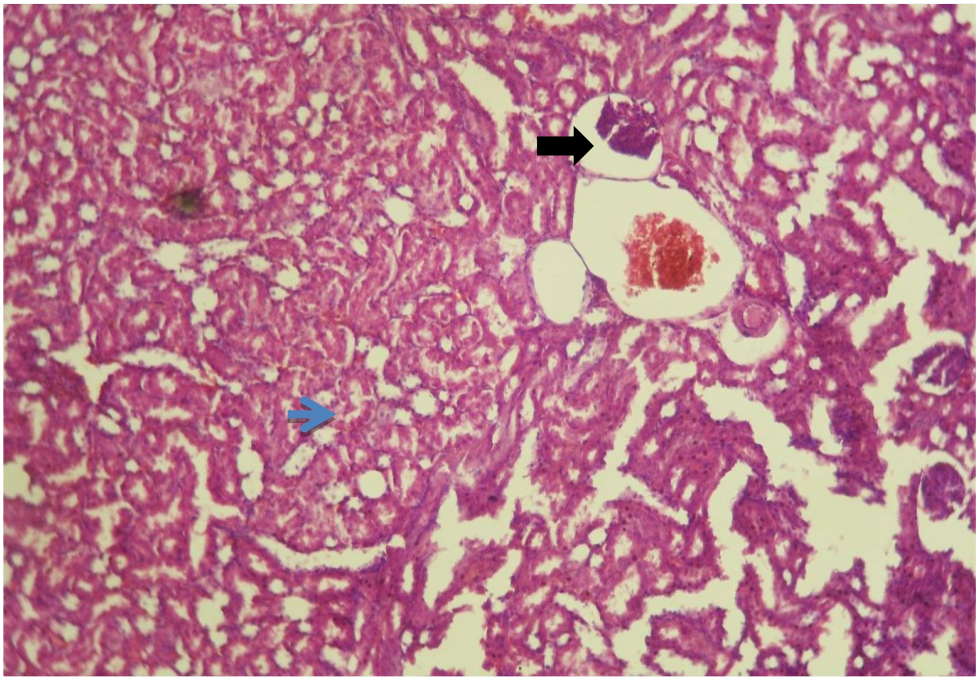
صورة (5) الكبيبة الكلوية (السهم باللون الازرق) كما توضح النبيب الكلوي (السهم باللون الاسود) للكلية بمجاميع السيطرة بمرحلة الحمل (H&E 40X)



صورة(6) مقطع عرضي لنسيج كلية الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز0.02 (ملغم /كغم /يوم) يظهر وجود الاحتقان الدموي (السهم الاسود) مع وجود تغيرات تنكسية (السهم الاحمر) بمرحلة الحمل.(H&E), (10x)



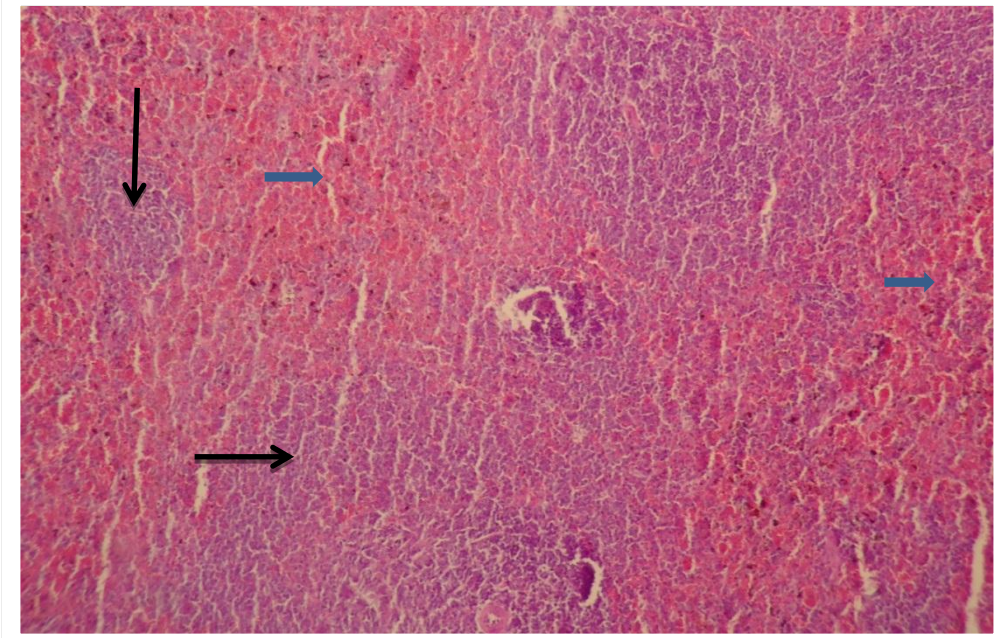
صورة(7)مقطع عرضي لنسيج الكلية للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 (ملغم /كغم /يوم) توضح انكماش محفظة بومان (السهم الاحمر) وتوضح تنخر تجلطي (السهم الاسود) بمرحلة الحمل.(H&E), (40x)



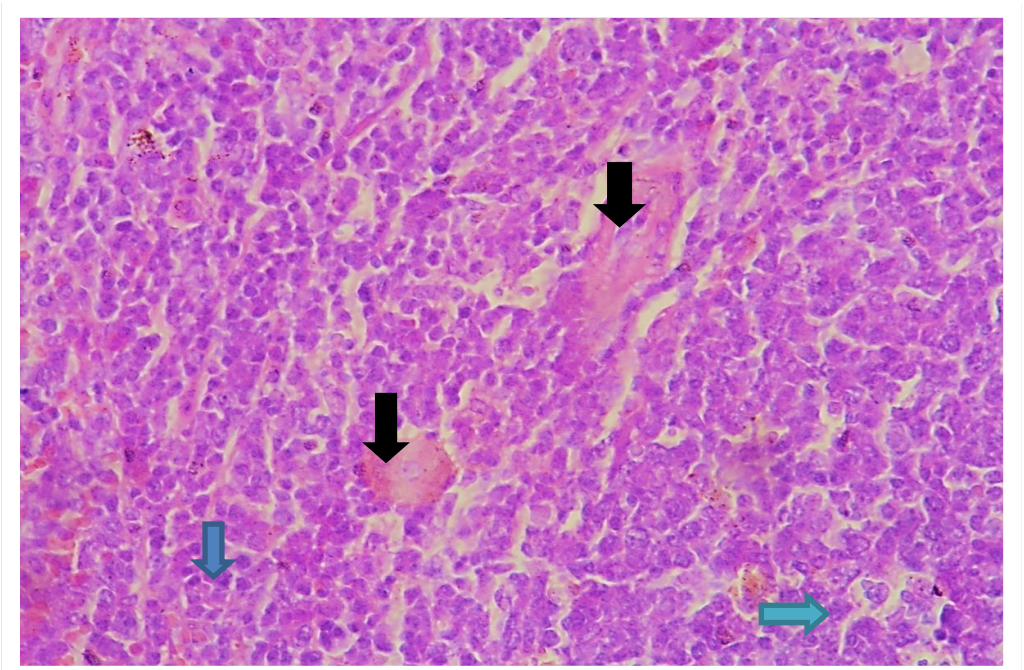
صورة (8)مقطع عرضي لنسيج كلية للجرذان المجرعة بالبرمترين بتركيز75 (ملغم /كغم /يوم) توضح انكماش محفظة بومان (السهم الاسود) وتوضح تنخر تجلطي (السهم الازرق) بمرحلة الحمل.(H&E), (40x)

3.1.2.4. الطحال The Spleen

لوحظ من فحص المقطع النسجي صورة (9) لمجاميع السيطرة التركيب الطبيعي لنسيج الطحال حيث يلحظ اللب الابيض White Pulpواللب الاحمر Red Pulp, كما اوضحت المقاطع النسجية لإناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتراكيز الثلاثة وجود احتقان بالاوعية الدموية Congestion ووجود الخلايا العملاقة Giant cell. صورة (10)



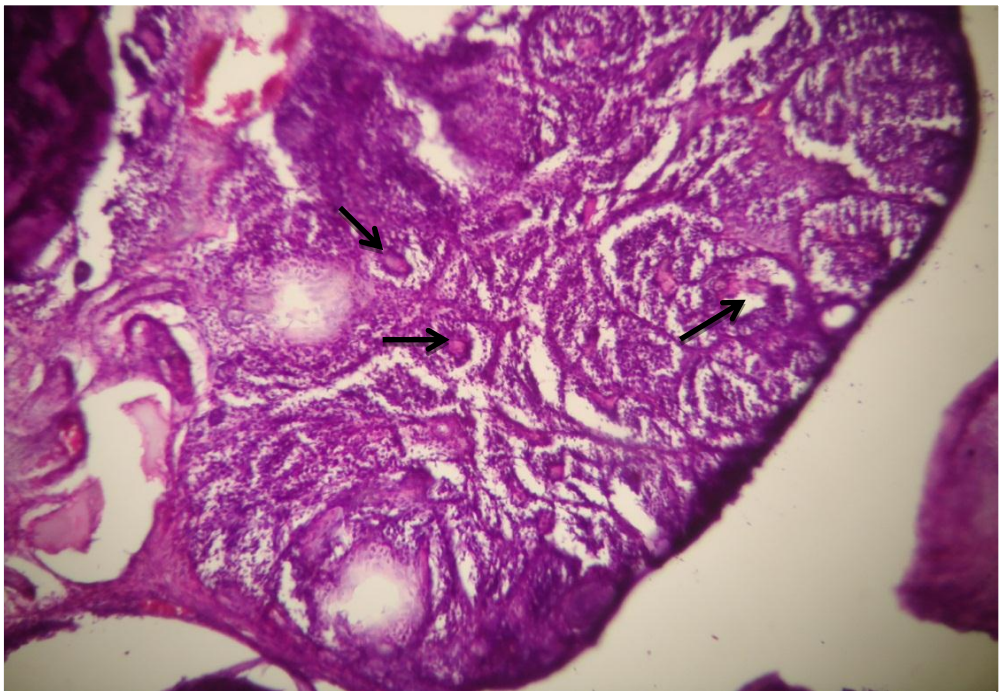
صورة (9)اللب الاحمر (السهم الازرق) وتوضح اللب الابيض (السهم الاسود) للطحال لمجموعة السيطرة بمرحلة الحمل. (H&E), (100x)



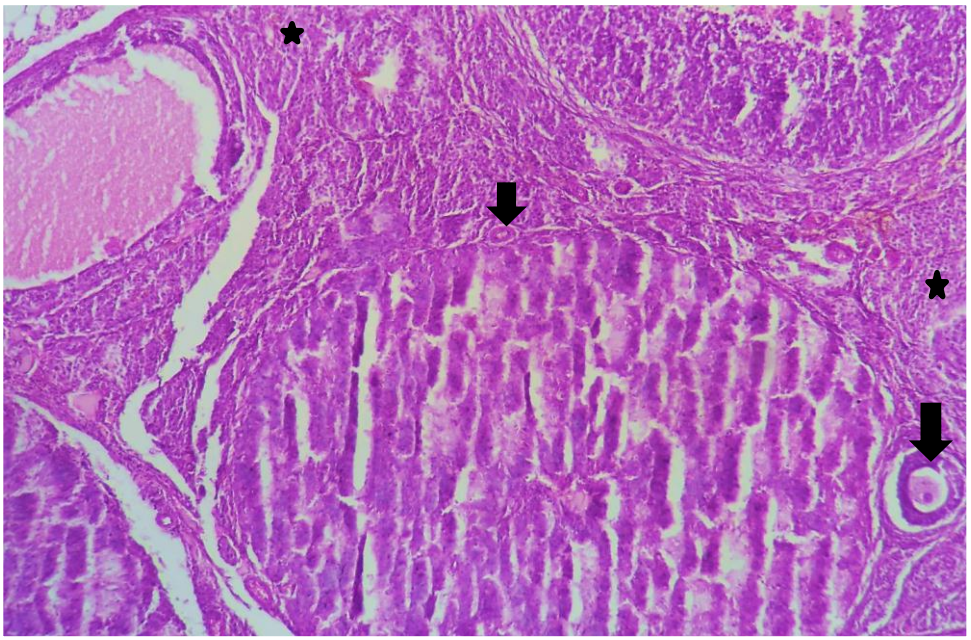
صورة (10) احتقان الاوعية الدموية (السهم الاسود) كما توضح الخلايا العملاقة Giant cell (السهم الازرق) للطحال بمرحلة الحمل.(H&E) , (40x)

4.1.2.4. المبايض Ovaries

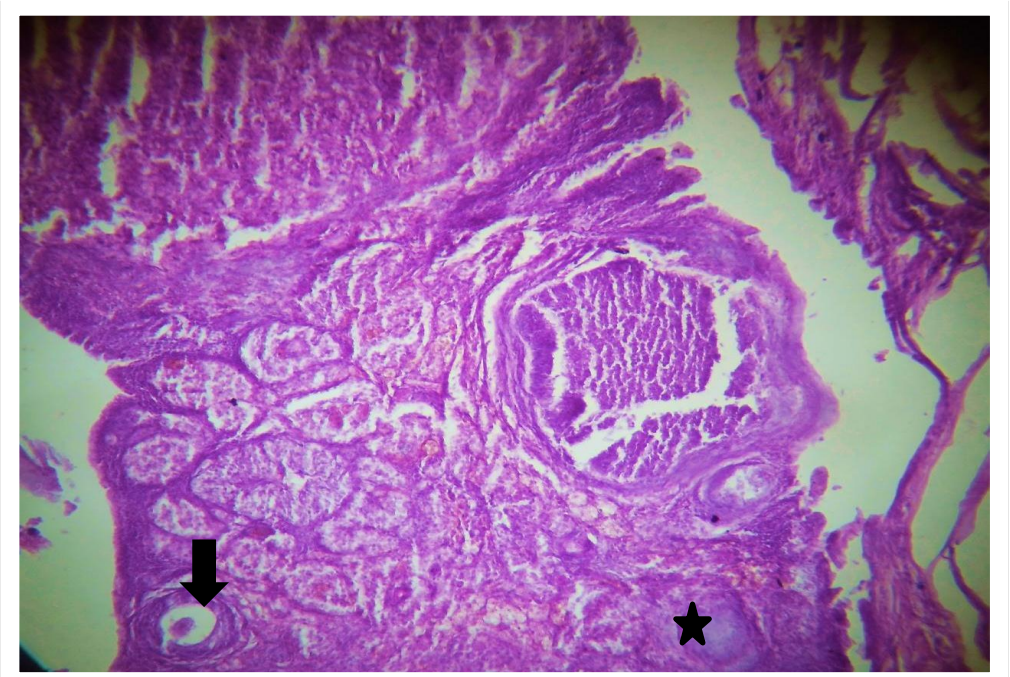
اظهرت المقاطع النسجية لمجاميع السيطرة صورة (11) الجريبات المبيضية الابتدائية والثانوية , وجريبات كراف Graafin Follicles والجسم الاصفر Corpus Luteum .في حين ان المقاطع النسجية لاناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتركيز 0.02(ملغم /كغم /يوم) اظهرت قلة في عدد البويضات في مراحلها التطورية كافة فضلا عن تنخر تجلطي .صورة (12) وعند التراكيز العالية من البرمثرين 25 ,75 (ملغم /كغم /يوم) اصبحت التغيرات اكثر شدة حيث اظهرالفحص النسجي لها وجود تنخر تجلطي وقلة عدد جريبات كراف دون وجود البيضة . صورة (13)و (14)



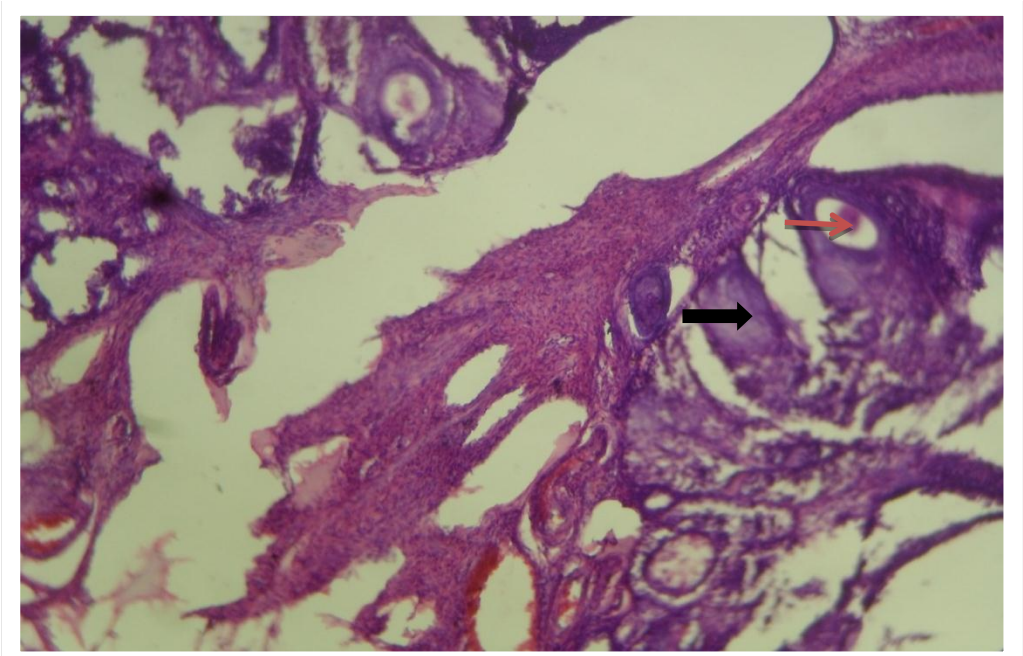
صورة (11) مراحل مختلفة من نضج البويضة لمجاميع السيطرة بمرحلة الحمل.(H&E) ,(40x)



صورة (12)مقطع عرضي لنسيج المبيض للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 (ملغم /كغم /يوم) توضح تنخر تجلطي (نجمة) كما توضح قلة عدد الجريبات (السهم الاسود) بمرحلة الحمل (40x). (H&E).



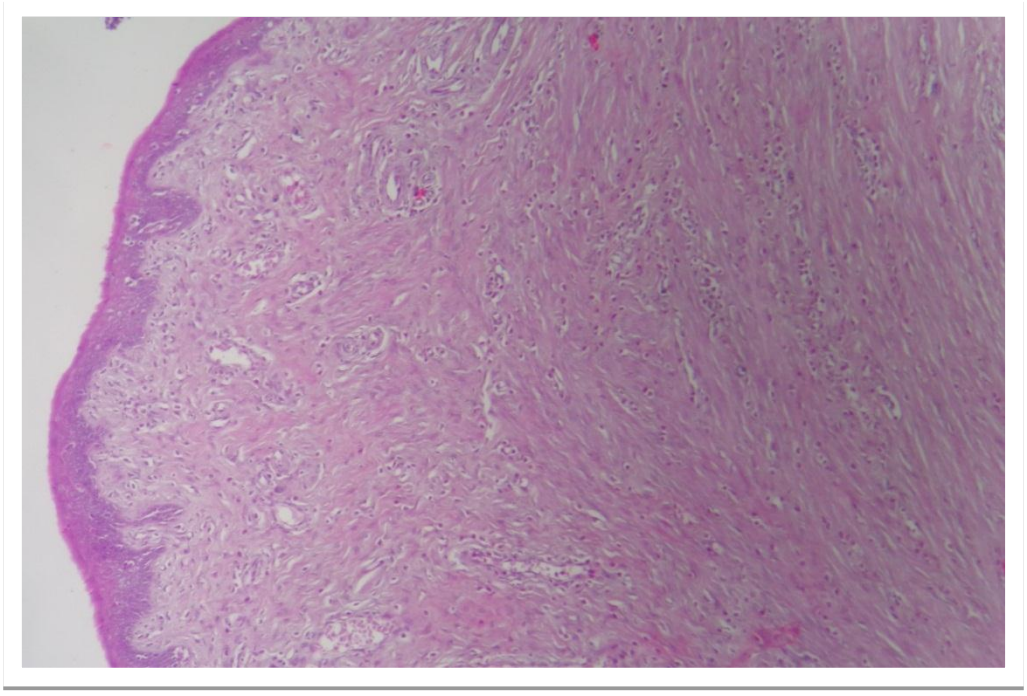
صورة (13) مقطع عرضي لمبيض الجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25(ملغم /كغم /يوم)
توضح تنخر تجلطي (نجمة) وقلة عدد الجريبات (السهم الاسود) بمرحلة الحمل.(H&E), (40x)



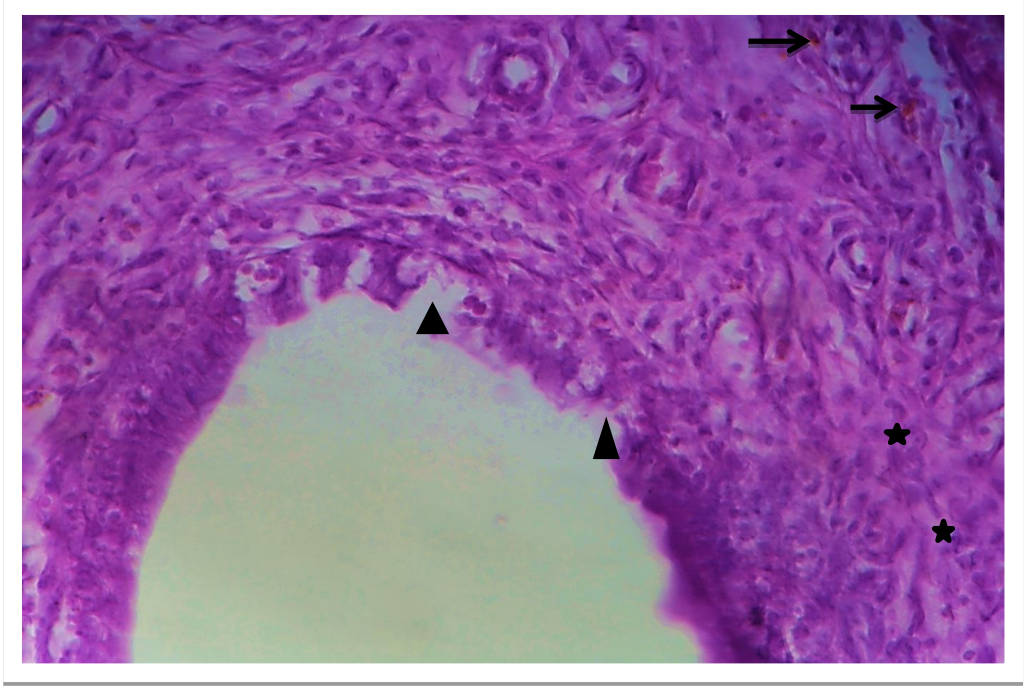
صورة (14) مقطع عرضي لنسيج المبيض للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75(ملغم /كغم /يوم)
توضح قلة عدد الجريبات (السهم الاحمر) وتنخر تجلطي (السهم الاسود) بمرحلة الحمل.(H&E)

.5.1.2.4. الرحم Uterus

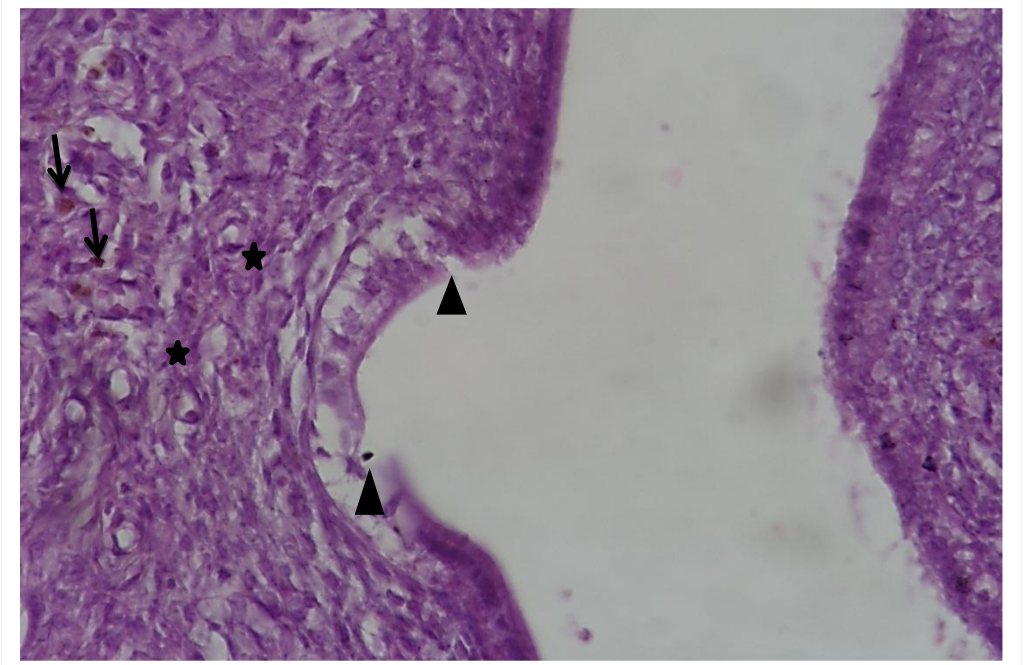
اظهر الفحص للمقاطع النسجية لنسيج الرحم لمجاميع السيطرة التركيب الطبيعي للبطانة الرحمية Endometrium والتجويف الرحمي Uterine Lumen (صورة 15) في حين اظهر الفحص النسجي لنسيج الرحم لاناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتراكيز 0.02, 25, 75 (ملغم /كغم /يوم) وجود تنخر مع تغيرات تنكسية و انسلاخ بالبطانة الرحمية مع وجود نزف في مناطق محددة . صورة (16) و (17) و(18)



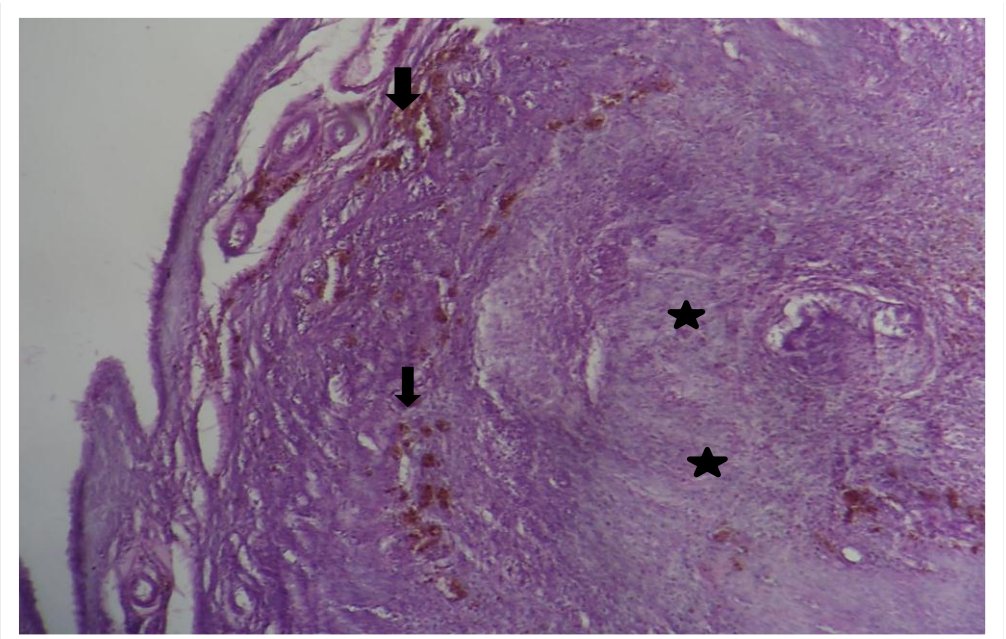
صورة رقم 15 توضح التركيب الطبيعي للبطانة الرحمية لمجموعة السيطرة لمرحلة الحمل(H&E،40x



صورة(16) مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 (ملغم /كغم /يوم) توضح نزف (السهم الاسود) كما توضح انسلاخ البطانة الرحمية (راس السهم) وتوضح تنخر تجلطي (نجمة) بمرحلة الحمل.(H&E) ,(40x)



صورة(17) مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 (ملغم /كغم /يوم) توضح تغيرات تنكسية (راس السهم) كما توضح نزف (السهم الاسود) وتنخر تجلطي (نجمة) بمرحلة الحمل .(H&E) (100x)



صورة(18) مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 (ملغم /كغم /يوم) توضح تنخر بالبطانة الرحمية (نجمة) كما توضح نزف (السهم الاسود) بمرحلة الحمل .(H&E)

.3.4. التجربة الثانية Experiment No.2

تأثير الجرع المختلفة من البرمثرين على اناث الجرذان البالغة خلال مدة الرضاعة

.1.3.4. تأثير البرمثرين على بعض المعايير الكيموحيوية في اناث الجرذان البالغة

اظهرت نتائج الدراسة المشار اليها في الجدول(4-4) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في فعالية انزيم الـ ALP في كل مجاميع الجرذ المجرعة البرمثرين بتراكيزه الثلاث 0.02 , 25 ,75 (ملغم /كغم / يوم) خلال مدة الرضاعة مقارنة بمجموعة السيطرة , كما ان هذا الانخفاض كان معنويا بين التراكيز الثلاثة للبرمثرين . (شكل 4-11)

كما ان الجدول (4-4) اشار الى وجود ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في تراكيز البروتين الكلي في مصل الجرذان المجرعة البرمثرين خلال مدة الرضاعة للتراكيز الثلاثة مقارنة بمجموعة السيطرة . (شكل 4-12)

واوضحت نتائج الجدول نفسه وجود انخفاض معنوي في قيمة الالبومين في مصل الجرذان المجرعة بالتراكيز الثلاثة للبرمثرين مقارنة بمجموعة السيطرة . (شكل 4-13)

جدول (4-4) تاثير البرمثرين على بعض المعايير الكيموحيوية في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة

المجاميع	ALP U/l	البروتين الكلي g/dl	الالبومين g/dl
control	193.00∓2.72	8.97∓0.17	3.8∓0.18
T 1	147.16∓1.27 **A**	10.60∓0.18 **A**	2.27∓0.10 **A**
T2	139.83∓3.17 **B**	10.48∓0.45 **A**	2.84 ∓ 0.17 **A**
T 3	125.00∓3.17 **C**	10.43∓0.21 **A**	2.85∓0.13 **A**

N=7

تدل الاحرف المختلفة على الاختلافات المعنوية عند مستوى احتمال (P<0.05)

القيم = Mean ± SD

.2.3.4. تاثير البرمثرين على بعض مستويات هرمونات التكاثر في اناث الجرذان البالغة المجرعة البرمثرين

اوضح الجدول (4-5) وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في مستوى هرمون Testosterone في مصل جميع اناث الجرذان المجرعة للبرمثرين بتراكيزه الثلاثة 0.02 , 25 , 75 (ملغم / كغم /يوم) مقارنة بمجموعة السيطرة, كما لوحظ ان هذا الانخفاض لم يكن معنويا بين المجاميع نفسها. (شكل 4-14) , بينما بين الجدول (4- 5) ارتفاع معنوي P<0.05 في مستوى هرمون البروجستيرون Progesterone في المجاميع المجرعة بالبرمثرين للتراكيز 0.02, 25, 75 مقارنة بمجموعة السيطرة . (شكل 4-15)

ومن النتائج الاخرى الموضحة في الجدول نفسه لوحظ انخفاض معنوي (P<o.o5) في مستوى هرمون الـ Prolactin , LH, FSH, في مصل الجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتراكيز الثلاثة مقارنة بمجموعة السيطرة, وان هذا الانخفاض لم يكن معنويا بين المجاميع الثلاثة المعاملة (شكل 4-16) , (شكل 4-17) , (شكل 4-18)

المجاميع	Testosterone ng/ml	Progesterone ng/ml	Prolactin mU/ml	LH mU/ml	FSH mU/ml
Control	5.26∓0.36	18.46∓0.66	70.00∓4.00	1.10∓0.72	1.50∓0.03
T1	0.29∓0.02 A	25.26∓0.60 A	19.42∓0.42 A	0.16∓0.007 A	0.34∓0.004 A
T2	0.21∓0.01A	22.59∓0.71 B	15.94∓0.98 A	0.09∓0.014 A	0.09∓.008 A
T3	0.28∓0.02 A	22.99∓0.49 B	17.27∓0.47 A	0.09∓0.018 A	0.03∓0.007 A

جدول (4-5) تاثير البرمثرين على بعض مستويات هرمونات التكاثر في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة

N=7

تدل الاحرف المختلفة على الاختلافات المعنوية عند مستوى احتمال(P<0.05)

القيم= Mean ±SD

.3.3.4. تاثير البرمثرين على بعض مضادات الاكسدة في اناث الجرذان البالغة

يبين الجدول (4-6) وجود انخفاض معنوي(P<0.05) في مستوى فعالية انزيم super oxide dismutase في مصل اناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين للتراكيز الثلاثة 0.02 , 25 ,75 (ملغم / كغم /يوم) مقارنة بمجموعة السيطرة, وان هذا الانخفاض لم يكن معنويا بين المجاميع الثلاثة المعاملة . (شكل 4-19) , كما بينت النتائج الموضحة في الجدول (4-6) وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في مستوى تركيز مضاد الاكسدة الكلي Total antioxidant في مصل اناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين للتراكيز الثلاثة مقارنة بمجموعة السيطرة . (شكل 4-20)

جدول(4-6) تاثير البرمثرين على بعض مضادات الاكسدة في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة

المجاميع	Superoxide Dismutase U/mol	Total Antioxidant Capacity UNIT
Control	0.06 ∓ 0.003 A	0.79 ∓ 0.01 A
T1	0.02∓0.007 B	0.42∓0.01 B
T2	0.02∓0.003 B	0.33∓0.01 B
T3	0.02 ∓ 0.003 B	0.34∓0.01 B

(N=6) الاحرف المختلفة تدل على الاختلافات المعنوية عند مستوى احتمال$P<0.05$

القيم = Mean ±SD

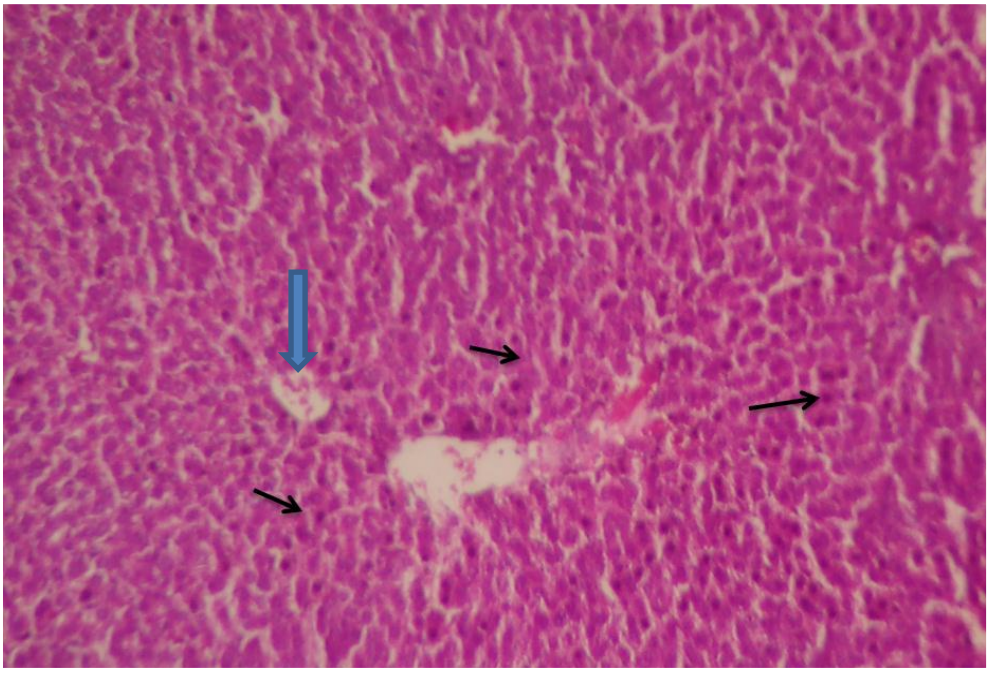
4.4. الدرسة النسجية Histological Study

1.4.4.تاثير التعرض لتراكيز مختلفة من البرمثرين خلال مرحلة الرضاعة

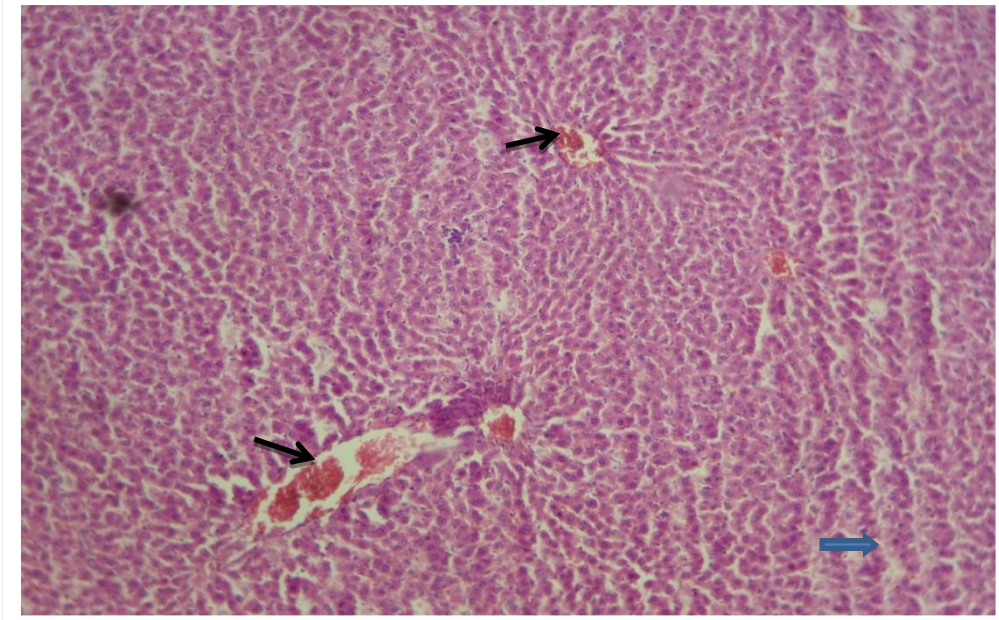
1.1.4.4.الكبد The Liver

اوضح الفحص النسجي صورة (19) لمجاميع السيطرة التركيب الطبيعي لنسيج الكبد حيث يظهر الفحص النسجي وجود الوريد المركزي Central Vein و الخلايا الكبدية Hepatocytes , اما المقاطع النسجية لإناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتركيز 0.02 (ملغم /كغم /يوم) خلال مرحلة الرضاعة فقد اظهرت وجود احتقان Congestion بالاوعية الدموية كما لوحظ ايضا تنخر تجلطي Coagulate necrosis .الصورة (20)

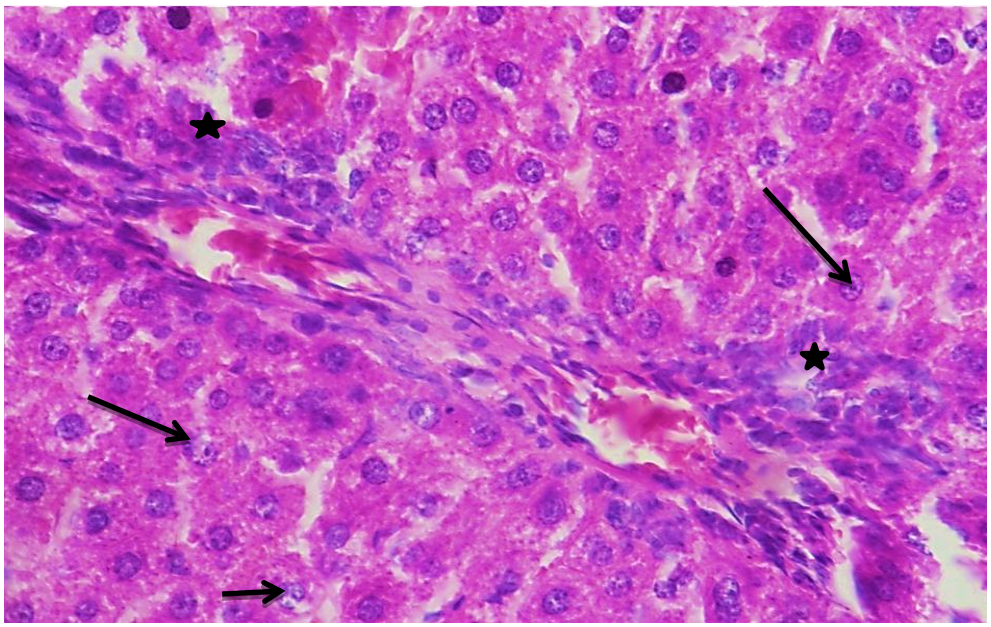
اما عند التراكيز العالية من البرمثرين 25 ,75 (ملغم /كغم /يوم) لوحظ ارتشاح الخلايا الالتهابية من النوع العدلة Neutrophil ولوحظ زيادة عدد الفجوات داخل الخلايا الكبدية ادى الى تضييق الفراغ بين الجيبانيات Sinusoids .الصورة (21) و(22)



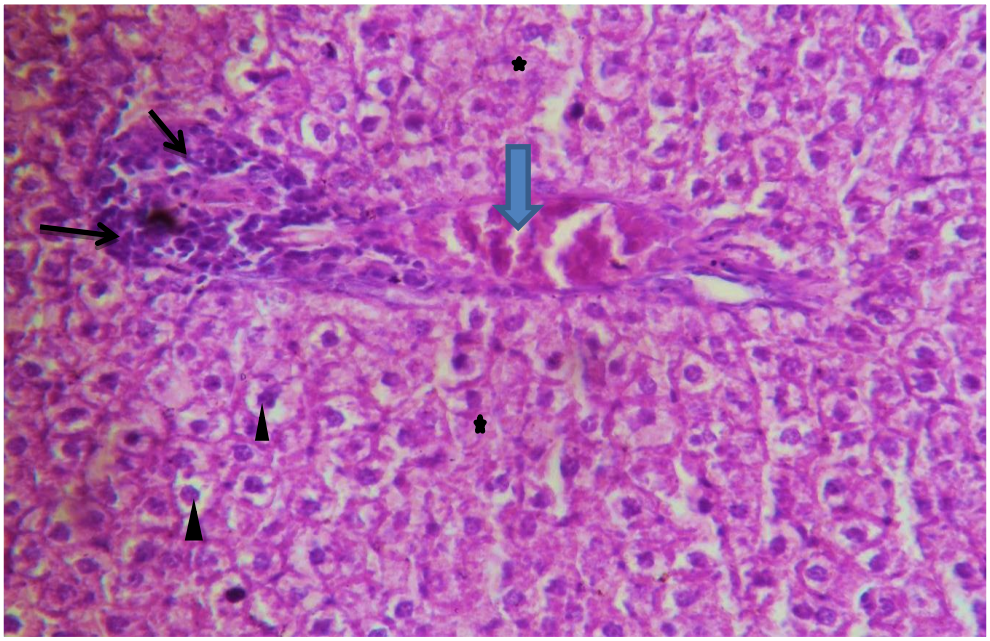
صورة (19) الخلايا الكبدية (السهم باللون الاسود) كما توضح الوريد المركزي(السهم باللون الازرق) لمجاميع السيطرة بمرحلة الرضاعة.(H&E), (10x)



صورة (20) مقطع عرضي لنسيج الكبد للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02(ملغم /كغم /يوم) توضح الاحتقان بالاوعية الدموية(السهم الاسود) كما توضح تنخر تجلطي (السهم الازرق) بمرحلة الرضاعة(H&E), (100x)



صورة (21) مقطع عرضي لنسيج كبد للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25(ملغم /كغم /يوم) توضح ارتشاح الخلايا الالتهابية (النجمة) كما توضح تكوين الفجوات (السهم الاسود) بمرحلة الرضاعة(H&E), (40x)

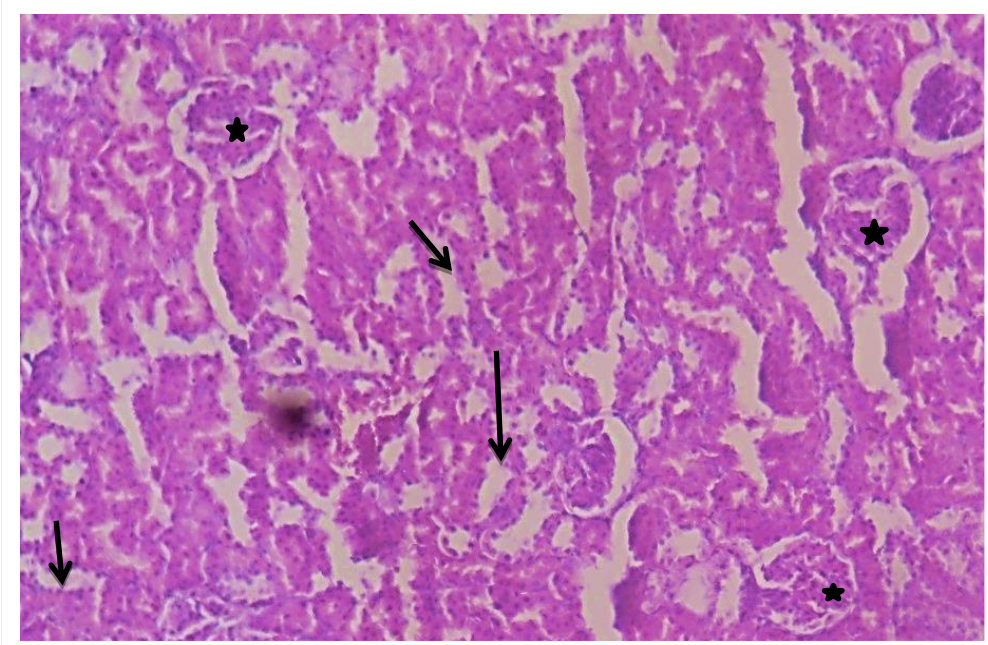


صورة(22) مقطع عرضي لنسيج الكبد للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز75(ملغم /كغم /يوم) توضح الاحتقان الدموي (السهم الازرق) كما توضح ارتشاح الخلايا اللمفاوية (السهم الاسود) وتوضح تنخر تنكسي (راس السهم) وتغيرات تنكسية (النجمة) بمرحلة الرضاعة.(H&E) (40x)

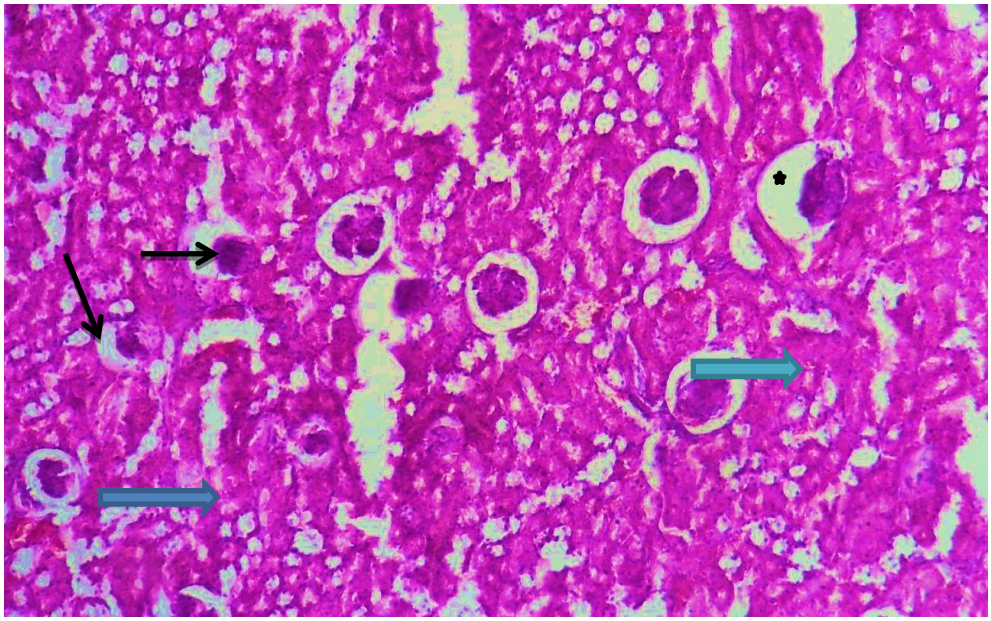
2.1.4.4. الكلية The Kidney

اوضح الفحص النسجي صورة (23) لنسيج الكلية لمجموعة السيطرة التركيب الطبيعي للنبيبات الكلوية Renal tubules و الكبيبةGlomeruli , و المقاطع النسجية للكلية لإناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتركيز 0.02 (ملغم /كغم /يوم) اظهرت انكماش للكبيبة كما لوحظ تغيرات تنكسية Hydropic degeneration بضمور اللمة الشعرية داخل الكبيبة وتوسع Bowman's space صورة (24) , اما الاناث التي تعرضت للتراكيز العالية من البرمثرين

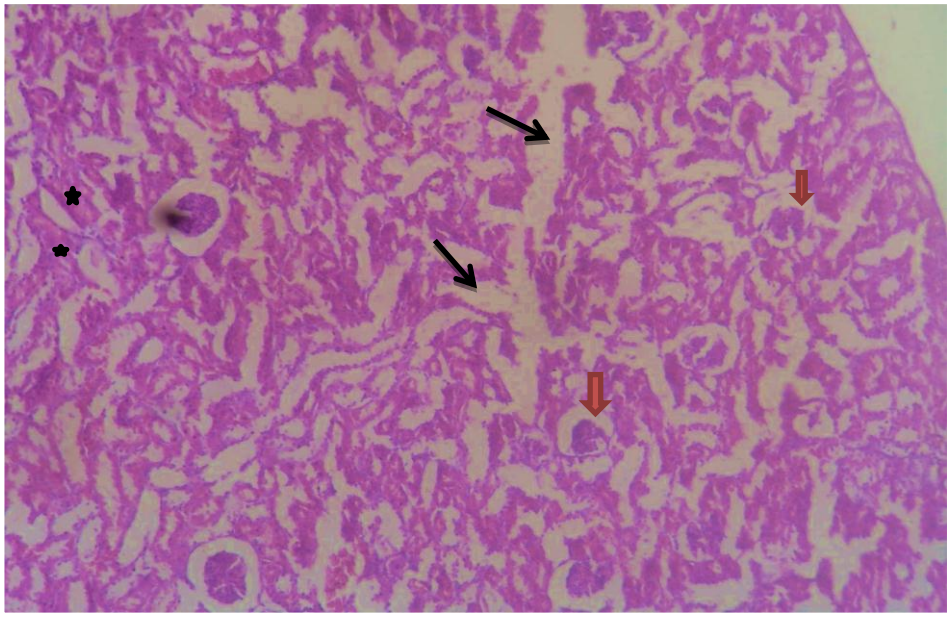
25 ,75 (ملغم /كغم /يوم) كانت التغيرات فيها اكثر شدة مما هو عليه بالتركيز الاول في الكلية حيث لوحظ فيها فضلا عما لوحظ الارتشاح اللمفاوي وتنخر تجلطي صورة (25) و(26)



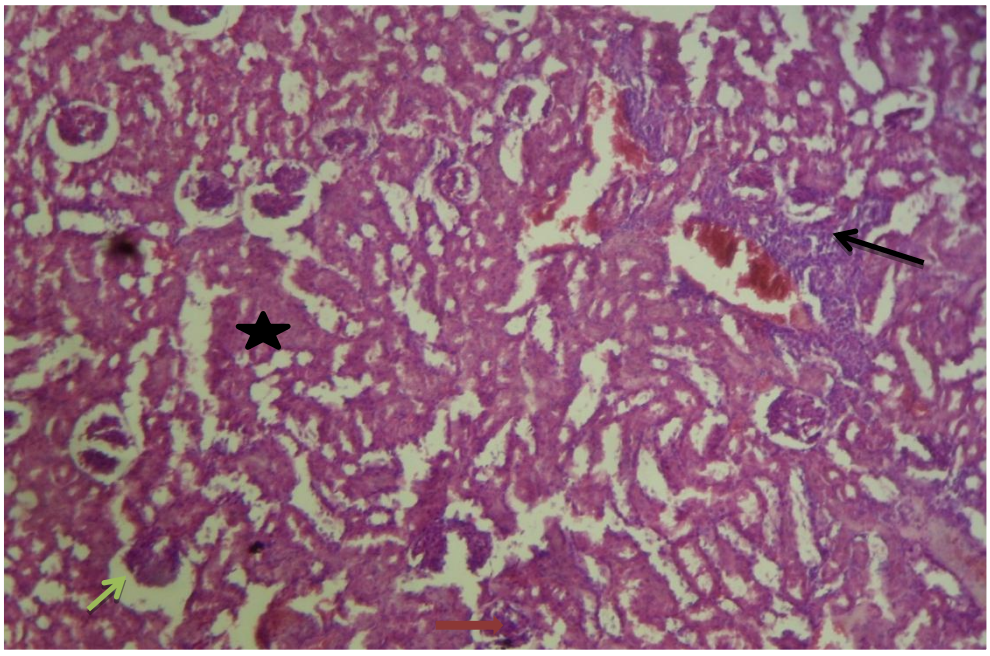
صورة 23 توضح معظم الكبيبات (النجمة) والنبيبات (السهم الاسود) تظهر بصورة طبيعية بمرحلة الرضاعة(H&E)(40x)



صورة 24 مقطع عرضي لنسيج الكلية للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز0.02(ملغم /كغم /يوم) توضح انكماش محفظة بومان (النجمة) وتحلل للكبيبة (السهم الاسود) كما توضح تغيرات تنكسية (السهم الازرق) بمرحلة الرضاعة(H&E)(40x)



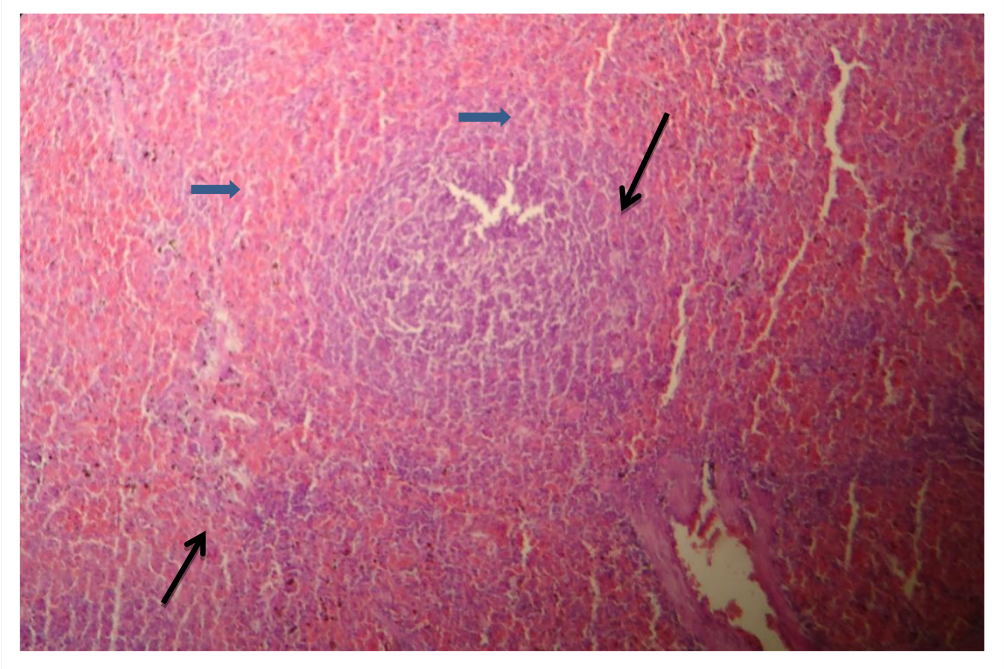
صورة (25)مقطع عرضي لنسيج الكلية للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25(ملغم /كغم /يوم) توضح توسع في تجويف النبيب الكلوي (السهم الاسود) وتوضح انكماش محفظة بومان (السهم الاحمر) كما توضح تنخر تجلطي (النجمة) للكلية بمرحلة الرضاعة(H&E)40x



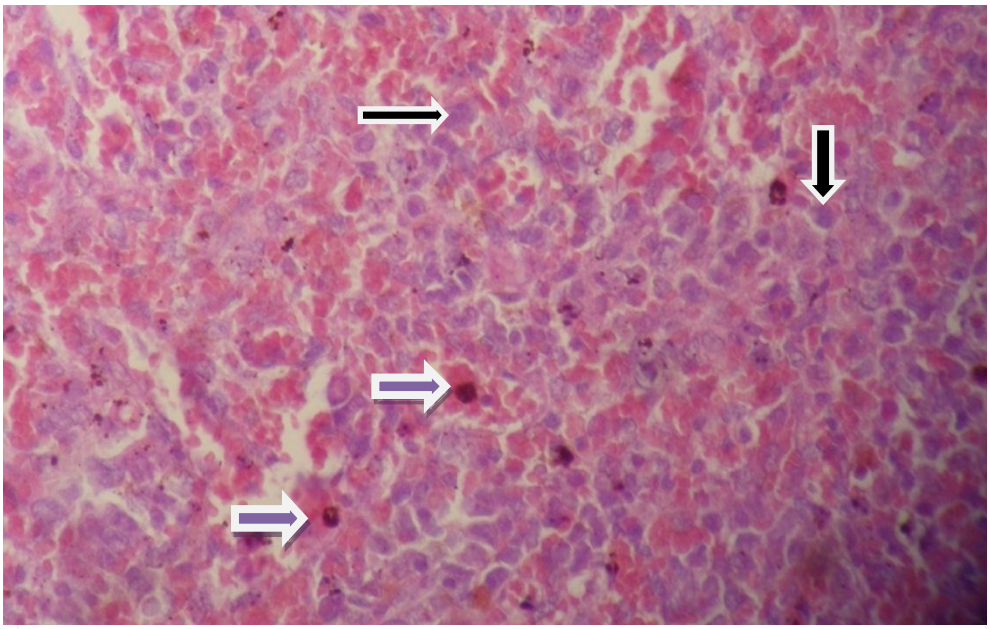
صورة (26)مقطع عرضي لنسيج الكلية للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز75 (ملغم /كغم /يوم)توضح ارتشاح الخلايا اللمفاوية(السهم الاسود) وتوضح انكماش محفظة بومان(السهم الاخضر) وتحلل الكبيبة(السهم الاحمر) وتنخر تجلطي (النجمة) بمرحلة الرضاعة.(H&E), (40x)

3.1.4.4. الطحال The Spleen

اظهرت المقاطع النسجية صورة (27) لمجاميع السيطرة التركيب الطبيعي لنسيج الطحال موضحا اللب الابيض White Pulpواللب الاحمر Red Pulp, بينما الاناث المجرعة بالبرمثرين بالتراكيز0.02 , 25, 75 (ملغم /كغم /يوم) اوضحت المقاطع النسجية لها وجود احتقان بالأوعية الدموية Congestionكما لوحظ انتشار الخلايا العملاقة Giant cell وتوسع الجيبانيات . صورة (28)



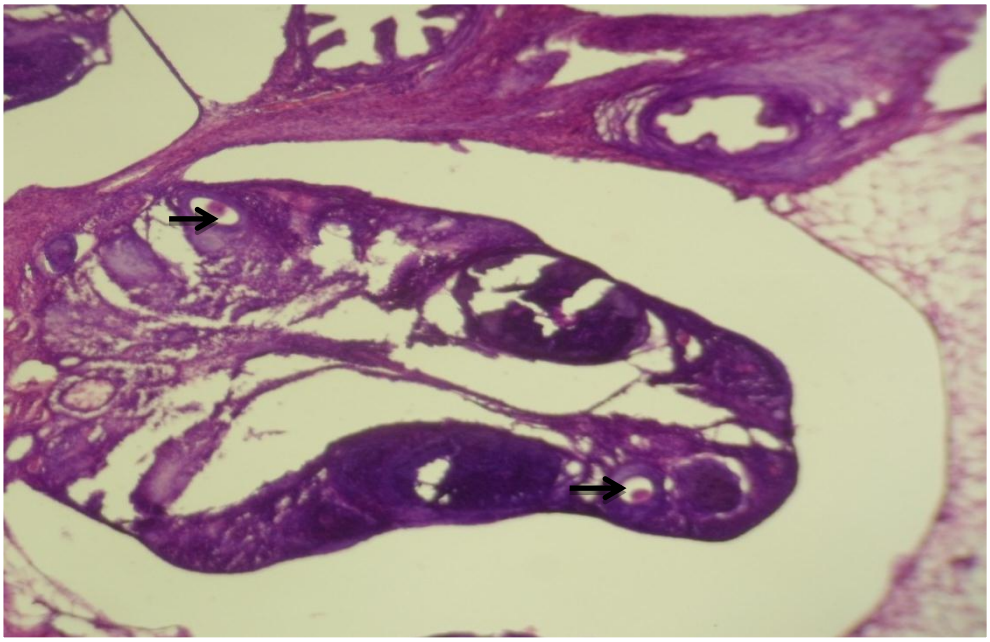
صورة (27) اللب الاحمر (السهم باللون الاسود) كما توضح اللب الابيض (السهم باللون الازرق) لمجاميع السيطرة بمرحلة الرضاعة (H&E 10X)



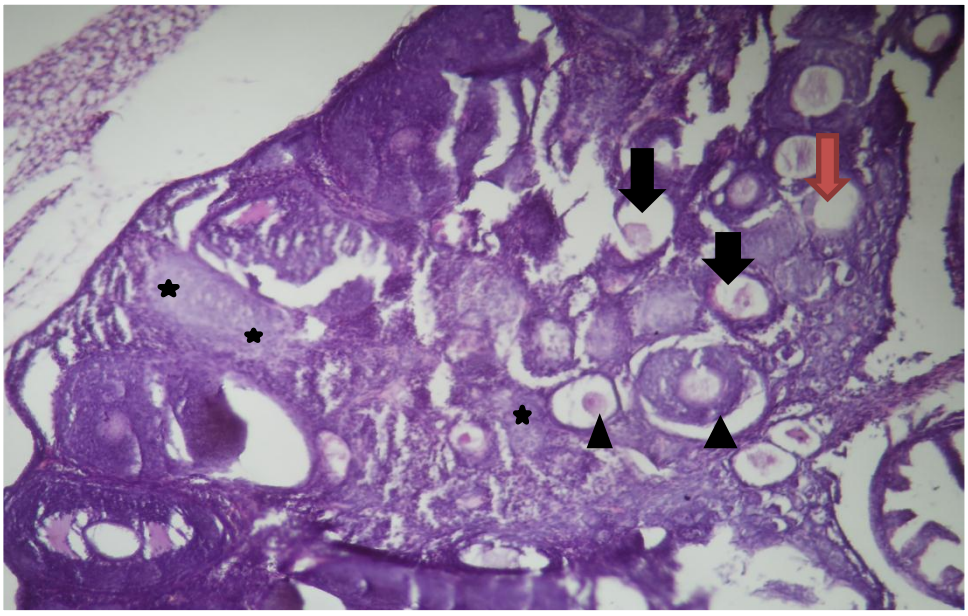
صورة (28)توضح الخلايا العملاقة Giant cell (السهم الازرق) وتوسع الجيبانيات (السهم الاسود)لنسيج الطحال للجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتراكيز 0.02 ,25 ,75 (ملغم /كغم /يوم) بمرحلة الرضاعة.(H&E) ,(40x)

4.1.4.4. المبايض Ovaries

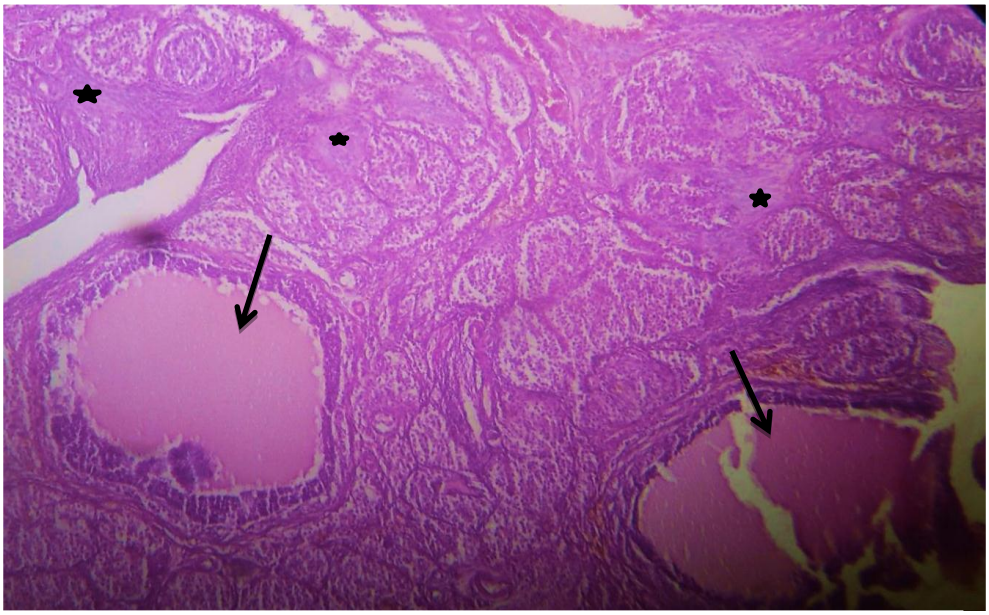
اظهرت المقاطع النسجية لمجاميع السيطرة صورة (29) الجريبات المبيضية الابتدائية والثانوية وجريبات كراف Graafin Follicles والجسم الاصفر Corpus Latium في حين ان المقاطع النسجية لإناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتركيز0.02 (ملغم /كغم /يوم) اظهرت وجود تنخر تجلطي Coagulate necrosis كما لوحظ اختفاء Ova . صورة (30) اما الاناث التي عرضت للتراكيز العالية من البرمثرين 25 ,75 (ملغم /كغم /يوم) فقد اظهر الفحص النسجي لها وجود تنخر تجلطي وتحلل للبويضة ولوحظت تراكيب شبيه بالأكياس cyst like structure صورة (31) و(32)



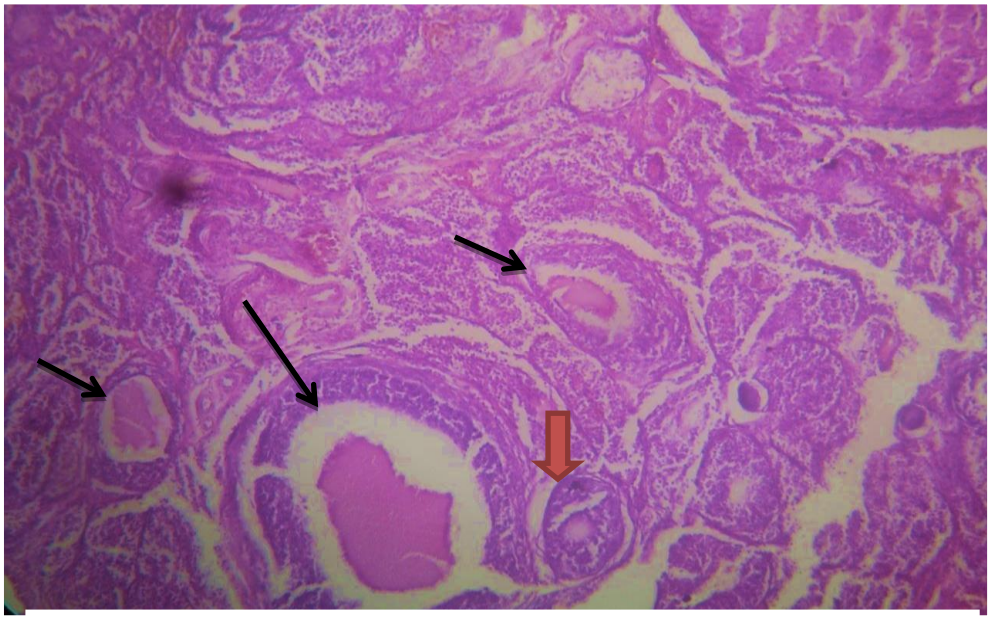
صورة (29) توضح مراحل من نضج البويضة داخل المبيض بمجموعة السيطرة بمرحلة البرضاعة.(H&E) (40x)



صورة (30)مقطع بنسيج المبيض للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 0.02 (ملغم /كغم /يوم) توضح مراحل تطورية للبويضة داخل المبيض(رأس السهم) كما توضح بداية تحلل البويضة(سهم اسود) وتوضح اختفاء البويضة (سهم احمر) وتنخر (نجمة) في مرحلة الرضاعة (H&E 40X)



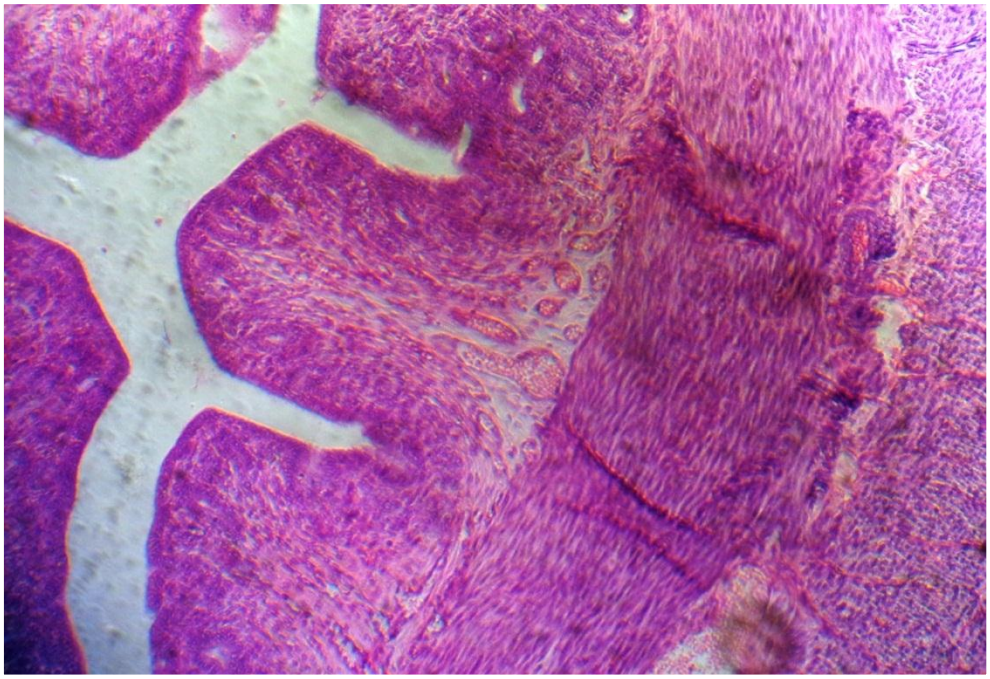
صورة(31) مقطع عرضي لنسيج المبيض للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 25 (ملغم /كغم /يوم) توضح تراكيب شبيه بالاكياس (السهم الاسود) كما توضح تنخر تجلطي (النجمة) للمبيض بمرحلة الرضاعة.(H&E) (40x)



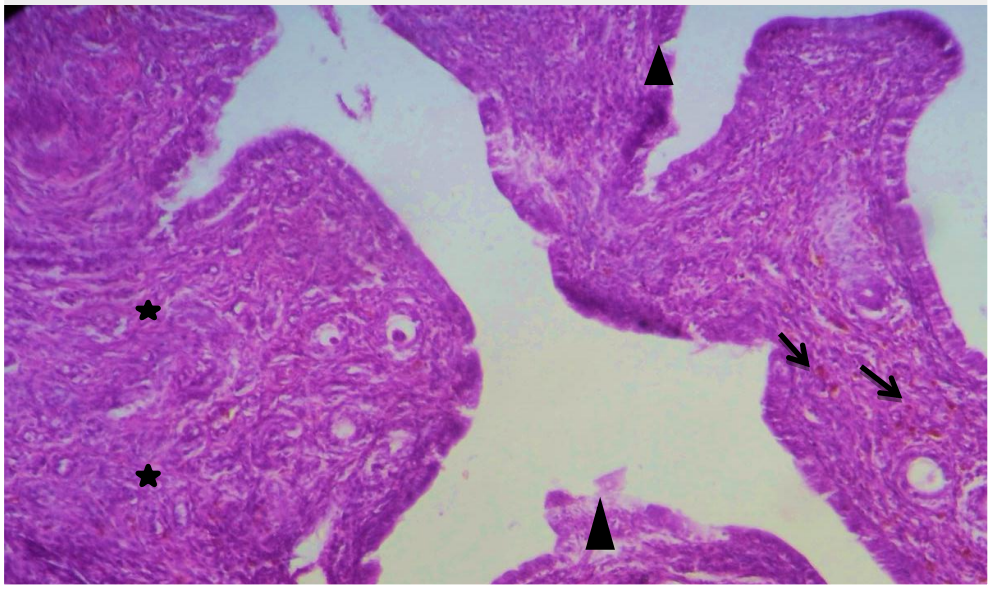
صورة(32) توضح تراكيب شبيه بالاكياس (السهم الاسود) كما توضح جريبة كراف ناضجة(السهم الاحمر) للمبيض للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 (ملغم /كغم /يوم) بمرحلة الرضاعة.(H&E) (40x)

5.1.4.4. الرحم Uterus

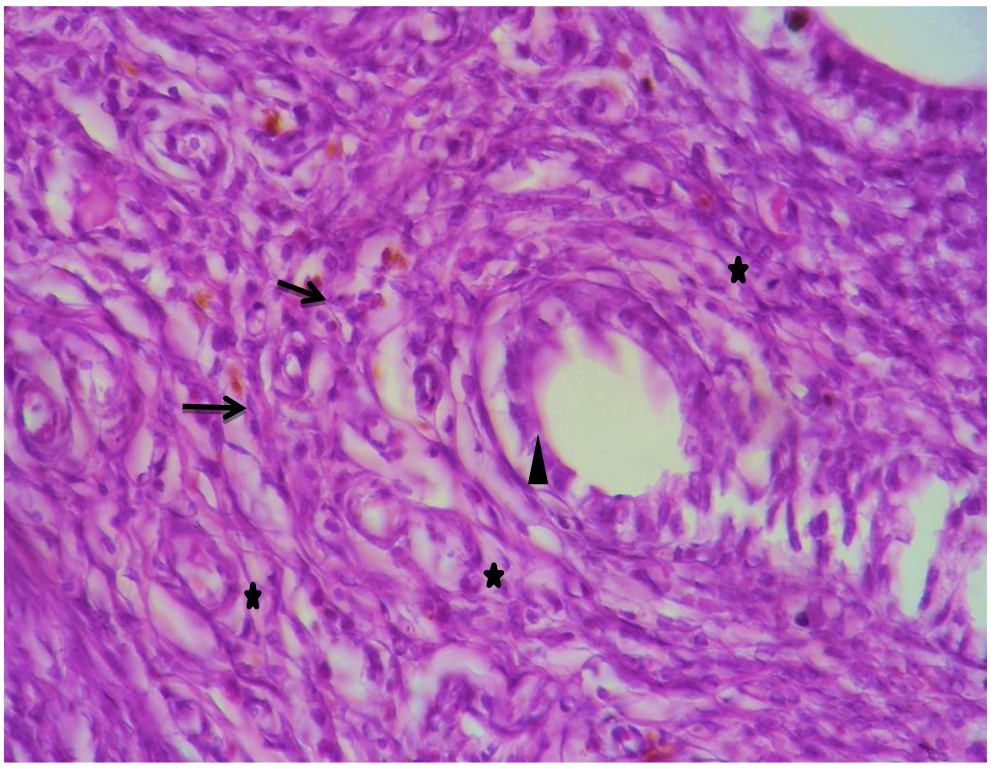
اظهرت الفحوصات النسجية للرحم لمجاميع السيطرة التركيب الطبيعي للبطانة الرحمية Endometrium والتجويف الرحمي Uterine Lumen صورة (33) اما اناث الجرذان المجرعة بالبرمثرين بالتراكيز 0.02 ,25 ,75 (ملغم /كغم /يوم) فقد اظهرت المقاطع النسجية لها حدوث نزف شديد وتغيرات تنكسية وانسلاخ الخلايا المبطنة للغدد الرحمية صورة(34) و(35) و(36)



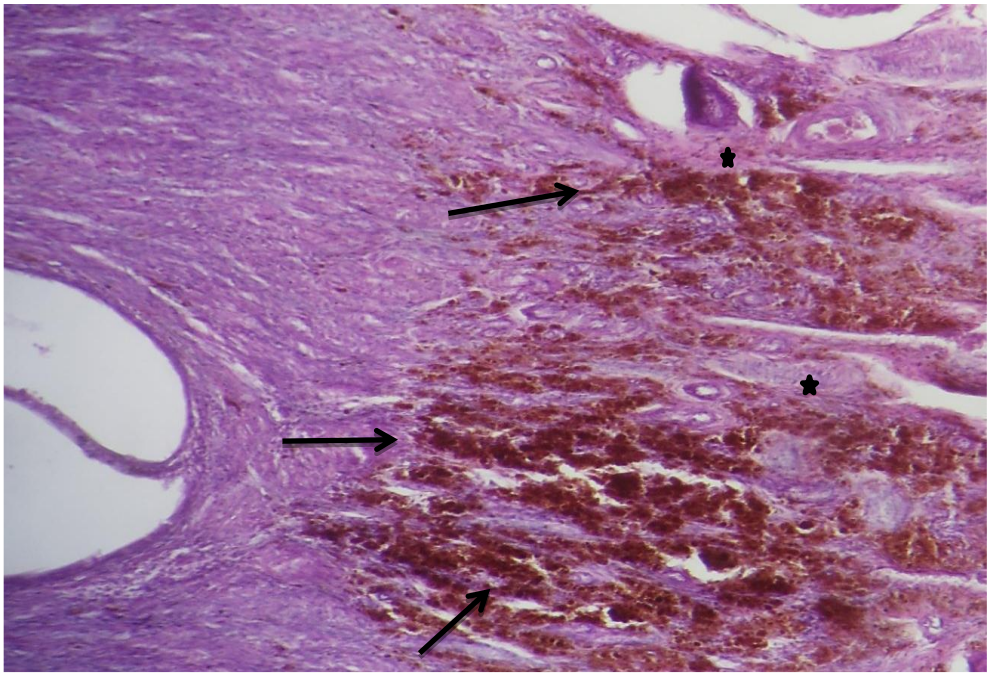
صورة (33) توضح التركيب الطبيعي للبطانة الرحمية لمجموعة السيطرة لمرحلة الرضاعة ,H&E 40x



صورة (34) مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز0.02 (ملغم /كغم /يوم) توضح نزف (السهم الاسود) كما توضح انسلاخ (راس السهم) وتغيرات تنكسية (نجمة) بمرحلة الرضاعة(H&E)(40x)



صورة (35) مقطع عرضي للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز0.02(ملغم /كغم /يوم) توضح نزف (السهم الاسود) وانسلاخ الخلايا المبطنة للغدد الرحمية (راس السهم) كما توضح تغيرات تنكسية (نجمة) بمرحلة الرضاعة.(H&E) (40x)



صورة (36) مقطع عرضي لنسيج الرحم للجرذان المجرعة بالبرمثرين بتركيز 75 (ملغم /كغم /يوم) توضح النزف الشديد(السهم الاسود) كما توضح تغيرات تنكسية (نجمة) بمرحلة الرضاعة.(H&E) (40x)

الفصل الخامس

المناقشة

1.5. المعايير الكيموحيوية

1.1.5. انزيم الفوسفاتيز القاعدي(ALP) Alkaline Phosphatase

بينت نتائج هذه الدراسة وجود انخفاض معنوي في معدل فعالية انزيم الـــ ALP حيث ان هذا الانزيم ينخفض نتيجة استعمال البرمثرين الذي يظهر فعالية استر وجينة , ولذلك يعتبر من معرقلات الغدد الصم Endocrine disruptors التي تؤدي الى ظهور هذه الفعالية حيث يعمل البرمثرين على تثبيط فعالية انزيم ALP من خلال التفاعل مع مستقبلات الهرمونات ,وهذا متفق مع دراسة (Moon *et al* ., 2012) . حيث ان انزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP هو من الانزيمات المرتبطة بالأغشية وهو موجود على اغشية الخلايا , حيث تثبط عملية النقل الحاصل وان الانخفاض في معدل فعاليته هو مؤشر واضح .

وقد اشارت دراسات اخرى اشارت الى ان انخفاض معدل فعالية انزيم الـ ALP نتيجة استخدام البرمثرين هو دليل على الضرر البرنكيمي Parenchymal damages حيث ان النقص بمكونات الفسفرة داخل الخلايا الحيوانية ممكن ان يؤدي الى اختزال الفوسفين المخزون , وبدوره فان نقصان الفوسفين يؤثر على معدل فسفرة الـ Ca^{+2} داخل كل خلية ويؤدي ذلك الى الضرر بالأغشية الخلوية والنقص بمكونات الطاقة (Meister *et al* ., 1973 , Anwar , 2004). بينما اختلفت دراسات اخرى بان معدل فعالية انزيم الـ ALP يزداد نتيجة التجديد بعد الضرر الحاصل بأنسجة القلب نتيجة استخدام البرمثرين (Anwar, 2003). وهناك دراسات اخرى اشارت الى ازدياد معدل فعالية انزيم الـ ALP عند استخدام البرمثرين لان هذا الانزيم متخصص بـتكسير الاواصر الفوسفاتية وانتقالها hydrolase و Transphosphorylase بالأنسجة الحيوانية لذلك فان زيادة فعاليته دليل على وجود الجهد الحاصل من dephosphosphorylation داخل الخلايا الحيوانية (Muthuvive *et al* ., 2011 , Kaur and Phanju , 2004).

2.1.5 البروتين الكلي Total Protein

بينت الدراسة الحالية حصول ارتفاع في معدل البروتين الكلي وهذا يفسر الاجهاد الحاصل نتيجة التعرض للبرمثرين حيث ان معدل البروتين يزداد في مختلف الانسجة نتيجة الاجهاد الحاصل بسبب التعرض للمبيد اذ يزداد معدل الترجمة للبروتينات لبناء بروتينات جديدة

لتعويض الضرر. وقد اتفق هذا مع دراسة (Muthuvive *et al* ., 2011).

وقد اشارت بعض الدراسات الى ان ارتفاع معدل البروتين في الانسجة يحدث نتيجة اصلاح الانسجة المتضررة (Anwar , 2003). وهذا يختلف مع دراسات اخرى اشارت الى ان معدل البروتين الكلي ينخفض عند استخدام البرمثرين ويعزى هذا الانخفاض الى الضرر الحاصل بالخلايا الكبدية او يعزى الى انخفاض بناء البروتينات

(Poonam *et al* ., 2012 , Anwar , 2004 and Khanh, 2000).

كما بينت دراسة اخرى الى ان معدل البروتين ينخفض عند استخدام البرمثرين , وهذا يشير الى تقليل degenerative changes في المبيضيات او وجود خلل في عمليات بناء البروتين anabolism (Singh and Saxena , 2001). بينما اشارت دراسات اخرى الى ان معدل البروتين الكلي يبقى غير متأثر عند استخدام جرعات من البرمثرين في اجنة الدجاج وبيان تأثير المبيد على القلب (Anwar , 2003).

3.1.5. الالبومين Albumin

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض في معدل كمية الالبومين عند استعمال البرمثرين , وهذا دليل على الضرر الكبدي المتمثل بالتغيرات النسيجية الحاصلة بالكبد عند استخدام هذا المبيد. وقد اتفقت العديد من الدراسات على انخفاض كمية البرمثرين نتيجة الضرر الكبدي الناتج من استعمال البرمثرين

(Miesameer *et al* ., 2011 , Padma and Ashok , 2010 , Minelko *et al*.,2008)

حيث ان الالبومين هو بروتين يقوم الكبد بتصنيعه وهو اساس لوظائف الجسم الطبيعية

. (Farrugia , 2010)

2.5. الهرمـونات Hormones

اظهرت نتائج الهرمونات الى وجود تأثيرات مشابهة نتيجة المعاملة بالبرمثرين بالتراكيز الثلاثة خلال مرحلة الحمل ومرحلة الرضاعة .

1.2.5. التستوستيرون Testosterone

اوضحت النتائج الى حدوث انخفاض معنوي في مستوى هرمون التستوستيرون حيث ان معرقلات الغدد الصم ترتبط مع العديد من مستقبلات الهرمونات النشطة ثم تقلل فعاليتها حيث تعمل على غلق هذه المستقبلات وتثبط اي فعالية لها , كما ان هذه المعرقلات تتداخل مع بناء ونقل وايض وازالة الهرمونات لذا فأن هذه المعرقلات تعمل على تقليل الهرمون الطبيعي .

لقد بينت العديد من الدراسات الى ان مجاميع البايروثرويد ومن ضمنها البرمثرين يمكن ان تسبب خللا بالوظيفة التكاثرية حيث ان هذه المركبات تثبط ارتباط التستوستيرون مع مستقبلات الاندروحين وارتباط هرمونات الجنس مع الكلوبيولين حيث ان مجاميع البايروثرويد يمكن ان يغير مستوى الهرمونات الستيرويدية بالمصل بوساطة زيادة او تقليل مسارات الهدم للستيرويدات وازالتها ويتوضح لذلك التأثير المضاد للمبيدات الحشرية على مستوى الهرمونات الستيرويدية يمكن ان يتوضح , اما بوساطة الفعالية المباشرة للمبيدات على التعديل بعد عملية الترجمة Translationللهرمونات الستيرويدية او من خلال التغييرات بالتعبير الجيني

.(Jian *et al* , 2005)

واتفقت نتائج العديد من الدراسات مع نتائج الدراسة الحالية حيث بينت هذه الدراسات وجود انخفاض معنوي في مستوى هرمون التستوستيرون لان التعرض للبرمثرين يمكن ان يعرقل البناء الحيوي للتستوستيرون عبر تحطيم اغشية المايتوكندريا لخلايا ليدج Leydig عن طريق تقليل تجهيز الكولسترول (وهو المادة الستيرويدية للبناء الحيوي لهرمونات الستيرويد ومنها الهرمونات الجنسية الذكرية والانثوية) الى المايتوكندريا وتقليل تحويل الكولسترول الى Pregnenolone في الخلايا لهذا يقل انتاج التستوستيرون بالتدريج

.(Issam *et al* ., 2010 , Zhang *et al* 2008 , Afaf *et al* ., 2003)

بينما جاءت نتائج دراسة اخرى لتوضح ان انخفاض التستوستيرون نتيجة التعرض للبرمثرين يكون استجابه لقلة اعداد النطف الناتجة من التعرض للمبيد وقلة حركة هذه النطف

.(Sahar *et al* ., 2011)

2.2.5. البروجستيرون Progesterone

اوضحت النتائج حدوث ارتفاع معنوي في مستوى هرمون البروجستيرون ,حيث ان استعمال البرمثرين يسبب ارتفاع هذا الهرمون مؤديا الى ظهور اورام بالمبايض وقد يكون ارتفاع هرمون البروجستيرون نتيجة استخدام البرمثرين ناتج عن فرط في انتاج الغدة الدرقية.

اوضحت دراسات اخرى ان استعمال البرمثرين يسبب انخفاض في مستوى هرمون البروجستيرون نتيجة تداخله مع المسار الطبيعي ل cAMP(cyclic adenosine monophosphate) (Qu *et al* ., 2008).

ويعتبر cAMPهو الرسول الثاني second messengerبالعديد من العمليات البايلوجية حيث ينظم وظائف قنوات الايونات وينظم العديد من الحركيات التي تعمل على التاثير على الهرمونات مثل Glucagon و Adrenaline (Hanoune and Defer , 2001) .

كما ان انخفاض البروجستيرون نتيجة استعمال البرمثرين يكون نتيجة تثبيط بروتينات STAR(Steroidogenic acute regulatory) (Qu *et al* ., 2008).

STAR هي بروتينات مايتوكندرية تبنى بسرعة لتحفيز الخلايا لانتاج الستروبد وعلى المستوى الخلوي فان هذه البروتينات تبنى استجابة لتنشيط cAMP النظام الرسول الثاني

(Xue *et al* ., 2010).

حيث ان التعبير الايجابي والسلبي لبروتينات STAR يكون حساس للعوامل التي تزيد او تثبط البناء الحيوي للستروبدات (Stocco , 2001).

فيما جاءت دراسة اخرى توضح ان البرمثرين الذي يحدث تاثير معرقل للاستروجين لا يتداخل مع مستوى البروجستيرون فلا توجد اختلافات معنوية في مستوى هذا الهرمون

(Sahar *et al* ., 2011).

3.2.5. الهرمون المحفز للجريبات Follicle stimulating hormone

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي في مستوى هرمون FSH حيث ان استعمال العديد من المركبات الكيميائية ومنها المبيدات كالبرمثرين

يمكن ان تغير من فعالية الهرمونات عن طريق التفاعل مع مستقبلات الهرمونات وتسمى معرقلات الغدد الصم وهذه المعرقلات تعمل على تغيير الوظائف للغدة النخامية لذلك تعمل على تغيير glycosylation لـ FSH مؤديا الى اختزال فعاليته . وقد اتفقت العديد من الدراسات مع هذا (Poongothaia *et al* ., 2008 , Masutomi *et al* ., 2004).

كما بينت دراسة اخرى ان انخفاض FSH يعود الى التأثير المباشر للبرمثرين على الغدة النخامية الامامية (Poonam *et al* ., 2012).

ان الهرمون المحفز للجريبات FSH والتستوستيرون يلعبان دورا مهما في عملية تكوين النطف Spermatogensis اما لوحدهما او بالتوافق والانسجام معا (Ruwanpura *et at*.,2010) . ان تثبيط عملية توليد النطف spermatogensis يكون متوقع كنتيجة مصاحبة مع قلة مستوى هرمون الـــ FSH ولكن ليس دائما (Mclachlan *et al* ., 2004) . لكن دراسة اخرى بينت ان استعمال البرمثرين لم يؤثر على مستوى هرمون FSH (Zhang *et al* ., 2007).

4.2.5. هرمون الرضاعة Prolactin Hormone

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي في مستوى هرمون الرضاعة Prolactin Hormone حيث ان استعمال البرمثرين الذي له تاثيرات استروجينية يعرقل الوظائف للغدة النخامية مسببا تغيرات بالهرمونات التكاثرية وبالتالي انخفاض مستوى هذا الهرمون. وهذا متفق مع دراسات اخرى (Sarkar *et al* ., 2000 , Regelio *et al* ., 2005)

وقد اوضحت دراسات اخرى ان انخفاض هرمون الرضاعة عند استخدام المبيد ناتج عن تنشيط الدوبامين (Dopamine (DA الناقل العصبي المثبط لافراز الهرمون من الغدة النخامية

(Lafuente *et al* ., 2004, Craven *et al* ., 2006)).

في حين ان دراسة اخرى اوضحت ان استخدام البرمثرين كان له تاثيرمباشرعلى الغدة النخامية وبالتالي على تراكيز الهرمونات مما ادى الى زيادة مستوى هرمون الرضاعة

(Simeon *et al* ., 2013).

كما جاءت دراسة اخرى توضح ان زيادة مستوى هرمون الرضاعة نتيجة استخدام البرمثرين كان نتيجة فرط انتاج هرمون تحفيز الافراز في الخلايا الدرقية Thyrotropin releasing factor (TRH). (Anunciacian *et al* ., 2003 , Grattan *et al* ., 2007)

5.2.5. الهرمون اللوتيني Luteinizing Hormon

بينت نتائج دراستنا الحالية وجود انخفاض معنوي في مستوى الهرمون اللوتيني LH وهذا يتوضح بقدرة البرمثرين على التداخل مع مستقبلات ارتباط LH نتيجة عدم ارتباط LH مع مستقبلاته والذي يسهم بتقليل تحفيز LH في عملية بناء الستيرويدات Steroidogenesis. وقد اتفق مع هذا دراسة (Issam *et al* ., 2009).

ان هذا الخلل التكاثري reproductive dysfunction يؤثر على مستوى الغدة النخامية ليثبط هرمون luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) وافراز هرمون الـــ LH حيث ان البرمثرين يُحدث اختزالا بالبناء الحيوي لــهرمون (LH-RH) في تحت المهاد او التأثير المباشر للبرمثرين على افراز LH من غدة Pituitary (Koike *et al*.,2000). في حين اشارت دراسات اخرى الى ان استخدام البرمثرين يؤدي الى زيادة في مستوى هرمون LH وذلك لان البرمثرين يؤدي الى انخفاض مستوى هرمون التستوستيرون لذلك يرتفع مستوى الهرمون اللوتيني LH عند التعرض للمبيد , حيث ان افراز LH من الغدة النخامية Pituitary يزداد استجابة لانخفاض مستوى هرمون التستوستيرون بواسطة التغذية الراجعة السالبة الطبيعية للمحور hypothalamus-pituitary (Zhang *et al* ., 2007 , Mani *et al* .,2002).

3.5. مضادات الاكسدة Antioxidants

اشارت نتائج هذه الدراسة الى انخفاض معنوي في انزيم اوكسيد الدسيميوتيز الفائق superoxide dismutase (SOD) , حيث ان SOD هو الخط الاول والرئيس للدفاع ضد جذر الاوكسجين الفائق وغيرها من اصناف الاوكسجين الفعالة Reactive oxygen species (ROS) . وهذا متفق مع دراسة (Nitin *et al* ., 2012).

ان انزيم الـ SOD هو عبارة عن انزيم مضاد للاكسدة وهو يحد من احتمالية وقوع جذور الاوكسجين الحرة التي تشكلت اثناء عمليات خلل التمثيل الغذائي الطبيعية للأوكسجين ولبيروكسيد الهيدروجين (Muller , 2000) .

ان جذور Super oxide radical تنتج في المايتوكندريا والشبكة الأندوبلازمية كتدرج للاكسدة الذاتية لمكونات السلسلة الالكترونية للنقل , وان SOD يحول هذه الجذور الحرة الى بيروكسيد الهيدروجين والأوكسجين وان انخفاض فعالية هذا الانزيم SODهو بمثابة تحفيز لزيادة تكوين الجذور الحرة للنقص الحاصل بهذا الانزيم لاستعماله المفرط

.(Barondean *et al* ., 2004)

كما ان دراسة اخرى اوضحت زيادة SOD بسبب الخاصية القطبية له hydrophilic وهذا ناتج عن زيادة السيولة للبرمثرين وقطبية مناطق hydrophilic-hydrophobic للمناطق ثنائية القطب في كرية الدم الحمراء بالجرعات الواطئة من البرمثرين وبالجرعات العالية فان الترشيح خلال الغشاء يكون اكثر سهولة (Nasuti et al.,2003). في حين ان دراسات اخرى بينت عدم تأثير للمبيد على مستوى SOD (Vimala , 2004 , Toxicology , 2007).

كما بينت الدراسة الحالية انخفاض معنوي في تركيز مضاد الاكسدة الكلي (TAC) Total antioxidant capacity وهذا يتفق مع دراسات اخرى كانت قد اشارت ان استعمال البرمثرين يمكن ان يحدث الاجهاد التأكسدي بتكوينه Aldehydes و Lipophilic Conjugates الأخرى , وهدا يؤدي بدوره الى اختزال او تقليل الوظائف المايتوكندرية

.(Husan and Basak , 2011 , Karen *et al*., 2001)

كما ان هناك دراسات اخرى اوضحت ان استعمال البرمثرين يسبب انخفاضا في TAC بسبب عرقلة الجهاز الصم لتكون الجدور الحرة واحداث Lipid peroxidation للأنسجة باللبائن وحدوث ضرر بـــ DNA (Husan and Elanur , 2012).

4.5. التغيرات النسجية

1.4.5. الكبـــد The liver

أظهرت الفحوصات النسجية وجود العديد من التغيرات الكبدية المتضمنة بعض التغيرات التنكسية والاحتقان بالوريد المركزي خلال المرحلة الجنينية ومرحلة الرضاعة وهذا متفق مع دراسات (Tos *et al*., 2001 , Mohamed *et al* ., 1993).

الكبد هو العضو الاساس للتمثيل و الايض وازالة سمية المبيدات ومنها البرمثرين لهذا فأن الكبد يكون حساس للجرعات السمية حتى لو كانت واطئة اكثر من اي عضو اخر

(Moon *et al*.,2012).

ان التغيرات الملاحظة نسجيا بالكبد يمكن ان تُعزى الى الاجهاد التأكسديOxidative Stress حيث ان الاجهاد يستطيع احداث الضرر المايتوكندري وبدوره فان هذا الضرر يولد مركبات الاوكسجين النشطة (ROS) بتراكيز اكثر او من الممكن ان يكون هذا راجع لتجمع المركبات السامة وموادها الايضية بالخلايا الكبدية بالجرع المستخدمة خلال التجربة . وهذا اتفق مع دراسة

(Asahi *et al* .,2010). كما لوحظ بالدراسة الحالية ان البرمثرين سبب ارتشاح الخلايا والنخر necrosis)، وزيادة عدد الفجوات بين الخلايا الكبدية Vacuolated hepatocytes والوذمة edma وهذا متفق مع العديد من الدراسات التي اشارت الى حصول الكثير من التغيرات النسجية عند استعمال البرمثرين

(Khawaja *et al* ., 2004 , Roma *et al*., 2012 , Kostka *et al*.,2000).

ان التغيرات النسجية الملاحظة بالكبد بهذه الدراسة تدعم انخفاض فعالية انزيم الـ ALP نتيجة الضرر البرنكيمي وارتفاع البروتين نتيجة الاجهاد الحاصل بالخلايا مقارنة بمجاميع السيطرة .

2.4.5 الكلـــية The kidney

اظهرت الفحوصات النسجية للكلية وجود العديد من التغيرات منها تغيرات تنكسية hydropic degeneration بضمور اللمة الشعرية وتوسع محفظة بومان واحتقان بالأوعية الدموية وتحلل الكبيبة ونخر تجلطي وهذا متفق مع (Nahed *et al*.,2003) , كما لوحظ ايضا وجود ارتشاح الخلايا اللمفية وهذا متفق مع (Manikkam *et al*., 2013). قد تعود هذه التغيرات الى تجمع المواد السامة لهذه المبيدات وعدم قدرة الكلية على اخراج هذه المواد وايضا الاجهاد التأكسدي الحاصل على مستوى الكبيبات الكلوية الحاصل بسبب البرمثرين او قد يعزى الى حدوث انخفاض في مستوى الاوكسجين الداخل الى الخلايا كما اتفقت مع هذا دراسة (Hetwer , 2000) .

3.4.5. الطحـــال The spleen

أظهرت الفحوصات النسجية للطحال الى وجود احتقان بالاوعية الدموية وتوسع الجيبانيات وهذا يعزى الى تأثير البرمثرين على احداث الضرر البرنكيمي وبالتالي احداث الاجهاد التأكسدي . وقد اتفقت مع هذا دراسة (Roma *et al*., 2012) , كما لوحظ انتشار الخلايا العملاقة Giant cell حيث تتكون من اتحاد عدد من الخلايا البارزة وظهور هذه الخلايا يكون استجابة للاصابة الالتهابية من جهة خارجية وهذا ماتفقت عليه دراسه (Litvihov and Ariel , 2005).

4.4.5. المبيـــض The Ovary

ان الفحوصات النسجية الملاحظة بالجرذان المعرضة لتراكيز مختلفة من البرمثرين خلال مرحلة الحمل ومرحلة الرضاعة اظهرت تنخرا تجلطيا وقلة في عدد البويضات في مراحلها التطورية وهذا متفق مع دراسة (Ullah *et al*., 2006) . وقد يعزى ذلك الى ان البرمثرين يؤثر على الجهاز التكاثري وبالتالي يؤثر على تثبيط المبيض مؤديا الى قلة اعداد البويضات Oocyte , وهذا ماتفقت عليه عدة دراسات (Braz , 2005 , Mohamed *et al* ., 1993)وقد بينت دراسة حديثة ان شبيهات الاستروجين يمكن ان تثبط عملية تكوين الجزيئات

(Jefferson *et al* ., 2012). كما ان الفحوصات النسجية للمبيض عند التعرض للبرمثرين خلال مرحلة الرضاعة اظهرت تراكيب شبيه بالاكياس كأحدى التغيرات النسجية الرئيسة في المبيض وهذا متفق مع دراسة (Newbold *et al* ., 2007).

ان مبايض الاناث تكون حساسة للتداخل مع معرقلات الغدد الصم Endocrine disruptors ومنها البرمثرين (Markey *et al*., 2003 , Badraouie *et al*., 2010). مؤدية الى خلل بالجهاز التكاثري والعديد من الحالات المرضية للمبايض ومنها ظهور هذه الاكياس وهذا ماتفقت عليه دراسات (Padmanabhan *et al*., 2011 , Uzumcu and Zachow , 2007).

وهذه المواد السامة تؤدي الى تغيرات جنينية في الموروثات حيث ان تطور ونضج الجربيات المبيضية تكون اكثر تحسسا للتغيرات بتعبيرات الجينات

(Matthew *et al*., 2013 , Crain *et al* ., 2008).

حيث ان التعرض لهذه المبيدات يؤدي الى العديد من الطفرات التي بدورها تحدث تغيرات لتعبير الجينات بالخلايا وبالنسيج كله (Nilsson *et al*., 2012 , Mohan *et al*.,2012).

5.4.5. الرحـــم The Uterus

اظهرت الفحوصات النسجية للرحم في الجرذان المعرضة للبرمثرين خلال مرحلة الحمل ومرحلة الرضاعة بالتراكيز الثلاثة تنخرا مع انسلاخ بالبطانة الرحمية والنزف والتغيرات التنكسية , حيث الضرر الحاصل بالخلايا واختزال حجمها يؤدي الى ضعف استخدام الطاقة وان الخلل بمسار استخدام الطاقة يؤدي الى موت الخلية او الانسلاخ بالخلايا الطلائية وهذا ماتفقت عليه دراسات (Ullah *et al* ., 2006 , Mohamed *et al* ., 1993).

ان هذه التغيرات النسجية تدل على سُمية البرمثرين نتيجة التعرض الطويل للمبيد حيث ان التعرض لهذه المركبات يحدث تغيرات بتعبير العديد من الجينات التي تؤثر على تطور الجهاز التكاثري ومنها قناة مولر Mullerian duct التي تبقى مع تطور هذا الجهاز لتشكل قنوات فالوب والرحم والجزء الاعلى من المهبل (Ahmed *et al*., 2009 , Taylor , 2008). ان التطورات غير الطبيعية او التحورات خلال هذه الاوقات المبكرة من دورة الحياة يمكن ان يحور الوظيفة للجهاز التكاثري وبهذا يقلل الجهد التكاثري للأفراد المتأثرة

(Du and Taylor , 2004).

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendation

1.6. الاستنتاجات

من نتائج الدراسة الحالية يمكن لنا ان نستنتج ما ياتي:

1. ان التعرض للبرمثرين خلال المرحلة الجنينية ومرحلة الرضاعة حتى بالتراكيز الواطئة منه يسبب اضطرابات بالوظيفة التكاثرية وبذلك فانه يعمل كمعرقل للغدد الصم.
2. ان التعرض للبرمثرين يؤدي الى خلل بانزيمات مضادات الاكسدة مؤديا الى الاجهاد التاكسدي للخلايا.
3. بين الفحص النسجي ان التعرض للبرمثرين ادى الى تغيرات نسجية مهمة في الكبد والطحال والكلية والمبيض والرحم خلال مرحلة الحمل ومرحلة الرضاعة متمثلة بالتنخر والاحتقان والتغيرات التنكسية والنزف واختفاء البويضة وظهور تراكيب شبيهه بالاكياس

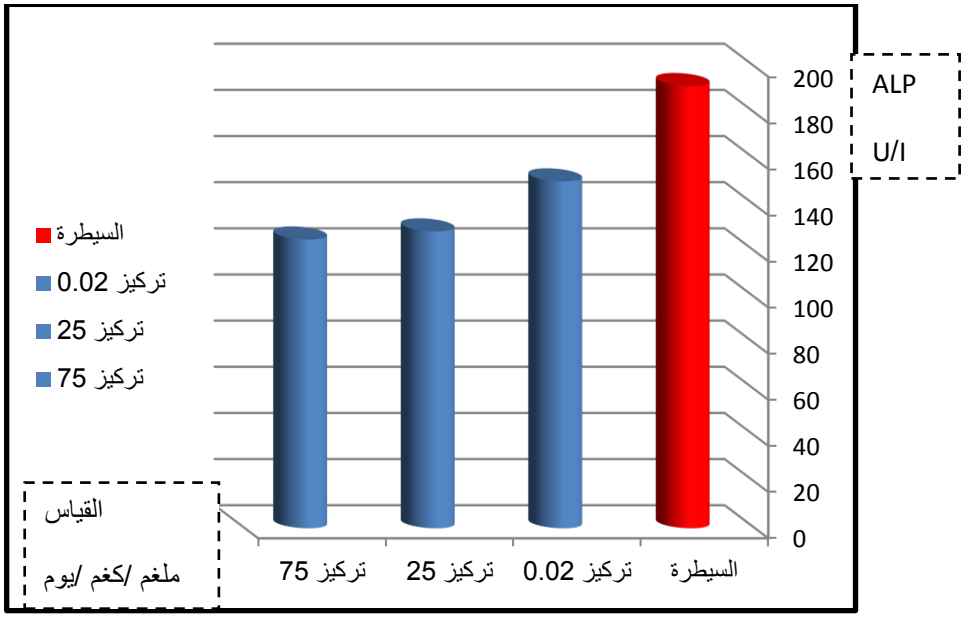
3.6. التوصيات

اعتمادا على النتائج التي توصلت اليها الدراسة الحالية يوصى بما ياتي :

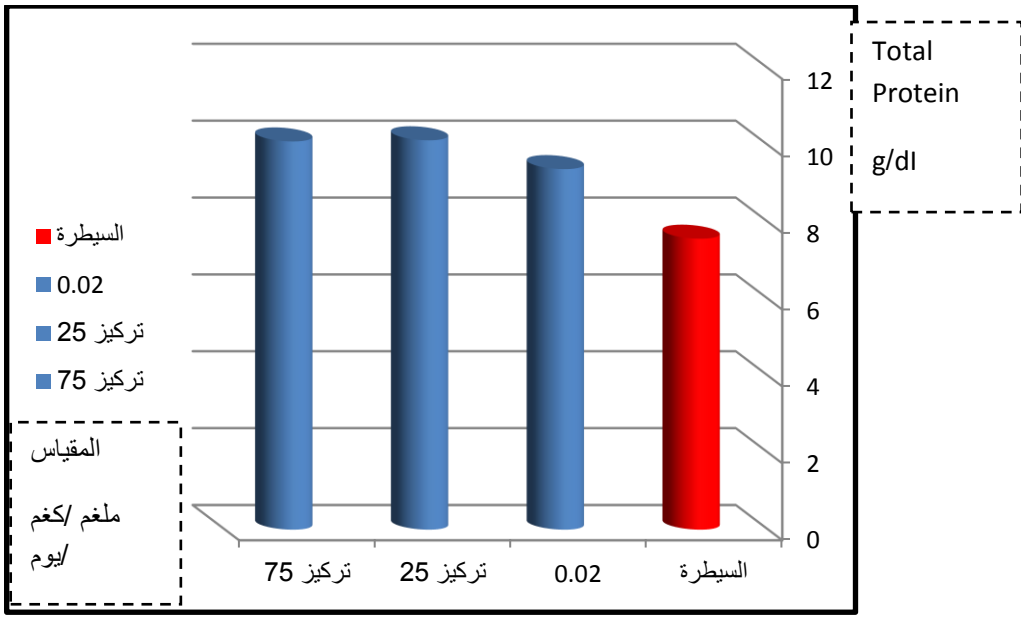
1. اجراء دراسات اخرى لتوضيح العلاقة بين التعرض للبرمثرين والاضطرابات المتعلقة بالغدد الصم مثل تعدد الاكياس المبيضية.
2. اجراء دراسات اخرى تتعلق بتأثير هذه المبيدات على انظمة مضادات الاكسدة ككل.
3. اجراء دراسات جزيئية تتعلق بتأثير انواع المبيدات على بعض الجينات المتعلقة بمراحل التكاثر الجنيني.
4. اجراء دراسات اخرى اكثر توسعا لتقييم التأثير السرطاني للبرمثرين من خلال متابعة تأثر بعض الجينات والدالات الورمية.

5. تجنب تعرض الاناث الحوامل للبرمثرين وذلك لان المرحلة الجنينية هي مرحلة حرجة من ناحية تطور الجهاز التكاثري والعصبي.
6. دعم التعليم البيئي الصحي على مستوى المجتمع من خلال اجراء عدد من الابحاث والدراسات تتعلق بتأثيرات هذه الفصيلة من المبيدات.

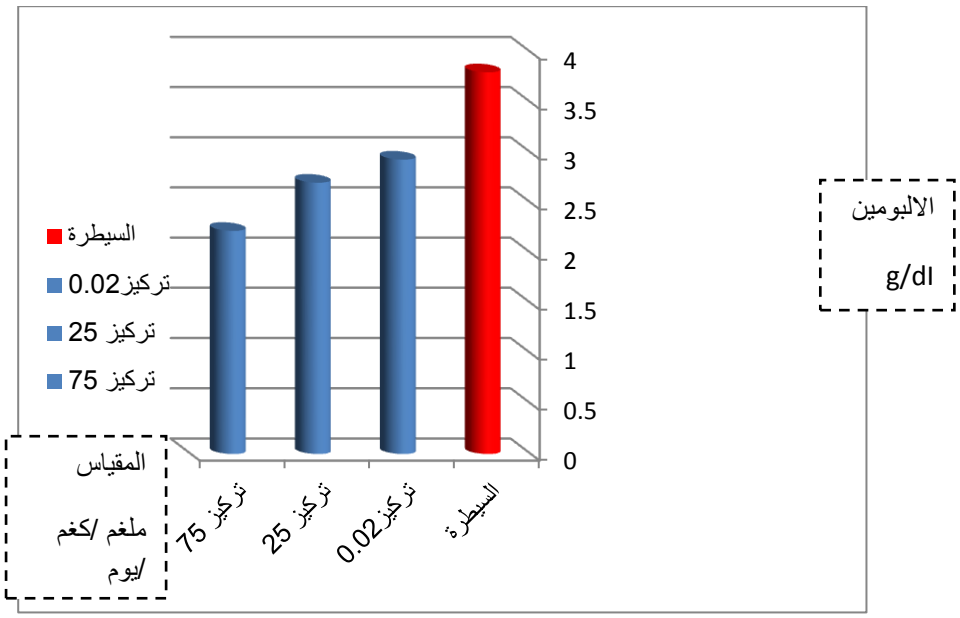
الملاحـــــــــق



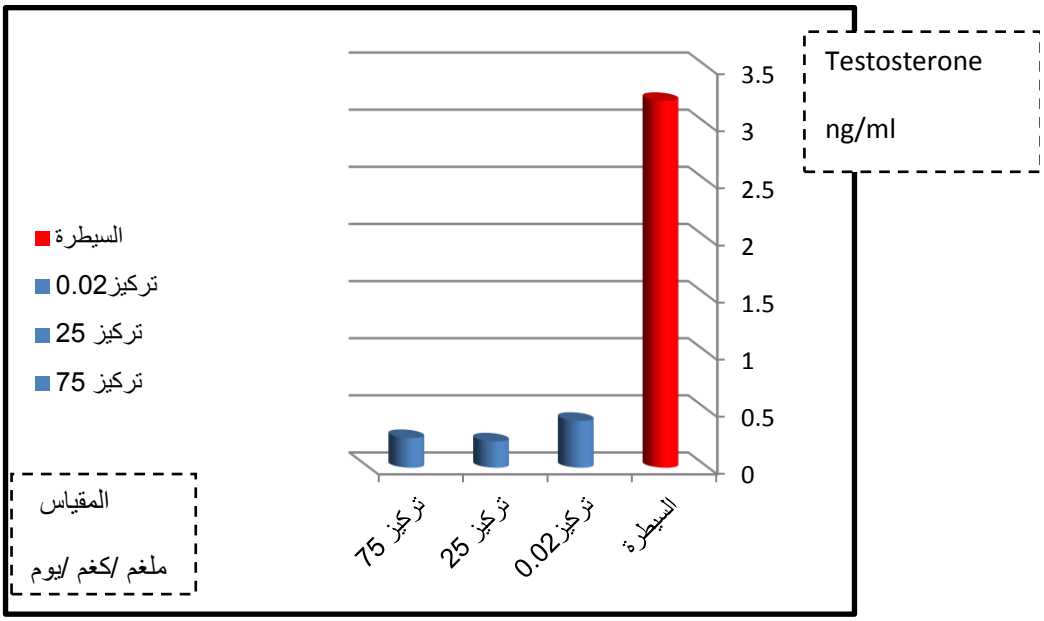
شكل (4-1) تاثير البرمثرين على معدل فعالية الفوسفاتيز القاعدي في اناث الجرذان البالغة بمرحلة الحمل



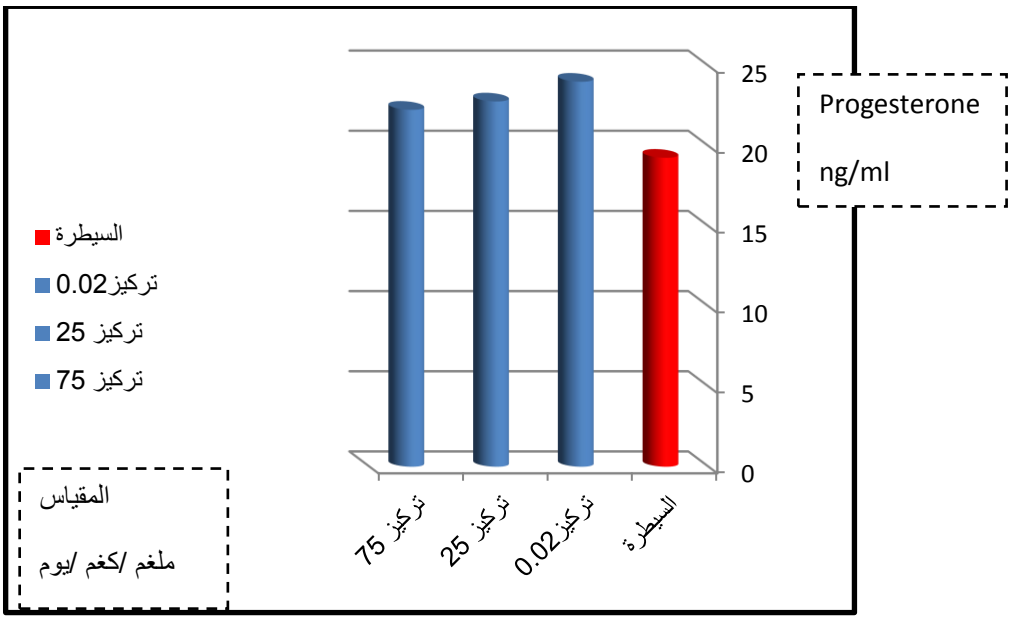
شكل (4-2) تاثير البرمثرين على معدل فعالية البروتين الكلي في اناث الجرذان البالغة بمرحلة الحمل



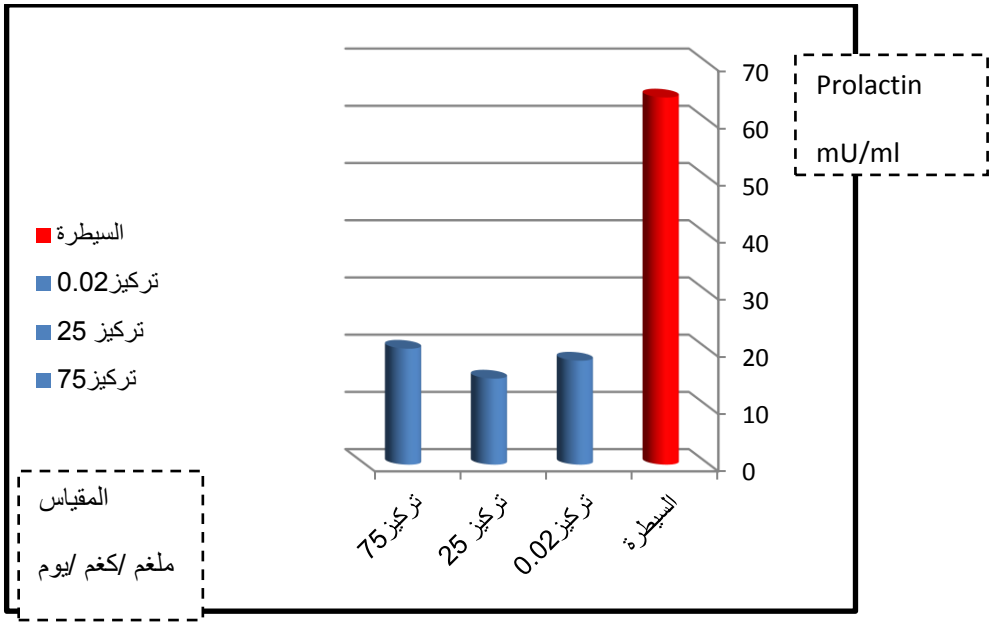
شكل (4-3) تاثير البرمثرين على معدل فعالية الالبومين في اناث الجرذان البالغة بمرحلة الحمل



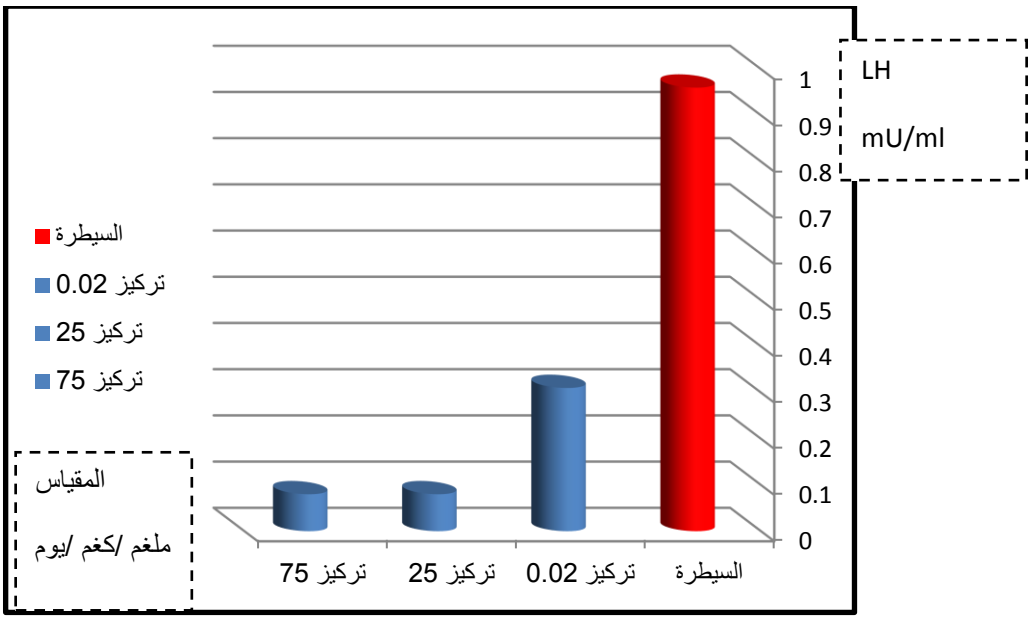
شكل (4-4) تاثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون التستوستيرون في انث الجرذان البالغة خلال مرحلة الحمل



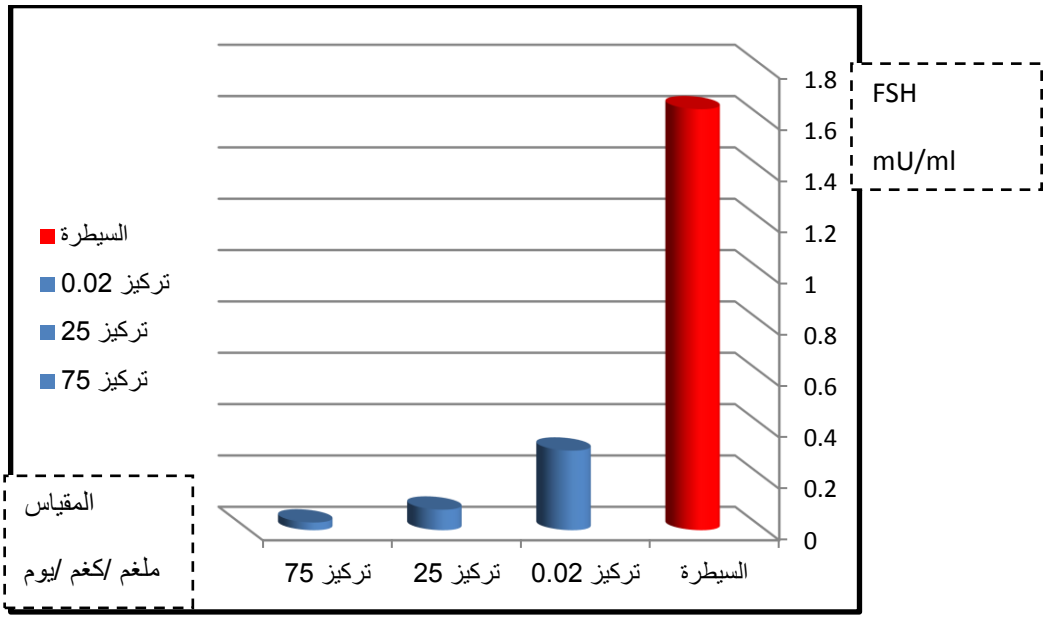
شكل (4-5) تاثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون البروجستيرون في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الحمل



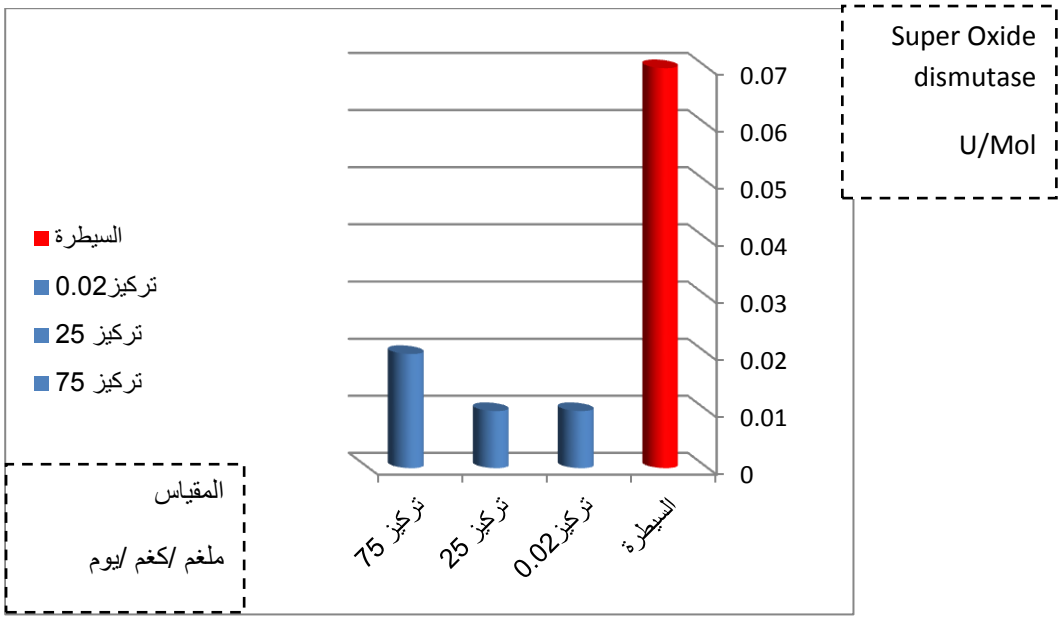
شكل (4-6) تاثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون الرضاعة في اناث الجرذان البالغة خلال مر حلة الحمل



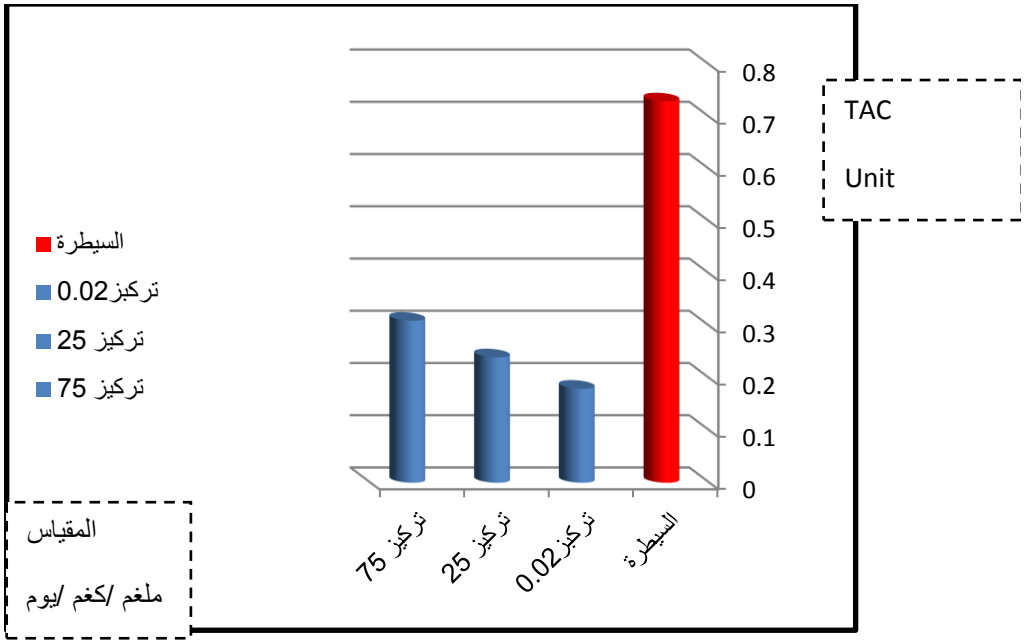
شكل (4-7) تاثير البرمثرين على معدل تركيز الهرمون اللوتيني في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الحمل



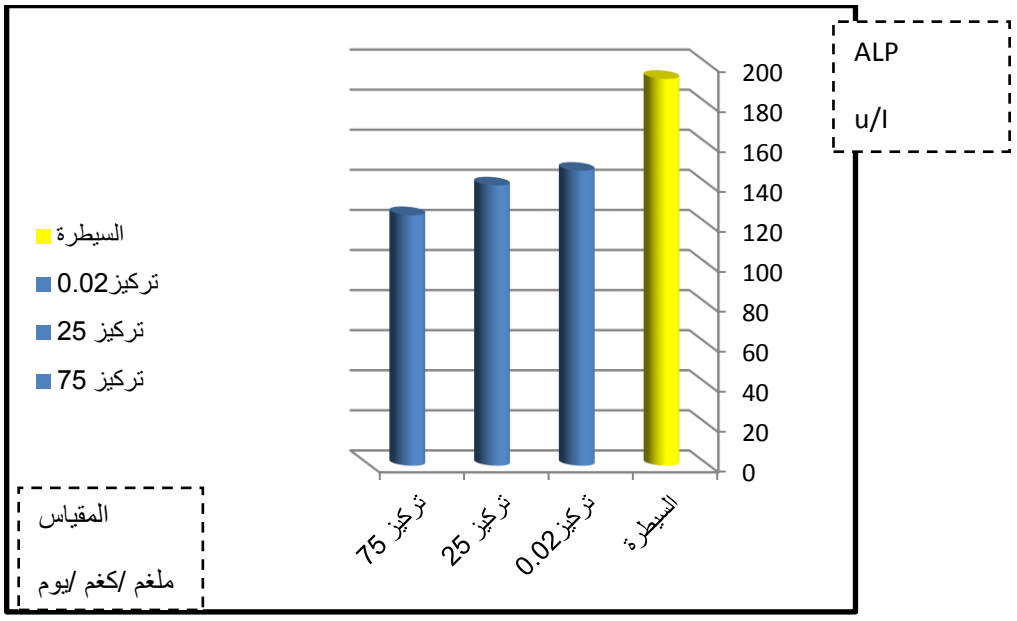
شكل(4-8) تاثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون المحفز للجريبات في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الحمل



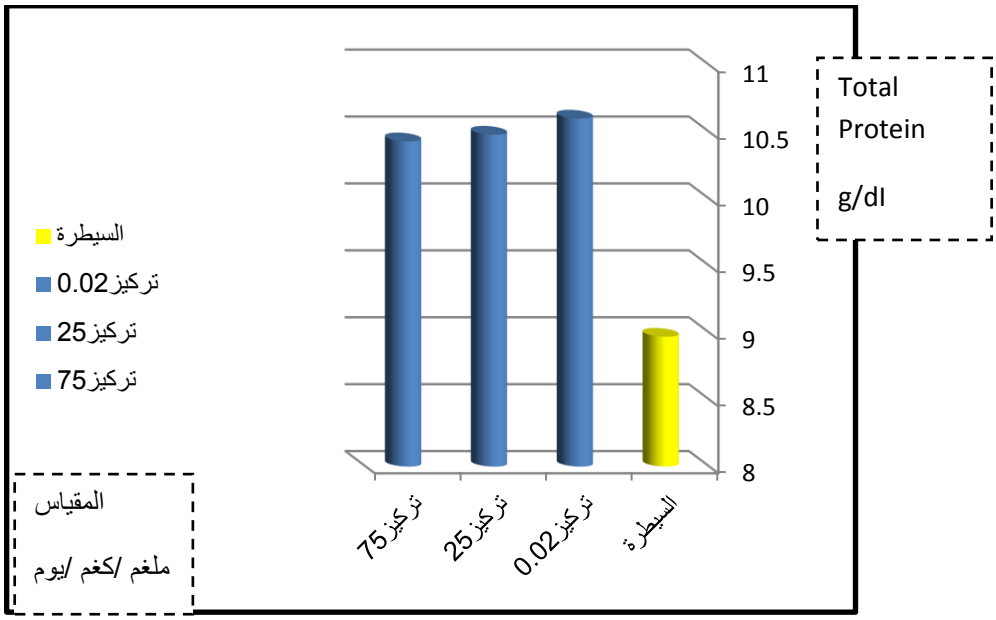
شكل (4-9) تاثير البرمثرين على معدل السوبر اوكسيد الدسموتيز في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الحمل



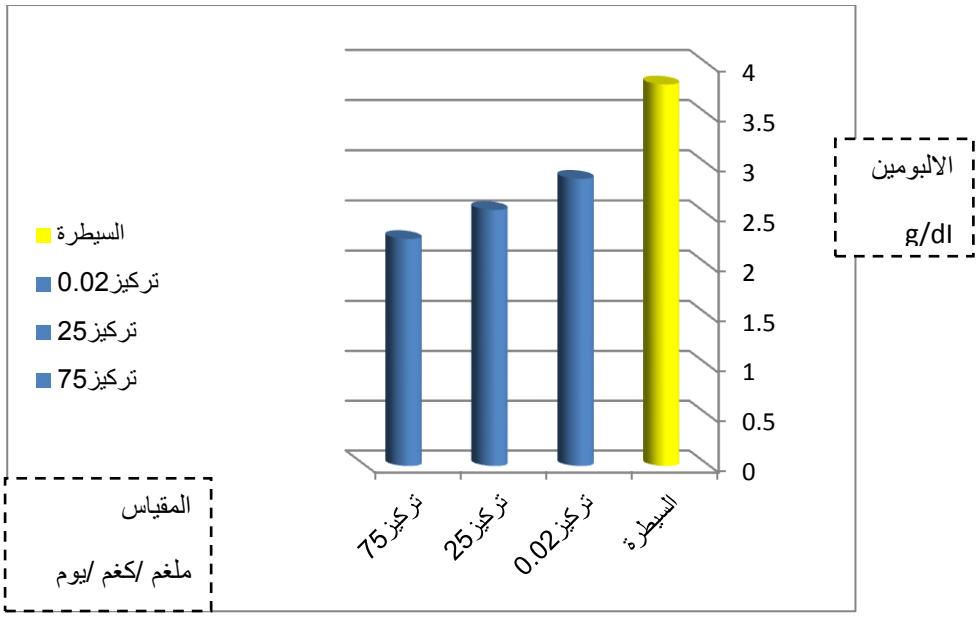
شكل (4-10) تاثير البرمثرين على معدل مضاد الاكسدة الكلي في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الحمل



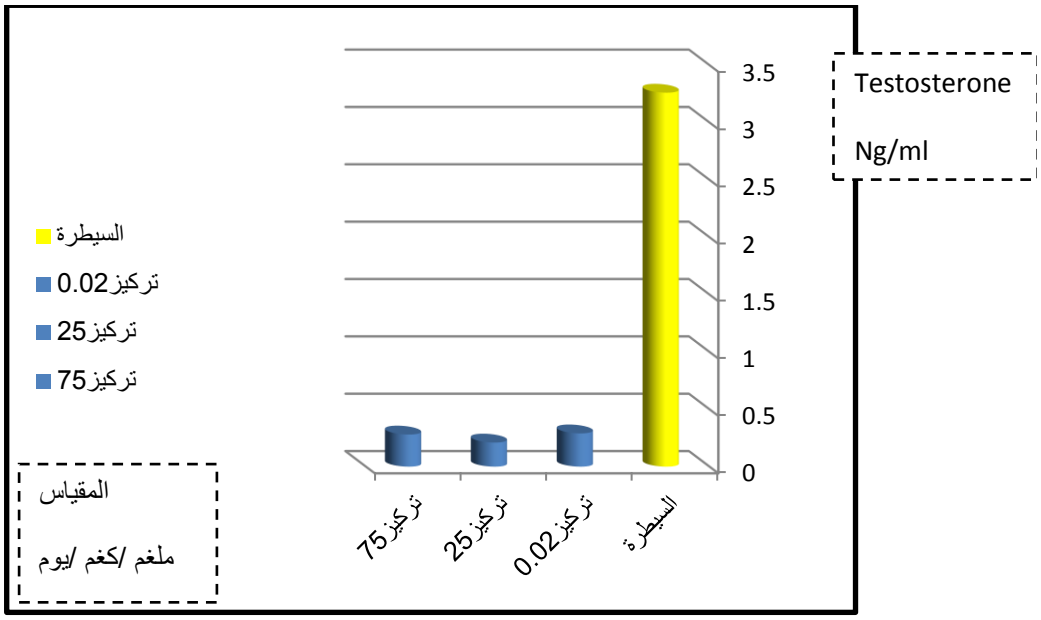
شكل (4-11) تاثير البرمثرين على معدل فعالية الفوسفاتيز القاعدي في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة



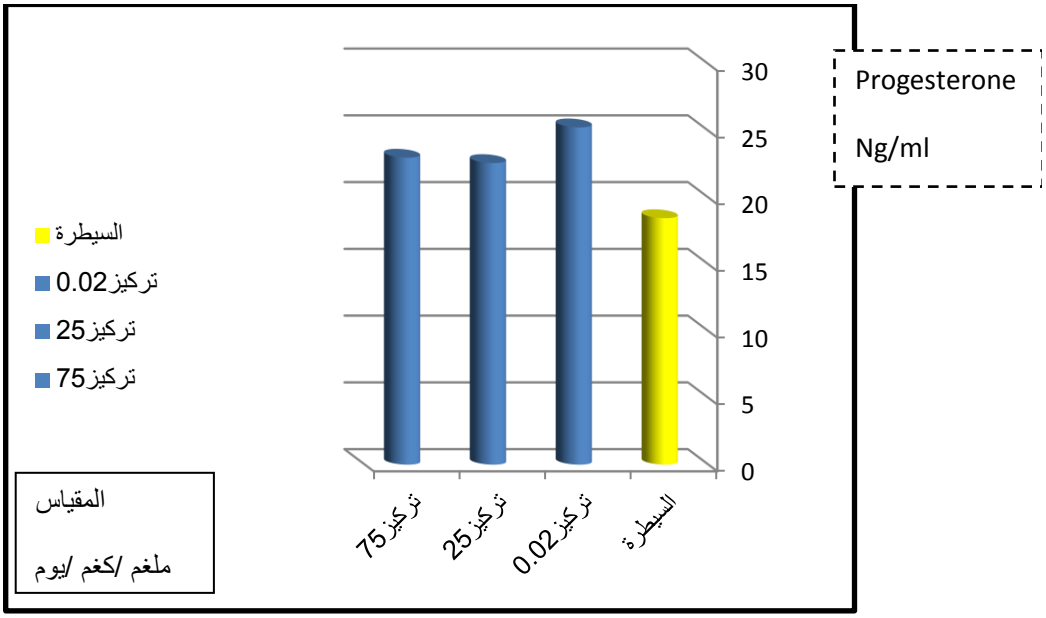
شكل (4-12) تاثير البرمثرين على معدل البروتين الكلي في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة



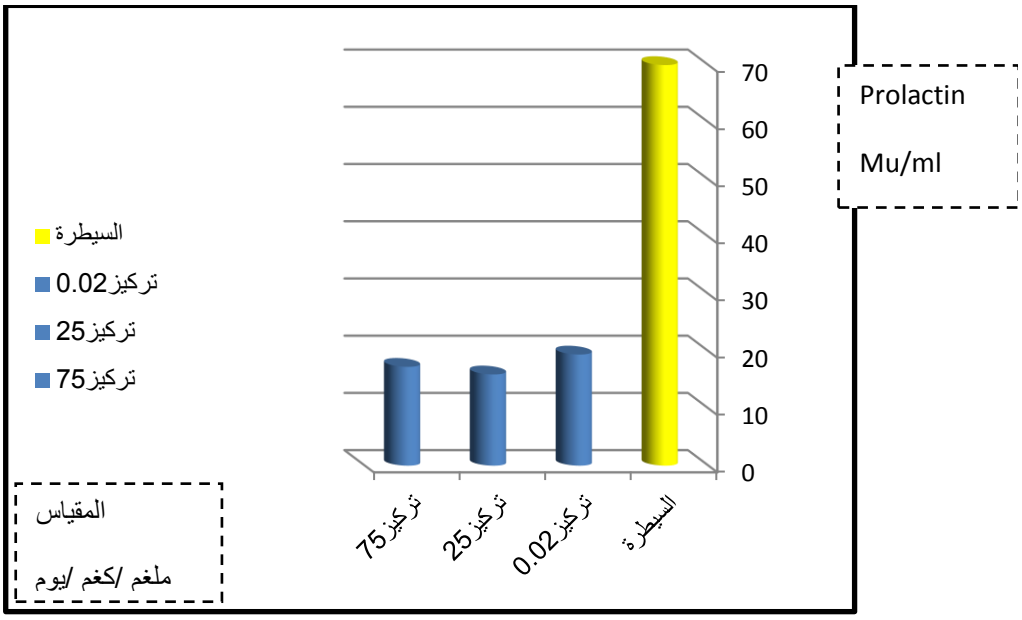
شكل (4-13) تاثير البرمثرين على معدل فعالية الالبومين في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة



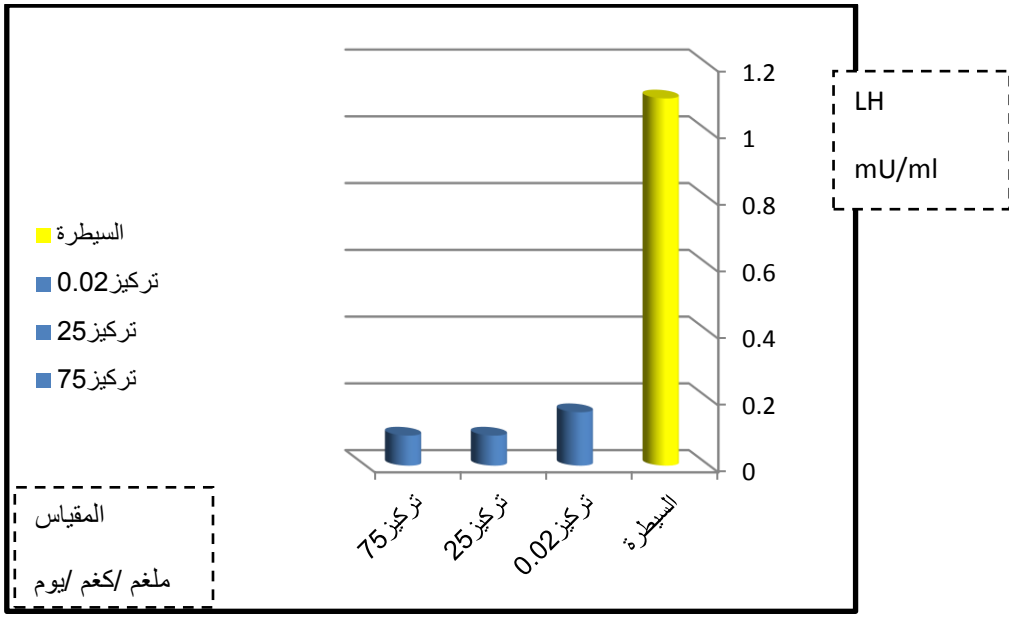
شكل (4-14) تاثير البرمثرين على معدل تركيز التستوستيرون في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة



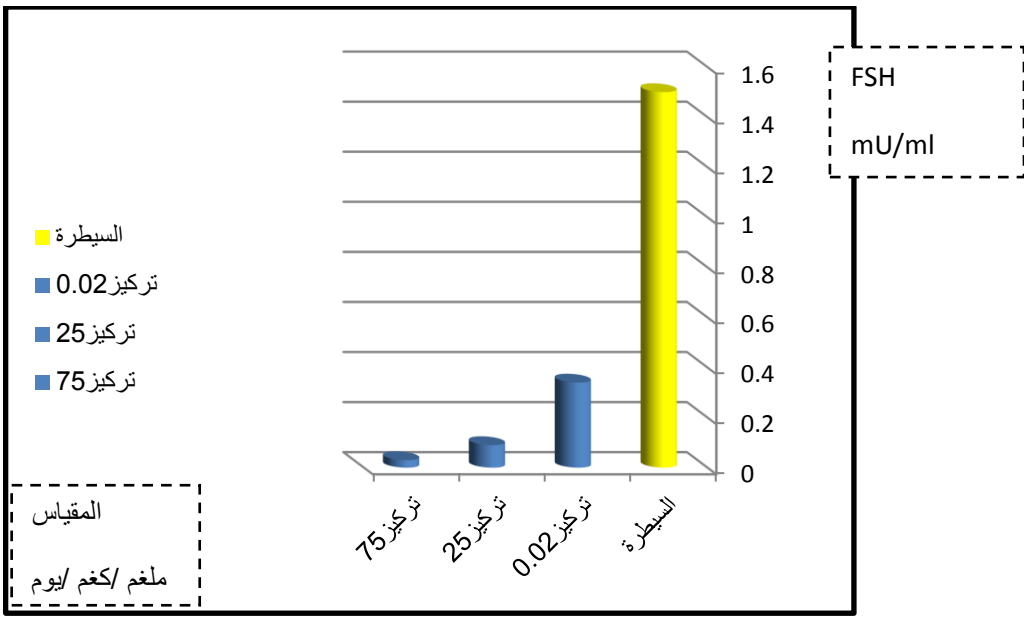
شكل (4-15) تاثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون البروجستيرون في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة



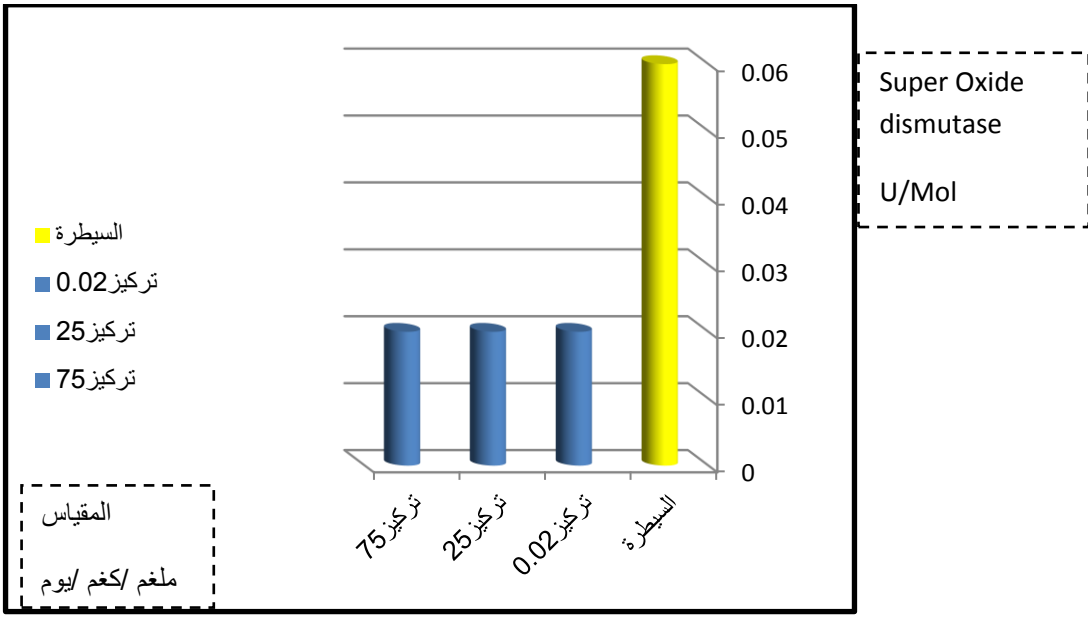
شكل (4-16) تاثير البرمثرين على معدل تركيز هرمون الرضاعة في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة



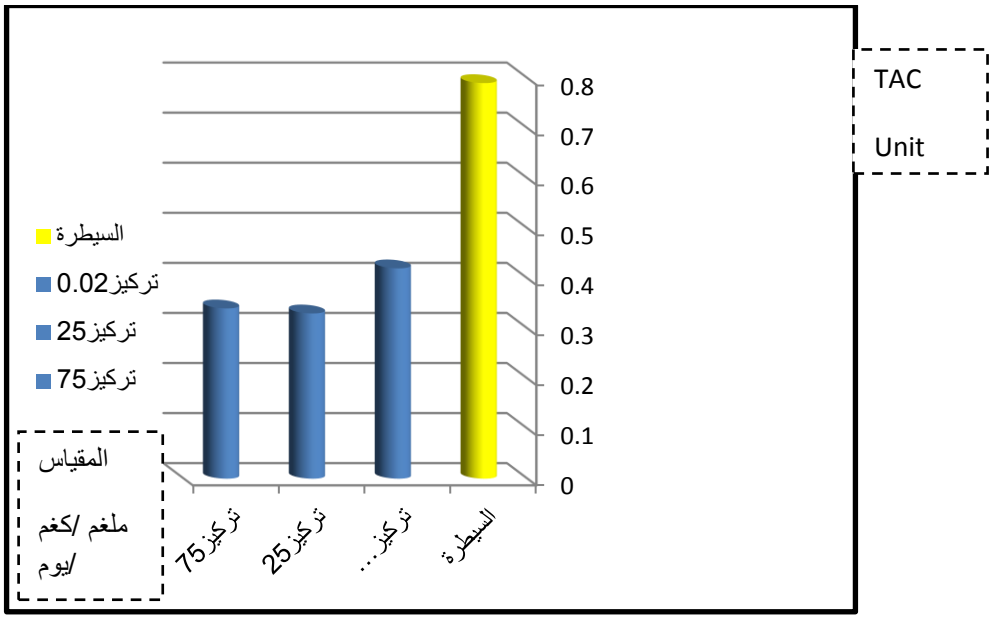
شكل (4-17) تاثير البرمثرين على معدل تركيز الهرمون اللوتيني في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة



شكل (4-18) تاثير البرمثرين على معدل تركيز الهرمون المحفز للجريبات في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة



شكل (4-19) تاثير البرمثرين على معدل فعالية السوبر اوكساید الدسموتيز في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة



شكل (4-20) تاثير البرمثرين على معدل مضاد الاكسدة الكلي في اناث الجرذان البالغة خلال مرحلة الرضاعة

الفصل السابع

المصادر

References

Afaf, L. ; Nessiem, N. and Salwa, A. (2003): Comparative Histopathological Evaluation of Permethrin, Pirimiphos Methyl and Bendiocarb Toxicities in Testes, Liver and kidney of Rat. J. Med., 11(3) : 58 –73.

Ahamed ,S.; Tawfig ,E. and Yassn , M. (2009): Pregnancy in uterus didelphys with abortion through anterior vaginal wall. J. Medica., 1(151):113-117.

Andersen, H. ; Cook, S. and Waldbillig, D. (2002): Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity and aromatase activity in vitro. Toxicol. Appl. Pharmacol., 179 : 1-12.

Anunciacian , L. ; Anibal , G. ; Alejandro , R . and Ana , E. (2003) : Permethrin modifies the ultradian secretory pattern of prolactin and affects its TRH response . Med . SCi.Monit., 9(5) : 124-137.

Anwar, K. (2004): Effect of single sublethal dose of permethrin on the development of liver in chick embryo. J. Zool. , 36(1) : 59-68.

Anwar, N. (2003): Toxicological effect of single treatment of permethrin injected into the eggson 0 day of incubation on the liver of newly hatched chick.J. Biol. Sci. ,3(7): 660-673.

Aqel, W. and Mohamed, B. (2011): (N,N-Diethyl-m-Toluamide) alone and in combination with permethrin increased urinary excretion of 6B-Hydroxycortisol in rats, a marker of hepatic cyP3A induction . J. Toxico. Environ. ,23(3) : 313-384.

Asahi, J. ; Kamo, H. ; Baba, R. ; Doi, Y. ; Yamashita, A. and Hirano, T. (2010): Permethrin induced endoplasmic reticulum stress associated apoptosis in mouse non-parenchymal hepatocytes life.J. Sci. , 87(6) : 431-438.

Bakker, J. ; Honda, S. ; Harada, N. and Balthazart, J. (2003): The aromatase knockout mouse provides new evidence that estrogens are required for the development of the female brain, Ann. N.Y. Acad Sci. , 17 : 251- 262.

Barcelone, R. ; Fanelli, O. and Campana, A.(1977): Teratological study in rat and rabbit. Toxicol. , 2 : 87-94.

Barondeau ,D. ; Kassman, C. ; Bruns, K. ; Taine, T. and Getzo, E. (2004): Nickel superoxide dismutase structure and mechanism.J. Biochem., 43(25) : 8038-8047.

Baulieu, E. and Schumacher, M.(2000):Progesterone as neuroactive with special reference to the effect of progesterone on myelination.J. Streoi. ,65(10-11): 605-612.

Bell, E. ; Hertz, I. and Beaumont, J. (2001): A case-control study of pesticides and fetal death due to congenital anomalies. J. Epidemio. , 12(2) : 148-156.

Benzie, I. (2003): Evolution of dietary antioxidants.J. Biochem. Physio. , 136(1) : 113-126.

Berk, P. ; Korenblat , K.(2011) : Approach Tp The Patient With jaundice or abnormal liver tests.J. Cecil Medic. , 24(3):221-229.

Baradberry, S. M. ; Cage, S. A. ; Proudfoot, A. T. and Vale, J. A. (2005): Poisoning due to Pyrethroids. Toxicol. Rev., 24 (2): 93-106.

Bradley, A. ; Susan, K. and Dorothy, S. (2013): Endocrine Glands and types of hormones. J. Endocrin. 190(3) : 555-570.

Bradraouie, R. ; Abdelmoula, N. ; Feki, N ; Ben, H. and Rebai, T. (2010): Endocrine disruptors and ovarian morphometric response in rats following exposure to permethrin. Gen. Endocri. ,166 : 268-272.

Braz, J.(2005): Effect of sub lethal concentrations of permethrin on ovary activation in the predator suppution cincticeps (Heteroptera: peutaomidae). J. Biol., 65: 1147-1157.

Brown , M.S. and Godstein ,(1983): Ann Rev. Biochem., 25,223 cited by Al-Zamely et al., 2011. 18(3) : 399-406.

Carbone, M.;Tatone, S. ; Dell, M. ;Marci, D. ; Caserta, R. ; Colona, R. and Amicurell, F. (2003): Antioxidant enzymatic defences in human follicular fluid. Cgaracterization and age dependent changes. Mol. Hum. Reprod. , 9(11): 639-643.

Chatterjee, S. ; Lardinois, O.; Bhattacharjee,S. ; Tucker, j. and Deterding, L.(2011): Oxidative stress induce protein and DNA radical formation in follicular dendritic cells of the germinal center and modulates its cell death patterns in late spsis.J. Biolo. Medi. , 50(8):988-999.

Cocco, P. (2002): On the rumors about the silent spring, Review of the scientific evidence linking occupational and environmental pesticides exposures to endocrine disruption health effects. Cad. Saude Publica. 18: 379-402.

Couse , J.F. and Korach , K. S.(1999) : Estrogen receptor null mice : what have we learned and where will they lead us ? J. Endocr. Rev ., 20:358-417.

Crain, A. ;Janseen, S. ; Edwards, T.; Heindel, J.; Hant, P.; Juul, A.; Maclachlan, J.; Swan, S. and Waker, C.(2008): Female reproductive disorders: the roles of endocrine disrupting compounds and developmental timing.J. Fertil. Steril. ,90:911-940.

Craven , A. ; Nixon , A. ; Ashby , M. ; Ormandy , C .; Blazek , K . ; Wilkins , R . and Pearson , A . (2006) : Prolactin delays hair regrowth in mice . J . Endocrinol., 191 (2) : 415-425.

Crow,J.A. ; Boraz, J. ; Potter, P.and Ross, M. (2007): Hydrolysis of pyrethroids by human and rat tissues: examination of intestinal, liver and serum carboxylesterase. Toxicol. Pharmacol., 221:1-12.

Deutsch, V. and Tomer, A.(2006): Megakarocyte development and platlet production. Bri. J. Heam.,134(5): 55- 46.

Diamanti, E.;Kandarakis, J. ; Bourgnignon, L.; Glindice, R.; Hauser, G. ;Prins, A. and Soto, R. (2009): Endocrine –disrupting chemicals: an Society scientific statement . Endocor. Rev., 30(4):293-342.

Du, H. and Taylor, H.S.(2004): Molecular regulation of mukkerian development by HOX genes. Ann.NY.Acad.Sci. ,1034:152-165.

Dungan , H. and Cliflon , D. (2006) : Minire view :Kisspeptin neurons as central processors in the regulation of gonadotropin- releasing hormone secretion . Endocrin. , 147(3) :1154-1158.

Farrugia , A. (2010) : Albumin usage in clinical medicine : tradition or therapeutic .Med. Rev., 24(1) :53-63.

FAO.(1999) : Pesticide Residues in Food, Toxicological Evaluations;Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization: Rome., 23:290-296.

Frank, Z.(2009): Production ,clearance and measurement of steroid hormones. Glob.Libr. womens med., 22: 1756-2228.

Fuortes, L.(2000): Urticaria due to airborne permethrin exposure. Vet.Hum.Toxicol. 41(2):92-93.

Geoffrey , M. (2007) :Ovulatory cycle effects on tip earnings by lap dancers :e conomic evidence for human estrus.Evolut.,28:375-391.

Giles, D. (2008): Sex hormones and sexual desire. J. Social. behavior. ,38(1): 45-66.

Grajeda, P.; Ramirez, M. and Gonzalez, E.(2004): Vitamin C protects against in vitro cytoxicity of cypermethrin in rat hepatocytes. Toxicol., 18: 9-13.

Grattan ,D.; Jasoni ,C.; Liu, X. and Anderson , G.(2007) :Prolactin regulation of gonadotropin-releasing hormone neurons to suppress Luteinizing hormone secretion in mice. Endocrin., 148(9) :4344-4351.

Hai –Feng , W.; Tarhan , N.; Aydemir, E.; Bing , G.(2011) : Super Oxide Dismutase and Malondialdehyde content ,activities in chickens infected with avian in fections bronchitis virus . J.Biotechn. ,10:9213-9217.

Halliwell, B.(2012): Free radicals and antioxidants.Nutrition, Revi., 70(5):257-265.

Hanke, W. and Jure, J.(2004): The risk of adverse reproductive and developmental disorders due to occupational pesticide exposure: an overview of current epidemiological evidence. Int. J. Occup. Med. Environ. Health , 17: 223-243.

Hanoune , J. and Defer , N. (2001): Regulation and role of adrenylel cyclase isoforms. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 41(4): 145-174.

Harman, D.(2009);Orgin and evolution of free radical theory of aging :abrief personal history. Biogero.,10 (6):773-781.

Hennemann, G. ;Docter, R. ; friesema, E.; Jong, M.; Krenning, E. and Visser, T.(2001): Plasma membrane transport of thyroid hormones and its role in thyroid hormone metabolism and bioavailabitily . J. Endocrin .,22(4): 451-476.

Hetwer, H.(2000): Histological investigation on liver and kidney of rat after intoxication with organoohosphatase. J.Histochem., 52(2):239-252.

Heudorf, U. and Anger, J. (2001): Metabolites of pyrethroid insecticides in urine specimens :current exposure in an urban population Germany .Environ Health , 109(3): 213-217.

Heyland, A.; Hodin,J. and Reitzel, A.(2005): Hormone signaling in evolution and development: A non-model system approach. Bio Essays., 27:64-75.

Holt, E. and Zieve, D. (2008): Testosterone. Med. Encyclo. , 117: 123-130.

Husan, T. and basak, T.(2011): Olive (olea europaea L,) leaf extract counteracts genotoxicity and oxidative stress of permethrin in human lymphocytes. Enviro. ,44:66-74.

Husan, T. and Elanur , A. (2012) : The effects of taurine on permethrin induced cytogentic and oxidative damage in cultured human lymphocytes. J. Toxicol., 63(3): 27-34.

Imamura, L .(2002): Neonatal exposure of newborn mice to pyrethroid (permethrin) represses activity-dependent c-fos mRNA expression in cerebellum. Arch.Toxicol. 76(7):392-397.

Issam,C.; Samir, H.;Zohra, H.; Monia, Z. and Hassen, B.(2009): Toxic response to permethrin low doses of gonads, sex hormonesytes and lipoperoxidation in male rats following substances treatment . Toxico. Sci., 34(6): 663-670.

Jafferson, W.; Newbold, R.; Padilla, E. and Pepling , M.(2012): Neonatal genistein treatment alters ovarian differentioation in the mouse, inhabition of oocyte nest breakdown and increased oocyte survival. Biol.Repr. ,74:161-168.

Jian, C. ; Hal, Y.; Jun, H.; Lin,S.; Qian, B.;Hang,X. and Xin, W.(2005): effects of permethrin on steroidogenesis in cultured rat granulose cells. Biomed. Environ. ,18:108-116.

Jiang , X. ; Dias , J. and Hex , C.(2013):Structural biology of glycoprotein hormones and their receptors, Insights to signaling. Endocrin. , 382(1) : 424-251.

Jiang , X. ;Liu, H. ; Chen ,X. and Sriaman, V.(2012) :Structure of Follicle –stimulating hormone in complex with the entire ectodmain of its receptors. Proc. Acad.Sci., 109(31) : 1241-1256 .

Junquera, P.(2014):permethrin :safety summary for veterinary.Environ.,18: 2-8.

Karen, D. ; Li,W.; Harp, P.; Gillette, J. and Bloomquist, J.(2001): Striatal dopaminergic pathways as atarget for the insecticides permethrin and chlorpyifos. Neurotoxi. ,22:7-81.

Kaur, S. and Phanju, C. (2004): Enzymatic changes induced by some organophosphorous pesticides in female rat. Ind.J. Exp. Bio. , 42, 1017-1019.

Khanh, D.(2000): Determination of induced effect in agama against permethrin and neem fraction and their effect on protenic and enzymatic pattern. Med. J., 34:23-100.

Khawaja,A.; Syed, S. and Shakoor, A.(2004): Effect of single sublethal dose of permethrin on the development of liver inchick embryo. J. Zool., 36(1):58-66.

Kim , E.; Wyckoff , h. (1999) : Reaction mechanism of alkaline phosphatase based on crystal structures, Twomental Ion catalysis . J. Mol . Biol. 218(2) :449-464.

Kim, I. Y.; Han, S. Y.; Kang, T. S.; Lee, B. M.; Choi, K. S.; Moohn, H. J.; Kim, T. S.; Kang, I. H.; Kwack, S. J.; Moon, A.; Ahn, M. Y.and Kim, H. S. (2005) :Pyrethroid Insecticides, Fenvalerate and Permethrin, Inhibit Progesterone-induced Alkaline Phosphatase Activity in T47D Human Breast Cancer Cells. J. Toxicol. Environ. Health , 68, 2175-2786.

Koike,K.; Aono,T.; Miyalce, A.; chatani, F. and Kurachi, K.(2000): Effect of pituitary on the LH-RH concentration in the medial basal hypothalam and hypophysis portal blood , Brain, Res.,31:253-258.

Kostka, G.; Palut, D.;Kopec, J. and Ludwicki, J.(2000): Early hepatic changes in rats induced by permethrin in comparison with DDT. Toxicol., 142(2): 135-143.

Kou, J. and Bloomquist , J. (2007): Neurotoxicity in maurine striatal dopaminergic pathways following long –term application of low doses of permethrin and MPI-P. J. Toxicol., 171(3): 154-161.

Lafuente , A. ; Marquez , N. ; Esquifino , A. and Pousada , Y.(2004) : Possible estrogenic and / or anti androgenic effects of Permethrin on prolactin release in male . Arch . Toxicol., 74(4-5) :270-275.

Lemaire, G.; Mnif, W.; Mauvais, P.; Balaguer, P.and Rahmani,R.(2006): Activation of alpha-and beta-estrogen receptors by persistent pesticides in reporter cell lines. Life Sci., 79: 1160-1169.

Lindesy, K.(2012): Womans Risk of reproductive disease linked to environmental Estrogen.J.Enriron., 81:79-88.

Litvinov , A. and Ariel , B. (2005) : Historical reference : giant multinuclear cells in tubercular granuloma . probl Tuberk Bolzn Legk (11): 59-61.

Loretta, C.; Ganghan, T.and John , E.(1977): Permethrin metabolism in rats. J.Agric . foodchem, 25(1):9-17.

Lyons, G.(2000): Mixedmessages:Pesticides that confuse hormones . Toxicol. Sci., 2:1-6.

Manikkam ,M.; Rebcca, T. ;Carlos, G. and Michael , K.(2013): Pesticide and insect repellen mixture (permethrin and DEET) induces epigenetic trans generational in heritance of disease and sperm epimutations.PLoS ONE 34(3): 708-719.

Manikkam, M.;Tracey, R.; Guerroro, C. and Skinner, M.(2013):Plastic derived endocrine disruptors (BPA,permethrin, DBP) induce epigenetic

transgenrational inheritance of obesty, reproductive disease and sperm epimutations. PLoS., ONE 8(1):10-13.

Markey , C.; Coombs,M.; Sonnenschin, C. and Soto, A.(2003): Mammalian development in achanging environment :exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid hormone target organs. Evol.Dev. ,5(1): 67-75.

Martin, W. and jory , O. (2001): Endocrine disruptors in bottled mineral water: Estrogenic activity in the E-screen . J.Steroid Biochem., 127 :128-135.

Marty, P.(2011): Approoach to the patient with liver disease. Biol .Reprot ., 72:1344-1351.

Massaro, L.(2004): Estrogen reglates pulmonary alveolar formation m less and regeneration in mice .J. Phsiolo.,287(6): 1154-1159.

Masutomi, M.; Shibutani,M.; takaqi, H.; Uneyama, G. and Hirose, M. (2004): Alteration of pituitary hormone –immunoreactive cell population in rat off spring after malernal dietary exposure to endocrine active chemicals. Arch.Toxicol.,78:232-240.

Matthew, D.; Anway, C. and Michael , K. (2013): Endocrine disruptor vinclozolin induced epigenetic transgenerational adult –onset disease. Acta. Pol.Pharmaceut. ,12:147-159.

Mclachlan, A.; Robertson, D. ; Pruysers, E., Ugon, A.; Matsumoto, A. ; Anawalt, B. and Meriggiola, C.(2004): Relationship between serum gonadotropins and spermatogenic suppression in men undergoing steroidal contraceptive treatment . J.clinic. Endocri. Meta., 89:142-149.

Meister, A. ; Tate, S. and Ross,L.(1973): Membrane boundamma glutamyl transperptidase in matons,the enzyme of biological membrane . Press., 107:161-175.

Mescher,A.L. (2010): Junqueira, a basic histology text and atlas.J. Sci.,12:1-5.

Mickinlay , J.; Pant , N. and Bell, N. (2008): Endocrine disrupting pesticides : implication for risk assessment .Toxicol., 34(2):168-183.

Miesameer , G. ; Maha , A. and Mohamad , S. (2011) : The Possible protective of propolis (Bee Glue) on permethrin- induced hypatotoxicty in adult albino rats. J. Med. Clin . toxicol., 5(1): 1-5.

Minelko, S. ; Margarita , C. ; Angelica , S. ; Maria , S. ; Victor , T. and Ana , R. (2008) : Hepatic effects from subacte exposure to insecticides in adult nale wister rats . Appl. Biol. Sci., 73: 875-881.

Mnif , W.; Pillion , A.; Bartegi, A. and Balsguer, P. (2011) : Effects of endocrine disruptor pesticides :Areview . International J. , 14 :2265-2303.

Mohamed, H.;Egla, H.; Syyad, A. and Sabagl, A. (1993): Effects of fevalerate and permethrin treatment on the histological picture of some organs of non- pregnant and pregnant rats and thrir newborn . J.Sci., 5:77-94.

Mohan, N.; carlos, G.and Michael ,K.(2012): Pesticides and insect repellen mixture(permethrin and DEET) induces epigenetic transgenerational inheritance of disease and sperm epimutations. J.Toxicol., 34(4):708-719.

Moon, M.; Kim, J.; Juny, I.; Koo, Y.; Ann, H.; Lee,K. and Yoon, Y.(2012): Permethrin A impair mitochondrial function in the liver at doses below the no observed advers effect level. J.Med.Sci., 27:644-652.

Muller,F.(2000): The nature and mechanism of superoxide production by the electron transport chain:Its relvance to aging. J. Sci.,23(4): 227-253.

Muthuvive, G. ; Muthuraman, P. and Srikumar, K. (2011): Individual and combined biochemical and histological effect of permethrin and cypermethrin in male albino rats. J. Bio., 33-52.

Nahed, M. ; Hassanein , M. and Roauf, H.(2003): comparative histopathological evaluation of permethrin, pirimiphos, methyl and bendiocarb toxicities intestis liver are kidney of rat. Endocrinol .,4(20): 228-240**.**

Nasuti, , C.; Gabbianeli , R.; Stetano, A.;Sozio, P. and antalamessa, F.(2003):Different effects of type 1and type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats.Toxico.,191(2-3):233-244.

Nasuti, C. ;Gobbianelli, R.;Falcioni, M.; Stefano, A.; Sozio, P. and Cantalamessa,(2007); Dopaminergic system modulation, behavior changes, and oxidative stress after neonatal administration of of pyrethroids. Toxicol. , 229(3):194-205.

National Academies , (1994): Health consequences of service during the Persian Gulf War: Initial findings and Recommendations for immediate actions.Biol., 64:127-133.

Nayeema , A. ; Mahmudal , H. ; Rehana , A. ; Naziban , N. (2008) : Serum Total Protein and Albumine Levels in Different Grades of Protein Energt Malnutrition. J.Soc.Ohysiol., 331(3) : 58-60.

Nelson, LR. And Bulun , SE. (2001) : Estrogen production and action . J.Am. Acad.Dermatol ., 45: 24-116.

Newbold, R.;Padilla,E.;Snyder,R,;Phillips, T. and Jefferson, W.(2007): Developmental exposure to endocrine disruptors and the obesity epidemic. Reprod. Toxico., 23(3):290-296.

Nilsson, E.; Larsen, G.; Manikkam, M.; Guerrero, B. and Savenkova, M.(2012): Environmentally induced epigenetic transgenerational in heritance of ovarian disease. Plos.,7:353-361.

Nishi, K.;Hang , H.;Kamita , S.; Kim, I.; Morisseau, L. and Hammock , B.(2006): Characterization of pyrethroid hydrolysis by the human liver carboxylesterase Hce-1 and Hce-2. Arch. Biochem. Biophys., 44 :115-123.

Nitin , D.;Rajinder, R.and Adil , M.(2012): Toxic effects of permethrin and fluoride on antioxidant parameters in rats .J.Indi., 43:6049-6055.

Ormond ,G. (2009):Endocrine disruptors in the work place , hair spray folate supplementation and risk of hypospadias, case –control study.Environ. Health perspective, 22:112-117.

Padma , S. and Ashok , k. (2010) : Permethrin induced biochemical alternations in the blood of albino rats . J. Biolo.Sci., 3(3) : 111-114.

Padmanabhan, V.; Sarma, H.;Savabieasfahani, M. and Veiga, A.(2011):Developmental reprogramming of reproductive and metabolic dysfunction in sheep: native steroid vs,environmental steroid receptors modulation . Int.J.Androl., 33:394-404.

Pang, L.; Weiss, M. and Poncz,M.(2005): Megakaryocyte biology and related disordes. Clin. Invest.,115(12): 3332-3338.

Pearse , A. and Reis , J. (1951):The histochemical demonstration of aspecific phosphate (5-Nucleotidase). J. Bioche. ,50(4):534-536.

Plumlee, K. H.(2004) : Clinical Veterinary Toxicology. Mosby, Inc.: St. Louis., 31: 188-190.

Poonam, S.; Amir, U.and Rembir, S.(2012): Permethrin induced reproductive toxicity in male wistar rats :protective role of tribulus terrestris. Enviro., 45:233-250.

Poongothaia, M. R.and Balikrishna ,P.(2008): Endocrine Disruption and Perspective Human Health Implications: Rev.J. Toxico., 4 :12-22.

Poovala, V.; Huang , H. and Salahudeen , A.(1999): Role of reactive oxygen metabolites in organophosphate –bidrin-induced renal tubular cytotoxicity.J.Am. Soc. Nephrol., 10(8):1746-1752.

Przyrembel, H.; Heeinrich , B.and Vieth, B.(2000): Exposition to and health effects of residues in human milk. Adv.Exp.Med.Biol.,478:307-325.

Qu, J.; Hong , X. ; Chen,J. ; Wang, Y. ;Sun, H. ; Sony, L.; Wang, S . and Wang , X. (2008): Permethrin inhibits progesterone production through cAMP- dependent signal pathway .J. Toxicol., 167(1): 31-39.

Reigart ,J.R. and Roberts , J.R.(1999) :Environmemtal Protection Agency, office of prevention ,pesticides and toxic substances ,office of pesticides programs,U.S. government printing office.Washington, DC,4: 87-88.

Regelio , R. ; Javier , M. ; Victor , A. ; Malaquias , L.; Marisela , U . ; Luisa , S. and Mariano , E. (2005) :Pesticide Exposure alters follicle-stimulating hormone levels in Mexican a gricultural works . Environ . Health, Perspect., 113 (9) :1160-1163.

Reregistration Eligibility Decision (**RED**) for Permethrin (2007) : U.S. Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substance, Office of Pesticide Programs, U.S. Government Printing Office: Washington, DC,.13:65-72

Rhodes, C.(2000): An ovey view of the role of free radicals ib biology and of the use of electron spin response in their detection .Toxicol. Huma.Environ., 328:16-32.

Ribas, F.; Cardo,F.; Sala, M.; Fulatinde, M.;Mazon,C.; Verdu, A.; Kogevinas, M.;Grimalt, J.and Sunyer. J.(2003): Beast fasting exposure to organochlocrine compounds and neurodevelopment in infants.Environ. Sci., 111:580-585.

Roma, G.; Olivera, P. ;Bechara. G. and Camargo, M. (2012): Cytotoxic effect of permethrin on mouse liver and spleen cells. Aveni. ,75(2); 229-238.

Ross, M.; Borazjani , A.;Edwards, C. and Potter, M.(2006):Hydrolytic metabolism of pyrethroids by human and other mammalian carboxylesterases. Biochem Pharmacol .,71:657-669.

Roy, J.; chakraborty, S. and chakraborty,T.(2009): Estrogen-like endocrine disrtrupting chemicals affecting puberty in humans-areview. Med .Sci.Monit.,15(6): 134-145.

Ruwanpura, S.; Mclachlan, R. and Meachem, S.(2010): Hormonal regulation of male germ cell development. J. Endocri., 205:117-131.

Sahar, A. ; Laila, M.E. and Amira S. (2011): Pyrethroid Toxic Effects on some Hormonal Profile and Biochemical Markers among Workers in Pyrethroid Insecticides Company. Life Sci., 8(1) : 33-51.

Sarkar , R.; Mohanakumar , K. and Chowdhury , M.(2000) : Effects of Insecticides on the hypothalamopituitary gonadal axis in adult male rats.J. Reprod. Fertil., 118(1) :29-38.

Sharpe, R.(2006): Pathways of endocrine disruption during male sexual differentiation and masculinisation. Best.Pract.Res.Clin. Endocrinol.Metab., 20:91-110.

Simeon , I. ; Egba , O. ; Njoku , T. ; Emmanuel , N. and Fidelia , E.(2013) :Hormonal changes Associated with insecticides exposure in Albino Rats . J Pharmaco., 5(1) :47-50.

Singh, V. and Saxena, P.(2001): Effect of Cybil (cypermethrin 25Ec) and permethrin combination on liver and serum phosphatase in wistar albino rats. J. Ecophysio. Occup. ,1: 229-234.

Skakkebeak,N.(2002): Endocrine disrupters and testicular dysgensis syndrome.horm.Res.,33: 43-57.

Solomon, G. and Schettler, T. (2000): Environment and health:6Endocrine disruption and potential human health implication. J.Sci., 163:6-47.

Steel , R. and Torrie , J. (1980) : Principles and Procedures statistics abiome trical Approach . 2nd edition . Mc. Graw –Hill Higher Education.

Stocco, D. (2001): STAR protein and the regulation of steroid hormone biosynthesis. J. Physiol., 63(3):193-213.

Sunita, R, ; John, H.; hartwig, H. and Joseph, E.(2005): The biogensis of platelets from megakaryocyte proplatelets. J. Clin. Invest., 115(12): 33-29**.**

Tarhan , L. ; Aydemir , T. (2000) : Purrification and Partial characlerisation of super oxide Dismutase from chicken Erythrocytes . J. Turk ., 25 :451-459.

Taylor, H.S.(2008): Endocrine disruptors effect developmental programming of HOX gene expression. Fertil.Steril, 89:57-58.

Tomalik, D. ; Lazar, A. ; Meins, J. ; Bastian ,B. ;Ihrig, M. ;Jetter , A. and Fuhr , U. (2005): Dermal absorption pf permethrin following topical administration . Eur. J. Pharmacol. , 61(5-6): 399-404.

Tomlin, C. D. S.(2006) : The Pesticide Manual: A World Compendium,14th ed.; British Crop Production Council. Alton., England, 32: 813-814.

Tos, S.; Haratym, A.; Latuszynska, J. ; Obuchowska, P. and Tokaryskaroda, B.(2001): Oral toxicity of permethrin and fenalerate swiss mice Ann agric. Environ.Med. ,8(2):245-254.

Toxicology, (2007): Dopaminergic system modulation ,behvirol changes and oxidative sress after neonatal administration of pyrethroids. Environ Health.,299(3):194-205.

Tsigos, R. and Chrousos , T. (2002) : Hypothalamic –Pituitary adreanal axis, neuroendocrine factors and stress . J. Psychosom., 53(4):865-871.

U.S. Enviromental Protection Agency.(2003): Toxicological Profile for Pyrethrins and Pyrethroids. 23 (2) :22-30.

U.S. Environmental Protection Agency. (2006): "Permethrin Facts (Reregistration Eligibility Decision (RED) Fact Sheet)."42 (1) :9-15.

Ullah, M.; Ahmed, N.; Ahmed, Z. and Khan, I.(2006): Toxic effect of permethrin in female rabbits. J. Vet.,26(4): 193-196.

Uzumcu, M. and Zachow, R. (2007):Deveopmental exposure to environmental endocrine disruptors: consequences within the ovary and on female reproductive function. Reprod. Toxicol. , 33:337-352**.**

Varley, H.; Gowenlock, A. and Bell, M.(1980): Practical clinical biochemistry. Biochem ., 1:222-225.

Vimala , V.(2004) : Immunotoxic and oxidative effects of endosulfun and permethrin on Murine splenocytes in vitro. J. Medic. Scienc., 14(4) :238-240.

Vogue, P. A.; Kerle, E. A. and Jenkins, J.(2008) :Extension Pesticide Properties Database. Toxicol., 43: 553-555.

Waliszewski, S.; Aguire, A.; Infanzon, R. and Siliceo, J. (2000): Carry – over of persistent organochlorine pesticides through placenta to fetus. Salud.Publica Mex., 42:384-390.

Wallen, K.(2000): Sex and context:hormone and primate sexual motivation. Horm. and Bahav., 40(2):331- 339.

Walter, F.(2003): Synthesis of thyroid hormones . Med. Physio. Elsevier., 13:42-49.

Welsoons, W.V.; Thayer , K. S.; Taylor ,J. ;Judy , B. and vom Saal , F.S. (2003) : Large effects from small exposure : I.Mechanisms for endocrine disrupting chemicals with estrogen activity .Environ . Health Perspect ., 111(8) :994- 1006.

Wermuth, C. (2003): The practice of medicinal chemistry. Academic press., 12(7)481-485.

Whitehead , S,and Nussey, S.(2001): Endocrinology : an intergratedh approac . Oxford: BIOS. ,1:342-361.

WHO.(1999) : Environmental Health Criteria 94 - Permethrin; International Programme on Chemical Safety, World Health Organization: Geneva., 31: 26-33**.**

WHO.(2006) : Guidelines for Drinking-water Quality . Health Organization .;19: 425-426.

Wielgomas, B. (2013): Variability of urinary excretion of pyrethroid metabolites in seven persons over seven consecutive days-implication for observational studies. Toxicol., 221(1):15-22.

Wissem, M.; Aziza, H.; Aicha, B.; Aghleb , B.; Olivier, T.; and Benoit, R.(2011):Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review. Int. J. Environ. Res. Public Health, 8: 2265-2303.

Wolters , K.; (2014) : Permethrin Lexicom online Retrieved , Pesticide tolerance . Environ. Regist. , 53(193) : 391-398.

Wottton, I. (1964): Micro-analysis in medical biochemistry .J. Med. Sci., 14:461-467.

Xue, K.; Lu, C. ; Chen , J. and Wang , X. (2010): Permethrin inhibits the growth of primary cultured rat preantral. J. Toxicol., 29(7): 1-3.

Yuan , C.; Wang , C. and Gao ,S.(2010) : Effects of permethrin and 3-phenoxybenzoic acid on rat sperm motility invitro evaluated with computer assisted sperm analysis.J. Toxicol., 24(2) :382-386.

Zhang , Y.; Ito, Y. and Yamanoshita, O. (2007): Permethrin may disrupt testosterone biosynthesis via mitochondrial membrane damage of leydig cells in adult male mouse. Endocri., 148: 3941-3949.

Zhang, Y.; Yuki, I.; Osamu, Y.; Yukie, Y.; Miya, K. and Kazuyoshi, T.(2008):Disrupt Testosterone biosynthesis via mitochondrial membrane damage of leydig cells in adult male mouse. Toxicol.,248:136-141.

Zhiguo, T. ; Xuejun, P.; Xiuming , Z. and Fei, W. (2013): Oxidative stress and non-enzymatic antioxidants in leave of three edible canna cultivars under drought stress. Hort. Environ. Biotechnol., 54(1): 1-8.

Zuloaga, D.; Puts, A.; Jorden, C. and Breedlove, S.(2008): The role of androgen receptors in the Masulinization of brain and behavior .what we ve learned from the testicular feminization mutation. Horm. Behave., 53(5): 613-626.

Summary

The present study was conducted at College of Veterinary Medicine / University of Karbala, that extends from 10/2/2012 till 10 /2/2013 to investigate the effect of Intra Gastric administration of permethrin insecticide during different stages of life on some biochemical parameters, the hormones related with reproductive and histological changes in different organs of female rats.

The study was divided into two experiments according to the stage of exposure applied:

Experiment one : Exposure to permethrin only during gestation , **Experiment two** : Exposure to permethrin throughout lactation peroid.

The two experiments were similar concerning with general design and studied parameters but they were different in stage of life at which exposure was performed.

In each experiment 40 rats (28 female and 12 male) were used,The females were examined daily using vaginal smear technique to ensure that they were in regular estrous cycle,the female who proved to be in estrous phase were mated with mature male rat in separate cage. After mating a vaginal smear was taken, The presence of sperms was day zero of gestation, the pregnant female albino rats were separated from the stud and divided into four main groups (7 for each group) .

The first group served as control, in which the rats were orally gavaged with distal water 0.5 ml/kg body weight of 0.001 ethanol daily for period differently lasted according to each experiment protocol, The other three treated groups, the rats were orally administered 0.02, 25, 75 mg/kg/day of Permethrin respectively for period varied according to each experiment ,

In the experiment one: the pregnant female dosed permethrin daily according to their groups from gestational day 7 of gestation till the day 21 and their offspring were reared and hold without more dosing until day 60

of age on the other hand, pregnant female of experiment two did not administered permethrin during pregnancy stage but dosage with permethrin was since delivery until day 21of age , then after the offspring were also hold to day 60 of age.

The results of experiment one (gestational exposure) and experiment two (lactational exposure) were closed to each other in effect of permethrin on most studied parameters.

The results of experiments revealed that the permethrin seems to affect liver function in which serum ALP activity was significantly decreased, total serum protein were significantly ($P<0.05$) increase in all treated groups , while albumin were decreased.

The reproductive hormone were significantly ($P< 0.05$) altered in response to exposure to permethrin by reduction of testosterone and elevation of progesterone of all treated groups. The level of prolactin, LH,FSH were significantly decreased in all treated groups. The activity levels of superoxide dismutase activity and total antioxidant capacity were significantly decreased in all treated groups.

Histopathological changes including degeneration, necrosis and congestion observed in liver, kidney and spleen, also loss ova , bleeding, structure like – cyst and sloughing observed in ovary and uterus.

In conclusion, the present study suggested that the exposure to permethrin insecticide during developmental and organogenesis stages of life causes subfertility in females and we recommended to avoiding exposure to permethrin during pregnancy and childhood.

Rrpublic of Iraq
Ministry of Higher Education & Scientific Research
University of Karbala /College of Education For Pure Sciences
Biology Department

The Histological and Biochemical Effects for Permethrin Pesticides in Embryonic and Newborne Baby Stage of Female Albinus Rat

A Thesis Submitted
to the Council of College of Education For Pure Sciences University of Karbala in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Biology/ Histology

BY

Wafaa Kadim Jassim AL-Shiblawi

M. SC. Biology- Karbala University

Supervised by

Prof. Dr. Fadhil J. Al-Tu'ma, **Prof. Dr. Abdul Ameer Ouda Ismael**

2015 **1436**