

التغيرات الدورية للخلايا المنشئة للنطف في النبيبات المنوية لخنزير غينيا

وداد عبد جواد* عبد الهادي صلال محمد**

* جامعة القادسية، كلية العلوم ** المعهد التقني- الكوفة

الخلاصة :

توجد الخلايا المنشئة للنطف في النبيبات الناقلة للمني لخنزير غينيا بمراحل تطورية مختلفة تشمل سلبيات النطف والخلايا النطفية الاولية والثانوية وارومات النطف، حيث تم التعرف على (15 خطوة) لعملية حوول النطف و(12 مرحلة) للدورة المنشئة للنطف صنفت طبقا الى الترابطات الخلوية المختلفة حيث تتميز كل مرحلة بوجود جيل او جيلين سلبيات النطف يرتبط مع جيل او جيلين من الخلايا النطفية مع جيل او جيلين من ارومات النطف وهذه المراحل المختلفة تسبب حدوث تغيرات ملحوظة في معدل القطر وارتفاع الظهارة للنبيب الناقل للمني حيث يصل اعلى ارتفاع للظهارة (59.78 ± 0.07 مايكروميتر) وأعلى معدل للقطر (215.3 ± 0.08 مايكروميتر) عند المرحلة السابعة حيث تحدث عملية التنطف بينما يصل النبيب الناقل للمني اقل ارتفاع للظهارة (49.42 ± 0.09 مايكروميتر) عند المرحلة الحادية عشر واقل معدل للقطر (195.39 ± 0.08 مايكروميتر) عند المرحلة التاسعة، حيث اظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بمستوى احتمال ($P < 0.05$) بين المراحل المختلفة للدورة المنشئة للنطف.

Cyclic events of spermatogenic cells in the seminiferous tubules of Guinea pigs

Abdul-Hadi S. Mohammed* Widad A. Jawad**

*Technical Institute in Kufa

** College of Sciences, Al-Qadissiya University

Abstract:

There are twelve stages were identified in the spermatogenic cycle in Guinea Pig, each contains one or two generations of spermatids which is connected with one or two generations of Spermatocytes and one or two generations of spermatogonia. This cycle leads into the formation of significant changes in the diameter and height of the epithelium of the seminiferous tubules which reaches its highest (59.78 ± 0.07 micrometer) and (215.3 ± 0.08 micrometer) in diameter at the seventh stage . Also the least hight of epithelium (49.42 ± 0.09 micrometer) is realized at the eleventh stage, and the least diameter (195.39 ± 0.08 micrometer) at the ninth stage. statistical analysis indicated significant differences ($p < 0.05$) between the different stages of the spermatogenic cycle.

المقدمة:

وتحت سيطرة الهرمونات التي تفرزها الغدة النخامية (1,2,3,4,5,6) Pituitary gland أما الدراسات التي تتعلق بتكوين النطف في خنزير غينيا فتكاد تكون قليلة جداً لذلك فقد هدفت الدراسة الحالية إلى تحديد ومعرفة التغيرات الدورية المستمرة للظهارة المبطنة

تناولت دراسات عديدة عملية نشأة النطف Spermatogenesis في عدد كبير من اللبائن وأثبتت معظم هذه الدراسات أن تكوين النطف عملية معقدة من الانقسام والتمايز الخلوي تنتج من خلالها النطف Sperm داخل النبيبات الناقلة للمني Seminiferous tubules في الخصية

النتائج:

لكي يتطور أي جيل من سلبيات النطف والخلايا النطفية وأرومات النطف فإنه سوف يندمج مع الأجيال الأخرى في نفس المساحة من النيبب الناقل للمني بحيث تنتظم الخلايا بشكل عشوائي مكونة ما يعرف بالترابطات الخلوية (صورة 1) ، والسلسلة الكاملة أو التعاقب لهذه الترابطات تدعى بالدورة المنشئة للنطف (8). حيث لوحظ وجود (12) مرحلة للدورة المنشئة للنطف في خنزير غينيا تم تصنيفها طبقاً إلى الترابطات الخلوية المختلفة (مخطط 1) كما صنفت عملية حوّل النطف إلى (15 خطوة) طبقاً إلى شكل النواة والجسيم الطرفي Acrosome والمراحل هي: (9).

المرحلة الأولى:

يمكن تمييز هذه المرحلة بوجود جيلين من أرومات النطف هما الجيل الجديد في الخطوة الأولى والجيل القديم في الخطوة 13 وجيل واحد من الخلايا النطفية الأولية في طور التغلظ مع سلبيات النطف من النوع A وسلبيات النطف من النوع I.

المرحلة الثانية:

تمتاز بوجود جيلين من أرومات النطف في الخطوة الثانية والخطوة 13 كما توجد الخلايا النطفية الأولية في طور التغلظ وسلبيات النطف من النوع A وسلبيات النطف من النوع I عند هذه المرحلة أيضاً.

المرحلة الثالثة:

يمكن التعرف على هذه المرحلة بوجود جيلين من أرومات النطف في الخطوة الثالثة والخطوة 14 وتبقى الخلايا النطفية الأولية في طور التغلظ مع سلبيات النطف من النوع A وسلبيات النطف من النوع I.

المرحلة الرابعة:

تمتاز بوجود جيلين من أرومات النطف في الخطوة الرابعة والخطوة 14 وتبقى الخلايا النطفية الأولية في طور التغلظ في حين تظهر سلبيات النطف من النوع B فضلاً عن وجود سلبيات النطف من النوع A.

المرحلة الخامسة:

تحتوي هذه المرحلة على جيلين من أرومات النطف في الخطوة الخامسة والخطوة 14 كما توجد الخلايا النطفية الأولية في طور التغلظ مع

للنبيبات الناقلة للمني ، فضلاً عن التعرف على المراحل المختلفة في تطور الخلايا المنشئة للنطف Spermatogenic cells بدءاً من سلبيات النطف وانتهاءً بتكوين النطف.

المواد وطرق العمل :

أجريت الدراسة على ذكور خنازير غينيا التي تم شراؤها من مركز المصول واللقاحات في أبي غريب / بغداد ، حيث أستخدم (50) حيواناً سوياً Normal وناضجاً جنسياً Mature بعمر يتراوح (70-100 يوم) ، كما يتراوح وزن الحيوان بين (500-750 غرام) . وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية ذات أبعاد (50×35×15 سنتمتر) ومزودة بغطاء حديدي مشبك ومجهزة بقناني لشرب الماء سعة (500 ملي لتر) للقنينة الواحدة ، فضلاً عن احتوائها على معلف أمامي مشبك ، في حين فرشت أرضية الأقفاص بنشارة الخشب ، تم إيواء الحيوانات في غرفة خاصة مكيّفة في البيت الحيواني التابع إلى (كلية التربية / جامعة القادسية). قتلت الحيوانات بعد تخديرها بمادة الكلوروفورم وأزيلت الخصية وتم تثبيتها بمحلول بون Bouin's solution ثم غسلت النماذج المثبتة في محلول بون بالكحول الايثيلي تركيز 70% وأجريت عليها عملية الانكاز والترويق والاسجاء ثم التقطيع بواسطة المشراح الدوار بسمك (5-6 مايكرومتر)بعدها فرشت المقاطع النسيجية على شريحة زجاجية وصبغت بصبغة هارس هيماتوكسلين -ايوسين وصبغة الحديد هيماتوكسلين-طريقة ويكرت وصبغة شيف فوق ايودي PAS ثم أجريت عملية التحميل بواسطة مادة كندا بلسم لتهيئة النماذج للفحص المجهرى والبالغ عددها (50) عينة باستخدام مجهر مركب نوع Olympus وتحت العدسة الزيتية الشينية (X₁₀₀) (Oil Immersion lense) وقد أستخدم المقياس العيني الدقيق Ocular micrometer لحساب ارتفاع الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الناقلة للمني من أربعة جوانب مع حساب أقطار النبيبات الناقلة للمني ولكل مرحلة من مراحل الدورة المنشئة للنطف (7). ثم صورت المقاطع النسيجية وتم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) .

النطفية الأولية من طور التغلظ الطويل إلى طور جديد هو طور التضاعف ، بينما يبقى الجيل الجديد لهذه الخلايا في الطور الأزواجي . كما توجد سليفات النطف من النوع A .

المرحلة الثانية عشر :

تمتاز هذه المرحلة بوجود أرومات النطف عند الخطوة 12 بينما يتحول الجيل القديم للخلايا النطفية الأولية من طور التضاعف إلى الطور الحركي الذي سرعان ما ينقسم لينتج الخلايا النطفية الثانوية ، ويصل الجيل الجديد إلى طور التغلظ مع وجود سليفات النطف من النوع A .

وتنتهي المرحلة 12 من الدورة المنشئة للنطف بانقسام الخلايا النطفية الثانوية وتكوين جيل جديد من أرومات النطف عند الخطوة الأولى لتبدأ دورة جديدة للخلايا المنشئة للنطف . كما لوحظ أن عملية نشأة النطف تستغرق أربع دورات ، بينما تستغرق عملية حؤول النطف أكثر من دورة ونصف (مخطط1). وقد لوحظ ان النبيب الناقل للمني يصل أعلى ارتفاع للظاهرة (59.78 ± 0.07 مايكروميتر) وأعلى معدل للقطر (215.3 ± 0.08 مايكروميتر) عند المرحلة السابعة حيث تحدث عملية التنطف (صورة 2) بينما يصل النبيب

الناقل للمني اقل ارتفاع للظاهرة (49.42 ± 0.09 مايكروميتر) عند المرحلة الحادية عشر (صورة 3) واقل معدل للقطر (195.39 ± 0.08 مايكروميتر) عند المرحلة التاسعة (صورة 4) حيث اظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بمستوى احتمال ($P < 0.05$) في ارتفاع الظهارة ومعدل قطر النبيب الناقل للمني بين المراحل المختلفة للدورة النشئة للنطف (جدول 1) .

سليفات النطف من النوع A وسليفات النطف من النوع B .

المرحلة السادسة :

يمكن التعرف على هذه المرحلة بوجود جيلين من أرومات النطف عند الخطوة السادسة والخطوة 15 كما يظهر جيلان من الخلايا النطفية الأولية في طور التغلظ والطور قبل الخيطي المتكون حديثا والناجم من انقسام سليفات النطف من النوع B . مع وجود سليفات النطف من النوع A .

المرحلة السابعة :

تمتاز هذه المرحلة بوجود جيلين من أرومات النطف عند الخطوة السابعة والخطوة 15 .

كما يوجد جيلان من الخلايا النطفية الأولية في الطور قبل الخيطي وطور التغلظ مع سليفات النطف من النوع A .

المرحلة الثامنة :

يظهر في هذه المرحلة جيل واحد فقط من أرومات النطف عند الخطوة الثامنة وجيلان من الخلايا النطفية الأولية هما طور التغلظ القديم والطور الخيطي المتكون حديثاً . فضلاً عن وجود سليفات النطف من النوع A .

المرحلة التاسعة :

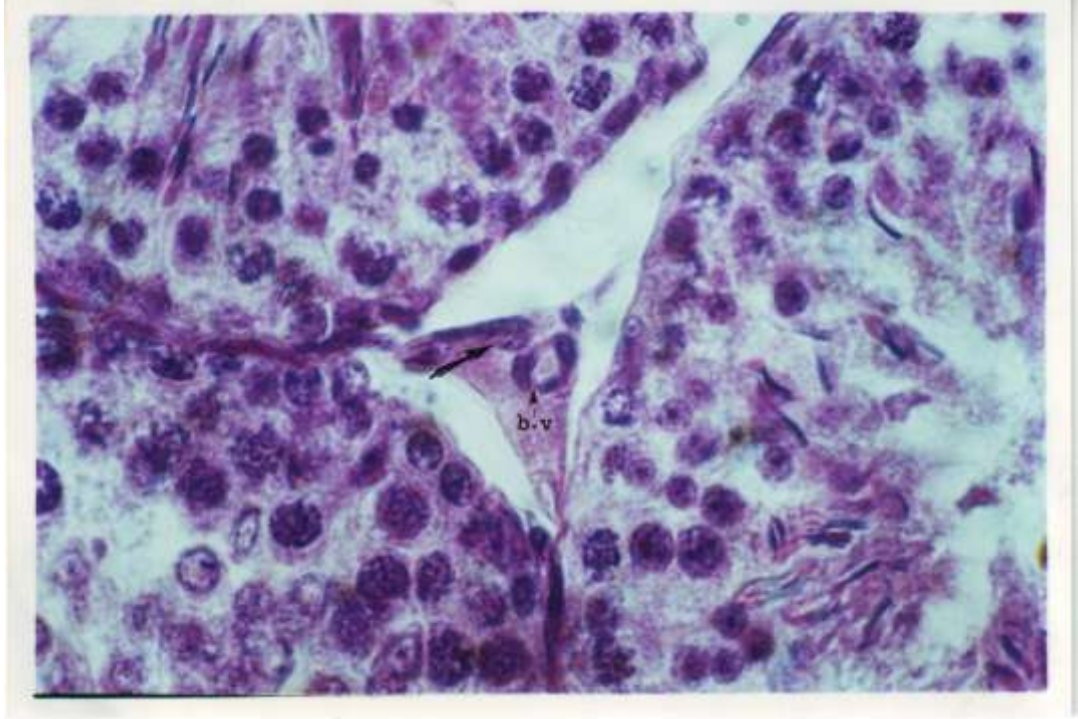
يلحظ وجود جيل واحد فقط من أرومات النطف عند الخطوة التاسعة في حين تبقى الخلايا النطفية الأولية عند طوري التغلظ القديم والخيطي الجديد، مع وجود سليفات النطف من النوع A .

المرحلة العاشرة :

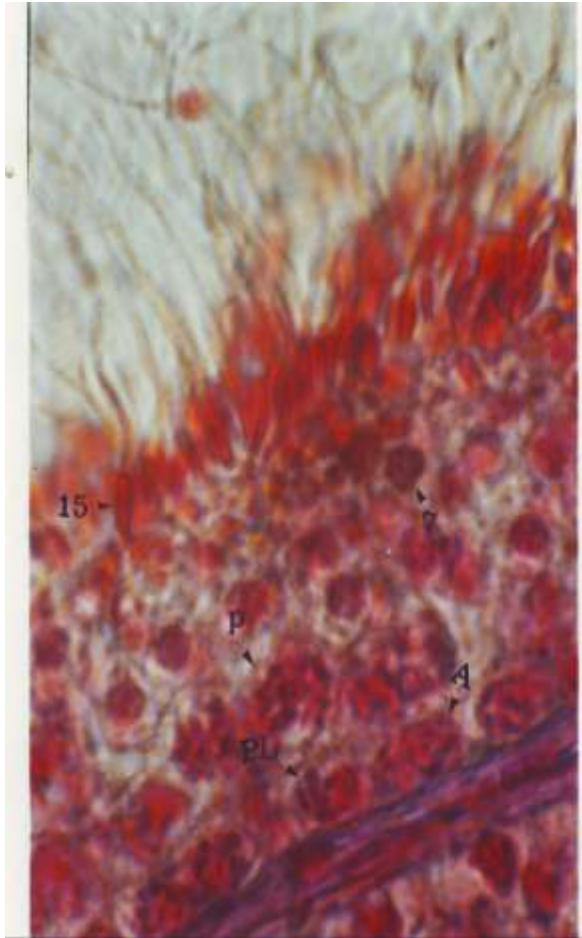
تمتاز بوجود جيل واحد من أرومات النطف في الخطوة العاشرة ، بينما يبقى الجيل القديم للخلايا النطفية الأولية في طور التغلظ ويتحول الجيل الجديد للخلايا النطفية الأولية من الطور الخيطي إلى الطور الأزواجي ، فضلاً عن وجود سليفات النطف من النوع A .

المرحلة الحادية عشر :

توجد أرومات النطف في هذه المرحلة عند الخطوة 11 بينما يتحول الجيل القديم للخلايا



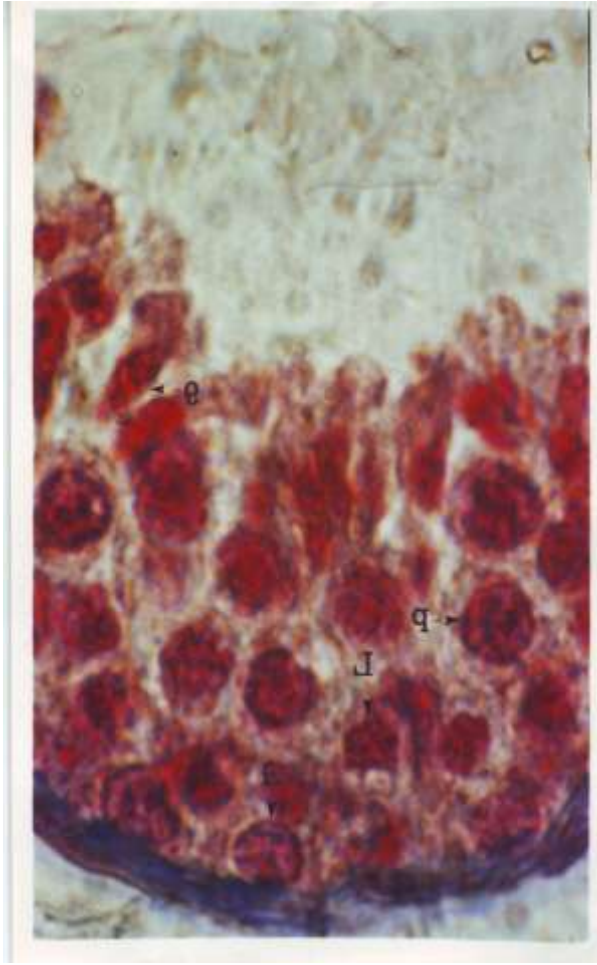
صورة (1) الترابطات الخلوية للخلايا المنشئة للنطف
ملون الحديد-هيماتوكسيلين- طريقة ويكرت $500\times$



صورة (2) المرحلة السابعة للدورة المنشئة
للنطف

A: سليفات النطف من النوع A
P.L: الخلايا النطفية الأولية في الطور قبل
الخيطي.

P: الخلايا النطفية الأولية في طور التغلظ
7: الخطوة السابعة لارومات النطف
15: الخطوة الخامسة عشر لارومات النطف
ملون الحديد-هيماتوكسيلين- طريقة ويكرت
 $1250\times$

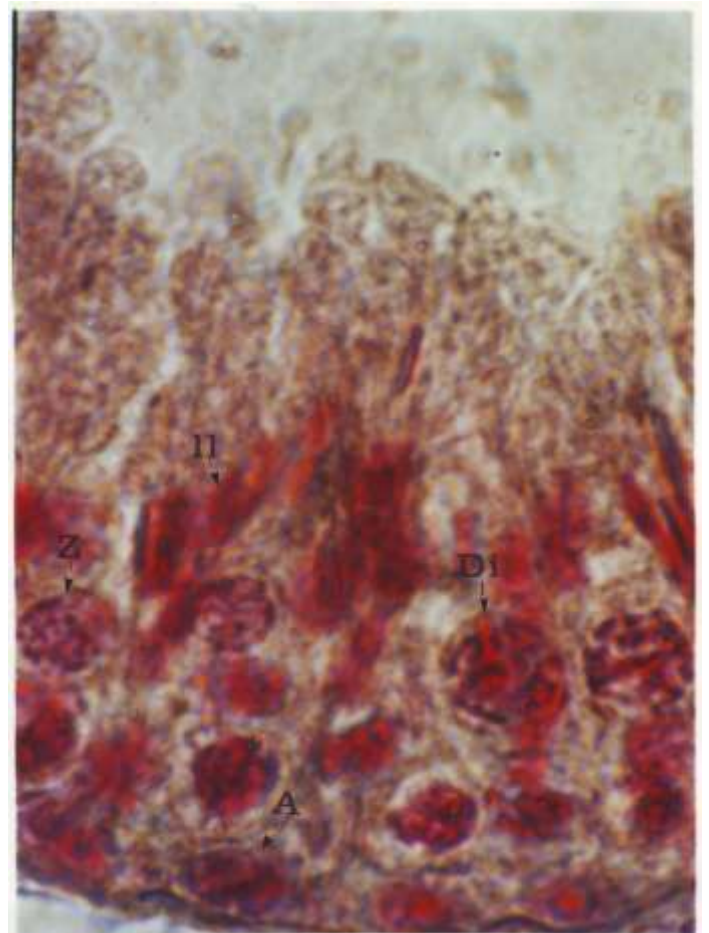


صورة(3) المرحلة التاسعة للدورة المنشئة
للنطف

A: سليفات النطف من النوع A
L: الخلايا النطفية الاولى في الطور الخيطي.
P: الخلايا النطفية الاولى في طور التغلظ
9: الخطوة التاسعة لارومات النطف
ملون الحديد-هيميا توكسلين- طريقة ويكرت
1250_x

صورة(4) المرحلة الحادية عشر للدورة المنشئة
للنطف

A: سليفات النطف من النوع A
Z: الخلايا النطفية الاولى في الطور الازدواجي
Di: الخلايا النطفية الاولى في طور التضاعف
11: الخطوة الحادية عشر لارومات النطف
ملون الحديد-هيميا توكسلين- طريقة ويكرت
1250_x



جدول (1): يمثل ارتفاع الخلايا الظهارية وأقطار النبيبات الناقلة للمني خلال المراحل المختلفة للدورة المنشئة للنطف (بالميكرومتر)

التحليل الإحصائي	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	المرحلة الرابعة	المرحلة الخامسة	المرحلة السادسة	المرحلة السابعة	المرحلة الثامنة	المرحلة التاسعة	المرحلة العاشرة	المرحلة الحادية عشر	المرحلة الثانية عشر	التفاصيل
F.test	52.63	49.42	50.26	51.78	51.46	59.78	59.20	56.64	54.32	56.01	56.32	57.27	$\bar{X}_H \pm S.E$
*	± 0.09	± 0.09	± 0.09	± 0.06	± 0.09	± 0.07	± 0.09	± 0.07	± 0.05	± 0.04	± 0.08	± 0.1	
*	205.61	201.65	199.30	195.39	204.08	215.30	209.03	206.85	211.33	213.96	213.40	212.31	$\bar{X}_D \pm S.E$
	± 0.12	± 0.16	± 0.1	± 0.08	± 0.11	± 0.08	± 0.13	± 0.11	± 0.08	± 0.12	± 0.15	± 0.16	
L.S.D _(0.05) = 0.22													
L.S.D _(0.05) = 0.34													

حجم العينة = 50

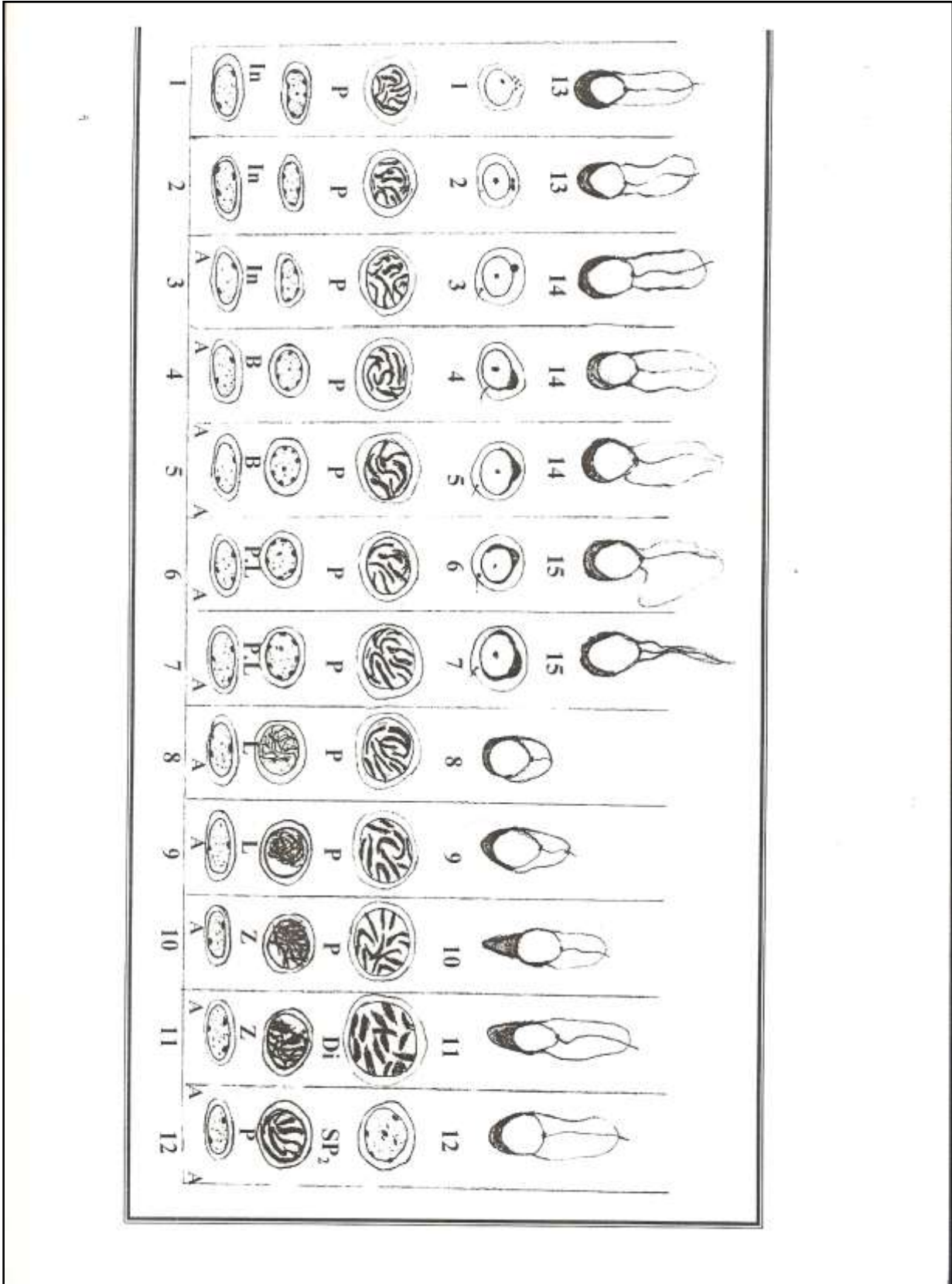
H = يمثل ارتفاع الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الناقلة للمني.

D = يمثل قطر النبيب الناقل للمني.

* = تعني وجود فرق معنوي بمستوى احتمال $P < 0.05$

$\pm S.E$ = تعني المعدل \pm الخطأ القياسي.

مخطط (1)
يوضح مراحل الدورة المنشئة للنطف



المناقشة:

2-Roosen- Runge, E.C.(1962). The process of spermatogenesis in mammals. Biol. Rev., 37:343-377.

3-Soderstrom,K.O.& Parvinen,M.(1978).Observations on living rat spermatogenic cells in different developmental stages. Acta. Anat., 100: 556-572.

4-Osman, D.I. & Ploen, L.(1986 b). Fine structure of sertoli cells in the camel (Camelus dromedarius). Anim. Reprod. Sci., 10: 37-46.

5-Osman, D.I. & ploen, L.(1986 a).Spermatogenesis in the camel(Camelus dromedarius). Anim. Reprod. Sci., 10:23-36.

6-Johnson, L.; Blanchard, T.L.; Varner, D.D. & Scrutchfield, W.L.(1997). Factors affecting spermatogenesis in the stallion. Theriogenol., 48:1199-1216.

7-Wrobel, K.H.; Reichold, J. & Schimmel, M.(1995 c). Quantitative morphology of the ovine seminiferous epithelium. Ann. Anat.,177: 19-32.

8-Clermont,Y.(1960).Cycle of the seminiferous Epithelium of the guinea pig. A method for identification of the stages. Fertility and Sterility .J,11:563-573.

9-Vacca , L. (1985) . Laboratory manual of histochemistry .1st .ed.Ravan press. New York .pp:250.

أظهرت دراسة المقاطع النسيجية وجود (12 مرحلة) للدورة المنشئة للنطف تم تصنيفها طبقاً إلى الترابطات الخلوية المختلفة في النبيبات الناقلة للمني وهذا يتفق مع نتائج الباحثين (10,8 و11) في خنزير غينيا والهامستر الصيني وحيوان الشري جنس (*Crocidura watasei*) ، بينما صنفت الدورة المنشئة للنطف إلى (14 مرحلة) في الجرذ و(8 مراحل) في الأرنب و(10 مراحل) في حيوان الابوسوم ، فضلاً عن وجود (13 مرحلة) في حيوان الشري جنس *Suncus murinus* و(6 مراحل) في الكبش (8,12,13,14,15,16) وهذا يختلف مع نتائج دراستنا الحالية.

وتتفق نتائج دراستنا بخصوص وجود تغيرات وفروق معنوية بمستوى احتمال (0.05 $P <$) في معدل القطر وارتفاع الظهارة للنبيبات الناقل للمني خلال المراحل المختلفة للدورة المنشئة للنطف مع نتائج الباحثين (17,18)، كما نتفق في نتائج دراستنا مع ما توصل إليه الباحثون (13,16) في حدوث زيادة معنوية في معدل القطر وارتفاع الظهارة للنبيبات الناقل للمني في المراحل التي تحوي جيلين من أرومات النطف ، كما يصل النبيبات الناقل للمني إلى أعلى معدل للقطر وأعلى ارتفاع للظهارة في المرحلة التي تحدث فيها عملية التنطف، بينما يلاحظ حدوث انخفاض معنوي في معدل القطر وارتفاع الظهارة للنبيبات الناقل للمني في المراحل التي تحوي جيلاً واحداً من أرومات النطف .

وقد بين الباحثون (19) أن تكاثر الخلايا المنشئة للنطف هو العامل الرئيسي المسؤول عن زيادة أقطار النبيبات الناقلة للمني ، بينما ذكر الباحث (20) أن الزيادة الحاصلة في طول وقطر النبيبات الناقل للمني تحدث بسبب زيادة فعالية خلايا سرتولي وخلايا لايدك.

المصادر:

1-Oakberg, E.F.(1956). Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium. Am. J. Anat., 99:507-516.

- 15-Kurohmaru, M.; Kobayashi, H.; Hattori, S.; Nishida, T. & Hayashi, Y. (1994). Spermatogenesis and ultrastructure of peculiar acrosomal formation in musk shrew (*Suncus murinus*). *J. Anat.*, 185:503-509.
- 16-Wrobel, K.H.; Kebler, M. & Schimmel, M. (1993). Quantitative evaluation of the tubular epithelium in the testis of the fallow deer (*Dama dama*). *Reprod. Dom. Anim.*, 28: 1-13.
- 17-Elias, H. & Hyde, D. M. (1983). *Aguide to practical stereology*. Karger verlag. New York.
- 18-Weibel, E.R. (1989). *Stereological methods*. Vol.1. Academic press.
- 19-Bercu, B.; Lee, B.; Pineda, J.C.; Spilotis, B.E.; Denmon, D.W. & Hoffman, H.T. (1983). Male sexual development in the monkey. I. cross sectional of pulstaile hypothalamic pituitary testicular function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 25:1214-1226.
- 20-Bentely, D.J. (1976). *Comparative vertebrate endocrinology*. Academic press. Newyork. London.
- 10-Oud, J. L. & DeRooij, D.G. (1977). Spermatogenesis in the Chinese hamster. *Anat. Rec.*, 187: 113-124.
- 11-Adachi, Y.; Kurohmaru, M.; Hattori, S. & Hayashi, Y. (1992). Spermatogenesis in the Watase's Shrew (*Crocidura watasei*) Alight and electron microscopic study. *EXP. Anim.*, 41(3):295-303.
- 12-Swierstra, E.E. & foote, R.H. (1963). Cytology and kinetics of spermatogenesis in the rabbit. *J. Reprod. Fertil.*, 5:309-322.
- 13-Orsi, A.M. & Ferreira, A.L. (1978). Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium of the opossum (*Didelphis azarae*). *Acta. Anat.*, 100:153-160.
- 14-Leblond, C.P. & Clermont, Y. (1952). Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 55: 548-573.