دراسة تجريبية حول تأثير المبيد الحشري كلوربايريفوس على الجرذان البيضاء
سادساً: زيادة عدد الخلايا البدنية المعوية تزامناً مع فرط الحساسية

غياث صالح محمود[1] آمال سليمان الحصادى[2]

DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v25i1.1443

الملخـــــص

تهدف هذه الدراسة لمعرفة تأثير المبيد الحشري " كلوربايريفوس –Chlorpyrifos": وهو مـــن المركبات الفسفورية العضوية على زيادة وتكاثر الخلايا البدينة Mast Cells - MC) في أمعاء الجـــرذان . واستخدم لهذا الغرض 110 جرذ ذكر؛ بحيث قسموا (إلى أربعة مجاميع :

خصصت المجموعة الأولى كمجموعة تحكم، وتم تجريع المجاميع الثانية والثالثة والرابعة بجرعـــات محددة من المبيد الحشري كلوربايريفوس كما ورد في دراستنا السابقة (الدرسي، 2005) .

لقد بينت هذه الدراسة زيادة كبيرة للخلايا البدينة (MC) في مواقعها النسيجية الثلاثة المختلفة من الأمعاء : وهي الطبقة العضلية (Muscularis) ، وتحت المخاطية (Sub mucosa)، والطبقة المخاطيـــة (Mucosa) لأمعاء الجرذان المعرضة للمبيد الحشري مقارنة بجرذان المجموعة الأولى (مجموعة التحكم) .كما أوضحت هذه الدراسة أيضاً أن العدد الغفير من الخلايا البدينة كان منتشر؛في الطبقة العضـــلية ثم يليـــه في الطبقة تحت المخاطية، أما الطبقة المخاطية فقد شهدت أقل عدد؛ من الخلايا البدينة (وخصوصاً في المجموعة الثانية من الجرذان التي استلمت جرعةيومية مكررة).كما بينـــت الفحوصـــات النســـيجية الكيماويـــة (Histochemical Examination) بأن الخلايا البدينة (MC) في الطبقة العضلية وتحت المخاطية كانـــت سليمة التركيب والشكل ، لكنها تبرغلت (degmulated) وأفرغت محتوياتها عندما هاجرت إلى الطبقـــة المخاطية وخصوصاً بين الخلايا الظهارة، وهذا يؤكد حـــدوث فـــرط الحساســـية(Hypersensitivity Reaction) لكي تعبر إلى تجويف الأمعاء .

[1] كلية الطب البيطري – جامعة عمر المختار – البيضاء .

[2] المعهد العالي للتقنية الطبية – درنة.

©. المؤلف (المؤلفون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي (CC BY-NC 4.0)

المقدمـــــة

تعتبر الخلايا البدينة (MC)من الخلايـــا الحبيبية الكبيرة الحجم، وهي منتشـــرة في معظـــم أنسجة الجسم وطبقاته المختلفة (Seyle , 1965) ، وتهاجر هذه الخلايا من الطبقة التحت مخاطيـــة إلى الطبقة المخاطية، وبالأخص الصفيحة الأساســـية (Propria Lamina) ثم تعبر إلى طبقـــة الظهـــارة المخاطية استنادا إلى الاستجابة المناعية، وبالأخص عند تعرض الجسم لعوامل مرضية مختلفـــة، منـــها الإصابة بالديدان إلحيطية (Mahmoud, 1979).

وكذلك عند تعرض أمعاء الجـــرذان إلى الاشعاع (Kent , 1996) وفي حـــالات نقـــص المغذيســـيوم في الجـــرذان (Cantin and 1992 , Veillux) .

وفي دراسة سابقة قام بها الباحث محمود (2007) حول تأثير المبيد الحشري كلوربايريفوس على الجرذان لوحظ ازيادة في عدد الخلايا البدينة – (MC) في الأمعاء وهجرتها من الطبقـــة التحـــت مخاطية إلى الطبقة المخاطية، وبالأخص (الظهـــارة المخاطية) وأدى تحولها إلى الخلايا الكروية البيضاء (Globule leukocytes) .

وبالنظر للسمية الحادة التي يتصف بهـــا المبيد الحشري كلوربايريفوس وتأثيراته المتعددة على أنسجة وخلايا الجرذان وخصوصاً كريات الـــدم ابيضاء والحمر (الدرسي، 2005) . فقـــد رأينـــا ضرورة إجراء التجارب لمعرفة تأثير هذا المبيد على زيادة عدد الخلايـــا البدينـــة في جـــدار الامعـــاء ومقارنتها مع امعاء الجرذان السليمة مـــع دراســـة حالات فرط الحماسية الناجمة عن التعـــرض لهـــذا المبيد .

المواد وطرق البحث

أولا : استخدمت في هذه الدراسة 110 من الجرذان الذكور وقسمت إلى أربعة مجـــاميع : خصصت المجموعة الأولى كمجموعـــة تحكـــم ، وأعطيت المجموعة الثانية جرع يوميـــة مقـــدارها $\frac{1}{10}$ من قيمة LD50 ، أما المجمـــوعتين الثالثـــة والرابعة، فقد أعطيت لهما جرعة واحـــدة فقـــط مقدارها $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{30}$ من قيمة LD50 على التوالى، علماً بأن الجرعة نصف المميتـــة LD50 كانـــت بمقدار 81.2 ملغم/كغم من وزن الجسم (الدرسي، 2005).

ثانياً: أجريت الفحوصات النسيجية على الأمعاء الدقيقة للجرذان، حيث حفظت الأمعاء في محلول كارنوي (Carnoy's fluid) وبعد تثبيتـــها مررت وطمرت بالشـــمع، وقطعـــت في جهـــاز التقطيع النسيجي (Microtome) بسمك من 4– 6 مايكرون ؛ واســـتعملت الأصـــباغ النســـيجية

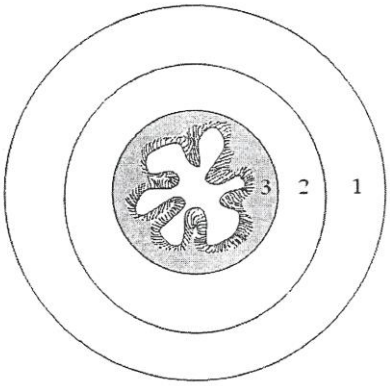
الخاصة بصبغ الخلايا البدينة استنادا إلى (2000, Culling) ، وكما ورد في دراسة محمود (2007) وكما يلي :

1 –صبغة (Periodic Acid Schiff- PAS) استنادا إلى Spicer (1960).

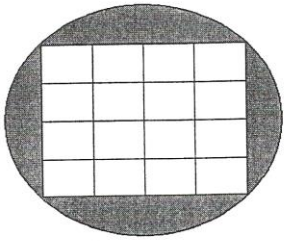
2 – صبغة (Alciau Blue pH 2-5 2–5 - AB pH) استنادا إلى Spicer (1960).

3 – صبغة (Alciau Blue pH 2-5 / Periodic Acid Schiff) ويرمز لها AB pH 2- 5/PAS استنادا إلى Spicer (1960).

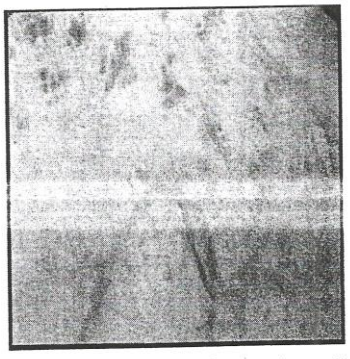
ثالثاً : أما عدد الخلايا البدينة (MC) فقد أجريت على مقاطع نسيجية من الأمعاء الدقيقة للجرذان، وتم احتساب عدد الخلايا البدينة (MC) في ثلاث مواقع من كل مقطع عرضي للأمعاء (شكل رقم 1) وهي : الطبقة العضية (Muscularis) ، وتحت المخاطية (Sub mucosa)، والطبقة المخاطية للأمعاء (Mucosa) ، وذلك باستعمال العدسة العينية الخاصة لعد واحتساب الخلايا (شكل رقم 2) ، وبتكبير ثابت قدره 400 X مرة وساحة قدرها سنتيمتراً مربعاً واحدأ (1 سم^2) من النسيج ، وحسب طريقة.(1979)Mahmoud



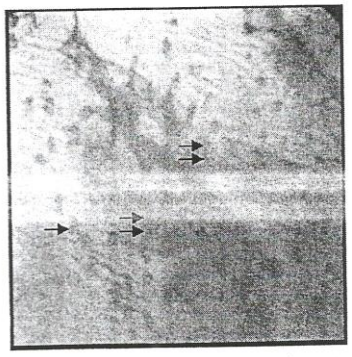
شكل رقم (1) يبين مخططاً لمقطع عرضي لأمعاء الجرذان في التجربة :
1- الطبقة العضلية 2- وتحت المخاطية 3- والطبقة المخاطية للأمعاء .



شكل رقم (2) يبين مخططاً للعدسة العينية
الخاصة بعد الخلايا البدينة في الأنسجة .



شكل رقم (3) قطاع في أمعاء جرذ من مجموعة
التحكم يوضح التركيب الطبيعي لجدار الأمعاء
400 x (AB(PH2.5 PAS)



شكل رقم (4) قطاع في أمعاء جرذ من المجموعة الثانية
يوضح الخلايا البدينة ← والكريات البيضاء ⟶
400 x (AB(PH2.5 PAS)

النتائج

عند إجراء الفحوصات المجهرية للمقاطع النسيجية المعوية في جرذان المجموعة الثانية والثالثة والرابعة ، لوحظت الخلايا البدينة بشكل واضح ومنتشرة بكثافة واسعة في أمعاء جرذان المجموعة الثانية ، التي استلمت المبيد الحشري كلوربايريفوس وبشكل يومي، لكنها كانت أقل وضوحا وانتشارا في المجموعتين الثالثة والرابعة اللتان استلمت جرعة واحدة فقط .

لقد توزعت الخلايا البدينة بشكل مكثف في الطبقة العضلية المشاء والطبقة تحت المخاطية والمخاطية لأمعاء الجرذان في المجموعة الثانية، حيث برزت الخلايا البدينة بشكلها الواضح ونواتها الجانبية وحبيباتها التي تملا السايتوبلازم، لاحظ الشكل رقم 4,3.

واصطبغت حبيبات الخلايا البدينة باللون الأحمر الأرجواني عتد استعمال صبغة PAS ، وهذا دليل على احتواء حبيباتها على المواد الكربوهيدراتية المتعادلة، لكن استعمال صبغة AB pH 2-5/ PAS أظهر تفاعلا موجباً بصبغ الحبيبات باللون الأحمر الأرجواني المزرق ، وهو دليل على احتوائها على مواد كربوهيدراتية حامضية ومتعادلة في آن واحد أيضاً (شكل رقم 4) .

إن الخلايا البدينة لم تظهر بشكلها الكثيف وتعدادها الواسع في مجموعة التحكم والمجموعتين الثالثة والرابعة، مقارنة بجرذان المجموعة الثانية (لاحظ الشكل رقم4) لذلك أجري العد الخلوي للخلايا البدينة في مجموعة التحكم والمجموعة الثانية وألغيت المجموعتين الثالثة والرابعة؛ لأنهما أقل تحسسا من جرذان المجموعة الثانية .

وعند إجراء العد الخلوي كانت النتيجة الزيادة الكبيرة في أعداد الخلايا البدينة وتبرغلها (degranulation) في أمعاء جرذان المجموعة الثانية بطبقاتها الثلاثة مقارنة مع مجموعة التحكم.

وكذلك لوحظ زيادة أعداد الخلايا البدينة في الطبقة العضلية الملساء (Muscularis) أكثر من الطبقة تحت المخاطية (Sub mucosa) وإن عدد الخلايا البدينة في الطبقة التحت مخاطية أكثر من الطبقة المخاطية (Mucosa) لنفس أمعاء الجرذان (لاحظ الجدول رقم 1 ، 2) .

وقد لوحظ من خلال الجدول الإحصائي (الرقم 3) أن أعلى قيمة لعدد الخلايا البدينة كانت في الطبقة العضلية للمجموعة الثانية من الجرذان ، مقارنة مع باقي الطبقات في مجموعة التحكم، كما أن الانحراف القياسي لعدد هذه الخلايا مرتفعاً في الطبقة العضلية الملساء للامعاء.

وعليه فإن تأثير عدد الخلايا في الطبقة العضلية للمجموعة الثانية كان تأثيراً معنوياً وعلى مستوى احتمالي $P < 0.01$ ، ثم يليه بعد ذلك في كل من الطبقة التحت مخاطية والمخاطية مقارنة مع

مجموعة التحكم، التي كان تأثير عدد الخلايا البدنية غير معنوي فيها .

وهذا يعني أن الخلايا البدينة تكاثر وتزداد في الطبقة العضلية الملساء ثم تهاجر إلى الطبقتين التحت مخاطية والمخاطية ثم تقذف إلى تجويف الأمعاء بعد تبرغلها وإفراغ محتوياتها من الأمينات المنشطة للوعاء (Vasoactive amine) ، وهو الهستامين في الجرذان.

الجدول رقم (1) يبين عدد الخلايا البدينة في المواقع المختلفة من أمعاء الجرذان في مجموعة التحكم .

رقم الحالة	الطبقة العضلية (Muscularis Layer)	الطبقة تحت المخاطية (Sub mucosa)	الطبقة المخاطية (Mucosa)
.1	4	2	صفر
.2	3	1	صفر
.3	4	2	2
.4	3	صفر	صفر
.5	2	2	صفر
.6	3	3	صفر
.7	5	2	صفر
.8	4	1	صفر
.9	2	صفر	صفر
.10	5	4	1
.11	2	2	صفر
.12	6	3	2
.13	3	2	صفر
.14	1	1	صفر
.15	3	2	صفر

جدول رقم (2) يبين عدد الخلايا البدينة (MC) في المواقع المختلفة من أمعاء الجـرذان من المجموعة الثانية التي جرعت يومياً بمقدار $\frac{1}{10}$ من قيمة LD50 .

رقم الحالة	الطبقة العضلية (Muscularis Layer)	الطبقة تحت المخاطية (Sub mucosa)	الطبقة المخاطية (Mucosa)
.1	43	32	29
.2	38	31	صفر
.3	47	28	13
.4	28	16	12
.5	31	32	9
.6	30	24	18
.7	11	17	صفر
.8	42	28	6
.9	36	33	11
.10	16	14	3
.11	22	18	2
.12	21	13	1
.13	30	30	صفر
.14	11	18	24
.15	18	26	13
.16	32	24	12
.17	23	21	11
.18	15	7	صفر
.19	17	6	3
.20	29	17	4

جدول رقم (3) يوضح التحليل الاحصائي لعدد الخلايا البدينة (MC) في أمعاء الجرذان لكل من مجموعة التحكم والمجموعة التجريبية الثانية .

الموقع	مجموعة التحكم							المجموعة التجريبية الثانية						
	عـــدد الخلايا	أقـــل قيمة	أكبر قيمة	المتوسط	الخطـــأ القياسي	الانحـــراف القياسي	المستوى المعنوي	عـــدد الخلايا	أقل قيمة	أكبر قيمة	المتوسط	الخطـــأ القياسي	الانحـــراف القياسي	المستوى المعنوي
الطبقة العضلية	50	1	6	3.33	0.347	0.345	غيـــر معنوي	540	11	47	27	2.355	11.778	معنوي
الطبقة تحت المخاطية	27	0	4	1.8	0.279	1.082	غيـــر معنوي	435	6	33	21.75	1.775	8.878	معنوي
الطبقة المخاطية	5	0	2	0.33	0.186	0.723	غيـــر معنوي	171	0	29	8.55	1.580	7.904	معنوي
المجموع	82	1	12	5.46	0.812	3.150		1146	17	109	57.3	5.710	28.560	

المناقشة

ان الخلايا البدينة (MC) من الخلايا النسيجية الواسعة الانتشار في جسم الكائن (Seyle، 1965) ، وتحتوي حبيباتها على مختلف الأمينات المنشطة للوعاء (Vasoactive amine) وحسب الفصيلة الحيوانية (Murray، 1979) ونتركز هذه الخلايا في الطبقة العضلية الملساء من معظم الأعضاء مثل المجاري الهوائية والجهاز الهضمي (Rahko ، 1980) .

ولكن تنحصر هذه الخلايا وتزداد هجرتها إلى الطبقة التحت المخاطية، ثم المخاطية (وبالأخص الطبقة الظهارية منها) ؛ لتلقي بمحتوياتها في تجويف العضو المصاب والواقع تحت تاثير ضمجي، وخصوصاً إذا كان طفيلياً أو ديدانيا(Kent,1976).

ولوحظ الزيادة في هذه الخلايا في طبقات أمعاء الجرذان المعرضة للاشعاع (Kent، 1976) ، وكذلك في حالات نقص المغنيسيوم في الجرذان (Cantin and Veillux ، 1992) حيث تهاجر هذه الخلايا بعد تكاثرها وتعبر إلى الطبقة الظهارية من مخاطية الأمعاء، حيث يتغذى تركيبها الكيمياوى، وتقذف الأمينات المنشطة للوعاء هناك وعندئذ تسمى هذه الخلايا البدينة بالكريات الدموية البيضاء(Mahmoud ،2007)

إن استعمال المبيد الحشري كلوربايريفوس في تجاربنا هذه أكد مفعول المبيد على زيادة أعداد الخلايا البدينة في أمعاء جرذان المجموعة الثانية مقارنة بمجموعة التحكم.

كما أن للمبيد الحشري تأثيرأعلى زيادة عدد الخلايا البدينة فى الطبقة العضلية الملساء ثم طبقة التحت مخاطية والمخاطية من المجموعة الثانية مقارنة في مجموعة التحكم، وهذه الدراسة تتفق نتائجها مع دراسة (Kent، 1976) حول تأثير الاشعة السينية على الخلايا البدينة في أمعاء الجرذان وكذلك مع (Cantin and Veillux ، 1992) .

إن عدم ظهور أي زيادة في عدد الخلايا البدينة لأمعاء الجرذان في المجموعة الثالثة والرابعة يعود إلى صغر الجرعة المستلمة من المبيد الحشري وعدم إحداثه لفرط الحساسية كما في جرذان المجوعة الثانية.

.

Experimental studies on the effect of chlorpyrifos on rats VI . Population o f intestinal mast Cells and hypersensitivity reaction

Ghyath Salih Mahmou[1] **Amal S. elhasade**[2]

Abstract

This study performed to investigate the effects of chlorpyrifos (Insecticides) on the population o f intestinal mast cells.

Thus a total of 110 male rats were used and divided into four groups The first group was used as a control , the median lethal dose (LD50) was determined according to Aldersy 2005, and appeared to be equal to 81.2 mg/Kg.B.W.

While the second group of rats received an oral daily doses of 1/10 LD50.

The third and fourth groups of rats were administered a single oral dose of 1/10 and 1/30 LD50 respectively.

The mast cells were recognized with their specific morphological characters in the intestinal mucosa, submucosa and muscularis ,under the influence of chlorpyrifos adminstration.

A comparative and statistical investigations revealed a marked degranulation and increase in the population of mast cells in the intestinal layers of experimental rats, compared with the rats of the controlled group**.**

[1] Faculty of Veterinary Medicine - Omar Al-Mukhtar University - Al-Bayda..

.[2] Higher Institute of Medical Technology - Derna

المراجـــــع

إبراهيم سالم الدرسي (2005) . التغيرات المرضية و النيجية الكيماوية الناتجةعن تجريع مبيد الكلوربايريفوس في الجرذان – أطروحة ماجستير – كلية العلوم– جامعة عمر المختار – البيضاء – الجماهيرية العربية الليبية ٠

غياث صالح محمود (2007) . دراسة تجريبية حول تأثير المبيد الحشري كلوربايريفوس في الجرذان البيضاء . خامساً – الخلايا البدنية والكريات الكروية البيضاء.

Cantin , M.and Veilleux ,R . (1992): Globule Leukocytes and ,Mast Cells in Rats Exposed to Magnesium Deficiency . Laboratory Investigation , 27,594 - 499.

Culling .G٠E٠A (2000) : Handbook of Histopathological Techniques , Second Edition , Butterman , London.

Kent , J.F , Baker , B.L.(1976) . Globule Leukocytes in Mice with Radiation . Proceeding Society Of Experimental Biology and Medicine . 85, 635 - 640.

Kent , J.F.(1996) . Globule Leukocytes in Gasttointestinal Tract due to Parasitic Infection . Lab . Investigation . 4:220-224.

Mahmoud , G.s .(1979) : Ovine Broncho Pulmonary Globule Leukocytes . Ph.D. Thesis . Glasg'ow University U.K Murray , M.(1979) - Ultrastructural Studies of Globule Leukocytes and Mast Cells in R a t . Lab . Investigation 19:222-228.

Rahko , T . (1980) .Globule Leukocytes and Mast Cells in the digestive tract ofi.ats : Ph . D . Thesis .Armalcs Academic Scientiatum Fennicae , A5 , 148 , 1.

Seyle , H (1965) , The Mast Cells .Butterworth Inc. Washington, U.S.A.

Spicer , s.s , (1960) . Histochemistry o f M a s t cells in rats . j. Histochem , 8 : 1 8 - 2 2 .