*دراسة كيمياء نسيجية-مناعية لكشف مواقع عامل النمو شبيه الأنسولين من النوع الأول IGF1 في أنسجة خصى ذكور الجرذان البالغة وغير البالغة

جبار عباس احمد الساعدي و حسين خضيرعبيس الميالي و آلاء محمد حسون الحسيني

أستاذ علم الغدد الصم والتكاثر،فرع الفسلجة والأدوية، كلية الطب البيطري، جامعة القادسية، العراق jbr20042002@yahoo.com

أستاذ علم فسلجة الحيوان، قسم علوم الحياة، كلية التربية، جامعة القادسية، العراق husseinal-mayali@yahoo.com

مدرس علم فسلجة الحيوان، قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة القادسية، العراق alaa.alaa1115@yahoo.com

الخلاصـــــــــة

أجريت الدراسة بهدف التحري عن التموقع المناعي لعامل النمو شبيه الأنسولين النوع الأول في أنسجة الخصى خلال مرحلتي ما قبل البلوغ وبعده في ذكور الجرذان ومساهمتها في الوظيفة التكاثرية لذكور الجرذان، تم أستخدام 40 من ذكور الجرذان من سلالة الوستر البيضاء غير الناضجة والناضجة تم تقسيمها الى خمس مجموعات متساوية العدد إذ تضمنت كل مجموعة ثمان جرذان ذكوراً بأعمار(25 و35 و45 و55 و65) يوماً، تمت التضحية بثمان ذكور من كل عمر. أُخذت نماذج الخصى لغرض أجراء الدراسة الكيميائية النسجية المناعية. بينت نتائج الدراسة الكيميائية النسيجية المناعية وجود التفاعل المناعي لعامل النمو شبيهة الأنسولين IGF1 في خلايا ليدك وخلايا سرتولي وجميع الخلايا الجنسية المكونة للنبيب المنوي ، كما اظهرت النتائج ان قوة و كثافة التفاعل المناعي لعامل النمو IGF1 يزداد عند البلوغ كما لوحظ وجوده في النطف الناضجة في تجويف النبيب المنوي عند مرحلة بعد البلوغ .

الكلمات المفتاحية IGF1 ،IHC،الخصى ،البلوغ

البحث مستل من أطروحة دكتوراه

المقدمة

تصنف عوامل النمو شبيهة الأنسولين Insulin like growth factors (IGFs) بأنها هرمونات متعددة الببتيد Polypeptides تنتمي إلى عائلة الأنسولين والتي تضم الأنسولين Insulin والريلاكسين relaxin (1). تضم عوامل النمو شبيهة الأنسولين ثلاثة أشكال وهي النوع الأول (IGF1) والنوع الثاني (IGF2) والنوع الثالث (IGF3) ، ويُعد العاملان IGF1 و IGF2 الشكلين الرئيسين لهذه الهرمونات في حين يُعد النوع الثالث IGF3 نادر الوجود. تتشابه هذه العوامل فيما بينها علاوة على تشابهها الكبير مع شكل الأنسولين فقد وجَد العالمان Rinderknecht and Humbel Rindernech عام (1978)(2) أن تسلسل الأحماض الأمينية لهذه العوامل مشابهة بنسبة 48% لهرمون الأنسولين الأولي البشري Human proinsulin hormones، وهي من أكثر العوامل المدروسة في اللبائن ويُعرف جهاز عوامل النمو شبيهة الأنسولين بجهاز الانقسام الخلويCytokine system لأنها تساهم في نمو الخلايا وتطوّرها وتمايزها فضلاً عن منع الموت المبرمج Apoptosis للخلايا(3). يتوسط IGF1 و IGF2 الفعل المحفز لهرمون النمو Growth hormone (GH)، إذ يُنتجان من الكبد تحت تأثير هرمون النمو الذي تفرزه الغدة النخامية ليرتبط بمستقبلاته في الكبد لتحفيز بناء IGF1 و IGF2 وإفرازه وعليه فان IGF1 و IGF2 يتوسطان التأثير الصمي لهرمون النمو (4).

إنَّ التأثيرات الحيوية ونقل الإشارة Signal transduction لـ IGF1 تتوسطها مستقبلات IGF1 Receptors (IGF-1R) حيث يسبب ارتباط IGF1 تنشيط الانزيم Tyrosine kinase التي بدورها تؤدي الى استجابة الخلية، وإنَّ هذه المستقبلات مشابهة تركيبياً ووظيفياً لمستقبلات الأنسولين التي تُنتج بكثرة في الأنسجة الحيوانية (5)، كما إن توزيع مستقبلات IGFs في الدماغ والنخامية والمناسل والقناة التناسلية (6) يُعزز استنتاج حقيقة أن كل مُكوِن من المحور تحت المهاد – النخامي – القندي Hypothala –pituitary – gonads axis والجهاز التكاثري هي أهداف فعالة لانبعاث الاشارة من المحور المحرض الجسم Somatotrophs axis وعليه فإنَّ تشديد عمل IGFs عند العديد من المواقع لا يُمثل فقط التأثير الصمي لـIGFs المعتمد على هرمون النمو (GH-dependent – IGFs) الذي يُنتج بصورة رئيسية من الكبد ليصل إلى أهدافه بواسطة الدم الدائر (7) كذلك فإنَّه يشتق موضعياً في الأنسجة المختلفة والاعضاء التكاثرية لانواع عّدة (8,9) ليبدي تأثيره الغدي الذاتي والغدي المجاور لوظائف أنواع الخلايا الجسمية Somatic cells والجنسية Sex cells (10). ان الإنتاج الموضعي لعوامل النمو IGFs في انسجة الخصى بواسطة خلايا ليدك وخلايا سرتولي يلعب دوراً مهماً في عملية تكوين النطف وتنظيم الوظيفة الصمية للخصية(11). كما إنَّ قابلية عمل LH على خلايا ليدك يتطلب وجود IGF1 الموضعي في أنسجة الخصى (12) حيث يعمل IGF1 على تسهيل تكاثر ونضج خلايا ليدك بالتآزر مع LH ويتقدم الاحداث التي يتوسطها LH خلال البلوغ (13) كما أنه يحور تأثير LH على انتاج التستوستيرون (14). فضلاً عن تأثير IGF1 على خلايا ليدك فهو ضروري لتنظيم العدد النهائي لخلايا سرتولي وحجم الخصيتين والنتاج اليومي للنطف ، وان العدد الكافي لخلايا سرتولي ضروري لخصوبة الذكور (15) .كما وجد أنَّ IGF1 يحفز النشاط الانقسامي Mitogenesis لخلايا سرتولي وبناء DNA لسليفات نطف الجرذان (16)

المواد وطرائق العمل

حيوانات التجربة Experimental animals

تم اختيار الجرذان البيض في هذه الدراسة بوصفها نموذجاً يمثل الحيوانات اللبونة وربيت في ظروف مختبرية مناسبة، إذ كانت درجة الحرارة ما بين 22 و 25 مئوية ومعدل 14 ساعة إضاءة الى10 ساعات ظلام طول مدة الدراسة. وغذيت الحيوانات على العليقة الغذائية المختبرية القياسية (نسبة بروتين 19% وطاقة 3000 سعرة حرارية) والماء بصورة حرة *ad Libidum*.

أُستخدِم في الدراسة 40 جرذاً ذكراً غير ناضجٍ بعمر (25) يوماً ، و بعد أسبوع واحد من التأقلم تم تخصيصها إلى خمس مجموعات متساوية العدد، إذ ضمت كل مجموعة ثماني جرذان ذكوراً وهي عند عمر25 و 35 و 45 و 55 و65 يوماً، تمت التضحية بثمانية جرذان من كل عمر بعد تخديرها بحقن مزيج من (0.3) مل كيتامين و (0.1) مل زايلازين لكل كغم من وزن الجسم في البريتون، ثم أستؤصلت خصاها لغرض أجراء الدراسة الكيميائية النسيجية المناعية (IHC) immunohistochemical.

الدراسة الكيميائية المناعية النسيجية (IHC) study Immunohistochemistry

طبقا لتعليمات شركة (Abcam,UK; www.abcam.com/technical) أعتمد لبروتكول تقنية البارافين- الكيمياء المناعية النسيجية الآتي:-الآتي:-

1- التثبيت Fixation: تم استخدام 10% فورمالين دارىء المتعادل (NBF) في الدراسة الحالية.إذ تراح وقت التثبيت ما بين (18-24). ثم طمر بلوك النسيج في البارافين بعدها قُطع بجهاز التقطيع النسيجي microtome بسمك 5 مايكرميتر وتم تثبته على الشرائح الزجاجية، بعدها حُمل على شرائح ذات شحنة موجبة ، ثم جففت الشرائح المحمولة لإزالة أي ماء ممكن أن يكون أسفل النسيج لذلك تُركت الشرائح عند درجة حرارة الغرفة طوال الليل .

2- أزالة البارافين Deparaffinization: تمت أزالة البارافين ثم غسلت الشرائح حسب توصيات الشركة المصنعة بالزايلين ثم مزيج الزايلين والكحول الأثيلي المطلق ثم في التراكيز المتنازلة للكحول الأثيلي (100، 95، 70، 50 %) ثم الماء الجاري الى حين تنفيذ خطوة استرجاع المستضد antigen retrieval.

3- استرجاع المستضد Antigen retrieval: تكمن أهمية هذه الخطوة نتيجة لتكوين الجسور المثيلية methylene bridges خلال خطوة التثبيت (وهي أواصر عرضية بروتينية) لذلك تكون مواقع المستضدات مغلفة mask. أستخدمت الطريقة الأنزيمية في استرجاع المستضد عن طريق تحطيم الجسور وكشف مواقع المستضد لكي يسمح بارتباط الأجسام المضادة بها ، ومن المهم اختبار وقت المعاملة والتركيز وذلك لمنع تحطيم الشكل الخارجي للمقطع.

4- استرجاع المستضد الأنزيمي Enzymatic antigen retrieval

هناك مجموعة من الإنزيمات في صفحة تعليمات الشركة المصنعة للجسم المضاد غير التربسين ، إلاّ أنَّه يستخدم التربسين لمدى أوسع من المستضدات والتي يتطلب استرجاعها هذا الأنزيم بعد تثبيتها بالفورمالين. وأُستخدمت طريقة السحب(الشفط) Pipetting methodلنشر محلول الأنزيم للنسيج (ويكون بسحب المحلول الأنزيمي بواسطة الماصة إلى النسيج مباشرة على الشريحة)، كما يجب أن يُراقب وقت الحضن بعناية لكل شريحة ليضمن لجميع الشرائح استلام المعاملة نفسها. بعد تحضير المحلول الأنزيمي للتربسين حضن عند درجة حرارة **37** مْ ، بعدها تم ازالة الماء الزائد من حول المقطع النسجي، ثم سُحب من المحلول الأنزيمي **(50-100)** مايكروليتر بواسطة ماصة الى الشرائح الزجاجية ونُشر بعناية حول المقطع النسجي بواسطة طرف الماصة. وضعت الشرائح في وعاء رطب وحضنت عند درجة **37** مْ. بعد مرور **10 -20** دقيقة تم نقل الشرائح من الحاضنة الى حامل في وعاء يحتوي على ماء الحنفية ثم غسلت الشرائح بالماء الجاري عليها لمدة **3** دقائق. أستمرت هذه الطريقة مع البروتوكول الخاص بالتلوين للمقاطع.

5-التصبيغ الكيميائي النسيجي المناعي (IHC) immunohistochemical staining

تم في هذه الخطوة إضافة الكواشف reagents يدوياً بوساطة ماصة ، كما أن جميع عمليات الحضن أجريت في حجرة عالية الرطوبة لمنع جفاف الأنسجة، ولإتمام هذه الخطوة، تم اتباع الآتي:

اليوم الأول: غسلت الشرائح **2** ×**5** دقيقة بـ (TBS+ 0.025 Triton- X **100**) مع الرج بهدوء بعدها تم صب blocked المصل الطبيعي **10%** مع BSA **1%** في TBS لمدة ساعتين بدرجة حرارة الغرفة ثم فرغت الشرائح لعدة ثواني (بدون غسل) وتم تنشيف ما حول المقطع بورق نسيجي. تم استخدام الجسم المضاد الأولي لعامل النمو IGF1 وبتخفيف 100/1 في TBS مع **1%** من BSA (Bovine serum albomin). ثم حضنت طوال الليل عند درجة حرارة **(4)** مْ .

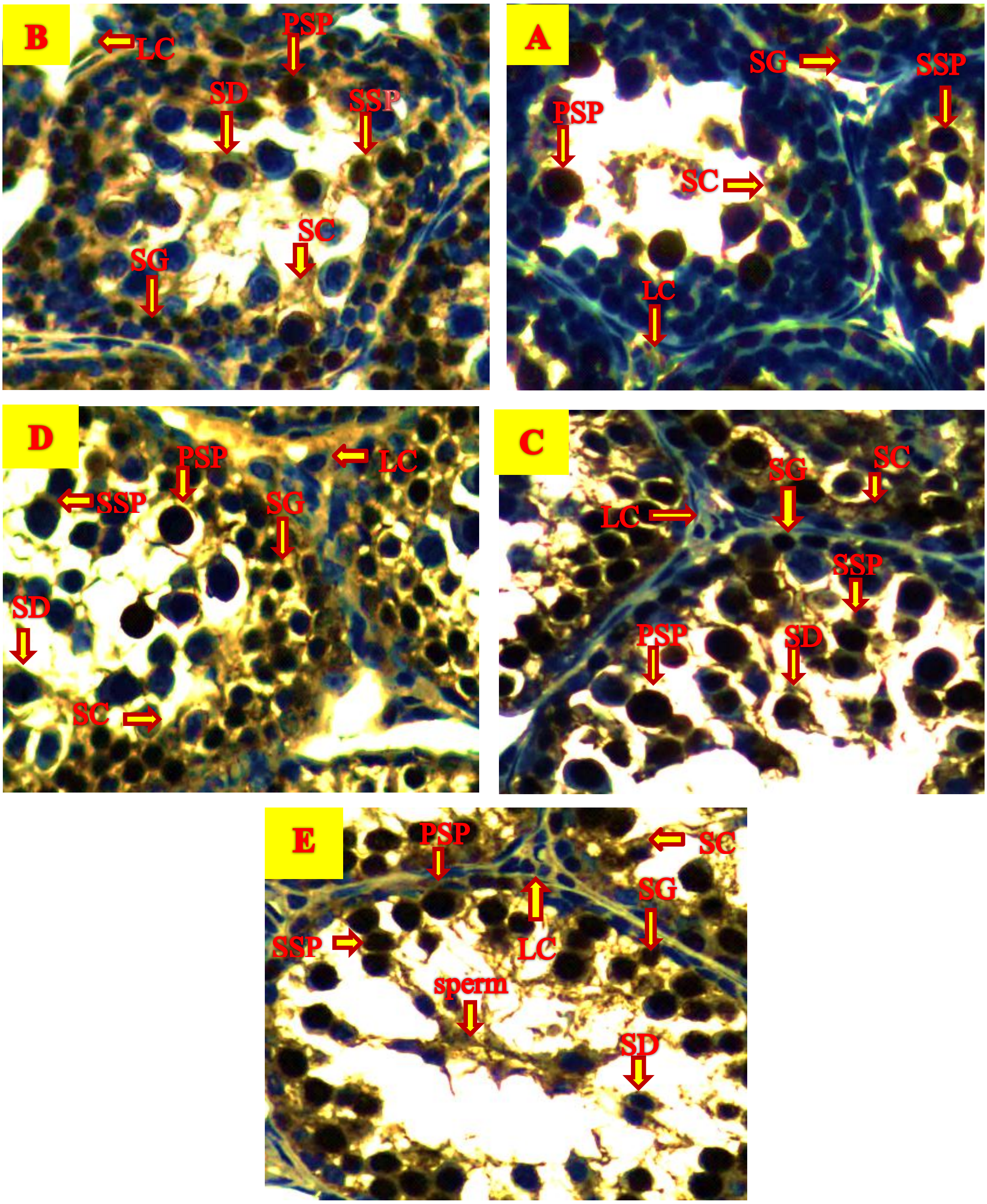
اليوم الثاني: تم غسل الشرائح لمدة **2** ×**5** دقيقة بـ % 0.025 TBS وTriton مع الرج بهدوء ثم حضنت الشرائح في 0.03 % H_2O_2 في محلول TBS لمدة **15** دقيقة، بعدها تم أضافة الجسم المضاد الثانوي للمرافق الأنزيميHRP الى الشرائح حيث خفف التركيز في TBS مع **1%** BSA بحسب توصيات الشركة وحضنت لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة ، تمت هذه الخطوة بالظلام لتجنب الأبيضاض الضوئي(التضبب) photobleaching ثم غسلت الشرائح بـ TBS **3** ×**5** دقيقة. أُضيفت صبغة DAB إلى الشرائح لمدة **10** دقائق عند درجة حرارة الغرفة، ثم غسلت الشرائح بأسالة ماء الحنفية لمدة 5 دقائق ثم صبغت الأرضية بعدها تم تجفيف و ترويق و تحميل الشرائح

النتائج

التموقع المناعي لعامل النمو شبيه الأنسولين النوع الأول IGF1

أظهرت نتائج التفاعل المناعي لدراسة الكيمياء النسيجية المناعية لعامل IGF1 في أنسجة خصى ذكور الجرذان(شكل1) أنه يتموقع في سليفات النطف والخلايا النطفية الأولية والخلايا النطفية الثانوية وخلايا ليدك و خلايا سرتولي للأعمار جميعاً وتكون شدة التصبيغ المناعي للعامل IGF1 قوية في سليفات النطف والخلايا النطفية الأولية والخلايا النطفية الثانوية لجميع الأعمار. في حين تكون قوة التفاعل المناعي لـIGF1 ضعيفة في خلايا سرتولي عند عمر25 يوماً مقارنة بالأعمار الأخرى بينما تظهر قوة التفاعل

المناعي لـ IGF1 في خلايا ليدك عند عمر 55 يوماً أكثر مقارنة بالأعمار الأخرى كما أظهرت نتائج الدراسة الكيميائية النسيجية المناعية وجود التفاعل المناعي لعامل IGF1 في طلائع النطف عند الأعمار 35 و45 و55 و65 يوماً وتكون قوة التصبيغ المناعي قوية عند العمرين 35 و45 يوماً مقارنة بعمري 55 و65 يوماً، كما لوحظ وجود البروتين IGF1 في النطف الناضجة في تجويف النبيب المنوي لذكور الجرذان عند عمر يوماً فقط من بين الأعمار الأخرى.



شكل (4-25)التفاعل المناعي لـIGF1 في أنسجة خصى الجرذان(A و B و C وD وE) للأعمار(25 و 35 و 45 و 55 و 65)يوم على التوالي. يبين الشكل وجود التفاعل المناعي لبروتينIGF1 في سليفات النطف(SG) والخلايا النطفية الأولية(PSP) والخلايا النطفية الثانوية(SSP) وخلايا ليدك (LC) وخلايا سرتولي (SC) لجميع الأعمار(A و B و C وD وE)ويكون التفاعل المناعي لـ (SG) و(PSP) و(SSP) قوي عند جميع الاعمار كما يكون التفاعل المناعي لـ IGF1 في خلايا سرتولي ضعيف عند (A) مقارنة بالمجاميع الأخرى في حين تظهر قوة التفاعل لخلايا ليدك عند (D) مقارنة مقارنة بالأعمار الأخرى كما يوجد التفاعل المناعي لـ IGF1 في طلائع النطف (SD) في (B وC وD و E) وتظهر قوة التفاعل في (B وC) ويوجد التفاعل المناعي لـ IGF1 في النطف الناضجة في تجويف النبيب المنوي عند (E) فقط من بين المجاميع الأخرى . (IHC 400X)

المناقشة

اثبتت دراسات التفاعل المناعي السابقة أنَّ انواع الخلايا المنسلية الذكرية والأنثوية تصنع IGF1 حيث اثبت Lobief وآخرون (17) أنَّ هناك توزيعاً واسعاً لمستقبلات GHR في مناسل ذكور واناث الجرذان .وقد تظهر مستويات IGF1 في الخصية في ذكور الجرذان البالغة معتمدة على GHR حيث لوحظ أنَّه يتموضع في الخلايا النطفية وطلائع النطف والتي تمتلك مستقبلات لـ GHR التي تحفز الإنتاج الموضعي لـIGF1 لأغراض التكاثر والتمايز(18) وان تموقع مستقبلات GH وBP يتوافق مع استحثاث هرمون النمو لبروتين الخصى و IGF1 وعمليات البناء synthesis (19).وتتفق الدراسة الحالية مع ما توصلت اليه جميع الدراسات الأخرى فقد لاحظ Line وآخرون (20) وجود التفاعل المناعي وجود IGF1mRNA و IGF1في خصى ذكور الجرذان البالغة . وأشار Villa Pando وآخرون (21) الى ان خلايا سرتولي تنتج كُلاً من IGF1 ومستقبلاته IGF-1R .كما أظهرت نتائج التفاعل المناعي immune reactivity وجود IGF1 mRNA و IGF-1R في خلايا ليدك والخلايا حول النبيب والخلايا النطفية Spermatocytes (22) وفي خلايا سرتولي لخصى الجرذان البالغة (23) وIGF1 في خلايا ليدك وسرتولي والخلايا النطفية الاولية Primary spermatocytes لخصى الانسان(11) وفي خلايا ليدك وسرتولي والخلايا الجرثومية لأنسجة خصى ذكر الخيل Stallion حيث أشارت نتائج التفاعل المناعي إلى أنَّ بروتينIGF1 يتموضع localization في خلايا ليدك وسليفات النطف Spermatogonia والخلايا النطفية في مرحلة قبل البلوغ في حين يوجد IGF1 في سليفات النطف والخلايا النطفية وارومات النطف Spermatids والحيوانات المنوية في مرحلة بعد البلوغ (24).

المصادر

1-**Adham**,I.M.; Burkhardt, E.; Benahmed, M.;and Engel W. (1993).Cloning of a cDNA for anovel insulin-like peptide of the testicular Leydig cells.*J. Biol.Chem.*,268:26668–26672.

2-**Rinderknecht,** E. and Humbel, R.E.(1978). The amino acid sequence ofhuman insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J. Biol. Chem.,* 253:2769-2776.

3-**LeRoith,** D. and Yakar, S. (2007). Mechanisms of disease: metabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor 1. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol .Metab*., 3:302-310**.**

4-**LeRoitah**,D.;Bondy,C.;Yakar,S.; and Liu, J.L. (2001). The somatomedin hypothesis. *Endocr. Rev.*, 22:53-74.

5-**Adams**,T.E.; Epa,V.C.; Garrett,T.P.; and Ward, C.W.(2000). Structure and function of the type 1insulin-like growth factor receptor. *Cell. Mol. Life Sci*.,57: 1050-1093.

6-**Schneider**, H.J.;Pagotto,U.; andStalla, G.K.(2003).Central effects of the somatotropic system. *Eur. J .Endocrinol* ., 149:377–392.

7- **Ohlsson,** C.; Mohan, S.; and Sjogren, K.(2009**).** The role of liver-derived insulin-like growth factor-I. *Endocr Rev*., 30:494– 535.

8- **Hastie,** P.M.; and Haresign,W.(2008). Modulating peripheral gonadotrophin levels affects follicular expression of mRNAs encoding insulin-like growth factors and receptors in sheep. *Anim. Reprod. Sci*.,109:110-123.

9-**Zakaria**,R.;Rajikin,M.H.;Yaacob,N.S.and Nor, N.M. (2009) Immunolocalization of insulin-like growthfactors and their receptors in the diabetic mouseoviduct and uterine tissues during the preimplantation period. *Acta Histochemica*., 111: 52-60

10- **Mazerbourg**, S.; Bondy, C.A.; Zhou, J.; and Monget, P.(2003). The insulin-like growth factor system: a key determinant role in the growth and selectionof ovarian follicles? A comparative species study. *Reprod. Domest .Anim* . , 38:247–258.

11- **Vannelli** BG, Barni T, Orlando C, Natali A, Serio, M.; and Balboni, G.C.(1988). Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-I receptor in human testis: an immunohistochemical study. *Fertil. Steril*., 49:666–669.

19- **D'Ercole**, A.J.; Stiles, A.D.; and Underwood,L.E.(1984).Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanism of action. *Proc. Natl. Acad .Sci* ., 81:935–939.

20-**Lin,**T.;Wang,D.L.;Calkins,J.H.;Guo,H.;Chi,R.; and ,Housley,P.R.(1990). Regulation of insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid expression in Leydig cells.*Mol. Cell. Endocrinol* ., 73:147–152.

21- **Villalpando,** I.; Lira, E.; Medina, G.; Garcia-Garcia, E.; and Echeverria, O.(2008). Insulin-like growth factor 1 is expressed in mouse developing testis and regulates somatic cell proliferation. *Exp. Biol. Med.,* 233: 419–426.

22- **Moore**, A., and Morris, I.D.(1993). The involvement of insulin-like growth factor-I in local control of steroidogenesis and DNA synthesis of Leydig and non-Leydig cells in the rat testicular interstitium. *J. Endocrinol* ., 138: 107-114.

23- Gallego, M.I.; Binart, N.; Robinson, G.W.; Okagaki, R.; Coschigano, K.T.;Perry, J.;Kopchick,J.J.;Oka,T.; Kelly, P.A.; and Henninghausen, L.(2001).Prolactin,growth hormone, and epidermal growth factor activate Stat5 in different compartments of mammary tissues and exert different andoverlapping developmental effects. Review in Chandrashekar,V.; Zaczek,D and Bartke,A.(2004)The Consequences of Altered Somatotropic System on Reproduction1. *Biol. Reprod.,* 71: 17–27.

24- **Yoon,** M.J.; Berger,T.; and Roser, J.F.(2011). Localization of Insulin-Like Growth Factor-I (IGF-I) and IGF-I Receptor (IGF-IR) in Equine Testes . *Reprod. Domestic***.** *Anim.,*. 46(2): 221–228.

12-**Wang**,G. and Hardy, M.P.(2003).Development of Leydig Cells in the Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) KnockoutMouse: Effects of IGF-1 Replacement and Gonadotropic Stimulation *Biol. Reprod.,* 70(3):632-639

13-**Chuzel,**F.;Clark,A.M.; Avallet, O.; and Saez, J.M**.(**1996).Transcriptional regulation ofthe lutropin/human choriogonadotropin receptor and three enzymes of steroidogenesis by growth factors in cultured pig Leydig cells. *Eur.J .Biochem*.,239:8–16

14- **Zhang**,F.P.; Poutanen, M.; Wilbertz, J. and Huhtaniemi, I.(2001). Normal prenatal butarrested postnatal sexual development of luteinizing hormone receptor knockout (LHRKO) mice. *Mol Endocrinol*.,15:172–183

15-**Jean-Luc**,P.;Pierre,C.;Céline,Z.;Béatrice,C.;Marilena,D.;Florence, A.;Christopher, R.C.; Françoise,U.; Betty,F.; Michel, C.; Mylène ,D.; Pedro,L.H.; François,P.; Marc, G.; and Florian,G.(2013).An Essential Role for Insulin and IGF1 Receptors in Regulating Sertoli Cell Proliferation,Testis Size,and FSH Action in Mice.*Molecular Endocrinol*.; 27(5) 814-27.

16-**Cohick,**W.S.and Clemmons, D.R**.(**1993).The insulin-like growth factors.*Annu.Rev .Physiol*., 55:131-153.

17-**Lobief**,P.E.;Breipohl,W.;Aragon,J.G.; and Waters,M.J.(1990). Cellular Localization of theGrowth Hormone Receptor/Binding Protein in the Male and Female Reproductive Systems. *Endocrinol.***,** 126(4):2214-2221.

18-**Hansson,**H.A.;Nilsson,A. Isgaard, J.; Billig, H.; Isaksson O.G.P.; Skottner, A., Andersson, I.K. and Rozell, B. (1988). Immunohistochemical localizationof insulin like growth factor-1 in the adult rat.; *Histochem.,* 89:403.

*Immunohistochemical study for localization detection of insulin like growth factors(IGF1) in testiscular tissue of immature and mature male Wistar rats.

Jabbar A. A. Al-Sa'aidi; Hussein K.O. Al-Mayali; Alaa M. H. Al-Husseini

Prof. Endocrinol. & Reprod. Physiol., College of Vet. Med., Al-Qadisiya Univ., Iraq. Jbr20042002@yahoo.com
Asst. Prof. Physiol., College of Education, Al-Qadisiya Univ., Iraq. husseinal-mayali@yahoo.com
PhD Student, Physiol., College of Science, Al-Qadisiya Univ., Iraq. alaa.alaa1115@yahoo.com

Abstract

The present study has been carried to investigate the immunological localization of Insulin-like Growth Factor 1 (IGF1) in pre- and post-pubertal stages and its involvement in male reproductive physiology of rats, Forty immature and mature male ***Wistar albino*** rats were used in the present study which assigned into 5 equal groups, 8 per each at 25th, 35th, 45th, 55th, and 65th day of age, male rats of each group have been anaesthetized. Testes tissue samples were obtained for immunohistochemical study.
The results of immunohistochemical study showed the presence of IGF1 immunoreactivity in,sertoli cells, leydig cells and all cells that Constituent of seminiferous tubule, and showed density immunoreactivity increase during pubertal stage. Also observed the presence of IGF-1 immunoreactivity in mature sperm in seminiferous tubule lumen of post-pubertal testis.

Key wards: IGF1,testis,puberty.

***the Research is apart of on ph.D.dissertation in the case of the third researcher.**