

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

تاريخ القبول 2015/6/15

تاريخ الاستلام 2015/4/4

جبار عباس احمد الساعدي و حسين خضير عبيس 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

الخلاصة

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 استخدام 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. أخذت نماذج الخصى لغرض إجراء الدراسة الكيميائية النسجية المناعية. بينت نتائج الدراسة الكيميائية النسجية المناعية وجود التفاعل المناعي لعامل النمو شبيه الأنسولين IGF1 في خلايا ليديك وخلايا سرتولي وجميع الخلايا الجنسية المكونة للنيبب المنوي، كما اظهرت النتائج ان قوة و كثافة التفاعل المناعي لعامل النمو IGF1 يزداد عند البلوغ كما لوحظ وجوده في النطف الناضجة في تجويف النيبب المنوي عند مرحلة بعد البلوغ .

Maicrobiology Classification QR 180-189.5

الكلمات المفتاحية IGF1، IHC، الخصى، البلوغ

• البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الثالث

المقدمة

ليصل إلى أهدافه بواسطة الدم الدائر (7) كذلك فإنه يشق موضعياً في الأنسجة المختلفة والأعضاء التكاثرية لأنواع عدة (8,9) ليبدى تأثيره الغدي الذاتي والغدي المجاور لوظائف أنواع الخلايا الجسمية Somatic cells والجنسية Sex cells (10). ان الإنتاج الموضعي لعوامل النمو IGFs في أنسجة الخصى بواسطة خلايا ليديك وخلايا سرتولي يلعب دوراً مهماً في عملية تكوين النطف وتنظيم الوظيفة الصمية للخصية (11). كما إن قابلية عمل LH على خلايا ليديك يتطلب وجود IGF1 الموضعي في أنسجة الخصى (12) حيث يعمل IGF1 على تسهيل تكاثر ونضج خلايا ليديك 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 ليديك فهو ضروري لتنظيم العدد النهائي لخلايا سرتولي وحجم الخصيتين والنتاج اليومي للنطف ، وان العدد الكافي لخلايا سرتولي ضروري لخصوبة الذكور (15) . كما وجد أن IGF1 يحفز النشاط الانقسامى Mitogenesis لخلايا سرتولي وبناء DNA لسليقات 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 الى 10 ساعات ظلام طول مدة الدراسة. وغذيت الحيوانات على العليقة الغذائية المختبرية القياسية (نسبة بروتين 19% وطاقة 3000 سعرة حرارية) والماء بصورة حرة *ad Libidum*.

أستخيم في الدراسة 40 جرذاً ذكراً غير ناضج 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 عمر 25 و 35 و 45 و 55 و 65 يوماً، تمت التضحية بثمانية جرذان من كل عمر بعد تخديرها بحقن مزيج من (0.3) مل كيتامين و (0.1) مل زيلازين لكل كغم من وزن الجسم في البريتون، ثم أستوصلت خصاها لغرض إجراء الدراسة الكيميائية النسيجية المناعية (IHC) immunohistochemical.

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 الرئيسيين لهذه الهرمونات في حين يُعد النوع الثالث IGF3 نادر الوجود. تتشابه هذه العوامل فيما بينها علاوة على تشابهها الكبير مع شكل الأنسولين فقد وجد 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 الخلوي Cytokine system لأنها تساهم في نمو الخلايا وتطورها وتميزها فضلاً عن منع الموت المبرمج Apoptosis للخلايا(3). يتوسط IGF1 و IGF2 الفعل المحفز لهرمون النمو (GH) Growth hormone، 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 IGF1 ل transduction تتوسطها مستقبلات IGF1 Receptors (IGF-1R) حيث يسبب ارتباط IGF1 تشييط 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 مُكوّن من المحور تحت المهاد - النخامي - القندي Hypothala - pituitary - gonads axis والتكاثري 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 ل IGFs المعتمد على هرمون النمو (GH- IGFs) dependent - IGFs الذي يُنتج بصورة رئيسية من الكبد

وعاء رطب وحضنت عند درجة 37 م. 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 بواسطة ماصة ، كما أن جميع عمليات الحضان أجريت في حجرة عالية الرطوبة لمنع جفاف الأنسجة، وإتمام هذه الخطوة، تم اتباع الآتي:

اليوم الأول: غسلت الشرائح 2 × 5 دقيقة بـ (0.025 +TBS Triton -100 X) 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 ويتخفيف 100/1 في TBS مع 1% من BSA (Bovine serum albumin). ثم حضنت طوال الليل عند درجة حرارة (4) م .

اليوم الثاني: تم غسل الشرائح لمدة 2 × 5 دقيقة بـ 0.025 % TBS Triton مع الرج بهدوء ثم حضنت الشرائح في 0.03 % H₂O₂ في محلول TBS لمدة 15 دقيقة، بعدها تم إضافة الجسم المضاد الثانوي للمرافق الأنزيمي HRP 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 الأبيضااض الضوئي(التصبب) photobleaching ثم غسلت الشرائح بـ TBS 3 × 5 دقيقة. أضيفت 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(شكل 1) أنه يتموقع في سليفات النطف والخلايا النطفية الأولية والخلايا النطفية الثانوية وخلايا ليدك و خلايا سرتولي للأعمار جميعاً وتكون شدة التصبيغ المناعي للعامل

الدراسة الكيميائية المناعية النسيجية (IHC) study Immunohistochemistry

طبفا لتعليمات شركة (Abcam,UK; www.abcam.com/technical) أعتد لبروتوكول تقنية البارافين- الكيمياء المناعية النسيجية الآتي:-الآتي:-

1- التثبيت Fixation: تم استخدام 10% فورمالين داريء المتعادل (NBF) في الدراسة الحالية.إذ تراخ وقت التثبيت ما بين (18-24). ثم طمر بلوك النسيج في البارافين بعدها قُطع بجهاز التقطيع النسيجي microtome بسمك 5 مايكرومتر 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 .

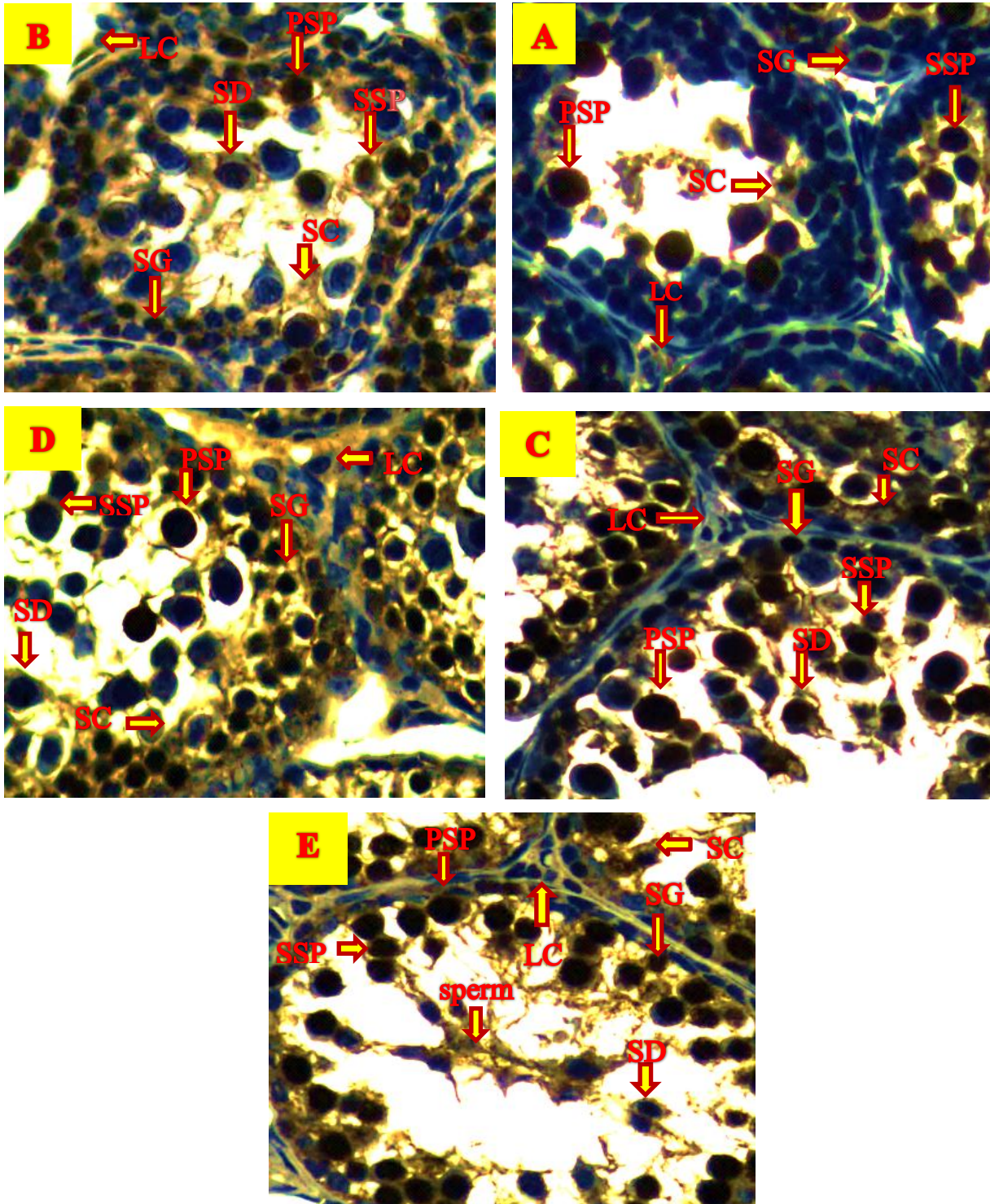
2- إزالة البارافين Deparaffinization: تمت إزالة البارافين ثم غسلت الشرائح حسب توصيات الشركة المصنعة بالزليلين ثم مزيج الزليلين والكحول الأيثلي المطلق ثم في التراكيز المتنازلة للكحول الأيثلي (100، 95، 70، 50 %) ثم الماء الجاري الى حين تنفيذ خطوة استرجاع المستضد antigen retrieval .

3- استرجاع المستضد Antigen retrieval: تكمن أهمية هذه الخطوة نتيجة لتكوين الجسور المثيلية methylene bridges خلال خطوة التثبيت (وهي أوأصر عرضية بروتينية) لذلك تكون مواقع المستضدات مغلقة 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 التريسين ، إلا أنه يستخدم التريسين لمدى أوسع من المستضدات والتي يتطلب استرجاعها هذا الأنزيم بعد تثبيتها بالفورمالين. وأستخدمت طريقة السحب(الشفط) Pipetting

method لنشر محلول الأنزيم للنسيج (ويكون بسحب المحلول الأنزيمي بواسطة الماصة إلى النسيج مباشرة على الشريحة)، كما يجب أن يُراقب وقت الحضان بعناية لكل شريحة ليضمن لجميع الشرائح استلام المعاملة نفسها. بعد تحضير المحلول الأنزيمي للتريسين حضان عند درجة حرارة 37 م ، بعدها تم ازالة الماء الزائد من حول المقطع النسيجي، ثم سُحب من المحلول الأنزيمي (50-100 مايكروليتر بواسطة ماصة الى الشرائح الزجاجية ونُشر بعناية حول المقطع النسيجي بواسطة طرف الماصة. وضعت الشرائح في

IGF1 قوية في سليفات النطف والخلايا النطفية الأولية والخلايا النطفية الثانوية لجميع الأعمار. في حين تكون قوة التفاعل المناعي لـ IGF1 ضعيفة في خلايا سرتولي عند عمر 25 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 و 45 و 55 و 65 يوماً وتكون قوة التصبيغ المناعي قوية عند العمرين 35 و 45 يوماً مقارنة بعمر 55 و 65 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 لـ IGF1 في أنسجة خصي الجرذان (A و B و C و D و E) للأعمار (25 و 35 و 45 و 55 و 65) يوم على التوالي. يبين الشكل وجود التفاعل المناعي لبروتين IGF1 في سليفة النطف (SG) والخلايا النطفية الأولية (PSP) والخلايا النطفية الثانوية (SSP) وخلايا ليديك (LC) وخلايا سرتولي (SC) لجميع الأعمار (A و B و C و D و E) ويكون التفاعل المناعي لـ (SG) و (PSP) و (SSP) قوي عند جميع الأعمار كما يكون التفاعل المناعي لـ IGF1 في خلايا

سرتولي ضعيف عند (A) مقارنة بالمجاميع الأخرى في حين تظهر قوة التفاعل لخلايا ليديك عند (D) مقارنة مقارنة بالأعمار الأخرى كما يوجد التفاعل المناعي لـ IGF1 في طلائع النطف (SD) في (C و D و E) وتظهر قوة التفاعل في (C و B) ويوجد التفاعل المناعي لـ IGF1 في النطف الناضجة في تجويف النبيب المنوي عند (E) فقط من بين المجاميع الأخرى (IHC 400X).

المناقشة

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 of human 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- **LeRoith, 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 I insulin-like growth factor receptor. *Cell. Mol. Life Sci.*, 57: 1050-1093.

6- **Schneider, H.J.; Pagotto, U.; and Stalla, G.K.** (2003). Central effects of the somatotrophic 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 growth factors and their receptors in the diabetic mouse oviduct and uterine tissues

اثبتت دراسات التفاعل المناعي السابقة أن أنواع الخلايا المنسلية الذكورية والأنثوية تصنع IGF1 حيث اثبت Lobief وآخرون (17) أن هناك توزيعاً واسعاً لمستقبلات GHR في مناسل ذكور واثبات الجرذان. وقد تظهر مستويات IGF1 في الخصية في ذكور الجرذان البالغة معتمدة على GHR حيث لوحظ أنه يتموضع في الخلايا النطفية وطلائع النطف والتي تمتلك مستقبلات لـ GHR التي تحفز الإنتاج الموضعي لـ IGF1 لأغراض التكاثر والتمايز (18) وان تموقع مستقبلات GH و BP يتوافق مع استحداث هرمون النمو لبروتين الخصي و IGF1 وعمليات البناء synthesis (19). وتتفق الدراسة الحالية مع ما توصلت إليه جميع الدراسات الأخرى فقد لاحظ Line وآخرون (20) وجود التفاعل المناعي وجود IGF1 mRNA و IGF1 في خصى ذكور الجرذان البالغة. وأشار Villa Pando وآخرون (21) إلى أن خلايا سرتولي تنتج كلاً من IGF1 ومستقبلاته IGF-1R. كما أظهرت نتائج التفاعل المناعي immune reactivity وجود IGF1 mRNA و IGF-1R في خلايا ليديك والخلايا حول النبيب والخلايا النطفية Spermatocytes (22) وفي خلايا سرتولي لخصي الجرذان البالغة (23) و IGF1 في خلايا ليديك وسرتولي والخلايا النطفية الأولية Primary spermatocytes لخصي الانسان (11) وفي خلايا ليديك وسرتولي والخلايا الجرثومية لأنسجة خصي ذكر الخيل Stallion حيث أشارت نتائج التفاعل المناعي إلى أن بروتين IGF1 يتموضع localization في خلايا ليديك 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

- 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 the Growth 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 localization of insulin like growth factor-I in the adult rat.; *Histochem.*, 89:403.
- 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 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 selection of 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.
- 12- **Wang**, G. and Hardy, M.P. (2003). Development of Leydig Cells in the Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) Knockout Mouse: 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 of the 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 but arrested 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.

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.

Stat5 in different compartments of mammary tissues and exert different and overlapping 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.

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

Received :4/4/2015

Accepted :15/6/2015

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.**