جامعــة القادسيــة

كليـــــة العلـــوم

قسم علــوم الحـياة

عنوان البحث

تأثير بنزوات الصوديوم على الجهاز العصبي للجرذان البيض

بحث مقدم من الطالب (علي سعد حسن) الى مجلس كلية العلوم / قسم علوم الحياة كجزء من

متطلبات نيل شهادة البكلوريوس

بأشراف

الاستاذة الدكتورة الاء محمد حسون

الإهداء

الى الاكف البيض التي طالما دفعتني للسير قدماً في طريق العلم .....

الى من زرعت في نفسي الامل وشملتني بدعائها في كل حين والدتي ....

الى من عانى سنين طويلة لاجل اللحظات المثمرة..... الى القلب الطيب والدي .....

الى الذين انارو طريقي وقدموا لي كل المحبة والدعم والتضحية من تسعدهم خطواتي ..... اخوتي واصدقائي

..... اهدي ثمرة هذا الجهد المتواضع .....

الحمدلله نفتتح الثناء بحمده الذي نعجز عن ذكر فضائل نعماتة ، الحمدلله الذي لا يحمد الا سواه صاحب الفضل والكرم الذي اكرمني برحمته وأعانني بقوته على اتمام البحث ..... الصلاة والسلام على خير الامام رسول الله محمد (صلى الله عليه

واله وسلم) .

مبتدئاً اقدم خالص شكري ووافر امتناني الى استاذتي الفاضلة الدكتورة (الاء محمد حسون) لما قدمته لي من ارشاد ودعم متواصل طيلة فترة البحث .

واتقدم بخالص شكري وامتناني الى كل من مد يد العون والمساعدة ولايفوتني ان اوجه شكري وتقديري لكل زملائي واخواني في كلية العلوم / قسم علوم الحياة لما ابدوه من روح صادقة ومحبة داعياً من الله تعالى ان يوفقهم .

(وَلَوْلَا فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ وَرَحْمَتُهُ لَهَمَّتْ طَائِفَةٌ مِنْهُمْأَنْ يُضِلُّوكَ وَمَا يُضِلُّونَ إِلَّا أَنْفُسَهُمْ
ۖوَمَا يَضُرُّونَكَ مِنْشَيْءٍ ۚ وَأَنْزَلَ اللَّهُ عَلَيْكَ الْكِتَابَ وَالْحِكْمَةَ وَعَلَّمَكَ مَا
لَمْ تَكُنْ تَعْلَمُ ۚ وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا)﴿١١٣﴾

الهدف من الدراسة :-

نضراً لزيادة الاغذية المعالجة والسريعة فقد اصبحت مادة البنزوات الصوديوم كمضاف غذائي ذات اهمية متزايدة في تقنية الغذاء الحديثة ويمكن ان تكون هذه مسؤولة عن الكثير المشاكل الصحية للمستهلك ، وكذلك نظراً لعدم وجود دراسة على مستوى العراق حول التأثيرات الفسلجية لمادة بنزوات الصوديوم فقد جمعت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير الحقن لمادة بنزوات الصوديوم بتركيزين هما (200- 400 ملغم / كلغم) من وزن الجسم وامدة مختلفة على ذكور الجرذان البالغة وغير البالغة .

من خلال قياس تأثير مادة بنزوات الصوديوم على الجهاز العصبي للجرذان .

التوصيات

1- تقليل استهلاك المواد المحفوظة ببنزوات الصوديوم لما يمكن ان تلحقه من تأثيرات سلبية على صحة الانسان .

2- دراسة فعالية المواد المضادة للأكسدة في الحد من تاثيرات الناتجة في المعاملة ببنزوات الصوديوم .

3- اجراء دراسة نسيجية لمعرفة التأثير الناتج من معاملة مادة بنزوات الصوديوم في الجهاز العصبي .

4- اجراء دراسة مناعية للتعرف على تأثير مادة بنزوات الصوديوم على الجهاز المناعي .

5- اجراء دراسة لمتابعة تاثير بنزوات الصوديوم على المواليد الناتجة من معاملة الجرذان الحوامل ببنزوات الصوديوم .

6- دراسة التأثير السلبي لبنزوات الصوديوم على بعض النواقل العصبية وما يصاحبها من تأثيرات سلبية سلوكية .

7- دراسة تاثير بنزوات الصوديوم في معايرة الخصوبة في الذكور والاناث .

8- اجراء دراسة جزيئية لتقييم تاثير بنزوات الصوديوم على المستوى الجزيئي لجزيئية (DNA) في خلايا الكبد والغدة النخامية والغدة الكظرية .

المقدمة

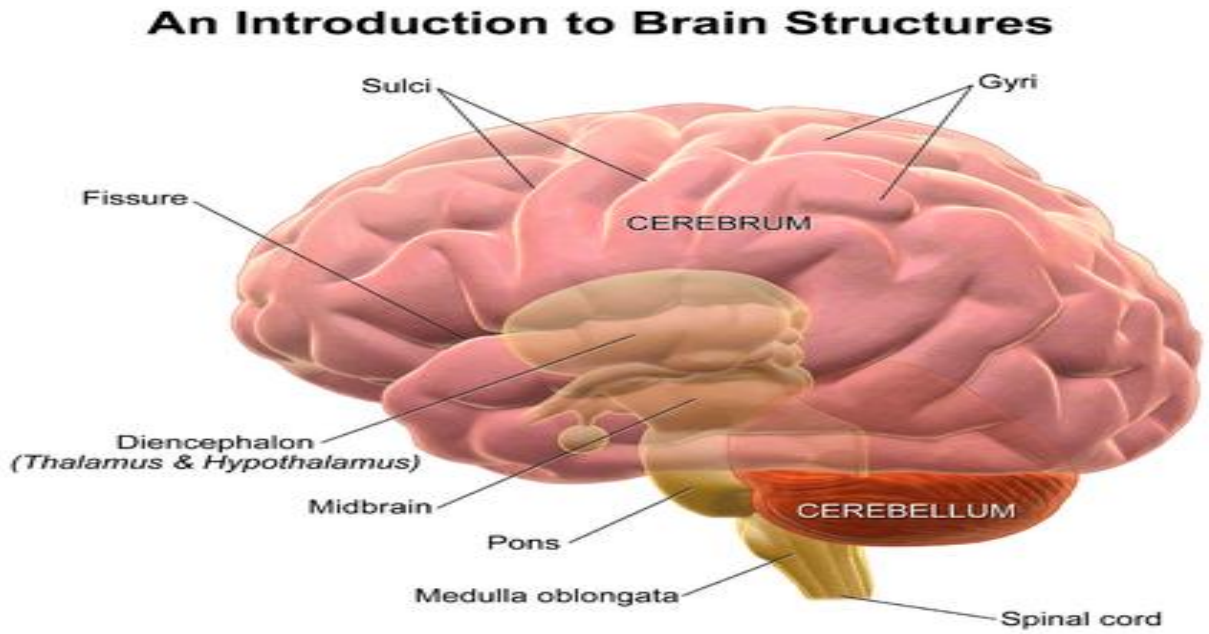
الدماغ:-

وهو العضو الرئيسي في الجهاز العصبي في الفقريات وبعض اللافقريات[1] يجمع المعلومات ويحللها ويسيطر على معظم اعضاء الجسم وكذلك هو منبع لانتاج المعلومات جديدة والدماغ موجود لدى حيوانات عديدة وغالبا ما يكون الدماغ محفوظاً في جمجمة داخل الرأس ، ويشكل الدماغ الجزء الرئيسي من الجهاز العصبي .

موقع وتركيب الدماغ :-

يقع الدماغ في منطقة الرأس داخل تجويف الجمجمة الصلب . والتي تشكل الدرع الواقي للدماغ بحيث تحميه من الضربات والتهديدات الخارجية والتي قد يتعرض لها ، كما يقع الدماغ في المنطقة العلوية من الحبل الشوكي المشتركان في تكوين الجهاز العصبي .

يتكون الدماغ من ثلاثة اقسام رئيسية وهي (الدماغ الامامي ، الدماغ المتوسط ، الدماغ الخلفي[2] يتضمن الدماغ عدة فصوص (labes) من القشرة المخية التي تتحكم في الوضائف العليا ، في حين يتدخل الدماغ المتوسط الخلفي في الوظائف التلقائية اللاشعورية



1- Spepherd G.M(1994) , oxford university press

2- Baileg , Regina human ,Anatomared biology .about . inc

يتكون الدماغ من كرة هلامية رمادية اللون تميل الى اللون الوردي ، ويتميز ملمسه بالعديد من النتوءات والاخاديد .

ويتألف الدماغ من عشرات المليارات من الخلايا العصبية والتي العصبة الواحدة فيه تكون مرتبطة بمجموعة كبيرة من الاعصاب المجاورة لها .

ويتكون الدماغ من :-

1- القشرة :- هي الطبقة الخارجية لخلايا الدماغ

2- جذع الدماغ :- هو بين الحبل الشوكي وبقية الدماغ

3- العقد القاعدية :- وهي مجموعة من الهياكل في وسط الدماغ

4- المخيخ :- هو في القاعدة والجزء الخلفي للدماغ

وينقسم الدماغ ايضاً الى عدة فصوص

1- الفصوص الامامية

2- الفصوص الجدارية

3- الفص الصدغي

4- الفصوص الغزالية

ويحاط الدماغ بطبقة من الانسجة التي تسمي السحايا بالاضافة الى الجمجمة التي تساعد على حماية الدماغ من أي اصابة .

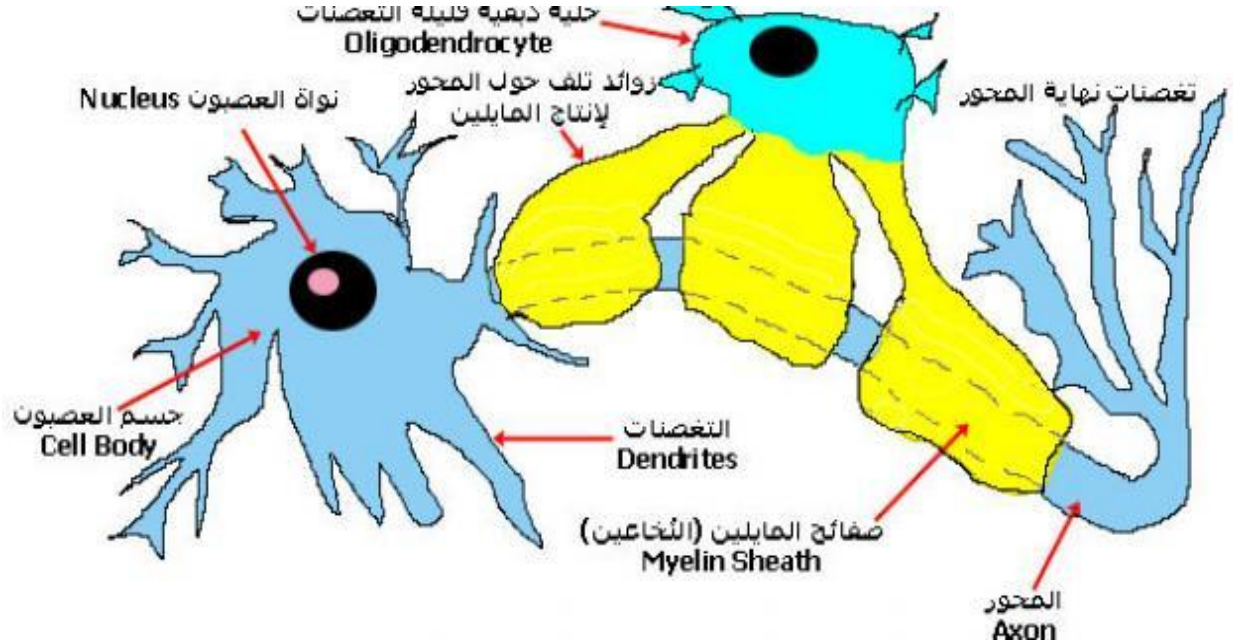
الجهاز العصبي

يدعى أيضاً الجملة العصبية وهو اهم الاجهزة التي تميز المملكة الحيوانية . ويشاهد عند كل الكائنات الحية ابتداءاً من وحيدات الخلايا وحتى الثديات حيث يكون مؤلفاً من دارات بسيطة بين مجموعة خلايا صغيرة من خلايا عصبية عند وحيدات الخلية ، ويزداد تعقيدا كلما صعدنا في سلم التطور ليصل الى اقصى درجات التعقيد في الانسان .

الجهاز العصبي وهو شبكة اتصالات داخلية في جسم الكائن الحي تساعده على التوائم مع التغيرات البيئية المحيطة به ويمتلك كل كائن حي عدا الكائنات الاولية نوعا من الاجهزة العصبية .

<u>وضائف الجهاز العصبي</u>

يقوم الجهاز العصبي بوظيفة من خلال الاتصالات الكثيفة عبر المشائك العصبية الموجودة في نهايات محوار العصبية لكل العصبونات التي تؤلف الجهاز العصبي باستقبال المعلومات الواردة من المحيط الخارجي بواسطة اعظا الحس ومن الاعضاء الداخلية بواسطة المستقبلات الحسية المنتشرة في المفاصل والعضلات والاحشاء ، حيث تعالج تلك المعلومات بسرعة فائقة ، ليصار اما الى تخزينها كذاكرة وخبرة او اصدار اوامر لاجهزة الجسم الاخرى بما يتناسب مع المعلومات الواردة , الخلية الرئيسية هي العصبون او ما يدعى الخلية العصبية التي تلعب دورا في كل فعاليات الدماغ .



شكل يوضح الجهاز العصبي المركزي

مكونات الجهاز العصبي

يتكون الجهاز العصبي من ثلاث اقسام وكل قسم يتميز بمكوناته الخاصة به ووظيفته المميزة له وهي :-

1- الجهاز العصبي المركزي :- ويتكون من النخاع الشوكي والدماغ ويتكون الدماغ ايضا من ثلاثة اجزاء وهي : المخ، المخيخ ، وجذع الدماغ .

2- الجهاز العصبي الطرفي (المحيطي) :- يتكون من عدد من الازواج العصبية ، حيث تبلغ عدد الاعصاب التي تمتد من منطقة الدماغ اثنى عشرا زوجا وتعرف بالاعصاب القحفية ، اما الاعصاب التي تبدا من الحبل الشوكي فيبلغ عددها واحداً وثلاثين زوجا وتعرف بالاعصاب النخاعية وذلك لنسبة الى النخاع الشوكي ، ويعمل الجهاز على نقل المعلومات والاشارات بين الجهاز العصبي ومختلف اعضاء الجسم .

3- الجهاز العصبي التلقائي :- ويعتبر هذا الجهاز من ضمن اجزاء الجهاز العصبي المحيطي الطرفي ويعمل هذا الجهاز على تنظيم عمل مختلف الوظائف الاارادية في الجسم والتي يضمن عملية التنفس .

بنزوات الصوديوم :-

هي ملح الصوديوم البنزويك ذا انحلالية جيدة في الماء , ولكنه قليل الذوبان في الايثانول وهو عديم الرائحة بتفكك بالتسخين ويكون بشكل مسحوق بلوري او بشكل حبيبات[3] يستخدم كمادة حافظة لكونه في الوسط الحامضي يؤدي الى تشكل حامض البنزويك والذي اليه ترجع الفعالية في ايقاف نمو البكتريا .

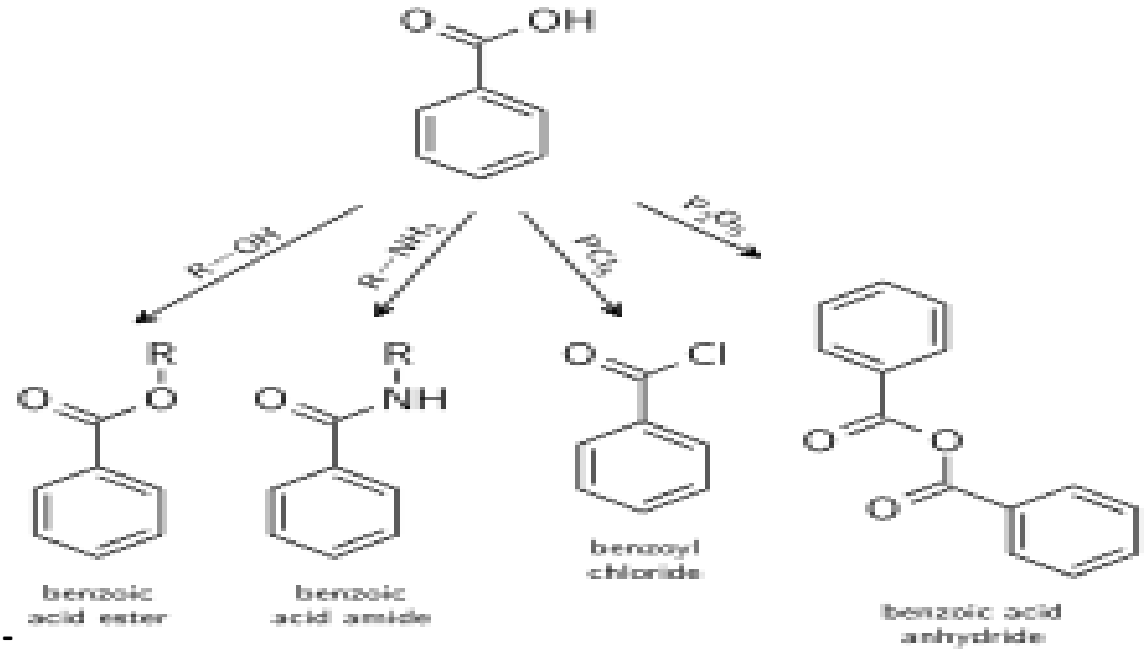
يحضر مركب بنزوات الصوديوم من تفاعل حامض البنزويك مع هيدروكسيد الصوديوم

$$C_6H_5 . CooH + NaoH = C_6H_5.CoNa + H_2O$$

وزنه الجزيئي 144.11 ودرجة غليانه اكثر من ($300C^0$) وعندما نذوب في الماء فأنها تكون حامض البنزويك ويكون مقدار ذوبانيتها اكثر ب200 مره من حامض البنزويك بهذا تستخدم في حفظ الغذاء بدلا منه وتعمل بصورة مثالية في المنتجات التي تكون ذات رقم هيدروجيني PH < 4.5 أي المشروبات والاغذية الحامضية[4]

بالاضافة الى استخدام في غسول الفم وفي النظام العلاجي لمرض اضطرابات دورة اليوريا[5]

ويتم استخدامها بصورة رئيسية في حفظ الزيوت والعصائر والالبان والخضروات التي تتم معالجتها واللحوم والمربى والتوابل والشاي والحليب ومنتجات القهوة [6]



شكل يوضح التركيب الكيميائي لبنزوات الصوديوم

3-(2001,occd sids)

4-(FDA,2011, stanojevic .et.al.,2009 ., Heydrginiael .el. al.2011

5-(Nishna . et.al., 2012 , Pahan, 2011)

6- (Zengin .et.al., 2011, Bnrdock , 2005)

عملية أيض بنزوات الصوديوم :-

ان عملية ابض هذا المركب تتم بواسطة الكائنات الحية ويمكن في نهاية المطاف ان يصنع مركب نشط يتفاعل مع ال DNA ويغير التركيب الوراثي وله تأثيرات سلبية على انقسام الخلية[7]

يتم الايض في المايتوكوندريا لخلايا الكبد بواسطة ربط البنزوات بالحامض الاميني glycine وطرحه الى خارج الجسم على شكل hippuric acid من الادرار ، وان الافراز الطبيعي لل (hippuric acid) في الادرار يوميا[8] ،وعند استهلاك اغذية حاوية على البنزوات يومياً يزيد من هذه الكمية[9]

عملية افراز ال glycine من الجسم يشير الضعف وظائف الكبد في العمليات الايضية والتي يكون فيها الكلايسين ضرورياً بالإضافة الى ذلك فأن انخفاض مستويات ال glycine في الجسم يمكن ان ينخفض مستويات الكرياتين والكلوتامين واليوريا وحامض اليوريك في الادرار وتزيدمن مستويات هذه المواد في الدم ، اواصر الهيدروجين وال Hydro phobic تكون فعالة في ربط البنزوات للحامض الاميني glycine ويجب ان تكون كمية بنزوات الصوديوم كافية بهذا الربط[10] في دراسة اجريت في العام 2012 على 3083 مستهلك بلجيكي تم استنتاج ان هولاء الاشخاص يستخدمون 1.25 ملغم/كغم . من بنزوات الصوديوم يومياً وهذه الكمية هي 0.25 % من الحد اليومي المقبول وهو كافي لربط البنزوات مع 50 ملغم من ال glycine ويتم طرحه على شكل [11] hippuric acid ويعد دخولالبنزوات الى الجسم تحدث الدورة المعوية ويرتبط ال Try psin ويمكن ان يزيد من فعاليته حيث Try psin يتحرر من البنكرياس وله دور مهم في عملية هضم منتجات الطعام وعند ربطه بالبنزوات فأن هذا يؤدي الى اعادة هيكلة للـ Trypsin [12]

7-(Beyoglu andldle 2012 Afshar ., et .al ., 2013)

8- Beyoglu and idle , 2012 , Gonzalez .et .al. , 2011

9- ogawa et . al. , 2011 ., penner .et .al., 2010

10- -(oyewole., et. at., 2012)

11--(Beyoglu and ldel . 2012)

12-(Mu et.al.,2011)

التأثيرات الفسيولوجية للبنزوات physiological effects of benzoates

التأثيرات العامة :-

في دراسة اجريت على الجرذان وجد انه حامض البنزويك وبنزوات الصوديوم عالية (800 ملغم / كغم لحامض البنزويك و1000 ملغم / كغم لبنزوات الصوديوم) يؤدي الى زيادة في الوفيات ونقصان في الوزن ويحصل تسمم جهازي وتضرر في الكبد والكلية . وفي الفئران فأن الجرعات العالية تؤثر في وزن الجسم وتسبب تأكل lesion في الدماغ و الغده الزعترية Thymus والعضلات الهيكلية والكلية .

اما في الارانب فقد وجد ان التعرض لحامض البنزويك غير المخفف يسبب تهيج لعيون الارانب وان التعرض لبنزوات الصوديوم يسبب تهيج طفيف Slightly irritating فقط واشارت بعض الدراسات الى انه بعد المعاملة قصيرة المدى ببنزوات الصوديوم وحامض البنزويك تم ملاحظة تغيرات نسيجية مرضية في الدماغ في الجرذان اضافة الى حدوث اضطرابات في الجهاز العصبي المركزي[13] وذكر Sinha و D,souza (2006) ان بنزوات الصوديوم اذا اعطيت للفئران وللمدد 30 , 60 , 120 ,180 يوم وبتركيز 155 ملغم / كغم ادى الى زيادة وزن الكلى والكبد وانخفاض وزن اجسامها وطول الطحال والارتفاع المعنويفي مستوى البروتين والكلوبيولين والالبومين .بينما بينت دراسه اخرى الى ان الاعطاء الفموي لبنزوات الصوديوم وبتركيز 280.560 ملغم / كغم لإناث الفئران البيض ولمدة 60 يوم ادى الى الانخفاض المعنوي في مستوى هرمون البروجستيرون progesterone في بلازما الدم بالإضافة الى انخفاض المعنوي في مستويات الهرمون اللونيني Lh والهرمون المحفز للجربيات FSH في المجموعة التي تم اعطائها التركيز الاعلى[14] (560) ملغم / كغم ,.وجد ان البنزوات وبتركيز (200 ملغم / كغم) يمكن ان تخفض الوزن في الفئران وتزيد الكرياتين واليوريا وحامض اليوريك في المصل المعزول من الفئران[15] و لوحظ ان لبنزوات الصوديوم تأثير على زيادة ضغط الدم في الجرذان وسببت تمزق في اوعية الخلايا الدموية[16] HU وجماعته (2008) خلال دراسة خلايا العقد اللمفاوية المعزولة من الفئران والمعالجة بتراكيز مختلفة من البنزوات وبالمقارنة مع خلايا السيطرة وجدو ان البنزوات يمكن ان تغير تراكيب الخلايا اللمفاوية وتسبب ضرر في الغشاء الخلويالتراكيز العالية ووقت التعرض لهذه المادة يزيد من التأثيرات السلبية اظهرت الدراسات ان للبنزواتتأثير على خفض اعداد كريات الدم البيض وكمية الهيموغلوبين في الجرذان عند معاملتها بالبنزوات بتركيز 60,120 ملغم / كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة[17].

13-(sudakov.et.al.,2013)

14-(Sonrabi ., et.al., 2007)

15- (Lu and shen , 2006)

16-(Ebere chukwu. et.al.,2007)

17- (Ebere chukwu. et.al.,2007)

عمل بنزوات الصوديوم على الاعصاب

البنزوات تقطع بسرعة الحاجز الدموي الدماغي والان زاد الاهتمام بها كعامل لمختلف اضطرابات الدماغ ، بسبب انها تحتوي على المزايا في استخدامها في العلاج عن طريق الفم حيث توجد موافقة للمعالجة من UCD .

القرفة اكثر التوابل استخداما في جميع انحاء العالم وهي ذات فائدة متعلقة .

التغذية الفموية للقرفة تعرف بـ (مولدة البنزوات) في دم ودماغ الفئران [18] ولحماية الذاكرة والتعليم في الفئران المعدلة وراثياً[19].

بنزوات الصوديوم والعديد من القرفة مركبات مشتقة يمكن العثور عليها للحماية ضد التشكيل العصبي المستحث تجريبياً في العديد من الكائنات مثل الديدان الخيطية وذبابة الفواكه [20]

عمل البنزوات على الجهاز العصبي العضلي يعزى عموماً الى قدرة البنزوات على العمل كعامل مثبت للامينو اسد اوكسيديز (DAAO) وهو واحد من الانزيمات التي تنضم مستوى القشرة الداخلية (D-Serine) للجليسين الذي يرتبط على وحدة (NR1) لمستقبلات (NMDA) المختلفة في منطقة الدماغ .

Zinc benzoate :- هي ملوثات بيئية مشتقة من الفوليسيرن تعمل بطريقة مماثلة[21] بسبب تشوهات مستقبلات (NNDA)

المتسبب فيها كل من العلامات الموجبة والسالبة للانفصام الشخصية .

هناك الكثير من الاهتمام في التطور القوي واختيار مثبطات الـ (DAAO) لمعالجة هذه الحالات .

زيادة وضيفة مستقبلات الـ (NMDA) بواسطة تثبيط درجات (DAAO) للسيرين [22]

قد تؤدي بنزوات الصوديوم الى تفاقم اعراض او نوبات اضطرابات نقص الانتباه / فرق النشاط , او اضطرابات فرق الحركة ونقص الانتباه وفقاً لمابوكلينيك . تكون الحالة شائعة لدا الاطفال ولكنها قد تكون موجودة عند البالغين ايضا .

وقد يكون للافراد المصابون نسيانا ويجدون صعوبة في التركيز واتباع الاتجاهات او اظهار الاندفاع.

من الصعب تحديد العلاقة الدقيقة بين البنزوات والمواد الغذائية لان الاضافات الغذائية الاضافية في ADHD الصوديوم ونفس الاطعمه في بنزوات الصوديوم وقد يكون لها تأثيرات متشابه .

من التوصيات الشائعة بشان اضطراب فرق الحركة ونقص الانتباه يجب التركيز على الاطعمة الطازجة غير المعالجة .

18- Jana and others ,2013 : Khasnavis and pahan ., 2014

19-Modi and others , 2015

20- Stavinoha and others , 2015

21- Egashira and others , 2003

22- Smith and others , 2010 – Sacchi and others , 2013 –Chue and lalonde , 2014 – Hashimoto , 2014

المواد وطرق العمل

حيوانات التجربة :-

اجريت هذه الدراسة في البيت الحيواني التابع الى قسم علوم الحياة و كلية العلوم / جامعة القادسية حيث تم استخدام اثنى عشر من الجرذان البيض والتي تم الحصول عليها من كلية العلوم / جامعة القادسية .

ووضعت حيوانات التجربة في اقفاص بلاستيكية خاصه ذات اغطية معدنيه مشبكه و معزوله و مشبكه و مفروشه بمادة نشارة الخشب و تحت عنايه بنظافة الاقفاص و تعقيمها بمطهرات فضلاً عن تنظيف قناني الأرواء و غرفة الأيواء.

خضعت حيوانات التجربه الى ظروف مختبريه قياسيه بدريجة حرارة من (20-25) درجة مئويه و قد زودت الحيوانات خلال مدة التجربه و بصوره حره بالماء العلميه القياسيه (9% بروتين 3000 سعره).

بنزوات الصوديوم:-

تم استخدام مادة بنزوات الصوديوم في هذه الدراسه حيت تم الحصول عليه في (قسم علوم الحياة/كلية العلوم/جامعة القادسيه) حيت استخدمت بتركيزين من البنزوات و هما (200-400) ملغم/كغم من وزن الجسم ثم حضنت الحيوانات تحت البريتون بواقع (1) مل لكل حيوان كما في الشكل ادناه.

شكل يوضح الحقن تحت البريتون

تصميم التجربه:-

تضمنت دراسة تأثير الحقن تحت الشغاء البريتوني لبنزوات الصوديوم بتركيزين مختلفين على تأثيرها على الجهاز العصبي.

حيث تم استخدام 12 من الجرذان و قسمت الى ثلاث مجاميع تضمنت كل مجموعه 3 من الجرذان و كما يلي

1-المجموعه الأولى:- مجموعة السيطره و تضمنت (3) من الجرذان.

2-المجموعه الثانيه:- مجموعة المعامله بتركيز (200) ملغم/كغم من وزن الجسم.

3-المجموعة الثالثه:- مجموعة المعامله بتركيز (400) ملغم/كغم من وزن الجسم.

الدراسة النسيجية Histological study

تحضير المقاطع النسيجيه (luna 1968)

Preparation of histological sections

1- التثبيت Fixation : ثم تثبيت العينات المدروسه (الدماغ) بأستخدام الفورمالين (10%) ، حيث ان التثبيت يجعل النسيج اكثر ملائمه للتصبيغ و يتراوح وقت التثبيت 24-28 ساعه.

2-الغسل و الانكاز Washing and dehydration : غسلت العينات في الماده لمدة ثلاث ساعات لأزالة الفورمالين ثم تمرر العينات بسلسلة تراكيز تصاعديه من الأيثانول 70%, 100% and 95%, 90%,80% لحوالي 1-2 ساعه لكل تركيز.

3-الترويق Clearing : تجري هذه العمليه لأزالة محلول الأيثانول و ذلك بأستخدام الزايلين ثلاث مرات.

4-التشريب Infiltration : بأستخدام شمع البارافين السائل في 56-58 درجه مئويه لمرتين.

5-المطر Embedding : يتم ادخال العينات في كونتينرات containers تحتوي على البارافين السائل في 56-58 C^o . و تترك في درجة حرارة الغرفه حتى تتصلب بعد ذلك تتحرر من الكونتينرات و توضع في التجميد.

6-التقطيع Sectioning : يتم استخدام المشراح الدوار Rotary microtome لعمل مقاطع بسمك 5 مايكرومتر ، و توضع بعد ذلك في حمام مائي في (50-55) C^o ثم يتم وضع مقاطع نسيجيه على سلايدات مؤشره بألبومين ماير Mayer's albumin .

تصنيع المقاطع النسيجية (Luna.1965)

Staining of histological sections

1- ازالة البارافين Deparaffinization : يتم في هذه الخطوه ازالة البارفين من الشرائح الزجاجية slides بواسطة وضعها في الفرن (55-70 C^0) لمدة 5 ساعات ، ثم توضع في الزايلين لمدة ساعة

2- تجفف الشرائح الزجاجية من الزايلين ويعاد لها الماء rehydration من خلال وضعها في سلسلة تراكيز تنازلية من الكحول الاثيلي 100% , 90 % , 80 % , 70 % , 50 % لحوالي 2-3 دقائق في كل تركيز ثم تغسل بالماء لمدة 5 دقائق .

3- توضع الشرائح الزجاجية في صبغة هيما توكسلين – هاريس Harris-hematoxy lene لمدة ربع ساعه .

4- الغسل بالماء الجاري

5- توضع الشرائح الزجاجية بالكحول الحامضي acidic – alcohol لبضع ثواني

6- تغسل الشرائح الزجاجية بالماء حتى يعود اللون الازرق

**7- توضع الشرائح الزجاجية بصبغة الايوسين المائية لمدة 10 دقائق **

8- تغسل بالماء الجاري

9- الانكاز بواسطة وضع الشرائح الزجاجية في سلسلة من تركيز تصاعدية من الايثانول 70 % , 80 % , 90 % ,

100 % لمدة 2-3 ثواني في كل تركيز

10- توضع الشرائح الزجاجية في الزايلين لمدة 24 ساعة

11- تحميل Moun ting السلايدات مع مادة لاحقة (D.P.X) ووضع غطاء الشريحة ، ثم تترك حتى تجف وتفحص

فحص الشرائح النسيجية :-

تم فحص الشرائح النسيجية (الدماغ) باستخدام المجهر المركب Compound microscope تحت قوة التكبير 4x ,

10x على التوالي لغرض الدراسة النسيجية والفسلجية .

التصوير المجهري

تم التقاط صور للمقاطع النسيجية (الدماغ) بأستخدام المجهر المركب olympus , compound microscope BH_2

المزود بكاميرا تصوير نوع Dcm310 camera

التحليل الاحصائي Statistical Analysis

اخضعت النتائج للتحليل الاحصائي بهدف معرفة الفروق المعنوية بين معدلات المعايير المدروسة واجريت المقارنات باستخدام تحليل في اتجاه واحد (ANOVA1) وقد حددت الفروق المعنوية على مستوئ احتمال (5 %) . واستخرجت جميع التحليلات الاحصائية باستخدام برنامج Graphprism – 5 كما تم اختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار اقل فرق معنوي LSD وعلى مستوى احتمالية 0.05 .

النتائج والمناقشة

تاثير تأثير بنزوات الصوديوم على انسجة الدماغ

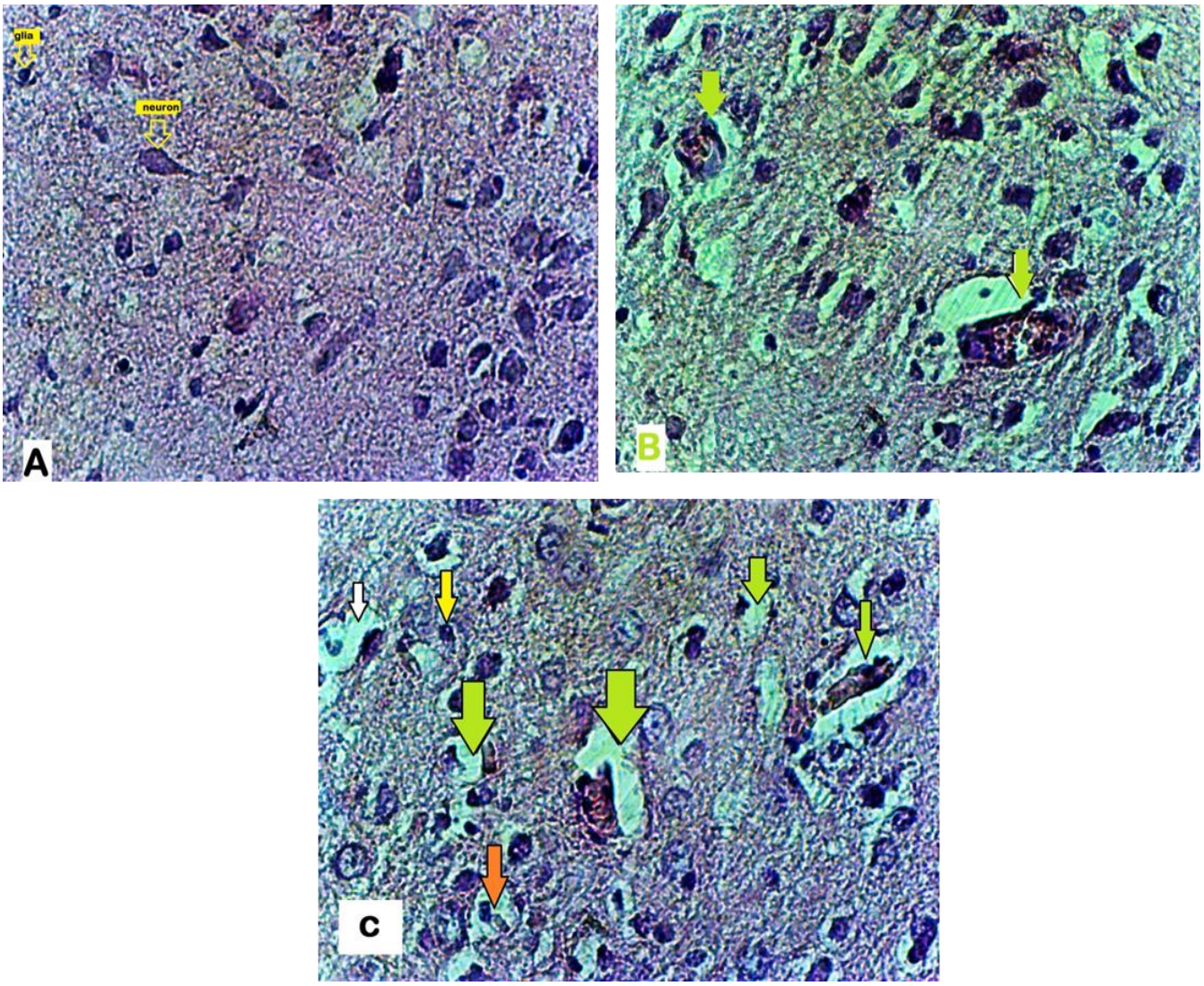
1 - قشرة المخ :-

اوضحت نتائج الفحوصات المجهرية لانسجة مخ للجرذان (شكل 1) تأثير بنزوات الصوديوم على انسجة قشرة مخ الجرذان لمجموعتي المعاملة الاولى و الثانية (B&C) مقارنة بمجموعة السيطرة التي تميزت بمقاطع طبيعية وتركيب نسيج عصبي سليم اذ تميزت الخلايا العصبية neurons بشكلها الطبيعي مثلثة الشكل وعدد قليل من الخلايا الدبقية glia cell (A) . في حين لوحظ تفجج واضح في الخلايا العصبية لمجموعتي المعاملة الاولى و الثانية (B&C) اذ تظهر الخلايا العصبية دائرية محاطة بفجوة ونواة محيطية مع تحلل في اجسام النسل وتعرف هذه الظاهرة بالتحلل الكروماتيني اضافة الى وجود احتقان في الاوعية الدموية.

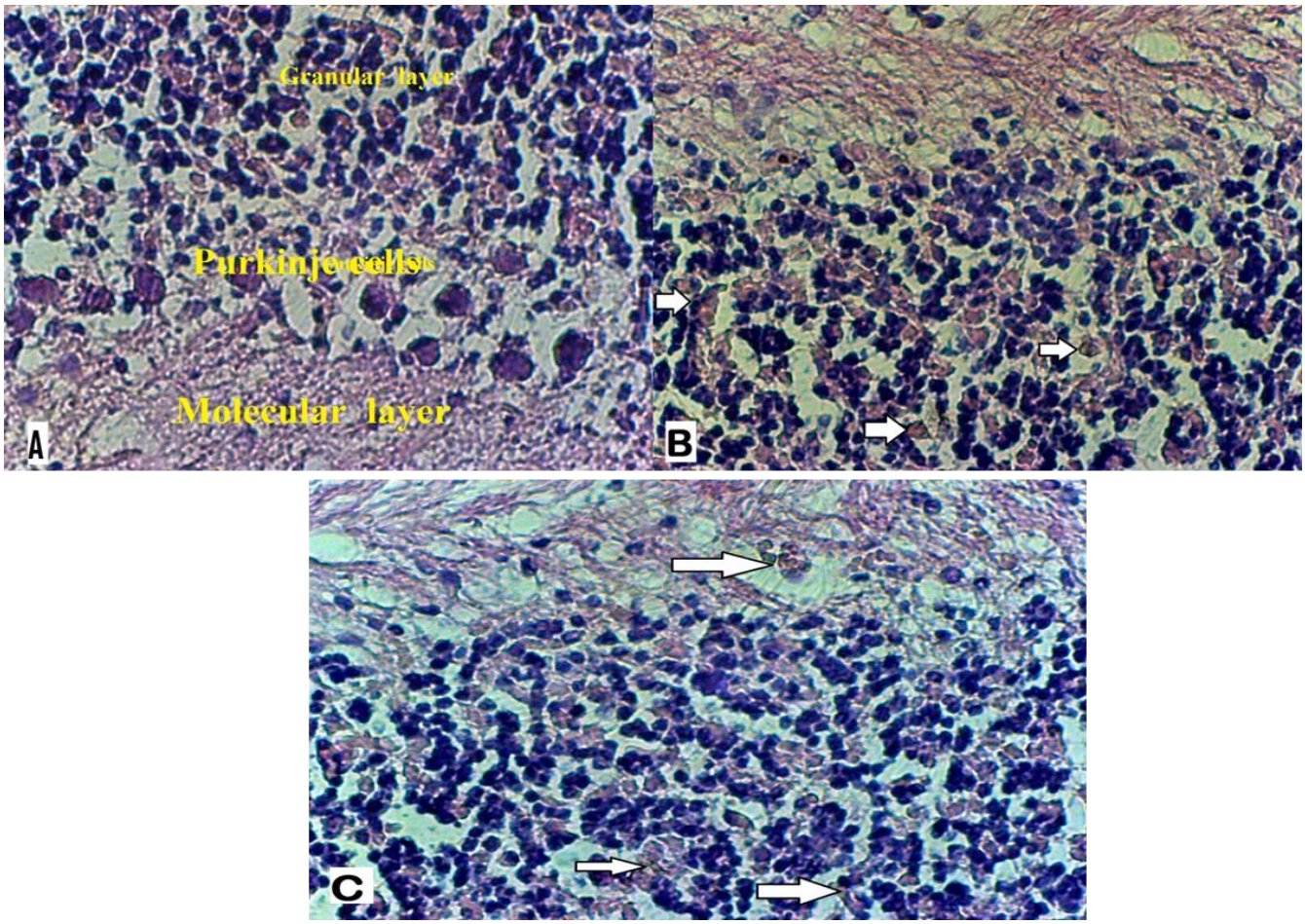
2 - قشرة المخيخ

اوضحت نتائج الفحوصات المجهرية لأنسجة مخيخ للجرذان (شكل 2) تأثير بنزوات الصوديوم على انسجة قشرة المخيخ لجرذان مجموعتي المعاملة الاولى و الثانية (B&C) مقارنة بمجموعة السيطرة التي تميزت بمقاطع طبيعية وتركيب نسيج عصبي سليم اذ تميزت قشرة المخيخ المتكونة من طبقات سليمة شملت الطبقة الجزيئية Molecular Layer وخلايا بركنجي وطبقة حبيبة granular layer(A), من جانب آخر لوحظ تأثر خلايا قشرة المخيخ في مجموعتي المعاملة الاولى والثانية باحتقان وتحلل كروماتيني في خلايا الطبقتين الجزيئية والحبيبة (B&C)

ان مجمل التغيرات الحاصلة بانسجة الدماغ ممكن ان تعود الى تأثير البنزوات من خلال تسببه في الاجهاد التاكسدي للخلايا اذ تؤدي البنزوات الى توليد الجذور الحرة عن طريق اكسدة الدهون وباقي العضيات وخصوصا اغشيتها كما يؤثر على البروتينات التركيبية في الخلية مؤدية بذلك الى تحفيز الموت المبرمج الذي يعرف بـ apoptosis وجميع ذلك يؤثر سلبا في انسجة الجسم ومنه الجهاز العصبي



شكل (1) يوضح تأثير بنزوات الصوديوم السمية على انسجة قشرة مخ الجرذان المعاملة يلاحظ تفجج الخلايا العصبية (السهم الاحمر)واحتقان الاوعية الدموية (الاسهم الخضر) وتكاثر الخلايا الدبقية (السهم الاصفر)هيماتوكسلين و آيوسين X400.



شكل (2) يبين تأثيرات البنزوات السمية في انسجة قشرة المخيخ اذ يلاحظ وجود تحلل كروماتيني في خلايا طبقتين الجزيئية والحبيبية (الاسهم البيضاء) اضافة الى احتقان الاوعية الدموية (السهمالاخضر)X400

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في قسم علوم الحياة في جامعة القادسية لغرض تحديد بعض التاثيرات التي تسببها مادة بنزوات الصوديوم على الدماغ والجهاز العصبي للجرذان حيث تم استخدام اثنى عشر من الجرذان البيض .

حيث قسمت الجرذان عشوائياً الى ثلاث مجاميع وهي : مجموعة السيطرة :- التي تتضمن ثلاث جرذان . ومجموعة

المعاملة بتركيز 200 (حقنت ببنزوات الصوديوم بتركيز 200 ملغم / كغم من وزن الجسم) ومجموعة معاملة بتركيز 400(حقنت ببنزوات الصوديوم بتركيز 400 ملغم / كغم)

حيث حقنت كل المجاميع تحت الغشاء البروتيني يومياً ولمدة اسبوعان .

قتلت الحيوانات بعد انتهاء التجربة وثم استئصال الدماغ لغرض اجراء دراسة التغيرات فيها فاضهرت هذه التغيرات في انسجة المخ للجرذان ذات تأثير ببنزوات الصوديوم على انسجة قشرة مخ الجرذان لمجموعتين المعاملة الاولى والثانية

مقارنة مع مجموعة السيطرة التي تميزت بمقاطع طبيعية وتركيب النسيج العصبي سليم في حيت لوحظ تفجج واضح في الخلايا العصبية لمجموعتي المعاملة الاولى والثانية .

حيث ظهرت الخلايا العصبية اثرية محاطة بفجوة ونواة ميحيطية وتحلل اجسام النسل . اما في قشرة المخيخ في مجموعتي المعاملة الاولى والثانية لوحظ احتقان وتحلل كروماتيني في خلايا الطبقتين الجزيئية والحبيبية

المصادر

1- Spepherd G.M(1994) , oxford university press

2- Baileg , Regina human ,Anatomared biology .about . inc

3-(2001,occd sids)

4-(FDA,2011, stanojevic .et.al.,2009 ., Heydrginiael .el. al.2011

5-(Nishna . et.al., 2012 , Pahan, 2011)

6- (Zengin .et.al., 2011, Bnrdock , 2005)

7-(Beyoglu andldle 2012 Afshar ., et .al ., 2013)

8- Beyoglu and idle , 2012 , Gonzalez .et .al. , 2011

9- ogawa et . al. , 2011 ., penner .et .al., 2010

10- -(oyewole., et. at., 2012)

11--(Beyoglu and ldel . 2012)

12-(Mu et.al.,2011)

13-(sudakov.et.al.,2013)

14-(Sonrabi ., et.al., 2007)

15-)Lu and shen , 2006)

16-(Ebere chukwu. et.al.,2007)

17- (Ebere chukwu. et.al., 18- Jana and others ,2013 : Khasnavis and pahan ., 2014

19-Modi and others , 2015

20- Stavinoha and others , 2015

21- Egashira and others , 2003

22- Smith and others , 2010 – Sacchi and others , 2013 –Chue and lalonde , 2014 – Hashimoto , 2014)