التأثيرات السامة للمادة المضافة للوقود ميثيل ثلاثي بيوتيل الإيثر (MTBE) على الحيوانات المنوية و هرمونات خصية الفئران

Mohammed Ali Mohammed AL Fakih *
Department of Biological Sciences, Albaydh'a University, Yemen.
Email: fakih2005@hotmail.com

DOI: https://doi.org/10.56807/buj.v1i1.1

Abstract

The present study is concerned with the effect of different MTBE on the Spermatogenesis and testis hormones levels of mice male. They were divided into four groups as follow: (0, 2000, 4000 ppm). And its treated by different doses from MTBE whereby the duration of this study has been for sixty days. Spermatogenesis their number, weight of testis, body weight and relative testis were studied. At the end of the experimental period were had body weight, weight of testis and relative testis.

Moreover blood samples were individually obtained from the mice at the end of the experimental period for measuring concentration Testosterone, LH and FSH. The present study has shown a significant decrease in means of body weight, testis weight, Spermatogenesis numbers in all groups of animals which treated with MTBE, this a significant decrease has been (P<0.05). But this a significant decrease comparative control group were more noticed within 2000, 4000 ppm of MTBE groups. Statistical analysis of control groups when compared with all experimental groups of LH hormone levels have shown increase significant differences between control and all experimental groups during 60 days from treated by MTBE whereby was increase high in group 4000 ppm when compared with all experimental groups. On the other hand control groups when compared with all experimental groups of testosterone levels have shown decrease significant differences between control and experimental groups during 60 days from treated by MTBE in all groups 1000, 2000, 4000 ppm.

Key words: Methyl tert-butyl ether ; MTBE ; Mice ; Tests ; Sperm ; Testosterone.

الملخص

هدفت وركزت هذه الدراسة على مدى تأثير مادة MTBE على الحيوانات المنوية، والمستويات الهرمونية لهرمونات الخصية في 120 من ذكور الفئران البالغة من فصيلة سويس (Swiss)، وقد قسمت الفئران إلى أربع مجموعات كما يلي: (0,1000, 2000, 4000 ppm) تم تجريعها باستخدام الأنبوبة المعدية من مركب MTBE لمدة 60 يوما. وبعد انتهاء التجارب المعملية تم وزن الجسم والخصية وتحديد الوزن النسبي للخصية، كما أخذت عينات الحيوانات المنوية وتم دراسة عددها ، وفي نفس الوقت جمعت عينات من الدم من كل حيوان استخدمت لقياس تركيز هرمونات (Testosterone, LH and FSH)، وقد اظهرت هذه الدراسة حدوث نقص معنوي في أوزان الجسم والخصية، وعدد الحيوانات المنوية في جميع مجاميع الدراسة وبفارق معنوي وصل (P<0.05)، وكان أكثر انخفاضا ونقصاً في مجموعتي (2000, 4000 ppm) مقارنة بالمجموعة الضابطة Control، كما بينت النتائج أن مركب MTBE له تأثير على المستويات الهرمونية للخصية، حيث وُجِد ارتفاعٌ معنويٌ وصل (P<0.001) في مستوى هرمون LH في كل المجموعات، وكانت مجموعة (4000 ppm) أكثر ارتفاعاً مقارنة ببقية المجموعات المعالجة بمركب MTBE مقارنة بالمجموعة الضابطة Control، وكذلك بالنسبة لهرمون Testosterone وُجِد نقصٌ معنويٌ في كل المجموعات المعالجة بمركب MTBE (1000, 2000, 4000 ppm) مقارنة بالضابطة.

1-المقدمة Introduction:

تحظى قضايا البيئة وتأثير الملوثات على الصحة العامة في وقتنا الحاضر باهتمام عالمي كبير تتجلى من خلال عقد الندوات والمؤتمرات، وتشكلت الجمعيات والهيئات والمؤسسات البيئية على كافة المستويات المحلية والإقليمية والدولية، إلى جانب تناول وسائل الإعلام بمختلف صورها لقضايا البيئة. وجاء الاهتمام العالمي بالبيئة بعد ما تفاقمت المشكلات البيئية، وبدأت مظاهر التدهور واختلال النظم البيئية تدق ناقوس الخطر مهددة بذلك الحياة الإنسانية على سطح الأرض. كما أن هذه التأثيرات والمشكلات البيئية بقيت ضمن حدود السيطرة، حتى ظهرت بشكل سريع بعد ظهور الثورة الصناعية والتكنولوجية بجميع مجالاتها، وإنْ كانت هذه الثورة قد أسهمت إلى حد ما في تخفيف المعاناة، وزيادة الرفاهية، إلا أنها قد ساعدت إلى حد كبير في تدمير البيئة المحيطة بالإنسان، وتتراوح خطورة المشاكل بحسب نوعية التلوث ودرجته وتركيزه ومناطق وجوده، ويعد استخدام المنتجات البترولية أحد مصادر التلوث البيئي الرئيسية، ويعد استخدام مركب Methyl *tert*-butyl ether (MTBE) -، الذي يُحضر

من المنتجات البترولية ،وتضاف إلى الوقود لرفع وتدعيم الأوكتان وتحسينه – أحد مصادر التلوث الشائعة في العديد من الدول. وهذا المركب واسع الاستخدام في الولايات المتحدة الأمريكية بكميات كبيرة وهائلة (CONCAWE., 2012) ، وفي مطلع عام 2000م قررت المملكة العربية السعودية التوقف التدريجي عن استخدام وقود السيارات المحتوي على مادة الرصاص، واستخدام مادة MTBE.

يعد مركب MTBE من المركبات التي تضاف إلى الجازولين Gasoline ؛ لزيادة نسبة الأكسجين لحرق الوقود، والتقليل من انبعاثات المواد الخطرة أثناء علمية الحرق، وكذلك لرفع وتدعيم الأوكتان وتحسينه.

الأيض و الحركة (MTBE) Metabolic and kinetic

أثبتت معظمُ الدراسات أن أيض مركب MTBE في الإنسان تكون مماثلة لما يحدث في الجرذان ، بالرغم من وجود بعض الاختلافات في معدل الأيض (Hong *et al.*, 1997b; Nihlén *et al.*, 1998a; Amberg *et al.*, 1999)، فقد وُجد Hong *et al.* (1999) أن الطرقَ الأيضية لأكسدة MTBE في الإنسان والجرذان تتم بواسطة cytochrome P-450 (CYP) الذي يعتبر المسؤول عن تحويل MTBE إلى *Tert*-butyl alcoh (TBA) وفورمالدهيد formaldehyde والذي يتكون أثناء الخطوة الأولي من الأكسدة بواسطة نزع الميثيل [demethylation ، وأن مركب TBA يتأكسد إلى 2-methyl-1,2-propanediol و 2-hydroxyisobutyric acid (Hutcheon *et al.*, 1996). علماً بأن معدل التأييض في كبد الفئران، والجرذان أعلى نشاطاً بضعفين عما هو عليه في كبد الإنسان، كما تشير الدراسات الدوائية الحركية Pharmacokinetic بأن معالجة MTBE تتم بصورة مكتملة وتامة في الفئران بعكس ما هو عليه في الإنسان. ففي الفئران يمتص بسرعة ويطرح بسرعة على هيئة TBA MTBE ،أما في الإنسان يطرح على هيئة مركب TBA ولا تحدث عملية الأيض لهذا المركب بصورة كاملة، ولذلك فإن المركب يوجد بصورة كبيرة ومركزة في بول الإنسان أكثر من بول الفئران. وقد أظهرت الدراسة التي قام بها Amberg *et al.* (1999) أن حقن أمبولة واحدة من MTBE في الفأر والإنسان، أظهرت بأن نسبة تركيز MTBE و TBA في بول الإنسان أعلى من نسبة تركيزه في الفئران، كما تشير النشاطات الدوائية أنه يمكن أن يتخلص الدم من مركب MTBE بشكل أسرع من TBA والذي يبقى في الدم لفترة كبيرة (Poet *et al.*, 1997 و Nihle´n *et al.*, 1998a).

التأثيرات الحيوية لـ MTBE:

تأثير MTBE على الخصية:

تعد الأجهزة التناسلية من الأجهزة التي تكون مقاومتها عالية للتغيرات البيئية ، ولكن وجد أنها تتأثر وتصاب ببعض التغيرات النسيجية نتيجة تعرضها لمركب MTBE. وقد أجريت العديد من الدراسات لمعرفة مدى تأثر الأجهزة التناسلية بـ MTBE، حيث خلصت دراسة قام بها Ahmed and Thomas, (1992) إلى توقف جميع المضادات الحيوية لهرمون الإستروجين نتيجة التعرض لـ MTBE.

أثبتت العديد من الدراسات أن الجهاز التناسلي الذكري يصاب ببعض التغيرات النسيجية نتيجةً لتعرضه لمركب MTBE ، ومن هذه الدراسات أن استنشاق مركب MTBE يسبب أورام في أنسجة الخصية في ذكور جرذان Sprague–Dawley rats (Belpoggi *et al.*, 1995; Bird *et al.*, 1997; Dodd *et al.*, 2013). كما أقترح Moser *et al.* (1996b) أن مركب MTBE عند جرعة 8000ppm يقلل من أنتاج هرمون الأستروجين Estrogen hormone، كما يحدث نقص وتثبيط في أعداد مستقبلات الأستروجين Estrogen receptor في رحم إناث الفئران، مما يؤدي إلى أورام رحمية Uterine tumors ، و خلل في طلائية المهبل vaginal epithelium ، وأن تثبيط الأنزيمية مثل Aromatase يسبب اضطرابات في النشاطات الهرمونية مسببا نقص في وزن الرحم والمبيض (Bermudez., 2012). بالإضافة إلى ذلك وجد Moser *et al.* (1998) أنَّ التركيزات العالية (8000ppm) من مركب MTBE تؤدي إلى نقص في وزن الجسم والمبيض والرحم وتزيد من مدة الدورة النزوية (الطمثية) Estrous cycle في القوارض، كما لاحظ أيضاً من خلال العمليات المستولوجية تغيرات نسيجية في الجهاز التناسلي الأنثوي شملت تناقصاً في عدد الطبقات الطلائية المبطنة للمهبل وعنق الرحم، بالإضافة إلى نقص في عدد الخلايا الطلائية لغدد الرحم. وأثبت دراسات كلّ من (Hard and Seely. 2005; McGregor 2006; Cruzan *et al.* 2007) بأن القوارض أصيبت نتيجة لتعرضها لتركيزات عالية من مركب MTBE ، بأورام وتسرطنات خلوية في الغدد اللمفاوية lymphoma mouse والخلايا التناسلية الذكرية، خاصة خلايا ليدج Leydig Cell. وفي دراسة قام بها Li *et al.* (2009) : Li *et al.* (2007) وجِد أنَّ مركب MTBE يحدثُ إجهاد في الأكسدة للخلايا التناسلية خاصة الخلايا المنوية spermatocytes وذلك عند تركيز (0.5 mg\ Kg- 5 mg\ Kg). من خلال الاختبارات الباثولوجية Pathological tests لاحظ Li *et al* (2008) في Li and Han (2006): دراسة قام بها خارج الجسم *in vitro* وداخله *in vivo* حدوث تغيرات نسيجية هامة نتيجة تعرض الجرذان لمركب MTBE بتركيزات (0, 400, 800 and 1600 mg/kg/day) وهذه النتائج تتلخص في : حدوث شذوذ في الحيامين الذكرية Abnormal sperm وأضرار في الطبقة الطلائية للأنيبيبات المنوية the seminiferous epithelium ،وتشمل تغيرات تركيبة وتشوهات في الترتيب التركيبي لهذه الطبقة .

التأثيرات الهرمونية:

يعتبر هرمون الاستروجين Estrogen hormone ضمن مجموعة من الهرمونات الأستيرويدية Steroid hormones المعروفه بتأثيراتها على الدورة النزوية Estrous cycle، وهي مواد لها علاقة بالنظام الإفرازي endocrine system للغدد الصماء (Gross, *et al.*, 2006)، ومن خلال الدراسات التي أجريت لمعرفة تأثير MTBE على الهرمونات التناسلية فقد لاحظ Borghoff and Williams. (2000) زيادة في أيض هرمون الإستروجين Estrogen في إناث الفئران وتقترح هذه الدراسة بأن MTBE يعرقل الإشارة الهرمونية الطبيعية للإستروجين. وجدت الدرا سات لكلاً من Clegg., (1997); William., (2000); De peyster *et al* (2003); De peyster *et al* ., (2008) أن مركب MTBE يمنع بناء هرمون Testosterone ويخفض مستوى توزيعه وانتشاره، كما يؤدي إلى نقص في مستوي هرمون Luteinizing hormone (LH) و Follicle -stimulating hormone (FSH) في الفئران التي تعرضت للجرعات العالية (1000, 1500 mg\kg) من MTBE. كما وجد Li *et al.* (2008) من الاختبارات الباثولوجية نقص في نسبة هرمون التيستوستيرون (T) Testosterone ، وهرمون Luteinizing hormone (LH) و Follicle -stimulating hormone (FSH) في الجرذان خلال 14 يوماً من التعرض لـ MTBE عند تراكيز (400- 1600 mg\ Kg) ، مقارنة بالمجموعة الضابطة Control. هدفت هذه الدراسة لمعرفة تأثير مادة Methyl *tert*-butyl ether (MTBE) المضافة إلى الوقود على المناسل gonads وخاصة الخصية في الذكور البالغة في الفئران Mice ، وذلك من حيث التأثير على وزن الخصية ، ومحتويات السائل المنوي من الحيوانات المنوية من حيث عددها ، ومستويات بعض الهرمونات مثل هرمون.

المواد وطرق العمل Material and methods

المواد الكيميائية Chemicals:

مركب MTBE_ميثيل ثلاثي- بيوتيل إيثر (MTBE) تم الحصول عليه من أحد الشركات النفطية من المانيا وتكون نسبة النقاوة (98,9%).

الحيوانات Animals:

تم الحصول علي 120 فأر Mice ذكور بالغة من سلالة (Mus musculus) Mf1 من مركز الملك فهد للأبحاث الطبية King Fahad Mdical Rsearch Center ، ثم قُسمت الحيوانات، بعد عملية الوزن إلى مجموعات حسب الجدول (1) كالتالي:

Group No.		No. of mice	Conc. Of . MTBE	
			ppm	g\L
Control	water	30	0.0	0.0
MTBE groups	1,000 ppm	30	1.000	1.0
	2,000 ppm	30	2.000	2.0
	4,000 ppm	30	4,000	4.0

Table 1: Animals divided depend on Concentration of MTBE in water

3–التجارب المعملية:

وزن الجسم والأعضاء Body weight and orgens:

تم وزن الحيوانات نهاية فترة الدراسة، وتم إستخراج الخصية من الحيوان، وبعد ازالة كل المتعلقات المتصلة بها تم وزنها بـ (ملجم) ، وحول النتائج إلى (الجرام) ؛ وذلك لإيجاد العلاقة بين وزن الخصية ووزن الجسم في كل مجموعة ، ومقارنتها بالمجموعة الضابطة.

جمع السائل المنوي Semen collection from mice :

لجمع السائل المنوي من الفأر، تم استخدام جهاز القذف الكهربي من إنتاج شركة Beltron instruments موديل Model AC-1، تم جمع السائل المنوي من الفأر وفق طريقة Tecirlioglu *et al.*, (2002)، كما تم دهن المجس الكهربائي Rectal probe بمادة مزلقة Lubricated Aslam *et al.*, (2002)، ثم يستقبل السائل المنوي في أنبوب نظيف ودافئ Eppendrof cap (حرارته 37 °م). فإذا كانت كمية السائل المنوي قليلة فإنه يُجمع بواسطة ماصة شعرية Capillary pipette 25µL، بعد ذلك يوضع الأنبوب في كأس به ماء دافئ حرارته 37°م؛ لتبريد السائل المنوي بشكل تدريجي، حتى الوصول إلى درجة حرارة الغرفة، حيث يتم فحص لون السائل بالملاحظة المباشرة وقياس حجم الدفقة Ejaculate volume بواسطة ماصة آلية Automatic pipette (0–100µL)، ثم نقوم بتقية الخطوات حيث يتم تقدر عدد الحيوانات المنوية Number of spermatozoa ($x10^7$/ml) وفق المعادلة التالية:

عدد الحيوانات المنوية في 1مل = عدد الحيوانات المنوية المعدودة × عدد مرات التخفيف / 0.02

1- **المجموعة الضابطة (control)**: وهي المجموعة القياسية التي لم تتعرض لمادة MTBE ، وتم استبدال هذا المركب في هذه المجموعة بالماء.

2- **مجموعة (MTBE)**: وهذه المجموعة قسمت إلى ثلاث مجموعات كل مجموعة عرضت إلى مادة MTBE حسب الجدول (1) يومياً لمدة 60 يوما

وذلك بإستخدم طريقة العد المباشر بواسطة الشريحة المستخدمة في تقدير عدد كريات الدم Haemocytometer ، وقد تم إستخدام مجموعة عد نيوبار Neubaure المحسنة Wyrobek and Bruce (1975).

الدراسات الكيموحيوية Biochemical studies:

1.تقدير مستوى الهرمونات في مصل الدم Serum hormones:

يُخدر الحيوانُ بجرعة من Pentobarbitone Sodium مقدارها 40 ملجم/كجم من وزن الجسم، ثم يتم سحب الدم ببطء وعناية تامة من القلب مباشرةً Cardiac heart puncture بإدخال إبرة دقيقة جدا (إبرة أنسولين) ببطء شديد بزاوية مقدارها 30 درجة عن المحور السيني X-axis تحت الغضروف Cartilage على يسار الخط الوسطي بقليل Waynforth., (1980) ، وبهذه الطريقة يمكن الحصول على حوالي 0.5- 1.5 مل من الدم من كل فأر تأخذ العينة ويتم فصل البلازما بالطرد المركزي centrifugation عند 1700g لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة 4°م ثم خُزنت البلازما في درجة حرارة – 20°م لحين قياس الهرمونات (Tetestosterone و LH و FSH).

التحليل الاحصائي Statistical analysis:

لتقدير الفرق المعنوي في وزن الجسم، ووزن الخصية، وعدد الحيوانات المنوية ، ومستوى الهرمونات يتم استخدام الاختبار الإحصائي *t*-test ؛ وذلك لأنها تتبع التوزيع الطبيعي، ويتم عرض النتائج في رسوم بيانية بصيغة المتوسط ± الخطأ المعياري Means ± standard errors. وتم إجراء العمليات الاحصائية باستخدام البرنامج الحاسوبي Sigma stat الاصدار الثالث علماً بأن N= 6 لكل الاختبارات الاحصائية.

النتائج Result

نتائج الوزن Weight results خلال 60 يوماً من المعالجة بمركب MTBE:

أظهرت الدراسة الحالية ومن خلال الجدول (2) نقصاً معنوياً في متوسط أوزان الحيوانات في كل مجاميع الدراسة، وكانت الإختلافات في وزن الجسم معنوية شكل (1) حيث كان نقص الوزن بالمجموعتين المعالجة بـ (2000, 4000 ppm) من مركب MTBE كبير وصل إلى (26.97± 0.18) في مجموعة 4000 ppm و(27.23 ± 0.22) في مجموعة 2000 ppm على التوالي وبفوارق معنوية ($P \leq 0.001$)، بينما في مجموعة الفئران المعالجة بـ (1000 ppm) فقد كان نقص الوزن اقل مقارنة بالمجموعة الضابطة Control (32.44 ± 0.25) ووصل إلى (29.56 ± 0.18) وبفرق معنوي ($P \leq 0.001$).

اظهرت نتائج الدراسة الموضحة من الجدول (2) والمعالجة بمركب MTBE انخفاض معنوي ($P<0.05$) في وزن الخصية في مجموعتي (2000, 4000 ppm) الشكل (2) حيث كان وزن الخصية في مجموعة (4000 ppm) (0.00171 ± 0.02) وفي مجموعة (2000 ppm) (0.00178 ± 0.08) مقارنةً بالمجموعة الضابطة (0.124 ± 0.00182)، في حين لم يُلاحظ وجود فرق معنوي في وزن الخصية في مجموعة (1000 ppm) (0.00159 gm ± 0.120). لوحظ أن الوزن النسبي للخصية Relative weight of testis هو العلاقة بين وزن الخصية، ووزن الجسم ويساوي (وزن الخصية / وزن الجسم) قد انخفض جدول (2) وبفرق معنوي ($P<0.05$) في مجموعة (4000 ppm) ومجموعة (2000 ppm)

. Group	Weight After 0 day (g)	Weight After 60 day (g)	Weight testis After 60 day (g)	Relative weight of testis

Control		28.46 ±0.037	32.44 ± 0.25	0.124 ± 0.00182	0.00352 ± 0.000
MTBE	1,000 ppm	28.7 ± 0.044	29 ± 0.56	0.120 ± 0.00159	0.00347 ± 0.000
	2,000 ppm	28.6 ± 0.054	27.23 ± 0.22	0.08 ± 0.00178	0.00272 ± 0.000
	4,000 ppm	28.86 ± 0.02	26.97± 0.18	0.02 ± 0.00171	0.00202 ± 0000

Table (2): Effect of different MTBE concentrations on weight of mice (from 0 – 60 days).

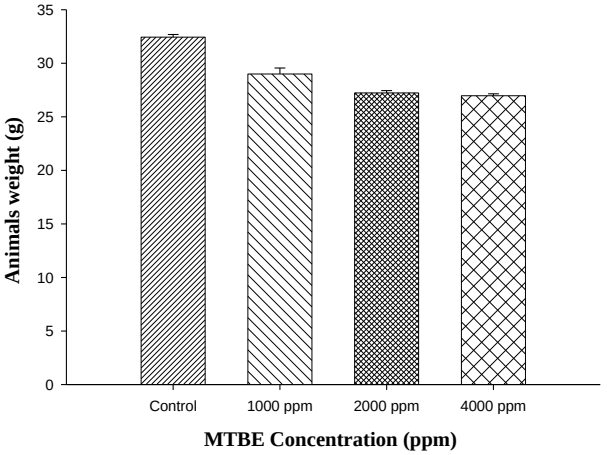
عدد الحيوانات المنوية (x10^7/ml) :Number of spermatozoa

لوحظ حدوث انخفاض كبير في عدد الحيوانات المنوية في كل مجاميع الدراسة (1000, 2000, 4000 ppm) ولكن في مجموعة (4000 ppm) كان شديد الانخفاض الشكل (3)، حيث تم تسجيل أقل عدد للحيوانات المنوية 0.38 x 10^7 /ml مقارنةً بالمجموعة الضابطة 1.83 x 10^7 /ml وبفرق معنوي (P<0.001)، ومن الملاحظ أن عدد الحيوانات المنوية في مجموعتي (1000, 2000 ppm) كان منخفضاً 1.30 x 10^7 /ml و 0.5 x 10^7 /ml على التوالي عن الضابطة .

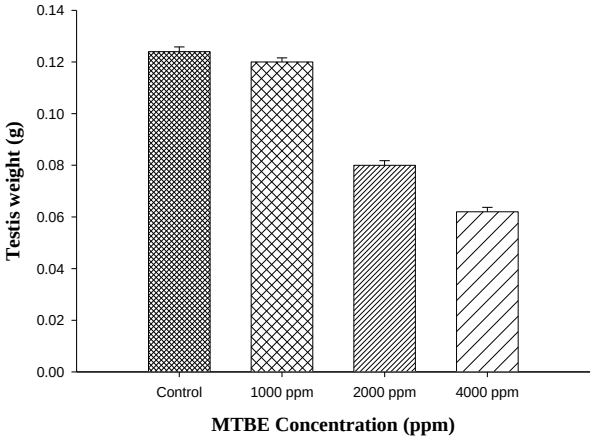
يُوضح الجدول (3) مستوى هرمون التستوستيرون خلال 60 يوماً من المعالجة لكل المجاميع، ويُلاحظ نقص كبيرة جداً في مستوى الهرمون وبفرق معنوي وصل (P<0.001) في مجموعة (4000 ppm) حيث بلغ (0.4 ± 0.094 ng/ml) مقارنةً بالمجموعة الضابطة (0.95 ± 0.009 ng/ml)، أما في مجموعة (2000 ppm) فقد وصل مستوى هرمون التستوستيرون (0.5 ± 0.024 ng/ml) بينما في مجموعة (1000 ppm) فقد كان (± 0.93 0.008 ng/ml) الشكل (4).

مستوى هرمون LH و FSH (mu /ml):

يوضح الجدول (2) مستوى هرموني الـ LH و الـ FSH في مجاميع الدراسة في نهاية فترة الدراسة، ويُلاحظ الارتفاع المعنوي (P<0.05) في مستوى الـ LH في كل المجاميع التجريبية مقارنةً بالمجموعة الضابطة الشكل (4). أما هرمون الـ FSH فلم يُلاحظ وجود فرق معنوي في كل المجاميع مقارنة بالضابطة



الشكل (1) يوضح تأثير التركيزات المختلفة من MTBE على وزن جسم ذكور الفئران بعد 60 يوماً



الشكل (2) يوضح تأثير التركيزات المختلفة من MTBE على وزن خصية ذكور الفئران بعد 60 يوما

المناقشة Dissection

في هذه الدراسة تم وزن جميع الحيوانات منفردة قبل التجربة، وبعد المعالجة يعاد الوزن للمجموعات بعد 60 يوماً، وقد أظهرت النتائج وجود فوارق معنوية significant weight loss، في وزن الجسم والخصية، وأن أغلب الحيوانات المعالجة بـ MTBE أنخفض وزن الجسم ووزن الخصية، وكان أقصى انخفاض في الوزن للجسم (15.4% تقريباً) في التركيزات العالية لمركب MTBE (4000 ppm)، وهذا يتوافق مع ما لاحظته عدة دراسات حيث أشارت إلى نقص في وزن القوارض التي تم معالجتها بمركبMTBE. Bevan *et al.*, (1997a : 1997b); Cruzan *et al.*, (2007)، كما لاحظ Yoshikawa *et al.*, (1994) نقص في أوزان الجرذان التي تم معالجتها بـ MTBE، كما أن مركب MTBE عمل على تذويب الحصوات المرارية.

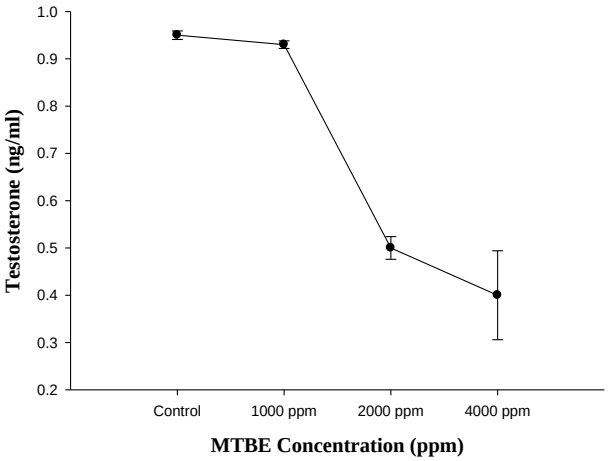
إنَّ ما توصلنا له من نتائج تتناقض مع الدراسة التي قام بها Alkazmi *et al.*, (2017)والتي لاحظ زيادة في وزن الجسم، والكلي والقلب في الفئران التي تم معالجتها بمركب

MTBE بمقدار (5000 ppm) ، ولكن هذه الدراسة توصلت أيضاً أنه حدث للفئران المعالجة ضمور في خلايا الدماغ، وفي أخر فترة الدراسة، والتي استمرت 60 يوما، ووجد أن الفئران أصيبت بالإعياء والتعب والمرض (2017) ,.Alkazmi *et al*.

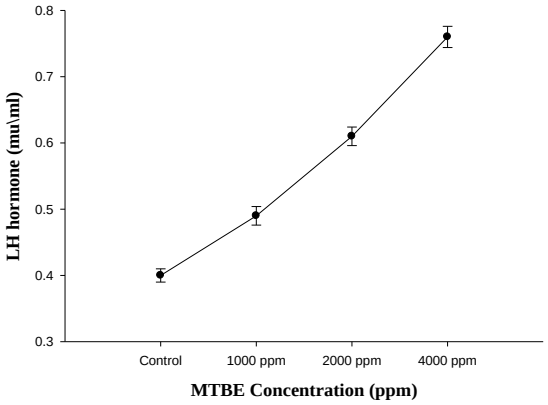
وقد تم تفسير خسارة الوزن لحيوانات التجربة بعدة احتمالات من أهمها: أنْ يكون نقص الوزن بسبب الإجهاد الفسيولوجي Physiological stress أثناء المعالجة بمركب MTBE؛ لأن مركب MTBE يحدث تشنجات معدية (مغص) Stomach irritations وغثيان Nausea وقد يسبب أيضاً إسهال Diarrhea والذي بدوره يحدث نقصا في الوزن، وهذا بدوره يؤثر على وزن الخصية في الفئران. الاحتمال الأخر في نقص الوزن يمكن أن يعود إلى الطعم Taste و الرائحة Odor المنفرة والقوية Offensiveلمركب MTBE مما يسبب فقدان الشهية Lose appetite لدى حيوانات التجربة، والذي بدورة يؤدي إلى نقص الوزن (2008) ,.Backer *et al*.

وقد وجدت الدراسة الحالية ارتفاع مستوى هرمون (LH) في جميع المجموعات المعالجة بمركب MTBE ، وهذا الارتفاع قد يفسر على أن

المواد الكيميائية التي ترتبط بالمستقبلات للهرمونات الذكرية androgen receptors قد تأثرت مركب MTBE مباشرة مما سبب حدوث تغليف لهذه المستقبلات، مسببة ارتفاع مستوى الهرمون، وضمور للعضو الجنسي ونقص في الوزنK كما حدث في نقص وزن الخصية، والذي بدورة يؤثر وبشكل كبير على نقص في عدد الحيوانات المنوية. وهذا يتطابق مع ما توصلت إليه دراسة قام بها (2014) ,.De Peyster *et al* أو أن مركب MTBE قد اثر على أهم الغدد الإفرازية وهي الغدة النخامية والتي بدورها تؤثر في الإفرازات الهرمونية مما سبب في الارتفاع في مستوى هرمون (LH) ويعتمد حسب كمية الجرعة المعالجة وهذه تحتاج لدراسة حديثة.



الشكل (4) يوضح تأثير التركيزات المختلفة من MTBE على مستوى هرمون Testosterone في ذكور الفئران بعد 60 يوماً



الشكل (5) يوضح تأثير التركيزات المختلفة من MTBE على مستوى هرمون LH في ذكور الفئران بعد 60 يوماً.

كما وجدت الدراسة الحالية أنَّ هناك نقصا في عدد الحيوانات المنوية، و في مستويات الهرمونات، حيث وجد نقص في نسبة هرمون التيستوستيرون (T) Testosterone في جميع المجموعات المعالجة بمركب MTBE ،وكان هذا النقص يعتمد حسب كمية الجرعة المعالجة بها ،وهذا بدوره يؤثر على عدد الحيوانات المنوية. فهناك علاقة وثيقة بين الإفرازات الهرمونية الذكرية، وعدد الحيوانات المنوية ،فكلما كانت الإفرازات كبيرة وفي المستوى الطبيعي زاد إنتاج كمية السائل المنوي، وعدد الحيوانات المنوية والعكس صحيح وهذه النتائج جاءت متوافقة مع ما توصل إليه (2003; 2008) ,.De peyster *et al* والتي لاحظ فيها حدوث نقص في هرمونات (FSH) Follicle -stimulating hormone وهي الهرمونات المحفزة لإنتاج هرمون الأستروجين، والبروجيستيرون في الإناث. كما تتوافق هذه النتائج أيضاً مع نتائج التي توصل إليها (Li *et al*, 2008) حيث وجد نقص في بروتين هرمون التذكير(ABP) Androgen binding protein ، خلال 14 يوماً من التجربة عند تركيزات (400- 1600 mg\ Kg) من MTBE وترجح الدراسة الحالية أن النقص في المستوى الهرموني قد يعود إلى التأثيرات السمية ،والتي تؤثر بدورها على الجهاز العصبي خاصة الهيبوثلامس Hypothalamic والذي يوثر بدورة على الإفرازات الهرمونية (Linder *et al*, 1992) و (Milby, and Whorton., 1980) .

الاستنتاجات Conclusions

ومما تقدم يتضح أن التعرض لمركب MTBE في ماء الشرب يؤدي إلى حدوث تغيرات متباينة في النشاط الوظيفي على المستوى الإنتاجي للحيوانات المنوية، أو المستوى الهرموني تعتمد في شدتها على الجرعات المستخدمة من هذا المركب، وهذا يؤثر حتما على النشاط الجنسي للذكور الفئران، أو يسبب حدوث تشوهات جنينية نتيجة لتشوه الأمشاج الذكرية، الأمر الذي يهدد خصوبة الكائنات الحية.

وتوصي الدراسة بضرورة إجراء مزيد من الدراسات للتعرف على آلية عمل مركب MTBE في أحداث تأثيراته، كما توصي الدراسة بضرورة دراسة تأثير مركب MTBE على أعضاء الجسم الأخرى، وخاصة الغدد الإفرازية في الجسم لتتعرف على الأعضاء المستهدفة لهذا المركب في الجسم.

REFFRENCES

[1]Ahmed, F.E., Thomas, D.B., (1992). Assessment of the carcinogenicity of the nonnutritive sweetener cyclamate. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 22, 81–118.

[2]Alkazmi, M.L., Sahhaf, Y. Z., Malak, A. H., Abulreesh, H. H., (2017). Effects of Methyl Tert-

[13]Clegg, E.D. et al., (1997). Leydig cell hyperplasia and adenoma formation: Mechanisms and relevance to humans. *Reprod. Toxicol.* 11, 107–121.

[14]CONCAWE, 2012. Gasoline ether oxygenate occurrence in Europe, and a reviewof their fate and transport characteristics in the environment. Conservation ofClean Air and Water in Europe (CONCAWE), Brussels, www.concawe.org, Reportno. 4/12 (accessed October 2012).

[15]Cruzan, G., Borghoff, S.J., de Peyster, A., Hard, G.C., McClain, M., McGregor, D.B., Thomas, M.G., (2007). Methyl tertiary -butyl ether mode of action for cancer endpoints in rodents. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 47, 156–165.

[16]De Peyster, A.; MacLean, K.J.; Stephens, B.; Ahern, L.; Westover, C. and Rozenshteyn, D. (2003): Subchronic studies in Sprague–Dawley rats to investigate mechanisms of MTBE-induced Leydig cell cancer. *Tox. Sci.*, 72: 31–42.

[17]De Peyster, A., Rodrigueza, Y., Shutoa, R., Goldberga, B., Gonzalesa, F., Pub, X., Klaunig, J. E., (2008): Effect of oral methyl-*t*-butyl ether (MTBE) on the male mouse reproductive tract and oxidative stress in liver. *Reprod Toxicol* , 26: 246–253.

[18]De Peyster, A., Mihaichb E., Kima DH., Elyeaa, A .W., Nemeca, J. M., Hirakawaa, P. B., Leggieria, E. S., (2014). Responses of the steroidogenic pathway from exposure tomethyl-tert-butyl ether and tert-butanol. Toxic 319 : 23–37.

[19]Dodd, D., Willson, G., Parkinson, H., Bermudez, E., 2013. Two-year drinking watercarcinogenicity study of methyl tertiary-butyl ether (MTBE) in Wistar rats. J.Appl. Toxicol. 33, 593–606.

[20]Gross-Sorokin M.Y., Roast S.D. and Brighty G.C., (2006). *Environ. Health Perspect.* 114, p. 147.

[21]Hard, G.C., Seely, J.C., 2005. Recommendations for the interpretation of renal tubule proliferative lesions occurring in rat kidneys with advanced chronic progressive nephropathy (CPN). *Toxicol. Pathol.* 33 (6), 641–649.

[22]Hong, J.-Y., Wang, Y.-Y., Bondoc, Y., Lee, M., Yang, C.S., Hu, W.-Y., Pan, J., (1999). Metabolism of methyl *tert*-butyl ether and other gasoline ethers by human liver microsomes and heterologously expressed butyl Ether (MTBE) on the Mucosal Immunity in the Small Intestine of the White Albino Mice. *Annual Research & Review in Biology* . 15(4): 1-11.

[3]Amberg, A., Rosner, E., Dekant, W., (1999). Biotransformation and kinetics of excretion of methyl *tert*-butyl ether in rats and humans. *Toxicol.Sci.*51,1–8.

[4]Aslam, H. Scheiders, A. Perret, M. and Weinbauer, G., (2002). Quantitative assessment of testicular germ cell production and kinematic morphometric parameters of ejaculated spermatozoa in the grey mouse lemer, (*Micromebus murinus*). Reprod. 123: 323-332.

[5]Backer, w.s; Abo-Khatwa, A.N. and Katouah, H.A., (2008): effect of the fuel-additive methyl-*tert*-butyl ether (mtbe) on blood components of rats. *J. Sa. Bio Sci.* 15 (1) 177-184.

[6]Belpoggi, F.; Soffritti, M. and Maltoni, C. (1995): Methyl-*tertiary*butyl ether (MTBE)-a gasoline additive - causes testicular and lymphohaematopoietic cancers in rats. *Tox. Ind. Health*, 11: 119-149.

[7]Bermudez, E., Willson, G., Parkinson, H., Dodd, D., 2012. Toxicity of methyl tertiary-butyl ether (MTBE) following exposure of Wistar rats for 13 weeks or one yearvia drinking water. J. Appl. Toxicol. 32, 687–706.

[8]Bevan, C., Neeper-Bradley, T.L., Tyl, R.W., Fischer, L.C., Panson, R.D., Kneiss, J.J., Andrews, L.S., (1997a). Twogeneration reproducrive toxicity study of methyl *tertiary* butyl ether (MTBE) in rats. *J. Appl. Toxicol.* 17 (Suppl.1), S13–S19.

[10]Bevan, C., Tyl, R.W., Neeper-Bradley, T.L., Fischer, L.C., Panson, R.D., Douglas, J.F., Andrews, L.S., (1997b). Developmental toxicity evaluation of methyl *tertiary* butyl ether (MTBE) by inhalation in mice and rabbits. *J. Appl. Toxicol.*17 (Suppl. 1), S21–29.

[11]Bird, M.G.; Burleigh-Flayer, H.; Chun, J.S.; Douglas, J.F.; Kneiss, J.J. and Andrews, L.S. (1997): Oncogenicity study of inhaled methyl *tertiary*-butyl ether (MTBE) in CD-1 mice and F-344 rats. *J. Appl. Toxicol.*, 17: S45–S55.

[12]Borghoff, S.J. and Williams, T.M. (2000): Species-specific tumor responses following exposure to methyl *tert*-butyl ether. *CIIT Activities*, 20: 1–9.

induced sperm count suppression. *J Occup. Med*;22:77–82.

[32]Moser, G.J., Wolf DC, Sar M, Gaido KW, Janszen D, Goldsworthy TL., (1998). Methyl *tertiary* butyl ether-induced endocrine alterations are not mediated through the estrogen receptor. *Toxicol. Sci.* 41, 77–87.

[33]Moser, G.J., Wong, B.A., Wolf, D.C., Moss, O.R., Goldsworthy,T.L., (1996b). Comparative short term effects of methyl *tertiary* butyl ether and unleaded gasoline vapor in female B6C3F1 mice. *Fundam.Appl.Toxicol.* 31, 173–183.

[34]Nihle´n, A., Lo¨ f, A., Johanson, G., (1998a). Controlled ethyl *tertiary*-butyl ether (ETBE) exposure of male volunteers. *Toxicol. Sci.* 46, 1–10.

[35]Poet, T.S., Valentine, J.L., Borghoff, S.J., (1997). Pharmacokinetics of *tertiary* butyl alcohol in male and female Fischer 344 rats. *Toxicol. Lett.* 92, 179–186.

[36]Schafer, S. And Holzmann, A., (2000). The use of transmigra- tion and spermac stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. Anim Reprod

[37]Tecirlioglu, R. T. Hayes, E. S. and Trounson, A. O., (2002) Semen collection from mice: electroejaculation. *Reprod Fertil. Dev.* 14: 363-371.

[38]Waynforth, H. B., (1980). Expermental and surgical technique in the rat. London, Acadmic press.

[39]Williams, T.M., Cattley, R.C., Borghoff, S., (2000). Alterations in endocrine responses on male Sprague–Dawley rats following oral administration of methyl *tert*-butyl ether. T*oxicol. Sci.* 54, 168–176.

[40]Wyrobek, A. J. and Bruce, W. R., (1975). Chemical induction of sperm abnormalities in mice. *Proc Natn Acad Sci.* U.S.A. 72, 4425-4429.

[41]Yoshikawa, M.; Arashidani, K.; Katoh, T., Kawamoto, T. and Kodama Y. (1994). Pulmonary elimination of methyl tertiary butyl ether after intraperitoneal administration in mice. *Arch. Toxicol.,* 68: 517- 519.

human cytochromes P450: identification of CYP2A6 as a major catalyst. Toxicol. Appl. Pharmacol. 160, 43–48.

[23]Hong, J.-Y., Yang, C.S., Lee, M., Wang, Y.-Y., Huang, W.-Q., Tan, Y., Patten, C.J., Bondocc, F.Y., (1997b). Role of cytochromes P450 in the metabolism of methyl *tert*-butyl ether in human livers. *Arch. Toxicol.* 71, 266–269.

[24]Howard, J. G. Brown, J. L. And Bush, M. (1990) Teratosper- mic and normospermic domestic cats: Ejaculate traits, pituitary gonadal hormones, and improvement of spermatozoal motility and morphology after swim up processing. *J Androl.* 11: 204-215.

[25]Hutcheon, D.E.; Arnold, J.D.; ten Hove, W. and Boyle, J., (1996): Disposition, metabolism and toxicity of methyl *tertiary* butyl ether, an oxygenatefor reformulated gasoline. *J. Toxicol. Environ. Health,* 47: 453–464

[26]Li D and Han., XD., (2006). Evaluation of toxicity of methyl tert-butyl ether (MTBE) on mouse spermatogenic cells in vitro Toxicology and Industrial Health. 22: 291-299.

[27]Li D, Chuntao Y, Gong Y, Huang Y, Han X., (2008). The effects of methyl *tert*-butyl ether (MTBE) on the male rat reproductive system. *Food Chem Toxicol*;46:2402–8.

[1]Li D., Liu Q., Gong Y., Huang Y., Han X., (2009). Cytotoxicity and oxidative stress study in cultured rat Sertoli cells with Methyl *tert*-butyl ether (MTBE) exposure. *Reprod. Toxic* 27 :170–176.

[28]Li D, Yin D, Han X. (2007). Methyl *tert*-butyl ether (MTBE)-induced cytotoxicity and oxidative stress in isolated rat spermatogenic cells. *J Appl Toxicol*;27:7–10.

[29]Linder RE, Strader LF, Slott VL, Suarez JD., (1992). Endpoints of spermatotoxicity in the rat after short duration exposures to 14 reproductive toxicants. *Reprod Toxicol*;6:491–505.

[30]McGregor, D., (2006). Methyl *tertiary*-butyl ether: studies for potential human health hazards. *Crit. Rev. Toxicol.* 36, 319–358.

[31]Milby TH, Whorton D., (1980). Epidemiological assessment of occupationally related chemically