Ministry of Higher Education

University of Mosul

College of Medicine

The Effect of Vitamin C on the Histological Changes of Some Internal Organs in Male Albino Rats Induced by Tramadol

A Thesis Submitted

By

Rana Mustafa Ahmed Khalil

To

The Council of the College of Medicine

University of Mosul

In partial fulfillment of the requirements

For the degree of

Doctor of philosophy

In

Anatomy

Supervised By

Prof.Dr. Abdul-jabbar Yasin.AL-Hubaity,

Assist. Prof. Nadwa S.M. AlAzzo

2019 A.D. **1441 A.H.**

Summary

This experimental study was designed to evaluate the histopathological, histochemical, Micro-morphometrical changes and oxidative stress biomarker (MDA) of liver, kidney, and testis tissues in addition to the serum level testosterone hormone.

Fifty male rats were randomly divided into five equal groups (each group = 10 animals) as follows: **Group A** (control group): Animals of this group were injected with distilled water according to their weight, five of these animals were left as control elements for withdrawal groups (WD groups).

Treated groups includes: (Group B and Group C). **Group B**, which injected with tramadol drug only at a dose (50 mg / kg b.wt.) for four weeks and called as(TGI) and **group (C)** was injected with both Vitamin C at a dose (100 mg / kg b. wt.) half an hour before injecting it with tramadol drug at a dose (50 mg / kg b. wt.) for four weeks and named as (TGII).

While withdrawal groups include: (Group D and Group E), where **group (D)** was treated like group (B), then left for two weeks as withdrawal group and named as (TGI WD) while **group (E)** was treated as group (C) then left for two weeks as withdrawal group and named as (TGII WD).

All animals were injected into the peritoneum (IP). At the end of the experiment, all animals were sacrificed after being anesthetized with ether and then the tissues of liver, kidneys and testes were taken and placed in a suitable stabilizer, processed to obtain paraffin sections and prepared for microscopic examination.

Liver tissues in tramadol treated group B(TGI) showed histological changes including dilatation and congestion of central vein, portal vein and sinusoids, increased infiltration of mononuclear inflammatory cells (MNCs), diffuse vacoulation of hepatocytes, bile duct hyperplasia and prominent kupffer cells hyperplasia that proved by Micro-morphometrical measurement, increase deposition of collagen fibers in liver parenchyma mainly around portal area as proved by Masson's trichrome. In addition to depletion of PAS + ve material of hepatic cells and highest significant increase in Malonaldehyde (MDA) level of hepatic tissue.

Renal tissue in tramadol treated group B (TGII) showed shrinkage of renal glomeruli with widening of bowman's space, hydropic degeneration and vacuolization of renal tubules epithelial cells, Patches of MNCs infiltration around blood vessels and within the necrotic tubules, increase in collagen fibers deposition in the interstitisum between tubules and around the blood vessels as noticed by Masson's trichrome along with disappearance of +ve PAS granules. Tramadol result in highest significant increase in bowman's space distance , the least non-significant decrease in glomerular diameter, the only significant increase in renal corpuscle diameter, and highest significant increase in MDA level of renal tissue.

Testicular tissues in tramadol treated group (TGI), showed irregularity and atrophy of seminiferous tubules, widening of the interstitisum, arrest of spermatogenesis mostly at level of spermatid or at level of spermatocyte, exfoliated germinal epithelium in the lumens of most tubules, vacuoles appear in cytoplasm of spermatocytes , detachment of degenerated germinal epithelial cells from basement membrane and the

vacuolated homogenous acidophilic material in interstitisum. Tramadol result in least significant decrease in the followings: seminiferous tubule diameter, in germinal epithelial height, in Leydig cell count as demonstrated by Micro-morphometrical measurements. In addition to highest significant increase in MDA level of testicular tissue and least significant in serum testosterone hormone level.

Adding Vit. C prior to tramadol injection in tramadol and Vit.C treated group (TGII), result in reduction in all histological, histochemical, Micro-morphometrical parameters in the previous mentioned organs namely(liver, kidney and testis) along with increase testosterone hormone level.

Also Vit.C result in significant decrease in MDA level in liver tissue but non significant reduction in renal and testicular tissues compared to tramadol treated group only (TGI) which reflect the protective role of Vit.C in these organs with prominent protection was noticed in liver tissue more than that in renal and testicular tissues this may reflect the ability of liver tissue to regenerate or repair their self was more rapidly than other organs.

Regarding both withdrawal groups that left for two weeks after cessation of treatment, showed amelioration in all previous mentioned changes with better recovery noticed in group E (TGII WD) which receive Vit.C during their treatment and this may reflect the long term ability of Vit. C to enhance tissue regeneration but in both withdrawal groups a complete recovery was not achieved .

وزارة التعليم العالي
جامعة الموصل
كلية طب الموصل

تأثير فيتامين سي على التغييرات النسيجية للاعضاء الداخلية لذكور الجرذان البيضاء البالغة المستحدثة بواسطة الترامادول

اطروحة تقدمت بها

رنا مصطفى احمد خليل

الى
مجلس كلية الطب في جامعة الموصل
وهي جزء من نيل شهادة الدكتوراه فلسفة
في
علم التشريح

باشراف

الاستاذ الدكتور عبد الجبار ياسين الحبيطي

الاستاذ المساعد الدكتورة ندوى صبحي العزو

١٤٤١هـ ٢٠٢٠م

الملخص

تم تصميم هذه الدراسة التجريبية لتقييم التغيرات النسيجية المرضية ،التغييرات الكيميائية الحيوية ،التغيرات الشكلية الدقيقة ،الاكسده الحيوية المالونديهايد (MDA) في انسجة الكبد, الكلي, والخصية بالاضافه إلى فحص مستوى هرمون التستوستيرون في مصل الدم.

تم استخدام خمسين من ذكور الجرذان البيض البالغة في هذه الدراسة. تم تقسيم الحيوانات عشوائياً إلى خمس مجموعات متساوية (كل مجموعة = ١٠ حيوانات) كما يلي:

المجموعة A (مجموعة السيطرة): تم حقن حيوانات هذه المجموعة بالماء المقطر وفقًا لوزنها ، تم ترك خمسة من هذه الحيوانات كعناصر سيطرة لمجموعتي الانسحاب (مجموعات WD). ضمت المجموعات المعالجة : (المجموعة B والمجموعة C). **المجموعة (B)** التي حقنت بعقار الترامادول فقط بجرعة (٥٠ مغ / كغ من وزن الجسم) ولمدة أربعة أسابيع والتي سميت (TGI) و**المجموعة (C)** التي حقنت بفيتامين سي بجرعة (١٠٠ ملغ / كغ من وزن الجسم) نصف ساعة قبل حقنها بعقار الترامادول بجرعة (١٠٠ ملغ / كغ من وزن الجسم) ولمدة أربعة أسابيع و سميت (TGII).

بينما مجموعتي الانسحاب تشمل:(المجموعة D والمجموعة E).حيث تم معاملة مجموعة (D) مثل مجموعة (B) و تركت لمدة اسبوعين وسميت (TGI WD) بينما تم معاملة مجموعة (E) مثل مجموعة (C) ثم تركت لمدة اسبوعين وسميت (TGII WD).تم حقن جميع الحيوانات في غشاء البريتون(.I.P).

وفي نهاية التجربة، تم قتل جميع الحيوانات بعد تخديرها بمادة الايثر ثم اخذت انسجة الكبد والكلى والخصى ووضعهم في مثبت مناسب ومعالجته للحصول على قوالب البارافين واعداده للفحص المجهري.

أظهرت أنسجة الكبد في المجموعة B (TGI) التي تمت معاملتها بالترامادول تغيرات نسيجية وشملت توسع واحتقان الوريد المركزي ، الوريد البابي واشباه الجيبانيات الكبدية، وارتشاح متزايد للخلايا الالتهابية أحادية النواة (MNCs) ، ظهور فجوات في خلايا الكبد ، فرط تنسج في الاقنية الصفراوية والتي أثبتت بقياس المورفومتري الدقيق مع زيادة ترسب الياف الكولاجين في النسيج الكبدي وخصوصا حول الباحة البوابية كما أثبت ملون ماسون ثلاثي الصبغ بالاضافة الى استنفاذ المواد ذات الفعالية الموجبة لصبغة PAS وزيادة معنوية في مستوى المالونديهايد في نسيج الكبد.

وأظهرت الأنسجة الكلوية في المجموعة B (TGII) التي تمت معاملتها بالترامادول وفيتامين سي تغيرات نسيجية وشملت انكماش الكبيبات الكلوية مع توسع في محفظة بومان ،أظهرت

النبيبات الكلوية تنكساً مع فجوات في خلاياها المبطنة ، زيادة في ارتشاح الخلايا الاحادية النواة حول الأوعية الدموية وداخل النبيبات المتنخرة ، زيادة في ترسب ألياف الكولاجين في نسيج الكلية بين النبيبات وحول الأوعية الدموية كما لوحظت بملون ماسون ثلاثي الصبغ علاوة على اختفاء المواد ذات الفعالية الموجبة لصبغة PAS.تسبب الترامادول في أعلى زيادة معنوية ملحوظة في قطر مساحة البومان ، وأقل انخفاض غيرمعنوي في قطر الكبيبة الكلوية ، اعلى زيادة معنوية ووحيدة في قطر الكريات الكلوية ، وأعلى زيادة معنوية في مستوى المالونديهايد في نسيج الكلية.

اظهرت انسجة الخصية للمجموعة B (TGI) التي تمت معاملتها بالترامادول تغيرات نسيجية مثل عدم انتظام وضمور في النبيبات الناقلة للمني ، وتوسع في النسيج الخلالي بين النبيبات النطفية، توقف تكوين النطف في الغالب عند مستوى الطلائع النطفية السبرماتيد أو على مستوى الخلايا المنوية السبرماتوسايت ،إنسلاخ الطبقة الطلائية الجنسية في تجويف معظم النبيبات الناقلة للمني ظهور فجوات في سايتوبلازم الخلية النطفية السبرماتوسايت ، انفصال الطبقة الطلائية الجنسية المنحلة عن الغشاء القاعدي وظهور مادة حامضية متجانسة محتوية على فجوات في النسيج الخلالي. أدى الترامادول إلى اقل انخفاض معنوي في ما يلي : في قطر النبيبات الناقلة للمني ، في ارتفاع الطبقة الطلائية الجنسية ، في عدد خلايا ليدك Leydig كما أثبت بالقياسات المجهرية الدقيقة . بالإضافة إلى أعلى زيادة معنوية في مستوى المالونديهايد في نسيج الخصية و اقل مستوى معنوي في هرمون التستوستيرون في مصل الدم

إضافة فيتامين سي في مجموعة C (TGII)، أدى إلى انخفاض في جميع التغيرات النسيجية ، تغيرات في كيمياء النسيج ، والقياسات المجهرية الدقيقة في مستوى في الأعضاء المذكورة أعلاه وهي (الكبد والكلى والخصية) علاوة على زيادة مستوى هرمون التستوستيرون في مصل الدم. أدى فيتامين سي إلى انخفاض كبير في مستوى المالونديهايد في أنسجة الكبد ولكن لوحظ انخفاض غير معنوي في أنسجة الكلى والخصية مقارنة مع المجموعة التي عولجت بالترامادول فقط (TGI) والتي تعكس الدور الوقائي لفيتامين سي في هذه الأعضاء مع ابرزحماية لوحظت كانت في نسيج الكبد أكثر من تلك الموجودة في أنسجة الكلى والخصية وقد يعكس هذا قدرة نسيج الكبد على التجديد أو إصلاح نفسها بشكل أسرع من الأعضاء الأخرى.

فيما يتعلق بمجموعتي الانسحاب اللتين تركتا لمدة أسبوعين بعد توقف العلاج ، أظهرت التحسن في جميع التغييرات السابقة المذكورة مع التحسن الافضل لوحظ في مجموعة E (TGII WD) التي حقنت بفيتامين سي أثناء علاجها وهذا قد يعكس قدرة طويلة الأجل لفيتامين سي لتعزيز تجديد الأنسجة ولكن في كلتا مجموعتي الانسحاب لم يتحقق الشفاء التام.