

تقدير مستوى ميزان الأكسدة – مضادات الأكسدة في مصل دم والسائل المنوي لذكور الأرانب المحلية السليمة والمعرضة للإجهاد التأكسدي بكلوريد الكادميوم والدور الوقائي لعصير الرمان ضد حالة الإجهاد التأكسدي

قاسم عزيز رزوقي¹، صالح محمد رحيم¹، صاحب جمعة عبدالرحمن²

¹قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة تكريت، تكريت، العراق

²قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كركوك، كركوك، العراق

الملخص

صممت هذه الدراسة لتقدير مستوى ميزان الأكسدة-مضادات الأكسدة في كل من مصل الدم والسائل المنوي والتأثير النسيجي لنسيج الخصى في ذكور الأرانب المحلية *Oryctolagus cuniculus* السليمة والمعاملة بكلوريد الكادميوم (CdCl₂)، إضافة إلى الدور الوقائي لعصير الرمان ضد سمية كلوريد الكادميوم. استخدمت في هذه الدراسة 20 ذكر من الأرانب المحلية قسمت عشوائياً إلى 4 مجاميع كل مجموعة تضمنت 5 حيوانات، المجموعة الأولى جرعت بالماء المقطر عدت مجموعة سيطرة سليمة، المجموعة الثانية تم معاملتها بكلوريد الكادميوم 5 ملغم/كغم من وزن الجسم وعدت سيطرة مصابة، المجموعة الثالثة جرعت بعصير الرمان 6 مل/كغم من وزن الجسم، المجموعة الرابعة تم معاملتها بكلوريد الكادميوم 5 ملغم/كغم من وزن الجسم مع تجريعها بعصير الرمان 6 مل/كغم من وزن الجسم، إذ أظهرت نتائج الدراسة أن معاملة الحيوانات بكلوريد الكادميوم أدى إلى إنخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى المحتوى الكلي لمضادات الأكسدة Total Antioxidant Capacity (TAC) والكلوتاثيون (GSH) وأنزيم الكاتلاز (CAT)، وارتفاع معنوي في تركيز المألون ثنائي الألديهيد (MDA) لكل من مصل الدم والسائل المنوي مقارنة مع مجموعة السيطرة، إضافة إلى ذلك أدت معاملة الحيوانات بكلوريد الكادميوم إلى أحداث تغيرات نسيجية سلبية واضحة في أنسجة الخصى تمثلت بتحطم الغشاء القاعدي لمعظم النيبات المنوية مع تثخنها وكذلك وجود أعداد قليلة من الخلايا المولدة للنفط وفقدان معظم مراحل تكوينها، بينما أدى تجريع الحيوانات المعاملة بكلوريد الكادميوم بعصير الرمان إلى زيادة معنوية في تركيز المحتوى الكلي لمضادات الأكسدة (TAC) والكلوتاثيون وأنزيم الكاتلاز، وإنخفاض معنوي في مستوى المألون ثنائي الألديهيد لكل من مصل الدم والسائل المنوي وتحسن نسيجي واضح لنسيج الخصى مقارنة مع المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم.

المقدمة

تشكيل أنواع الأوكسجين الفعال التي تؤدي إلى بيروكسدة الدهون، إضافة إلى استنزاف المواد المضادة للأكسدة مثل الكلوتاثيون والبروتينات المرتبطة بمجموعة السلفاهيدريل (-SH) [9],[8]. تكون الخصيتين من الأعضاء المستهدفة لسمية الكادميوم، وأن آلية هذه السمية تتم من خلال الأضرار في بطانة الأوعية الدموية والتأثير على عدد الخلايا الجرثومية Germ cells وأرومات النطف Spermatids وعلى خلايا لايدك Leydig cells وخلايا سيرتولي Sertoli cells، فضلاً عن انخفاض كبير في وزن الحويصلات المنوية، والحد من تصنيع هرمون التستوستيرون [10],[11]. إن استخدام المستخلصات النباتية الطبية وما تحتويه من مركبات كيميائية فعالة غير غذائية تمتلك فعل وقائي وعلاجي للعديد من الحالات المرضية وهي ذات تأثير جانبي قليل أو معدوم بالمقارنة مع الأدوية الكيميائية المصنعة مخبرياً [12]. يعد الرمان غذاءً غنياً بمضادات الأكسدة الخارجية المنشأ والتي تعمل في الحفاظ على الخلايا الجسمية لمقاومة الأمراض، والمركبات الفينولية المتعددة الموجودة في الرمان تعادل ثلاث مرات وجودها في الشاي الأخضر وثمانية أضعاف مما في العنب وعصير التفاح والبرتقال [13]، يمتلك عصير الرمان نشاطاً وقائياً وعلاجياً كيميائياً لعدد من الأمراض منها الأمراض السرطانية إذ يعد من المصادر الغنية بحامض Ellagic acid الذي

يمثل الاجهاد التأكسدي الحالة التي يزداد فيها إنتاج اصناف الاوكسجين الفعالة بتركيز تفوق قدرة مضادات الاكسدة على التخلص منها مما يحدث خلافاً في التوازن الدقيق بين إنتاج الجذور الحرة وقدرة الجسم على ازالتها أو إصلاح تأثيراتها الضارة مما ينتج عنه الأذى التخريري للأنسجة المختلفة في الجسم بسبب أكسدة الدهون lipid peroxidation بفعل الجذور الحرة [1],[2]. إن الزيادة المفرطة في إنتاج أنواع الأوكسجين الفعال Reactive Oxygen Species (ROS) أو ضعف الانظمة الدفاعية المضادة للأكسدة تؤدي إلى تغير الظروف الفسلجية في داخل وخارج الخلية والتي تؤدي إلى حدوث حالة الاجهاد التأكسدي [3].

يتعرض الإنسان بشكل مستمر إلى الملوثات البيئية التي تعد أحد المصادر الخارجية لأنواع الأوكسجين الفعال والجذور الحرة ولاسيما الملوثات الصناعية ومنها بالتحديد العناصر الثقيلة مثل الكادميوم [4],[5]. يتجمع الكادميوم في الماء والهواء والتربة وبسبب ثباتيته الكيميائية العالية ضد التحلل الحيوي فيمكن أن يتداخل في الكائنات الحية والبقاء فيها لفترات طويلة تزيد عن 25 عاماً [6]. الكادميوم له تأثيرات سمية واسعة يمكن أن تؤدي إلى أضرار فسلجية لأجهزة الجسم المختلفة مثل الكبد والكلى والعظام والرئة والخصيتين، وغيرها [7]، ويصنف الكادميوم كمادة مسرطنة للإنسان لأنه يعمل كمحفز في

المجموعة الثانية (مجموعة $CdCl_2$) : تم معاملة هذه المجموعة بكلوريد الكاديوم بجرعة 5 ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً [19].

المجموعة الثالثة (مجموعة عصير الرمان) : تم تجريب هذه المجموعة بعصير الرمان بجرعة 6 مل/كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً [20].

المجموعة الرابعة (مجموعة عصير الرمان + $CdCl_2$) : تم تجريب هذه المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم بعصير الرمان بجرعة 6 مل/كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً .

الحصول على العينات الدموية : بعد انتهاء التجربة جوعت جميع الحيوانات لمدة (24) ساعة خدرت باستخدام الكلوروفورم ، ثم سحبت عينات الدم عن طريق طعنة القلب مباشرة اذ تم جمع من (5-8) مل من الدم ووضعت في أنابيب بلاستيكية ذات أغشية محكمة جافة خالية من أية مادة مانعة للتخثر ، وتركت في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة لحين تخثر الدم ، ومن ثم أجري لها عملية طرد مركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 15 دقيقة لغرض الحصول على مصل الدم ، وحفظ مصل الدم عند درجة حرارة -20 م لحين إجراء الفحوصات الكيموحيوية .

الحصول على السائل المنوي: بعد إجراء عملية سحب الدم من الحيوانات تم فتح بطن الحيوان باستخدام عدة التشريح للحصول على الخصى التي يرتبط بها البربخ Epididymis ، بعدها تم فصل البربخ من الخصى ، ووضعها في طبق بترى زجاجي وباستخدام مشروط حاد قطع البربخ إلى أجزاء وأضيف إليها محلول ملحي Normal saline حسب طريقة [21] ، وباستخدام حقنة طبية متدرجة الحجم لمعرفة نسبة التخفيف (نسبة التخفيف كانت 1:5) ومع التحريك المستمر بواسطة Wood Stick ، تم الحصول على السائل المنوي وسحب جزءاً منه باستخدام محقنه طبية نبيذية ووضعها في أنابيب بلاستيكية ذات أغشية محكمة جافة خالية من أية مادة مانعة للتخثر ، وحفظ السائل المنوي عند درجة حرارة -20 م لحين إجراء الفحوصات الكيموحيوية .

الفحوصات الكيموحيوية والهرمونية :

1-تقدير المحتوى الكلي لمضادات الأكسدة في مصل الدم والسائل المنوي: يتم تقدير المحتوى الكلي لمضادات الأكسدة في مصل الدم والسائل المنوي باستخدام طريقة Ferric Reduction Ability of Plasma (FRAP) [22]

2- تقدير مستوى الكلوتاثيون في مصل الدم والسائل المنوي: يتم القياس اعتماداً على طريقة كاشف Elman المحورة [23]

3- تقدير فعالية أنزيم Catalase (CAT) في مصل الدم والسائل المنوي: يتم تقدير فعالية أنزيم CAT اعتماداً على طريقة [24]

4- تقدير المألون ثنائي الديهايد في مصل الدم والسائل المنوي:

حسب طريقة [25].

يحد من الطفرات الجينية التي تتعرض لها خلايا الجسم والتي قد تتحول إلى خلايا سرطانية ، لذا فقد أستخدم في علاج سرطان الثدي من خلال تثبيطه لنشاط هرمون الإستروجين [14] ، وسرطان البروستات [15] ، ومثبط لتكاثر الخلايا السرطانية بشكل خاص في الغدة الدرقية [16] ، كذلك أشار [17] إلى دوره في الحماية من مرض الزهايمر وذلك من خلال الحد من تراكم مادة β -Amyloid في الدماغ ، كما يمتلك عصير الرمان دوراً فاعلاً في تحسين عدد ونوعية النطف ، إذ يحتوي على مادة Punicalagin التي تمتلك دوراً مهماً في صحة النطف من خلال تنظيم نضوجها ، كما إنه يرفع من مستوى الهرمون الذكري Testosterone [18] .

المواد وطرائق العمل

الحيوانات

استخدم في هذه الدراسة 20 ذكراً من الأرانب المحلية *Oryctolagus cuniculus* بأعمار تراوحت بين (8-10) أشهر وأوزان تراوحت بين (1300-1600 غم)، تم شراؤها من الأسواق المحلية لمدينة كركوك بحالة صحية ممتازة ، وتمت عملية التربية في غرفة صغيرة أبعادها 3×3 م تم تهيئتها لهذا الغرض ، ووضعت الأرانب بصورة انفرادية في أقفاص ذات أبعاد 40×40×60 سم مصنوعة من Stainless steel أعدت لهذا الغرض، وقد خضعت الحيوانات لظروف مختبرية موحدة من حيث التهوية ودرجة الحرارة التي تراوحت بين (20-25) م ومدة إضاءة 12 ساعة ضوء و 12 ساعات ظلام (إضاءة طبيعية) ، وغذيت الحيوانات على علف قياسي (35% حنطة ، 34% ذرة صفراء، 20% فول الصويا ، 10% بروتين حيواني و 1% حليب مجفف مضاف إليه 50 غم/100 كغم مواد حافظة وفيتامينات ومواد أخرى مضادة للفطريات) وباستخدام أوان مصنوعة من الألمنيوم بكميات متساوية وبسلسلة ثابت لكل المجاميع ، أما الماء فقد قدم للأرانب في أوان مصنوعة من الألمنيوم وبسعة نصف لتر مثبتة في القفص لمنع انسكاب الماء . وتركت الحيوانات لمدة أسبوعين للتأقلم للظروف الجديدة قبل بدء التجربة .

الحصول على عصير الرمان: تم الحصول على ثمار الرمان من مزارع محافظة صلاح الدين المعروف محلياً بصنف السليمي ، وبعدها تم قطع كل ثمرة إلى نصفين وباستخدام عاصرة كهربائية تم الحصول على العصير الذي رشح باستخدام ثلاث طبقات من الشاش للتخلص من الشوائب ، وتم تحضير العصير بشكل أني طول فترة التجربة .

تصميم التجربة : قسمت الحيوانات عشوائياً إلى أربع مجاميع (5 حيوانات في كل مجموعة) ، وبعد انتهاء المدة التحضيرية بدأت معاملة الأرانب يومياً ولمدة 30 يوماً وتم التجريب باستخدام التغذية الأنبوبية، وفق ما يأتي:

المجموعة الأولى (السيطرة السليمة): تم تجريب هذه المجموعة بالماء المقطر لمدة 30 يوماً.

يلاحظ من الجدول (2) إن معاملة ذكور الأرناب بـ CdCl_2 أدى إلى أحداث إنخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في TAC و GSH و CAT وإرتفاع معنوي في مستوى الـ MDA في السائل المنوي مقارنة مع مجموعة السيطرة، بينما أدى تجريع الأرناب المعاملة بـ CdCl_2 بعصير الرمان إلى أحداث إرتفاع معنوي في TAC و GSH و CAT وإنخفاض معنوي في مستوى الـ MDA في السائل المنوي مقارنة مع المجموعة المعاملة بـ كلوريد الكاديوم، وكذلك أدى تجريع الأرناب السليمة بعصير الرمان إلى أحداث إرتفاع معنوي في TAC و GSH و CAT مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة.

جدول (2) ميزان الأكسدة – مضادات الأكسدة في السائل المنوي

| المعايير | TAC mmol/L | GSH $\mu\text{mol/ml}$ | CAT IU/ml | MDA nmol/ml | المجموعة |
|--------------------------------|------------------------|---------------------------|------------------|-------------------|----------|
| السيطرة | 0.526 ± 0.014 b | 137 ± 8 b | 128 ± 7 b | 142 ± 12 b | |
| سيطرة مصابة بـ CdCl_2 | 0.362 ± 0.016 c | 68 ± 12 c | 58 ± 5 d | 254 ± 9 a | |
| عصير الرمان + CdCl_2 | 0.502 ± 0.018 b | 132 ± 6 b | 112 ± 9 c | 148 ± 6 b | |
| عصير الرمان | 0.623 ± 0.024 a | 163 ± 7 a | 186 ± 8 a | 129 ± 2 c | |

– القيم تمثل المتوسط الحسابي \pm الخطأ القياسي .

– الحروف المختلفة عمودياً تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ($P \leq 0.05$) .

– عدد الحيوانات 5 في كل مجموعة .

الدراسة النسجية : Study of Histological

أظهر الفحص النسيجي لخصى أرناب مجموعة السيطرة والمجموعة المجرعة بعصير الرمان الشكل الطبيعي للنيبيات المنوية وانتظام أشكالها وتمايز المراحل الأساسية لتوليد النطف Spermatogenesis مع وجود النسيج الرابط بين النبيبات وخلايا ليديك Leydig cells وخلايا سيرتولي Sertoli cell المسؤولة عن النشأة الطبيعية للنطف السليمة . صورة (1)، (2) .

بالمقابل فقد أظهر الفحص النسيجي لمجموعة الأرناب المعاملة بـ كلوريد الكاديوم تغيرات كبيرة التي طرأت على النسيج الخصوي ، كحصول تحطم في الغشاء القاعدي في معظم النبيبات المنوية وانعدام وجود النطف مع تثنخ في نبيبات أخرى مع وجود أعداد قليلة جداً للخلايا المولدة للنطف وفقدان أغلب مراحل تكوين النطفة والموضحة في الصورة (3) .

إن تجريع الأرناب المعاملة بـ كلوريد الكاديوم بعصير الرمان أدت إلى حصول تغيرات نسيجية مهمة حصلت للنسيج الخصوي والموضحة بالصورة (4) ، إذ أدى التجريع بصورة عامة على خفض التأثير الضار والمحطم لسمية كلوريد الكاديوم ، كما أنها قللت من حالات التنكس وتحطم النبيبات المنوية حيث تراوح التأثير بين تحسن كبير وواضح وصل إلى مستوى الانسجة الطبيعية في خصى مجموعة السيطرة كما في المجاميع المعاملة بـ كلوريد الكاديوم والمجرعة بعصير الرمان .

تحضير المقاطع النسجية: حضرت المقاطع النسجية المجهرية اعتماداً على الطريقة المذكورة في [26] وكالاتي: تم اخذ عينات من الخصى مباشرة بعد التشريح ، تم غسل الاعضاء بواسطة المحلول الملحي الفسلجي ومن بعدها تم تثبيت الاعضاء بواسطة الفورمالين 10% لمدة 24 ساعة ، من ثم تم سحب الماء dehydration عن طريق تمرير الانسجة التي جرى تثبيتها بتركيز تصاعدي (70, 80, 90, 95, 100, 100) من الكحول الأيثلي (95%) ولمدة نصف ساعة لكل تركيز ، ومن ثم روقت بواسطة الزايلين لمدة نصف ساعة، ثم تم تشريب الاعضاء بشمع البرافين وبعد ذلك تم صب الاعضاء وتحضير قوالب من الشمع الحاروية على العينات لغرض التقطيع و التصبغ بواسطة صبغتي الهيماتوكسيلين والايوسين والمحضرة حسب [27].

التصوير المجهر: لغرض توضيح نتائج الدراسة النسجية تم فحص المقاطع النسجية باستعمال المجهر من نوع Olympus Microscope ، بعدها تم التقاط صور فوتوغرافية لبعض المقاطع النسجية باستخدام كاميرة رقمية من نوع (SONY) يابانية المنشأ .
التحليل الاحصائي : اجري التحليل الاحصائي للنتائج بواسطة اختبار تحليل التباين ANOVA وتم تحديد الاختلافات المعنوية بحسب اختبار دانكن متعدد الحدود Duncan's multiple ranges وبمستوى معنوية $P \leq 0.05$ [28] .

النتائج

يلاحظ من الجدول (1) إن معاملة ذكور الأرناب بـ CdCl_2 أدى إلى أحداث إنخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في TAC و GSH و CAT وإرتفاع معنوي في مستوى الـ MDA في مصل الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة، بينما أدى تجريع الأرناب المعاملة بـ CdCl_2 بعصير الرمان إلى أحداث إرتفاع معنوي في TAC و GSH و CAT وإنخفاض معنوي في مستوى الـ MDA في مصل الدم مقارنة مع المجموعة المعاملة بـ كلوريد الكاديوم، وكذلك أدى تجريع الأرناب السليمة بعصير إلى أحداث إرتفاع معنوي في TAC و GSH و CAT مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة .

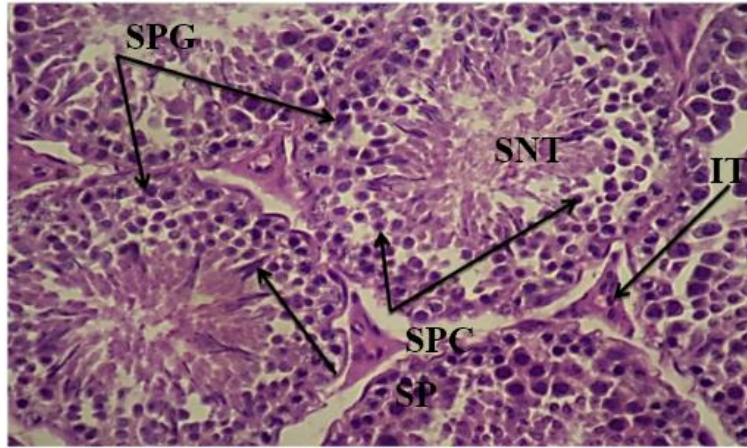
جدول (1): ميزان الأكسدة – مضادات الأكسدة في مصل الدم

| المعايير | TAC mmol/L | GSH $\mu\text{mol/ml}$ | CAT IU/ml | MDA nmol/ml | المجموعة |
|---------------------------------|------------------------|---------------------------|------------------|------------------|----------|
| السيطرة | 0.433 ± 0.018 B | 118 ± 9 b | 116 ± 6 b | 123 ± 3 b | |
| سيطرة معاملة بـ CdCl_2 | 0.370 ± 0.037 C | 79 ± 10 c | 76 ± 4 c | 196 ± 7 a | |
| عصير الرمان + CdCl_2 | 0.435 ± 0.026 B | 117 ± 12 b | 112 ± 3 b | 128 ± 6 b | |
| عصير الرمان | 0.542 ± 0.020 A | 134 ± 9 a | 169 ± 4 a | 101 ± 6 c | |

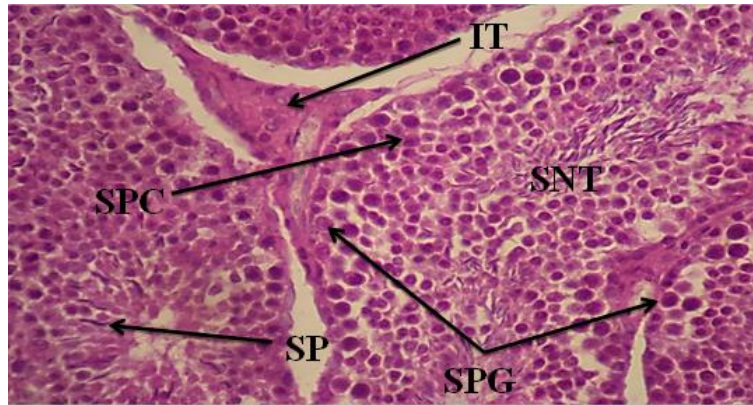
– القيم تمثل المتوسط الحسابي \pm الخطأ القياسي .

– الحروف المختلفة عمودياً تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ($P \leq 0.05$) .

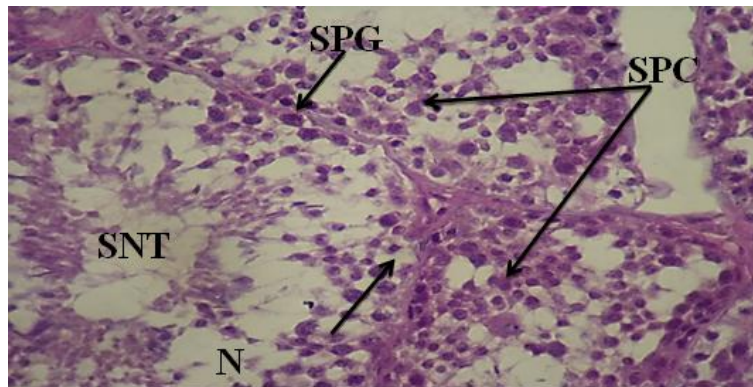
– عدد الحيوانات 5 في كل مجموعة .



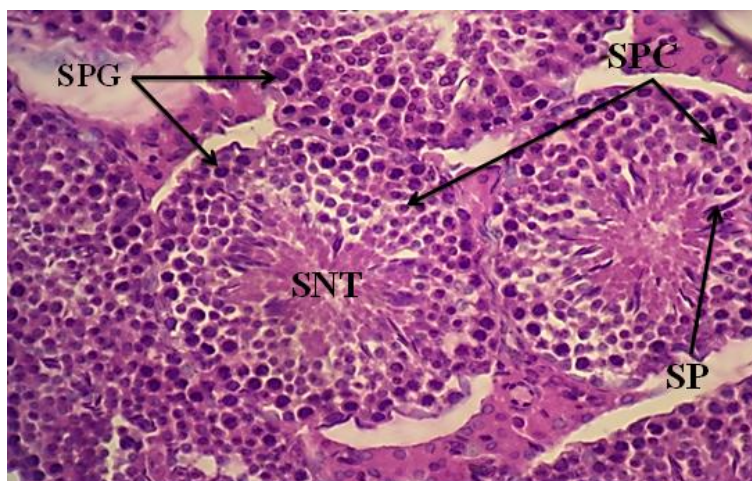
صورة (1): مقطع مستعرض لخصية مجموعة السيطرة توضح كل من ارومات النطف (SPG) وخلايا النطف (SPC) وطلائع النطف (SP) في النبيبات المنوية (SNT) مع وجود الانسجة البينية (IT) H&E X400



صورة (2): مقطع مستعرض لخصية المجموعة المجرعة بعصير الرمان توضح كل من ارومات النطف (SPG) وخلايا النطف (SPC) وطلائع النطف (SP) في النبيبات المنوية (SNT) مع وجود الانسجة البينية (IT) H&E X400



صورة (3): مقطع مستعرض لخصية المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم توضح انخفاض كل من ارومات النطف (SPG) وخلايا النطف (SPC) مع وجود تنخر (N) في النبيبات المنوية (SNT) H&E X400



صورة (4): مقطع مستعرض لخصية المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم والمجرعة بعصير الرمان توضح كل من ارومات النطف (SPG) وخلايا النطف (SPC) وطلانغ النطف (SP) في النبيت المنوية (SNT) H&E X400

المناقشة

أظهرت نتائج البحث أن هناك إرتفاع معنوي في مضادات الأكسدة وانخفاض معنوي في مستوى الـ MDA لمجموعة الحيوانات التي تم تجريبيها بعصير الرمان مقارنة مع مجموعة السيطرة ، بينما أدت معاملة الحيوانات بكلوريد الكاديوم بجرعة 5 ملغم / كغم من وزن الجسم إلى حدوث إنخفاض معنوي لمضادات الأكسدة وحدث إرتفاع معنوي في مستوى الـ MDA مقارنة مع مجموعة السيطرة.

اتفقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات منها [29] ، اللذان استخدموا كلوريد الكاديوم في استحداث الإجهاد التأكسدي في ذكور الأغنام ونتائج [30] ، اللذين استخدموا كلوريد الكاديوم في استحداث الإجهاد التأكسدي في الفئران ، إذ يسبب كلوريد الكاديوم زيادة في الإجهاد التأكسدي عن طريق الارتباط مع مجموعة السلفهيدريل للبروتينات مما يؤدي إلى زيادة بيروكسدة الدهون ، التي يرافقها إنخفاض في مجمل مضادات الأكسدة الأنزيمية ، أنزيم الكاتاليز (CAT) ، سوبر أوكسيد ديسميوتاز (SOD) ، إضافة إلى إنخفاض الكلوتاثيون المختزل (GSH) والمحتوى الكلي لمضادات الأكسدة (TCA) [30],[31] ، إن انخفاض مضادات الأكسدة الأنزيمية وغير الأنزيمية بوجود الكاديوم يؤدي إلى زيادة الـ MDA التي تعد المنتج النهائي لعملية أكسدة الدهون ، والـ MDA تثبط فعالية الأحماض الأمينية وتثبط صناعة الأحماض النووية والبروتينات وتعطل عمل الأنزيمات [32],[33] .

بينما أدى تجريب ذكور الأرانب المعاملة بكلوريد الكاديوم بعصير الرمان إلى حدوث إرتفاع معنوي لمضادات الأكسدة كذلك حدوث إنخفاض معنوي في مستوى بيروكسدة الدهون MDA مقارنة بمجموعة الحيوانات المعاملة بكلوريد الكاديوم ، إن احتواء عصير الرمان على نسبة عالية من الفلافونيدات تعزى إليها معظم الفعالية المضادة للأكسدة ، التي تشمل مركبات Anthocyanins المعروفة بقابليتها الكاسحة للجذور الحرة ومنع أكسدة الدهون [34],[35] ، كما

لوحظ أن مادة Punicalagin الموجودة في عصير الرمان تحمي البروتينات الدهنية والحامض النووي الـ DNA من ضرر الإجهاد التأكسدي للجذور الحرة بعدة آليات منها آلية كسح الجذور الحرة Scavenging activity وآلية انتقال الإلكترونات وآلية أيونات المعادن الكلاية [36],[37] Chelating metal ions ، كما لاحظ [38] قدرة المركبات الموجودة في عصير الرمان على حماية الـ DNA ومنع تحطم الكروموسومات في خلايا كبد الفئران ، بذلك فهذه المركبات تحمي من بيروكسدة الدهون وتحد من إرتفاع MDA في خلايا الكبد ، ويفسر ذلك بقدرتها على الحفاظ على تركيز GSH وعلى فعالية الأنزيمات CAT و GPx و GR ، وبصورة عامة فإن الفعل المضاد للأكسدة لعوامل الاختزال التي تمتاز بها مركبات الفينولات المتعددة الموجودة في عصير الرمان ، يعتمد على تحطيم وكسر أو أضرار الجذور الحرة بوساطة منح ذرة الهيدروجين ، بالإضافة لذلك تتفاعل عوامل الاختزال مع سوابق البيروكسيد وبذلك تمنع تكوين بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 [39] .

أظهر الفحص النسيجي لخصية ذكور أرانب مجموعة السيطرة والمجموعة المجرعة بعصير الرمان ، الشكل الطبيعي للنبيت المنوية وانتظام أشكالها ووجود المراحل الأساسية لتوليد النطف والمعروفة بـ Spermatogenesis مع وجود النسيج الرابط بين النبيتات وخلايا لايدك وسيرتولي المسؤولة عن النشأة الطبيعية للنطف السليمة ، بينما أظهر الفحص النسيجي تغيرات كبيرة طرأت على النسيج الخصوي لمجموعة ذكور الأرانب المعاملة بكلوريد الكاديوم الذي يؤدي إلى حدوث حالة الإجهاد التأكسدي لها ، كحصول تحطم في الغشاء القاعدي في معظم النبيتات المنوية وانعدام وجود النطف مع تنحس في نبيتات أخرى مع وجود أعداد قليلة جدا للخلايا المولدة للنطف وفقدان أغلب مراحل تكوين النطف ، وقد جاءت النتيجة متفقة مع العديد من الدراسات منها ، دراسة [31] ، إذ وجدوا أن تجريب الجرذان بكلوريد الكاديوم بجرعة 5 ملغم / كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوما يؤدي

التي تؤدي إلى خلل في الحامض النووي الـ DNA لبيوت الطاقة (Mitochondrial) ، مما يسبب حدوث طفرات وراثية تؤدي إلى خلل في بناء البروتينات وبالتالي يؤدي إلى خلل في سلسلة نقل الإلكترونات وبذلك يحدث إنخفاض في إنتاج الطاقة (ATP) وهذا يؤثر على الخلايا الجرثومية الذي بدوره يؤثر على عملية نشأت النطف [43] .
بينما يلاحظ أن الدور الوقائي لعصير الرمان ضد سمية كلوريد الكادميوم في نسيج الخصى لذكور الأرانب ، إذ إن امتلاك عصير الرمان المركبات الفينولية ، Punicalagins و Ellagitaannins والأنثوسيانين وفيتامين C و E التي تعد من مضادات الأكسدة القوية في مواجهة أنواع الأوكسجين الفعال ، وبهذا تحمي الخلايا والنسج من ضرر الإجهاد التأكسدي [44].

إلى خفض وزن الجسم نتيجة الضرر التأكسدي الناجم عن كلوريد الكادميوم، وهذا قد سبب إنخفاض في وزن الاعضاء الجنسية التناسلية (الخصيتين والبربخ وغدة البروستات والحوصلات المنوية) ، إن كلوريد الكادميوم يحدث على انحطاط ونخر أنسجة الخصية التي قد تساهم في فقدان الوزن للخصية [11],[40] ، وقد يسبب الكادميوم حدوث زيادة كبيرة في جذور الأوكسجين الفعال (ROS) في السائل المنوي، مما يسبب تخريب للـ DNA وتنشيط عملية البيروكسدة للأحماض الدهنية غير المشبعة في أغشية الخلايا المبطنة للنبويات المنوية (خلايا سرتولي والخلايا المولدة للنطف) وتعمل على تحطيمها، أو تؤدي إلى موت النطف وذلك من خلال تغيرات في طبيعة البروتينات في الأغشية البلازمية للنطف [41],[42] ، إضافة إلى ذلك أن زيادة أنواع الأوكسجين الفعال (ROS) في السائل المنوي

المصادر

- 1-El-Gendy KS, Aly NM, Mahmud FH, Kenawy A. and El-Sebae AK (2010). The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food Chem. Toxicol.* 48: 215-221.
- 2-Khan A N, Khan R A, Ahmad M. and Mushtaq N .(2015). Role of antioxidant in oxidative stress and diabetes mellitus. *J. Pharmacog. Phytochem.* 3(6): 217-220.
- 3-Akbari A and Jelador G.(2013). The Effect of Oxidative Stress and Antioxidants on Men Fertility. *Zahedan J. Res.Med. Sci. ZJRMS*; 15(7): 1-7.
- 4-Patar A, Giri A, Boro F, Bhuyan K, Singha V. and Giri S. (2016). Cadmium pollution and amphibians –studies in tadpoles of *Rana limnocharis*. *Chemosphere*, 144: 1043-1049.
- 5-Liu Y, Xiao T, Perkins RB, Zhu J, Zhu Z. and Ning Z.(2016). Geogenic cadmium pollution health risk with emphasis on black shale .*J.Geochemical. exploration*, In press.
- 6-Eriksson E, Reriet D M, Ledin A. and Lundy L. (2011). Water management in cities of the future using emission control strategies for priority hazardous substances . *Water. Sci Technol.* 64: 2109-2118.
- 7-WHO. (2010). Exposure to cadmium a major public health concern. WHO document production services. Geneva, Switzerland.
- 8-Flora S J S, Megha M. and Ashish M. (2008). Heavy metal induced oxidative stress and its possible reversal by chelation therapy . *Indian J.Med.Res.* 128, 501-523.
- 9-Rekha D K, Nayanatara A K, Anupama N, Bhaghyalakhmi K, Pai S R. and Shetty S B. (2014). Beta carotene as antioxidant in cadmium induced testicular toxicity. *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol*, 1(3): 61-66.
- 10-Martynowicz H, Skoczy ska A, Karczmarek-Wdowiak B. and Andrzejak R. (2005) . Effects of cadmium on testis function . *Med. Pract.* 56(2), 167-174.
- 11-Alaee S, Talaiekhazani A, Rezaei S, Alaee K, and Yousefian E. (2014). Cadmium and male fertility. *J. of Infertility and Reprod. Biology*, 2 (2): 62-69.
- 12-Krishnaiah D, Sarbatly R. and Nithyanandam R R .(2011) . A review of the antioxidant potential of medicinal plant species , *Food and Bioproduct processing* ,89:217-233.
- 13-Gil M, Toma's-Barbera'n F, Hess-Pierce B, Holcroft D. and Kader A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing . *J . Agric .Food . Chem .*,48 (10): 4581-4589 .
- 14-Sturgeon S. and Ronnenberg A. (2010). Pomegranate and breast cancer: Possible mechanisms of prevention . *Nutr . Rev .*, 68(2): 122-128 .
- 15-Adhami V, Imtiaz S, Deebe N, Rahul K. and Hasan M. (2012). Oral infusion of pomegranate fruit extract inhibits prostate carcinogenesis in the TRAMP model . *Carcinogenesis* , 33(3): 644-651 .
- 16-Goncalves, C, Santos M, Ginabredo M, Fortunato R, Carvalho D. and Ferreria A. (2013). Flavonoid rutin increase thyroid iodide uptake in rats . *PLOS One* ,8(9): 1-12 .
- 17-Hartman R, Shah A, Fagan A, Schwetye K, Parsadanian M, Schulman R, Finn M. and Holtzman D. (2006). Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Al-zheimer's disease. *Neurobiol. Dis.*, 24 (3): 506-515.
- 18-Atilgan D, Parlaktas B. and Uluocak N.(2014). Pomegranate (*Punica granatum*) juice reduces oxidative injury and improves sperm concentration in a rat. model of testicular torsion-detorsion . *Dep. Histo. Embro, Facul Medi.* 8:478-482.
- 19-Adnaik R S, Gavarkar P S. and Mohite S K. (2015). Evaluation of antioxidant effect of *Citrullus vulgaris* against cadmium-induced neurotoxicity in Mice brain .*Inter. J. Pharm. Scien. Res.* P-ISSN: 2320-5148.

- 20-الحديدي , عبيد عطا الله عايد (2015). التأثيرات الفسلجية والكيموحيوية لعقار Simvastatin وعصير الرمان وبذور الشوفان على الأرانب النيوزلندية المصابة بتصلب الشرايين التجريبي , أطروحة دكتوراه , كلية العلوم , جامعة الموصل , العراق .
- 21-Al-Saeed M H. and Hadi N S .(2015). Study the effect of Isoflavonoid extract of *Punica granatum* rinds on fertility efficiency and semen fluid characteristic in male rabbits . *Basic. J. Vet. Res. Vol.* 14, No,2.
- 22-Benzie I F F, Strain J J.(1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry.* 239, 70–76.
- 23-Al-Zamely O M, Al-Nimer M S, Al-Muslih R K .(2001). Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infection .*Nation .J. Chem.,* 4:625-637.
- 24- Goth L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinics Chimica* 196, 143-152.
- 25-Rao B, Soufir J C, Martin M, and David G. (1989). Lipid peroxidation in human spermatozoa as related to midpiece abnormalities and motility. *Gamete Research*, 24(2), 127-134.
- 26-الطرادة , محمود محمد , الرطروط , أسامة خالد , عثمان , جمال محمد ' ابودييه , محمد .(2009). أساسيات علم التحضير النسيجي , دار الثقافة , عمان . الأردن .
- 27-الحاج , حميد أحمد (1998). التحضيرات المجهرية الضوئية (التقانات الإحيائية) , الطبعة الأولى , قسم العلوم الحياتية – الجامعة الأردنية , مركز الكتب الأردني , عمان – الأردن , ص 121-140 , 149-186 , 221-232 .
- 28-Steel R G D, and Torries J H. (1980). Principle and Procedures of Statistics:A Biochemical Approach. 2nd edition, McGraw-Hill Book Company Inc., New York, USA.
- 29-Naji H A. and Zenad M M.(2015). Oxidative stress in sheep induced by cadmium chloride toxicity , with therapeutic effects of alpha lipoic acid. *J.Anim.Feed Res.* 5(5): 142-147.
- 30-Kar R, Garg S, Halder S, Galav H, Chandra N. and Mehndiratt N. (2015). Cadmium Exposure Induces Oxidative Stress by Decreasing Expression of Antioxidant Enzymes in Mice Liver. *Int. J. Clin. Biochem. Res.* 2(2): 89-96.
- 31-Hussein Y M, Hussein R M, Amin A I, Mohamed A S. and Hussein H S. (2015). Evaluation of mesenchymal stem cells and vitamin E in treatment of infertile male albino rats. *Int. J.Med. Bio. Sci* , Vol.3: 942-951.
- 32-Samuel J B, Stanley J A, Princess R A, Shanthi P. and Sebastian M S. (2011). Gestational cadmium exposure induced ovotoxicity delays puberty through oxidative stress and impaired steroid hormone levels. *J Med Toxicol;* 7:195-204.
- 33-Gill K K, Sandhu H S. and Kaur R .(2015). Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant status on fenvalerate, nitrate and their co-exposure in *Bubalus bubalis*. *Pesticide Bioch Physio*, 123:19-23.
- 34-Graf D, Seifertn S, Jaudszus A, Bub A. and Watzl B. (2013). Anthocyanin-rich juice lowers cholesterol , leptin and resistin and improves plasma fatty acid composition in Fischer rats . *PLOS One* ,8(6): 1-5 .
- 35-Mena P, Galino A, Collado-Gonzalez J. and Ondono S.(2013). Sustained deficit irrigation affects the colour and phytochemical characteristics of pomegranate juice . *J . Sci. Food Agric.*, 93(8): 1922-1927 .
- 36-Kulkarni A, Mahal H, Kapoor S. and Aradhya S. (2007). *In vitro* studies on the binding , antioxidant and cytotoxic actions of punicalagin . *J. Agric . Food Chem.*,55: 1491-1500.
- 37-Albasha M O. and Azab A E.(2016). Hepatorenal protective effects of pomegranate (*Punica granatum*) Juice against nicotine induced toxicity in Guinea pigs . *J.Advanc.Bio.Biotech*, 5(1) :1-13.
- 38-Valadares M C, Pereira E R T, Benfica P L. and Paula J R. (2010). Assessment of mutagenic and antimutagenic effects of *Punica granatum* in mice . *Brazilian J.Pharm . Sci.*46(1): 121-127.
- 39-Naveena B, Sen A, Kingsly R, Singh D . and Kondaiah N. (2008). Antioxidant activity of pomegranate rind powder extract in cooked chicken patties. *Int . J. Food Sci .Technol.*; 43(10):1807-1812.
- 40-Monsefi M, Alae S, Moradshahi A. and Rohani L.(2010). Cadmium-induced infertility in male mice. *Environ. Toxicol.* 25(1): 94-102.
- 41-El-Taieb M A A, Herwig R, Nada E A, Greilberger J.and Marberger M. (2009). Oxidative stress and epididymal sperm transport, motility and morphological defects. *Eur. J. Obst. Gynecol Reprod. Biol.*; 144: 199-203.
- 42-Shiva M, Gautam A K, Verma Y, Shivgotra V, Doshi H. and Kumar S. (2011) Association between sperm quality, oxidative stress, and seminal antioxidant activity. *Clin. Biochem.*, 44(4): 319- 324.
- 43-Venkatesh S, Riyaz A M, Shamsi M B, Kumar R, Gupta N P. and Mittal S. (2009). Clinical significance of reactive oxygen species in semen of infertile Indian men . *Andro* , 41: 251-256.
- 44-Viladomiu M, Hontecillas R, Lu P. and Bassaganya - Rieral J. (2013). Preventive and prophylactic mechanisms of action of pomegranate medicine . *Article ID* 789764. 1-18.

Estimate the level of the balance of oxidants - antioxidants in plasma and semen of healthy males and local rabbits exposed to oxidative stress induced cadmium chloride and preventive role of pomegranate juice against the state of oxidative stress

Qasim Aziz Razooqi¹, Saleh M. Rahim Ai-obaidy¹, Sahib J. Abdou-Rahman²

¹ Department of Biology , College of Education Pure Science , Tikrit University , Tikrit , Iraq

² Department of Biology , College of Education Pure Science , Kirkuk University , Kirkuk , Iraq

Abstract

This study was designed to estimate the level of the balance of oxidation-antioxidants in both serum and semen and histological effect to the fabric of the testes in male local rabbits *Oryctolagus cuniculus* health and cadmium chloride treatment, in addition to the protective role of pomegranate juice against the toxicity of cadmium chloride. The were used rabbits in this study, 20 male were randomly divided into four groups each group containing 5 animals, The first group given distilled water promised healthy control group, The second group was treated cadmium chloride 5 mg / kg of body weight and promised infected control, The third group given pomegranate juice 6 ml / kg of body weight, The fourth group was treated cadmium chloride 5 mg / kg of body weight with given pomegranate juice 6 ml / kg of body weight, with the results of the study showed that the treatment of animals cadmium chloride led to decrease significantly ($P \leq 0.05$) in the total content of antioxidants level of total antioxidant Capacity (TAC) and glutathione (GSH) and enzyme Catalase (CAT), and increase the concentration of Malondialehyde (MDA) for each of the blood and semen serum compared with the control group, in addition treatment of animals led cadmium chloride to bring about changes textile negative apparent in the tissues of the testes consisted crash of the basement membrane of most tubule sperm with thickening in other tubules with the presence of small numbers of cells generating sperm and the loss of most of its formative stages, while the dosage animal treatment cadmium chloride juice pomegranate raised increase significantly the total content of antioxidants level (TAC) and glutathione and enzyme Catalase, and the decrease concentration of (MDA) serum and semen and improved tissue and clear to the fabric of the testes, compared with the treatment group cadmium chloride.