مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 22 (7) 2017
ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

دراسة الدور الوقائي لعصير الرمان مقارنة بالكارنتين على خصوبة ذكور الأرانب المحلية ضد سمية كلوريد الكادميوم

قاسم عزيز رزوقي[1] ، صالح محمد رحيم[1] ، صاحب جمعة عبدالرحمن[2]
[1]قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق
[2]قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة كركوك ، كركوك ، العراق

الملخص

صممت هذه الدراسة للتعرف على تأثير سمية كلوريد الكادميوم ($CdCl_2$) Cadmium chloride على خصوبة ذكور الأرانب المحلية *Oryctolagus cuniculus* والدور الوقائي لعصير الرمان والكارنتين ضد هذه السمية، استخدم في هذه الدراسة 30 ذكر من الأرانب المحلية قسمت عشوائياً إلى 6 مجاميع كل مجموعة تحتوي على 5 حيوانات، المجموعة الأولى جرعت بالماء المقطر إذ 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 جرعت بالكارنتين 28 ملغم/كغم من وزن الجسم، المجموعة الخامسة تم معاملتها بكلوريد الكادميوم 5 ملغم/كغم من وزن الجسم مع تجريعها بعصير الرمان 6 مل /كغم من وزن الجسم, والمجموعة السادسة تم معاملتها بكلوريد الكادميوم 5 ملغم/كغم من وزن الجسم مع تجريعها بالكارنتين 28 ملغم/كغم من وزن الجسم، حيث أظهرت النتائج أن معاملة الحيوانات بكلوريد الكادميوم أدت إلى أثار سلبية على معالم النطف تمثلت بإنخفاض معنوي ($P\leq 0.05$) في حركة وعدد النطف الحية والشكل الطبيعي لها، وإرتفاع مستوى المعنوية في عدد النطف غير المتحركة وعدد النطف الميتة وعدد النطف ذات الشكل المشوه، بينما أدى تجريع الحيوانات بعصير الرمان وبالكارنتين على التوالي مع كلوريد الكادميوم إلى أحداث إرتفاع مستوى المعنوية في عدد النطف المتحركة وعدد النطف الحية والشكل الطبيعي لها، وانخفاض مستوى المعنوية في عدد النطف غير المتحركة وعدد النطف الميتة وعدد النطف ذات الشكل المشوه.

المقدمة

يعرف انعدام الخصوبة بأنها الفشل في حصول الحمل بعد سنة من الزواج وبدون استعمال موانع الحمل ويعد من المشاكل الصحية الرئيسية للأزواج ويرتبط حوالي 30 % من هذه المشاكل بالذكور[2,1]. تقسم عدم الخصوبة إلى نوعين عدم الخصوبة الأولية Primary infertility وهي عدم حصول الحمل، وعدم الخصوبة الثانوية Secondary infertility ويطلق على الأزواج اللذين حصل لديهم حمل وبعدها لم يحصل حمل آخر [3]. يعمل الكادميوم بصورة غير مباشرة على أحداث الإجهاد التأكسدي، حيث يعد من المعادن التي تحفز على الأكسدة، بينما تكون الالية الأساسية عن طريق تعطيل سلسلة نقل الإلكترونات وتحفيز بيوت الطاقة لتكوين أصناف الأوكسجين الفعال [4,5]. يسبب كلوريد الكادميوم زيادة في الإجهاد التأكسدي عن طريق الارتباط مع مجموعة السلفاهيدريل للبروتينات مما يؤدي الى زيادة بيروكسدة الدهون، التي يرافقها انخفاض في مجمل مضادات الأكسدة الأنزيمية، مثل أنزيم الكتاليز (CAT)، سوبر أوكسيد ديسميوتيز (SOD)، إضافة الى انخفاض الكلوتاثيون المختزل (GSH) ومجموع مضادات الأكسدة في أنسجة خصية الجرذان [6] . وقد أظهرت بعض الدراسات بأن الكادميوم يمكن أن يسبب موت الخلايا في أنسجة الخصية وهذا يؤدي الى نخر وضمور في الأنسجة عن طريق كبح نشاط فعالية الكلوتاثيون بيروكسيديز Glutathione peroxidase. أن الموت الخلوي المبرمج Apoptosis للخلايا الجرثومية هو عامل أساسي لأجراء عمليات طبيعية لنشأت النطف Spermatogenesis، وفي بعض الحالات يحدث أختلال في ميزان موت خلايا النبيبات المنوية التي تؤدي الى نقصان في أعداد النطف ويعد الكادميوم أحد مسببات هذا الموت الخلوي في النبيبات المنوية [7].

إن الضرر التأكسدي الذي تسببه الجذور الحرة هي السبب الرئيسي في قلة النطف وله أثار سلبية على بنية النطف وحدوث تشوهات لها وهذا يؤدي إلى العقم [8]، أن الخلل الحاصل في تكوين النطف ووظيفتها من الأسباب الشائعة عند الرجال غير الخصيبين وتعد عمليات أنتاج النطف ونضجها وعملية انتقال النطف الفعال خلال القناة التناسلية الأنثوية وما يحدث من عمليات التمكين وتفاعل الجسيم الطرفي ومن ثم اختراق أغشية البويضة الخطوات الأساسية للخصوبة وحدوث الحمل وتطور الجنين [9]. إن وجود مستويات طبيعية من الأوكسجين الفعال في السائل المنوي هو أمر ضروري لإكمال وظائف النطف، إذ تؤدي دوراً هاماً في نضجها وحركتها وفعاليتها وتمكين الجسيم الطرفي من اختراق أغشية البيضة لحصول الإخصاب بشكل طبيعي [11,10]، وعلى العكس من ذلك فإن زيادتها أو حصول نقص في مضادات الأكسدة سوف يؤدي إلى حصول الإجهاد التأكسدي، وبما أن الغشاء الخارجي لخلية النطفة يكون غنياً بالأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة (PUFA) لذا فهو عرضة للتحلل السريع بفعل الإجهاد التأكسدي وهذا ما يزيد من مستوى بيروكسدة الدهون Lipid peroxidation [12]. تتأثر النطف بأنواع الأوكسجين الفعال حالها حال أي خلية حية، اذ تكون حساسة لمستويات الجذور الحرة مما يؤدي الى الضرر في كفاءة النطف وحصول الضرر فيها [13]، ويعد

الضرر التأكسدي واحد من أهم العوامل المسببة لقلة الخصوبة حيث ان احتواء النطف كميات كبيرة من الأحماض الدهنية غير المشبعة في البلازما الغشائية للنطف يؤدي للضرر التأكسدي بفعل الجذور الحرة وأنواع الأوكسجين الفعال وهذا يؤثر بدورة على سلامة الغشاء وقلة حركة النطف ويؤثر سلبا على معايير النطف الأخرى وتلف الحامض النووي منقوص الأوكسجين الـ DNA، وأضرار الأكسدة هذه تساهم في حوالي 80 % من حالات ضعف خصوبة الذكور [15,14].

المواد وطرائق العمل

الحيوانات :-

استخدام في هذه الدراسة 30 ذكراً من الأرانب المحلية *Oryctolagus cuniculus* بأعمار تراوحت بين(8–10) أشهر وأوزان تراوحت بين(1300–1600غم)، تم شراؤها من الأسواق المحلية لمدينة كركوك بحالة صحية ممتازة، وتمت عملية التربية في غرفة صغيرة أبعادها 3×3 م تم تهيئتها لهذا الغرض، وتم وضع الأرانب بصورة انفرادية في أقفاص ذات أبعاد 60×40×40 سم مصنوعة من Stainless steel أعدت لهذا الغرض، وقد خضعت الحيوانات لظروف مختبريه موحدة من حيث التهوية ودرجة الحرارة تراوحت (20–25) مْ ومدة إضاءة 12 ساعة ضوء و12 ساعات ظلام، وغذيت الحيوانات على علف قياسي (35% حنطة، 34% ذرة صفراء، 20% فول الصويا، 10% بروتين حيواني و1% حليب مجفف مضاف إليه 50 غم/100 كغم مواد حافظة وفيتامينات ومواد أخرى مضادة للفطريات) وباستخدام أوان مصنوعة من الألمنيوم بكميات متساوية وبتسلسل ثابت لكل المجاميع، أما الماء فقد قدم للأرانب في أوان مصنوعة من الألمنيوم سعة 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 آني طول فترة التجربة.

تصميم التجربة:

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

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

المجموعة الثانية (مجموعة $CdCl_2$): تم معاملة هذه المجموعة بكلوريد الكادميوم بجرعة 5 ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً [16].

المجموعة الثالثة (مجموعة عصير الرمان): تم تجريع هذه المجموعة بعصير الرمان بجرعة 6 مل/كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً [17].

المجموعة الرابعة (مجموعة الكارنتين): تم تجريع هذه المجموعة بالكارنتين بجرعة 28 ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً [18].

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

المجموعة السادسة (مجموعة الكارنتين + $CdCl_2$): تم تجريع هذه المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بالكارنتين بجرعة 28 ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً.

الحصول على السائل المنوي:

بعد تخدير الحيوانات باستخدام الكلوروفورم شرحت الحيوانات باستخدام عدة التشريح للحصول على البربخ، ووضعه في طبق بتري زجاجي وباستخدام مشرط حاد قطع البربخ إلى أجزاء وأضيف إليها محلول ملحي Normal saline ومع التحريك المستمر بواسطة Wood Stick، تم الحصول على السائل المنوي[19].

الفحص ألمجهري للسائل المنوي Microscopic Examination

تم وضع قطرة من الخليط (النطف البربخية + المحلول الملحي الفسيولوجي) بواسطة ماصة باستور على شريحة زجاجية نظيفة وجافة ثم غطيت القطرة بغطاء زجاجي وفحصت تحت المجهر المركب باستخدام قوة التكبير 40× لتسجيل معالم النطف البربخية وكما يلي:

أ- النسبة المئوية للنطف المتحركة Percentage of sperm Motility

تم حساب 200 نطفة في الحقل المجهري الواحد وسجل معدل عدد النطف المتحركة واستخرجت النسبة المئوية للنطف المتحركة وفق المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية للنطف المتحركة} = \frac{\text{عدد النطف المتحركة}}{\text{العدد الكلي للنطف (المتحركة وغير المتحركة)}} \times 100$$

[19]

ب- النسبة المئوية للنطف الحيوية Percentage of sperm viability

تم أخذ قطرة من محلول السائل المنوي على شريحة زجاجية نظيفة وجافة , وأضيفت لها كمية مماثلة من صبغة ايوسين- نكروسين ومن ثم مزجها جيداً ونشرها على الشريحة لعمل مسحة خفيفة لملاحظة شكل النطف وحيويتها بوساطة المجهر الضوئي، فقد ظهرت النطف الميتة مصبوغة الرأس بصبغة الايوسين بينما تعمل صبغة النكروسين كأرضية للشريحة الزجاجية، أما النطف الحية فلم تأخذ الصبغة، ثم حسبت لكل مسحة 200 نطفة على الأقل وتم حساب النسبة المئوية وفق المعادلة الاتية:

$$\text{النسبة المئوية للنطف الحيوية} = \frac{\text{عدد النطف غير المصبوغة (الحيوية)}}{\text{العدد الكلي للنطف (المصبوغة وغير المصبوغة)}} \times 100$$

[20]

ت- **النسبة المئوية للنطف الطبيعية Percentage of normal sperms:** تم حساب 200 نطفة على الاقل لاستخراج النسبة المئوية للنطف الطبيعية وفق المعادلة الاتية:

$$\text{النسبة المئوية للنطف الطبيعية} = \frac{\text{عدد النطف الطبيعية}}{\text{العدد الكلى للنطف (الطبيعية وغير الطبيعية)}} \times 100$$

حيث حددت علامات التشوه بالاعتماد على التغيرات الحاصلة في إشكال النطف والمتمثلة بثنائية الرأس ومستديرة الرأس وثنائية الذنب وملتفة الذنب[21].

التحليل الاحصائي Statistical analysis

اجري التحليل الاحصائي للنتائج بواسطة اختبار تحليل التباين ANOVA وتم تحديد الاختلافات المعنوية بحسب اختبار دانكن متعدد الحدود Duncan's multiple ranges وبمستوى معنوية $P\leq 0.05$ [22].

النتائج

لوحظ من الفحص المجهري لنطف الأرانب في مجموعة السيطرة وكذلك المجاميع المجرعة بعصير الرمان 6 مل/كغم من وزن الجسم وبالكارنتين 28 ملغم/كغم من وزن الجسم الشكل الطبيعي للنطف من حيث الرأس والقطعة الوسطية والذنب والموضحة في الصور(1)، (5)، (6).

بينما يلاحظ من خلال الفحص المجهري لنطف الأرانب المعاملة بكلوريد الكادميوم ظهور تشوهات بشكل واضح متمثلة بوجود نطف ثنائية الرأس إضافة إلى ملاحظة نطف ظهر فيها تشوه في القطع الوسطية وتثخنها أو حتى اختفاءها وانفصالها من رأس النطفة، ويلاحظ أيضاً وجود نطف ذات ذنبين وكذلك وجود عدد كبير من النطف ذات أذناب ملتفة أو تكون مفصولة عن رأس النطفة، كما موضح في الصور (2)، (3)، (4).

وقد أظهر الفحص المجهري لنطف الأرانب المعاملة بكلوريد الكادميوم والمجرعة بعصير الرمان وكذلك المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم والمجرعة بالكارنتين، الشكل الطبيعي للنطف وعودتها إلى شكل مقارب إلى شكل النطف في مجموعة السيطرة والملاحظ في الصور (7)، (8).

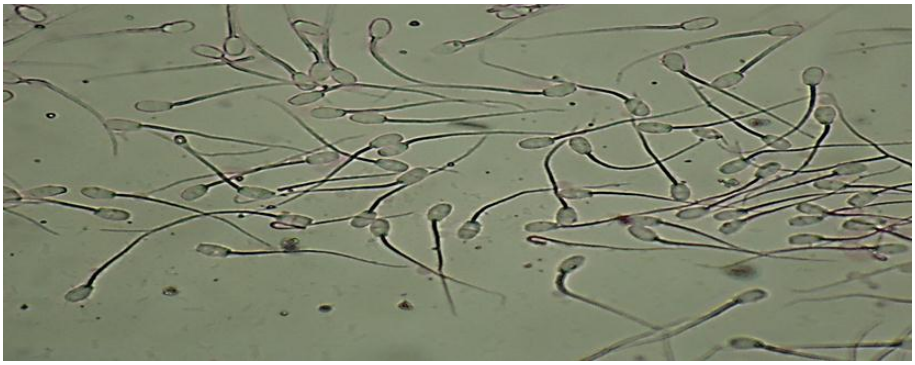
يلاحظ من الجدول (1) إن معاملة ذكور الأرانب بـ $CdCl_2$ أدى إلى أحداث إنخفاض معنوي ($P\leq 0.05$) في النسبة المئوية لكل من النطف الحية والمتحركة والشكل الطبيعي وإلى إرتفاع معنوي في النسبة المئوية في كل من النطف الميتة وغير المتحركة والشكل المشوه مقارنة مع السيطرة الطبيعية، بينما أدى تجريع الأرانب المعاملة بـ $CdCl_2$ بعصير الرمان والكارنتين إلى أحداث إرتفاع معنوي في النسبة المئوية لكل من النطف الحية والمتحركة والشكل الطبيعي وإلى إنخفاض معنوي في النسبة المئوية في كل من النطف الميتة وغير المتحركة والشكل المشوه مقارنة مع المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم، بينما لم تلاحظ أي فروق معنوية عند تجريع الأرانب السليمة بعصير الرمان والكارنتين مقارنة مع السيطرة السليمة.

جدول: معالم النطف

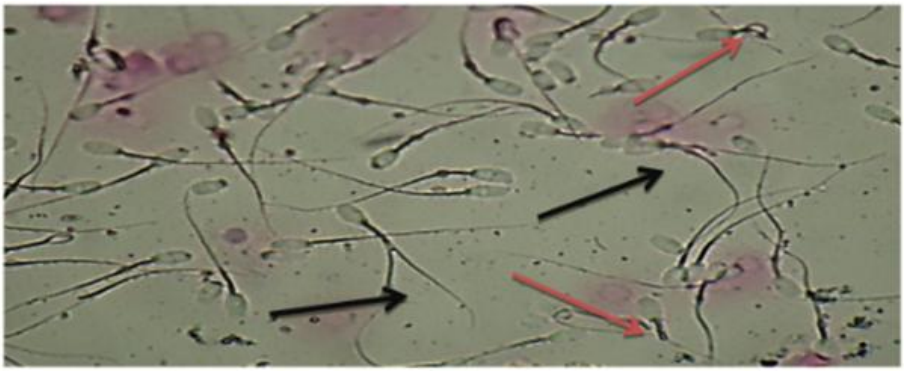
معالم النطف / المجموعة	حيوية النطف		حركة النطف		شكل النطف	
	النطف الحية %	النطف الميتة %	متحركة %	غير متحركة %	طبيعي %	مشوه%
السيطرة	87 ± 2 ab	13 ± 2 bc	91 ± 4 A	9 ± 2 b	91 ± 5 a	9 ± 2 b
سيطرة معاملة بـ $CdCl_2$	48 ± 5 c	52 ± 4 a	59 ± 3 B	41 ± 6 a	58 ± 3 b	42 ± 5 a
عصير الرمان + $CdCl_2$	85 ± 3 ab	15 ± 2 b	90 ± 4 A	10 ± 4 b	90 ± 5 a	10 ± 4 b
الكارنتين + $CdCl_2$	82 ± 4 b	18 ± 3 b	90 ± 6 A	10 ± 5 b	86 ± 6 a	14 ± 3 b
عصير الرمان	91 ± 4 a	9 ± 2 c	92 ± 3 A	8 ± 2 b	93 ± 3 a	7 ± 2 b
الكارنتين	90 ± 3 a	10 ± 2 c	91 ± 6 A	9 ± 3 b	92 ± 3 a	8 ± 3 b

- القيم تمثل المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي.
- الحروف المختلفة عمودياً تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ($P\leq 0.05$).
- عدد الحيوانات 5 في كل مجموعة.

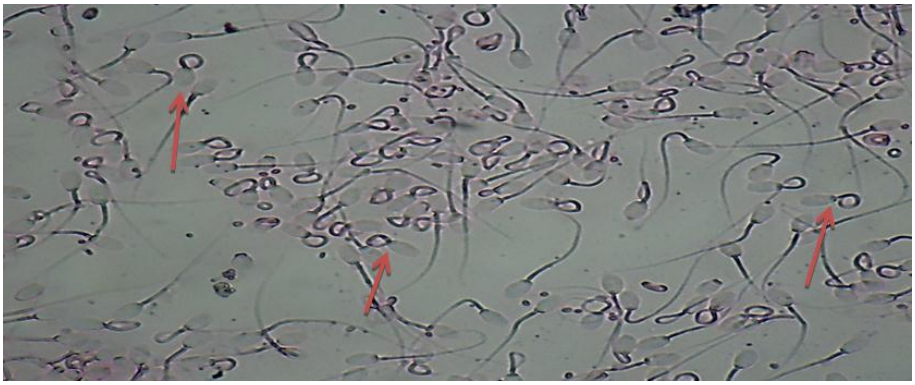
الفحص المجهري للنطف:



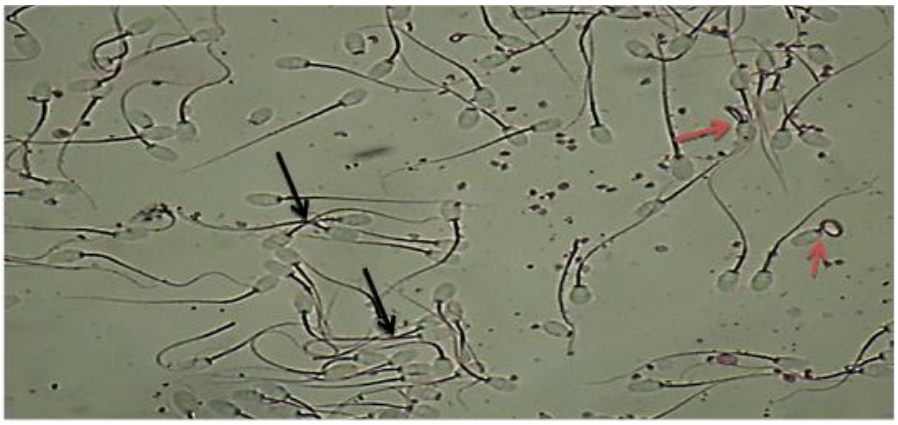
صورة (1): نطف مجموعة ارانب السيطرة توضح الاشكال الطبيعية للنطف DCF X400



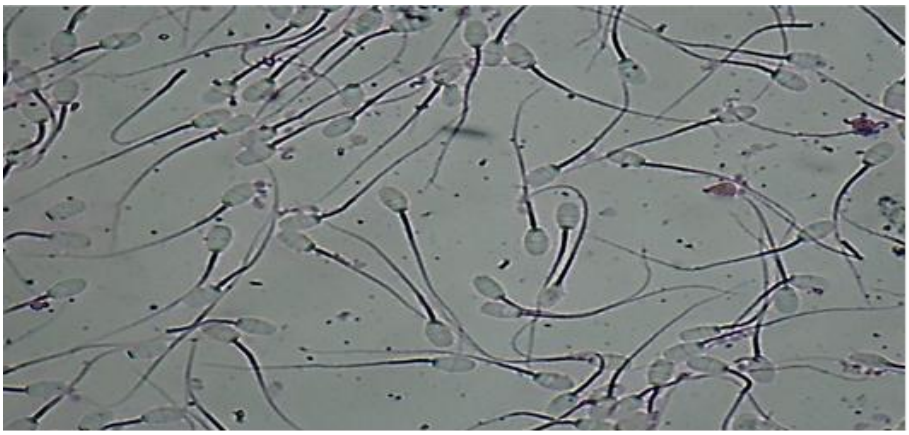
صورة (2): نطف مجموعة الارانب المعاملة بكلوريد الكادميوم توضح تشوهات في اشكال بعض النطف حيث يلاحظ وجود نطف بذنبين (المؤشر الاسود) ونطف اخرى تعاني من التفاف الذنب (المؤشر الاحمر) DCF X400



صورة(3) نطف مجموعة الارانب المعاملة بكلوريد الكادميوم يوضح تشوهات في اشكال بعض النطف حيث يلاحظ وجود نطف كثيرة تعاني من التفاف الذنب (المؤشر الاحمر) DCF X400



صورة (4): نطف مجموعة الارانب المجرعة بكلوريد الكادميوم يوضح تشوهات في اشكال بعض النطف حيث يلاحظ وجود نطف برأسين (المؤشر الاسود) ونطف اخرى تعاني من التفاف الذنب (المؤشر الاحمر) DCF X400



صورة (5): نطف مجموعة الارانب المجرعة بعصير الرمان يوضح الاشكال الطبيعية للنطف DCF X400

صورة (6): نطف مجموعة الارانب المجرعة بالكارنتين يوضح الاشكال الطبيعية للنطف DCF X400

صورة (7): نطف مجموعة الارانب المعاملة بكلوريد الكادميوم والمعالجة بعصير الرمان الاشكال الطبيعية للنطف DCF X400

صورة (8): نطف مجموعة الارانب المعاملة بكلوريد الكادميوم والمعالجة بالكارنتين يوضح الاشكال الطبيعية للنطف DCF X400

المناقشة

أدت معاملة ذكور الأرانب المعاملة بكلوريد الكادميوم بجرعة 5 ملغم/كغم من وزن الجسم إلى أحداث تغير كبير في معالم النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة , إذ يتبين أن المعادن الثقيلة ومن ضمنها الكادميوم تسبب الإجهاد التأكسدي عن طريق توليد أنواع الأوكسجين الفعال (ROS)، بما في ذلك جذر الهيدروكسيل (OH) وجذر الأوكسجين السالب (O^-) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، وأنواع الأوكسجين الفعال تحدث الضرر في مختلف الجزيئات الحيوية الموجودة في داخل الخلية (الحامض النووي الـ DNA والدهون والبروتينات)، وكذلك تغيير في الأغشية الخلوية للنطف مما يؤثر على حيوية النطف وفعاليتها[23،24]. تعمل أصناف الأوكسجين الفعال على مهاجمة أواصر الكاربون المزدوجة التي توجد ضمن تركيب الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة التي تدخل في تركيب الغشاء الخارجي للنطف وينتج عنه تحطم الغشاء الخارجي للنطف وتتحول الدهون غير المشبعة إلى بيروكسيد الدهن والذي يمثل الـ MAD أحد نواتجه النهائية الأكثر استقراراً [25].

يمكن أن يعزى سبب إنخفاض الحركة التقدمية للنطف لعدد من الأسباب منها، الضرر التي تسببه أنواع الأوكسجين الفعال في أغشية الخلايا البلازمية وفي تركيب بيوت الطاقة التي تعد المصدر الرئيسي للطاقة الضرورية لإدارة الحركة، الأمر الذي يؤدي إلى قصور في كل من الأيض الخلوي وبقية الوظائف الخلوية للنطف[26]، تقع بيوت الطاقة للنطف على امتداد القطعة الوسطية بين الأغشية البلازمية والعواميد الغمدية التسعة مكونة طبقة تغطيها، يتم الحصول على الكمية الكبيرة من الطاقة التي تجهزها بيوت الطاقة للنطف بشكل ATP، أما عن طريق التحلل السكري Glycolysis في السايتوبلازم أو عن طريق عملية الفسفرة التأكسديةOxidative phosphylation داخل بيوت الطاقة[26]، تنتقل الطاقة ATP المتولدة في بيوت الطاقة إلى النبيبات الدقيقة Microubules لغرض تجهيز طاقة الحركة، لذلك القصور في فعالية بيوت الطاقة ربما يفسر الانخفاض في حركة النطف، والسبب الأخر قد يكون نتيجة حدوث الضرر في ذيل النطفة المسؤول عن الحركة، حيث ذكرت دراسة [27]، إن حدوث زيادة في ضرر ذيل النطف نتيجة الزيادة في مستوى أنواع الأوكسجين الفعال إذ تؤثر بشكل مباشر على الحركة، نتيجة سلسلة من العمليات المؤكسدة للدهون الغشائية والمؤدية لفقدان سلامته، إضافة إلى حدوث ضرر في بروتينات المحور المؤدية إلى حدوث شلل في حركة النطفة، أو قد يعزى سبب الانخفاض في حركة النطف إلى زيادة النسبة المئوية للخلايا غير الحية في مجتمع النطف ومن ثم إنخفاض النسبة المئوية للنطف المتحركة، كذلك قد تنخفض حركة النطف بعد حدوث الإجهاد التأكسدي نتيجة حدوث بعض التغيرات في عملية النقل الفعال ونفوذية الغشاء في منطقة ذيل النطفة [28].

ويمكن أن يعزى سبب التشوه في القطعة الوسطية للنطف إلى إنخفاض مستوى الفركتوز في السائل المنوي، إذ ينتج الفركتوز في الحويصلات المنوية ويقع إنتاجه تحت سيطرة الهرمونات الذكرية في الخصية [29] , إن نقص الهرمونات يؤدي إلى نقص الفركتوز أو حتى اختفائه من السائل المنوي، ويرتبط نقص الهرمونات الذكرية مع زيادة أنتاج أنواع الأوكسجين الفعال التي تسبب الضرر النسجي للخصية نتيجة التعرض للكادميوم [30].

وقد يكون سبب الانخفاض في عدد النطف وزيادة تشوها في الحيوانات المعاملة بكلوريد الكادميوم إلى نتيجة لحدوث تغييرات عديدة في نسيج الخصية كتحطم ظهارة الأوعية الدموية وتلفها وبالتالي يؤدي إلى انقطاع التغذية الدموية وحدوث ضمور وتنكس الخصوي Testicular degeneration [31]، أو قد يكون السبب للاضطراب الحاصل في التنظيم الهرموني لعملية نشأت النطف بسبب إنخفاض هرمون التستوستيرون المنتج من خلايا لايدك Leydig cells نتيجة تأثير الكادميوم [32]، ويعتقد أيضاً أن الكادميوم يحتل أمكان تواجد عنصر الزنك في الخلايا المكونه للنطف الذي يعد ضروري لعملية نشأتها [33].

إن تجريع الأرانب المعاملة بكلوريد الكادميوم بعصير الرمان بجرعة 6 مل/كغم من وزن الجسم يوماً , أدت إلى تحسن عالي في معالم النطف، إذ أن إمتلاك عصير الرمان على المركبات الفينولية المتعددة النشطة حيوياً والتي لها دوراً في كسح أنواع الأوكسجين الفعال (ROS) وحماية الحامض النووي الـ DNA من التلف، إضافة إلى دورها في زيادة أنشطة مضادات الأكسدة الأنزيمية وغير الأنزيمية وبهذا يكون لعصير الرمان دوراً في حيوية النطف [34،35]، كما يمتلك عصير الرمان دوراً فاعلاً في تحسين عدد ونوعية النطف، إذ يحتوي على مادة Punicalagin التي لها أهمية في صحة النطف من خلال تنظيم نضوجها، كما إنه يرفع من مستوى هرمون الـ Testosterone وقد يرجع سبب هذا الإرتفاع إلى إحتواء عصير الرمان على نسبه عالية من فيتامين C، الذي يعمل في الحفاظ على الخلايا المسؤولة عن إنتاج هرمون التستوستيرون الضروري لتكوين النطف وتوفير الحماية لها من الأذى التأكسدي [36،37]، وفي المقابل تعمل المركبات الفينولية المتعددة الموجودة في عصير الرمان وخاصة Ellagic acid الذي يقلل من الأكسدة ويمنع سمية الـ CCL_4 وتزيد تكوين وإفراز هرمون التستوستيرون من الخصية الذي يعد ضروري لبدء تكوين النطف وإدامتها [35,38].

بينما ادى تجريع ذكور الأرانب المعاملة بكلوريد الكادميوم بالكارنتين إلى تحسن في معالم النطف، من خلال الدور الوقائي الذي يقوم به الكارنتين إذ يؤثر على حركة النطف وزيادة عددها ويقلل من ضعف الخصوبة , وله دور في منع التعبير الجيني للخلايا المبطنة للنبيبات المنوية وبذلك يؤدي إلى التقليل من النسبة المئوية للنطف الميتة والمشوهة [39]، يوفر الكارنتين الركيزة الحيوية للنطف من خلال أكسدة الأحماض الدهنية كمصدر للطاقة مما يساهم في توفير الطاقة للنطف وهذا يؤثر إيجابياً على حركة النطف ونضجها وعددها، وله دور مهم في عملية التمثيل الغذائي للنطف حيث يوجد في السائل البربخي، وكذلك لدورة المضاد للأكسدة الذي يقلل من التأثير الضار للجذور الحرة على الخلايا الجرثومية [18,40]، إضافة إلى دور الكارنتين في زيادة فعالية خلايا سرتولي وذلك من خلال توفير الطاقة اللازمة لها , وهذه الخلايا هي المسؤولة عن إنتاج هرمون التستوستيرون الذي يزيد الخصوبة لدى الذكور[41].

المصادر

1-Imhof M, Lackner J, Lipovac M, Chedraui P, Riedl C. (2011). Micronutrient supplementation increases sperm quality in the sub-fertile Male Infertility; 6(2): 120-123.

2-Barkhordari A, Hekmatimoghaddam S, Jebali A, Khalili M A, Talebi A, Noorani M.(2013). Effect of zinc oxide nanoparticles on viability of human spermatozoa. *Iran J Reprod Med*, 11:767-771.

3-Shete S A, Hulke S M, Thakare A, Patial P, and Kaore .(2012). Antioxidant level in the seminal plasma of human subjects with different fertility potential . *Res. J. Pharm, Bio. Chem. Sci*, 3(2): 653-659.

4-Wang Y, Fang J, Leonard S S, Rao K M K. (2004). Cadmium inhibits the electron transfer chain and induces reactive oxygen species, *Free Radic. Biol. Med.*,; 36: 1434–1443.

5-Chen B, Tuuli M G, Longtine M S, Shin J S, Lawrence R, Inder T. and Michael ND .(2012). Pomegranate juice and punicalagin at-tenuate oxidative stress and apoptosis in human placenta and in human placental trophoblasts. *Am. J. Physiol. Endocri- nol. Metabol*. 15(9): E1142-52.

6-Hussein Y M, Hussein R M, Amin A I, Mohamed A S, 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.

7-Hikim A P S, YueJia Y H L, Wang C, Swerdloff R S.(2011). Apoptotic signaling in male germ cells. New York: Cambridge University Press; 283 p. (Green DR, Reed JC, editors. Apoptosis: physiology and Pathology; *vol*. 25.

8-Coskun O, Kanter M, Korkmaz A. and Oter S. (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res*, 51: 117-23.

9-Sikka S C. (2004). Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. *J. Andro*, 25(1):5-18.

10-Kothari S, Thompson A, Agarwal A. and du Plessis S S. (2010). Free radicals: Their beneficial and detrimental effects on sperm function. *Indian J. Exp. Biol.*, 48: 425-435.

11-Keber R, Rozman D. and Horvat S. (2013). Sterols in spermatogenesis and sperm maturation. *J. Lipid Res*., 54: 20-33.

12-Bhagavathy S. and Sumathi P. (2012). Stabilization of membrane bound ATPases and lipid peroxidation by carotenoids from Chlorococcum humicola in Benzo(a)pyrene induced toxicity. *Asian Pacific J. Trop. Biomed.*, 2: 380-384.

13-De Lamirand E. and Gagnon C.(1995). Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects . *Hum . Reprod . 10 Suppll* : 15-21.

14-Mancini A, Festa R, Raimondo S, Silvestrini A, *et al* .(2012). Biochemical Alterations in Semen of Varicocele Patients: A Review of the Literature. Urology. *Advan Urolol*. 1- 6.

15-El-Tohamy M M. (2012). The mechanisms by which oxidative stress and free radical damage produces male infertility. *Life Sci. J*., 9: 674-688.

16-Adnaik R S, Gavarkar P S, Mohite S K.(2015). Evaluation of antioxidant effect of *Citrullus vulgaric* against cadmium-induced neurotoxicity in Mice brain. Inter. J. Pharm. Scien. Res. P-ISSN: 2320-5148.

17-الحديدي , عبير عطا الله عايد (2015) . التأثيرات الفسلجية والكيموحيوية لعقار Simvastain وعصير الرمان وبذور الشوفان على الأرانب النيوزلندية المصابة بتصلب الشرايين التجريبي، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

18-Eidi M, Mivehchi M, Reza G, Navid P, Parastoo G. and Mostafa H. (2014). Effect of L-carnitine on Serum LH, FSH and Testosterone Levels in Adult Male Rats. *Adv. Biores., Vol* 5 (4): 120-124.

19-Dada R, Gupta N P. and Kucheria K. (2001). Deterioration of sperm morphology in men exposed to high temperature , J.*Anat.Soc.India*, 50(2) : 107-111.

20-Zeneveld L, and Polakoski K.(1977). Collection and physical examination of the ejaculate. In: Techniques of human Andrology .Hafez ,E.S.E.(eds). Elasevier /*North Holland Biochem press pp*:147-172.

21-Sakamoto J, and Hashimoto K. (1986). Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice effects on fertility and sperm morphology . *Arch. Toxicol*.,59:201-5.

22-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.

23-Liu C M, Zheng Y L, Lu J, Zhang Z F, Fan S H. and Wu D M. (2010). Quercetin protects rat liver against lead-induced oxidative stress and apoptosis. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 29(2):158–66.

24-Weidinger A. and Kozlov A V. (2015). Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress versus Signal Transduction. *Biomolec.*, 5: 472-484.

25-Badade Z G, More K M, Narshetty J G. and Badade V Z. (2011). Human Seminal oxidative stress: correlation with antioxidants and sperm quality parameters . *Annals of Bio . Res*, 2 (5) : 351 – 359.

26-Dziekońska A, Fraser L. and Strzeżek J.(2009). Effect of different storage temperatures on the metabolic activity of spermatozoa following liquid storage of boar semen. *J. Anim. and Feed Sci*.; 18:638-649 .

27-Sinan O, Esra E, Ayca I, Derya O. and Sercin K . (2008). Effects of cryopreservation on sperm parameters and ultrastructural morphology of human spermatozoa. *J Assist Reprod Genet. August*; 25(8): 403–411.

28-Silva P F. and Gadella B M.(2006). Detection of damage in mammalin sperm cells . *Theriogenology*, 65:958-978 .

29-Brooks D E.(1979). Biochemical environment of sperm maturation. [In the Spermatozoa, Fawcett, D.E. and Bedford, J.M. (cds). (Urban& Schwargenber Baltimore)., 23.

30-Li R, Luo X, Li L, Peng Q, Yang Y, Zhao L, Ma M. and Hou Z. (2015). The Protective Effects of Melatonin Against Oxidative Stress and Inflammation Induced by Acute Cadmium Exposure in Mice Testis. Biological Trace Elements Research, First online 30 July. Doi:10.1007/s12011-015-0449-6. supplied by Springer publisher.

31-Baharara J, Zafar - Balanejad S, Kamareh E. and Asadi-Samani M.(2014). The effects of green tea extract on teratogenicity induced by low frequency electromagnetic field on bone marrow Balb/ C mice embryo. *J. Herbmed Pharmacol*., 3(1): 47-51.

32-Hassanin K M A. and Safwat G M.(2014). Role of Nigella Sativa oil in alleviating reproductive hormones and some inflammatory mediators caused by cadmium toxicity in rat testes. *Int. J. of Advanced Res.*, 2 (9): 606-611.

33-Telisman S, Cvitkovic P, Pizent J, Gavella M. and Rocis B. (2000). Semen quality and reproductive endocrine fun relation to biomarkes of lead, cadmium, zinc, copper in men. U.S. environmental protection agency, and the international lead, *Zinc Res. Organiz*., 108(1): 45-53.

34-Fyiad A A, Abd El-Kader M A. and Abd El-Haleem A H. (2012). Modulatory Effects of Pomegranate Juice on Nucleic Acids Alterations and Oxidative Stress in Experimentaly Hepatitis Rats, *Life Sci. J, vol*. 9(3):676-82.

35-Al Olayan E M, El Khadragy M F, Metwally D M. and Abdel Moneim A E.(2014). Protective effects of pomegranate (*Punica granatum*) juice on testes against carbon tetrachloride intoxication in rats. *BMC Compl Alter Med*.,14:164:1-9.

36-Lansky E. and Newman R. (2007). Pomegranate *(Punica granatum)* and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J. Ethnopharmacol* ., **109**(2): 177-206.

37-Turk G, Sonmez M, Aydin M, Yuce A, Gur S, Yuksel M, Aksu EH. and Aksoy H. (2008). Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality,

spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. Clin Nutr.;27(2): 289–296.

38-Ceribasi A O, Sakin F, Turk G, Sonmez M. and Atessahin A. (2012). Impact of ellagic acid on adriamycin - induced testicular histopathlogical lesions, apoptosis, lipid peroxidation and sperm damages . *Experment . Toxi Patho* , 64: 717-724.

39-Mohammadi F, Nikzad H, Taherian A, Mahabadi J A, Saleh M. (2013). Effects of herbal medicine on male infertility. *Anat Sci.* 10(4):3-16.

40-Shahrzad E, Zahiri S, Ghasemi F. and Jahromi H K .(2013). A study of effects of L-carnitine on morphology and apoptosis in cryopreserved sperm . *Advanc Environ Bio*, 7(9): 2126-2134.

41-Caviglia D, Scarabelli L. and Palmero S. (2004). Effects of carnitine on rat sertoli cell protein metabolism. *Horm .Metab .Res.Apr*;36(4):221- 225.

Study the protective role of pomegranate juice compared L-carentin the fertility of male local rabbits against the toxicity of cadmium chloride

Qasim Aziz Razooqi[1], Saleh M. Rahim Ai-obaidy[1], Sahib J. Abdou-Rahman[2]

[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 identify the impact of the toxicity of cadmium chloride on the fertility of male local rabbits *Oryctolagus cuniculus* and preventive role of pomegranate juice and L-carnitine against this toxin, used in this study, 30 local male rabbits were randomly divided into six groups each group containing 5 animals, the first group given distilled water which considered as healthy control group, the second group was treated with cadmium chloride (5mg/kg) of body weight and promised infected control, The third group given pomegranate juice 6 ml/kg of body weight, The group fourth given L-carnitine (28 mg/kg) of body weight, The group fifth set was treated with cadmium (chloride 5mg/kg) of body weight, with given pomegranate juice 6 ml/kg of body weight, The six group was treated as cadmium chloride 5 mg/kg of body weight with given L-carentin 28 mg/kg of body weight. The results showed that the treatment of animals with cadmium chloride led to negative effects on sperm parameters consisted decrease significantly ($P \leq 0.05$) in traffic and the number of live natural and shape of it, rising significantly in the number of non motile sperm and the number of dead sperm and sperm-shaped deformed, while the dosage animals resulted in that with juice of the pomegranate and L-carentin on respectively and with cadmium chloride to events significant increase in the number of mobile sperm and the number of living sperm and natural shape of it. and significantly decrease in the number of non motile sperm and the number of dead sperm and sperm-shaped distorted.