The Effect of alcoholic extract of Nigella sativa in fertility of mature white male mice treated with cadimium acetate

تأثير المستخلص الكحولى لبذور الحبة السوداء *Nigella sativa* فى خصوبة ذكور الفئران البيض البالغة المعاملة بخلات الكادميوم .

أكرم فاضل التيميمى / مدرس
هيئة التعليم التقني / الكلية التقنية – المسيب

المستخلص

تهدف الدراسة الحالية لمعرفة دور المستخلص الكحولى للحبة السوداء فى التقليل من التأثيرات السلبية لعنصرالكادميوم على خصوبة ذكور الفئران البيض البالغة والتغيرات النسجية المرضية للخصى لقد اظهرت نتائج الدراسة حدوث تغيرات نسجية مرضية للخصى عند معاملة الفئران بجرعة مقدارها 3 و 5 ملغم/كغم من وزن الجسم من خلات الكادميوم عبر غشاء البريتون فقد ازداد التأ ثير بزيادة التراكيز، أما المجاميع المعاملة بالكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء ولكلا التركيزين فلم تظهرأية تغيرات نسجية مرضية مقارنة مع مجموعة السيطره وأدت المعاملة با لكادميوم حدوث انخفاضا معنوياً ($p < 0.05$) فى وزن الجسم ولكلا التركيزين فى حين سببت المعاملة انخفاضا معنويا عالٍ ($P < 0.05$) فى وزن الخصى مقارنة مع مجموعة السيطرة كما أن المجاميع المعاملة بالكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء فأنها لم تظهر اى فروقات معنوية فى أوزان الجسم والخصى ولكلا التركيزين مقارنة مع مجموعة السيطرة.أما التغيرات الحاصلة فى أعداد خلايا الانطاف فقد أدت المعاملة بالكادميوم ولكلا التركيزين الى حدوث انخفاضا معنوياً ($P < 0.05$) فى أعداد خلايا سرتولى مقارنة مع مجموعة السيطرة فى حين سببت المعاملة بالكادميوم الى حدوث انخفاضا معنويا عالٍ ($P < 0.05$) فى أعداد سليفات النطف والخلايا النطفية واورومات النطف ولكلا التركيزين مقارنة مع مجموعة السيطرة كما أن المجاميع المعاملة بالكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء فلم تظهر فروقات معنوية ($P < 0.05$) فى أعداد خلايا الانطاف ولكلا التركيزين مقارنة مع مجموعة السيطرة . يتضح من الدراسة أن المعاملة بالكادميوم ادت الى توقف فى عملية تكوين الانطاف فى معظم النبيبات المنوية اذ أنها مادة سامة خلوية وتعمل على تغيير العمليات الايضية داخل الخلايا أما الحبة السوداء لقد كان لها تاثيرا مضادا للأذى التخريبى والسمى الذى احدثة الكادميوم اذ كان لها اثر علاجى فاعل ومضاد للعديد من الجذور الحرة التى كونها الكادميوم .

Abstract

The present study aimded to investigate the effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* in minimizing the deleterious effect of cadimium in fertility of mature male mice with the histopathological changes of testes.Results illustrated histopathological changes in the testes of mice which were intraperitonealy injected by 3 and 5 mg/kg B.W.of cadimium acetate, the effect was increased by increased concentration,mean while ,that were treated by cadimium with alcoholic extract of *Nigella sativa* for both concentration did not show any histopathological changes as compared with the control treatment , and the group which was treated by cadimium led to a significant reduction ($p<0.05$) in testes weights as compared with the control . In addition, it was noticed that the group treated by cadimium and water extracted *Nigella sativa* did not show any differences in body and testes weighs for both concentration in comparasion with the control ..Groups which were treated by both concentrations of cadimium caused significant reduction ($p<0.05$) of sertoli cells in comparasion with that of the control, mean while ,it was noticed that groups treated with cadimium caused significant reduction ($p<0.05$) in numbers of spermatogonia,spermatocytes and spermatids for both concentrations in comparasion with the control . Groups treated with cadimium and alcoholic extract of *Nigella sativa* did not show any significant differences($p>0.05$) in numbers of sperms for both concentrations as compared with the control. The study indicated that treatment with cadimium caused cessation of spermatogenesis in semineferous tubules due its cytotoxic effect and it causes changes in metabolic processes in cells mean while *Nigella sativa* had an effect against deleterious and toxic effect which was induced by cadimium which had acurative effect against free radicals formed by cadimium .

المقدمة:

ينتمى نبات الحبة السوداء Nigella sativa الذى يعود الى العائلة الشقائقية (الحوذانية) ويتميز بالرائحة العطرية ومذاق خاص (1) .تعرف الحبة محليا باسم الحبة السوداء او بحبة البركة او الكمون الأسود black cumin (2) . درست الحبة السوداء من قبل العديد من الباحثين وحللت مكوناتها كيميائيا ووجدوا أنها تحتوى على زيت أساس Essential oil وأحماض دهنية Fatty acid وزيت عطرى Volatile oil وبروتينات وصابونيات Saponine وتانينات Tannins وقلويات Flavonoids وكلايكوسيدات Glycosides (3) عرفت الحبة السوداء علاجا منذو القدم ، وقد اكد الرسول محمد (ص) على اهمية الحبة السوداء اذ قال النبي (ص) ﴿عليكم بهذة الحبة السوداء فانها شفاء من كل داء الا السام ﴾ والسام هو الموت (4) ، وتستعمل الحبة السوداء فى علاج الحالات الطفيفة من حمى النفاس Puerperal fever وفى حالات الطفح الجلدى ، وتستعمل الحبة السوداء كمادة مدررة ومحفزة لجهاز المناعة (5) . دأبت الابحاث على دراسة التاثيرات النافعة للزيوت المستخلصة من النبات ومنها زيت الحبة السوداء فى خصوبة اللبائن ، فمن بين هذة المواد مايكون تاثيرة سلبيا فى عملية الانطاف Spermatogenesis عند ذكور الفئران البيض محدثة العقم Sterility (6) . لقد لوحظ إن إعطاء مستخلص نبات Cannabis sativa بتركيز 14 ملغم / كغم من وزن الجسم احدث اضرارا فى النسيج الخصوى نتيجة نقص فى عناصر الانطاف وذلك بسبب قلة البروتين وحامض Sialic acid فى كل من الخصية والبربخ Epidymis، يسبب هذا النبات انخفاض بتركيز هرمون الأباضة (Luteninizing hormone) وهرمون الشحمون الخصوى Testosterone وقلة فى اعداد خلايا لايدك Leydig cell (7)، ولبعض النباتات تاثيرا فى حركة النطف كما هو الحال فى نبات Burscra fagaroids (8) وبعض الاعشاب الصينية مثل نبات Caesalpinia sappan (9) ، ويعزى سبب ذلك ان مستخلصات هذة النباتات تفرز موادا سامة تؤثر فى خلايا لايدك التى لها دور فى انضاج النطف وحركتها (10) وبينت الدراسة التى قام بها(7) الى حدوث انخفاضا فى أعداد النطف داخل النبيب المنوى عند تجريع الجرذان بجرعة مقدارها 5 ملغم / مل من المستخلص الكحولى لنبات Abrus precatorius عن طريق ماء الشرب ويعود سبب ذلك الى زيادة تركيز الكالسيوم داخل الخلايا وانخفاض محتواها من CAMP (7) . ومن جهة اخرى استخدمت بعض النباتات الطبية لتحسين الخصوبة وعلاج حالات العقم Sterility (11) ، فلقد درس (31) تاثير المستخلص المائى للأوراق الطرية والجافة لنباتي Hibiscus macuranthus و Basella alba على الجهاز التناسلى للفئران البيض البالغة اذ لاحظوا ان استعمال المستخلص لفترة (15) يوما احدث زيادة معنوية فى اوزان الحويصلات المنوية Seminal vesicles مع زيادة فى نسبة النطف الحية وقلة فى نسب النطف الميتة داخل النبيب المنوى وكذلك حدوث زيادة معنوية فى نسبة هرمون الشحمون الخصوى مع حدوث زيادة معنوية فى هرمونى الاباضة ومحفز الجريبات لقد ازداد الاهتمام بدراسة تاثير المواد الكيميائية فى المناسل ، ومن ثم فى خصوبة الحيوانات والانسان (12) وان العديد من هذة المواد تحدث تنكس خصوى Testicular degenerationوإعاقة لعملية الأنطاف. ومن هذة المواد الكادميوم Cadmium الذى اكتشف عام 1817 وهو من العناصر الثقيلة Heavy metalis والذى يعد من اكثر الملوثات فى المياه والهواء اذ تكون مصادرة الاساسية هى المعامل والورش الصناعية ، وتكمن خطورة فى كونة يمتلك تاثيرات سمية ذات طبيعة تراكمية accumulative داخل أجسام الكائنات الحية (13)، أظهرت الدراسات ان الكادميوم مادة مسرطنة Carcinogenic ويمكن ان تحدث اضرارا فى الجهاز الوعائي– القلبي والكبد والكلية (14)، وتعد الخصى والمبايض من اهم الاعضاء التناسلية التى يتراكم عليها الكادميوم (15)، فعند حقن الجرذان بجرعة مقدارها 25 ملغم / 100مل من كلوريد الكادميوم تحت الجلد Subcutaneous سببت تنكسا فى الخصى وتقليلا فى اقطار النبيبات المنوية Seminiferous tubules واضرارا فى الخلايا الجرثومية وانخفاضا فى أعداد النطف(16). وتهدف الدراسه الحاليه الى تحديد التأثيرات السميه للكادميوم على الجهاز التكاثرى للفئران البيض بجرعتين مختلفتين ودراسه دور الحبه السوداء فى التقليل من تلك التاثيرات.

المواد وطرائق العمل

الحيوانات المختبرية

شملت الدراسة (25) فأراً ذكر من الفئران البيض السويسرية Albino Swiss Mices من سلالة (BLab C Strain) تراوحت اعمارها بين (8 - 10) أسابيع ومعدل اوزانها (28) غم تم شرائها من المعهد العالى لتشخيص العقم والتقنيات المساعدة على الانجاب/ جامعة النهرين، ووضعت فى اقفاص خاصة بالفئران وبدورة ضوئية طبيعية (10ساعات ضوء و14ساعة ظلام) واعطيت كميات من العليقة على شكل حبوب مع الماء باستمرار وبشكل حر.ربيت هذة الحيوانات فى بيت الحيوانات التابع للمعهد المذكور.

تحضير المستخلص الكحولى

اجرى الاستخلاص الكحولى وحسب الطريقة المستخدمة من قبل (17) اذ تم تحضير المستخلص الكحولى بوضع (20) غراما من مسحوق الحبة السوداء فى كشتبان الاستخلاص للحصول على المواد المستخلصة بصورة متتالية وذلك با ستعمال جهاز الاستخلاص المتتابع soxholate باستخدام (200) مل من الكحول الا ثيلى(95%) ولمدة (24) ساعة . وتم تركيز المستخلص باالفرن الكهربائى وبدرجة (45)م للحصول على المادة الجافة، أذيب بعدها غرام واحد من هذة المادة فى (10) مل من الماء المقطر للحصول على محلول أصلى Stock solution تركيزة (1 .0) غم/ مل ثم حضر التركيزين (30و50) ملغم / كغم من وزن الجسم .

توزيع الحيوانات

وزعت الحيوانات الى خمسة مجاميع وكل مجموعة تحتوى (5) فأرا وكالاتى....
المجموعة الأولى: حقنت باالمحلول الفسلجىNormal saline واعتبرت مجموعة سسيطرة
المجموعة الثانية : حقنت 3 ملغم / كغم من وزن الجسم من خلات الكادميوم
المجموعة الثالثة : حقنت 5 ملغم / كغم من وزن الجسم من خلات الكادميوم
المجموعة الرابعة : حقنت 3 ملغم / كغم من خلات الكادميوم + 30 ملغم / كغم من مستخلص الحبة السوداء المجموعة الخامسة: حقنت 5 ملغم / كغم من خلات الكادميوم + 50 ملغم / كغم من مستخلص الحبة السوداء

لقد تم حقن جميع أفراد هذة المجاميع عبر غشاء البريتون Intraperitoneal بواقع (18) جرعة ولفترة بلغت (35). يوما وذلك بحقن جرعة واحدة كل (48) ساعة، ولقد أعطى حجم السائل المحقون نسبة الى وزن الجسم. فى بداية كل تجربة وقبل الحقن يتم وزن الحيوانات باستعمال ميزان كهربائى حساس وقبل الشروع بعملية قتل الحيوانات يتم تعيين اوزانها مرة اخرى، وبعد الانتهاء من التجربة يتم التضحية بالحيوانات بعد اجراء عملية فصل الراس عن العنق (Cervical dislocation) ويتم فتح التجويف البطنى واستئصال الخصى بعد إزالة الاجزاء الدهنية المحيطة بها ويتم وزن الخصى بواسطة الميزان الحساس وثم توضع فى المثبت (مثبت بوين) إذ ترك لمدة (24) ساعة وبعدها تحفظ فى كحول اثيلى (70%) لغرض تحضير المقاطع النسجية.

الدراسة النسجية

حضرت المقاطع النسجية فى مختبر الشرائح المجهرية / كلية الطب / جامعة النهرين، اذ اتبعت طريقة (18) حيث حضرت مقاطع نسجية متسلسلة بسمك(5) مايكروميتر باستعمال جهاز المشراح الدوارRotary micrometer وثبتت النماذج على شرائح زجاجية باستعمال لاصق البومين ماير Meyers albumin، ثم وضعت فى الفرن بدرجة (56-58) م بصورة عمودية لمدة (20) دقيقةلازالة الشمع الزائد، ثم صبغت المقاطع بصبغة الهيماتوكسلين- ايوسين لغرض دراستها .

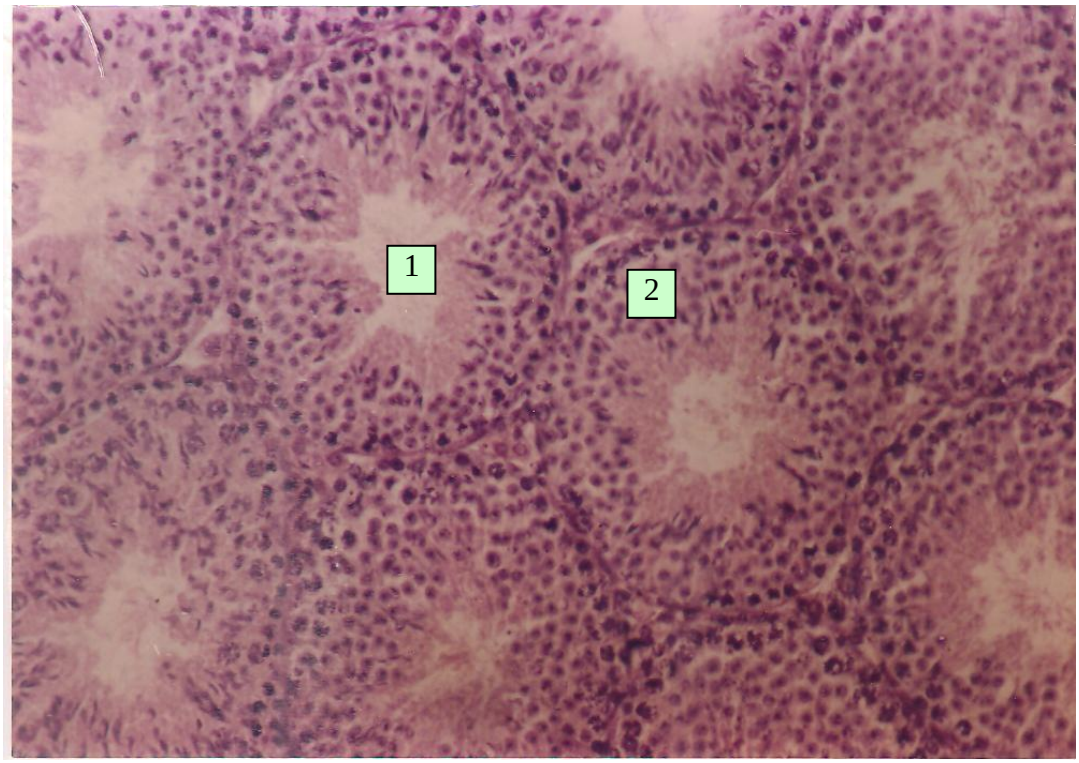
التحليل الإحصائي

استعمل البرنامج statistical analysis – SAS (19) فى التحليل الاحصائى للبيانات المدروسة لدراسة تاثير المعاملات فى الصفات المختلفة، وقورنت الفروق المعنوية باختبار اقل فرق معنوى (LSD) .

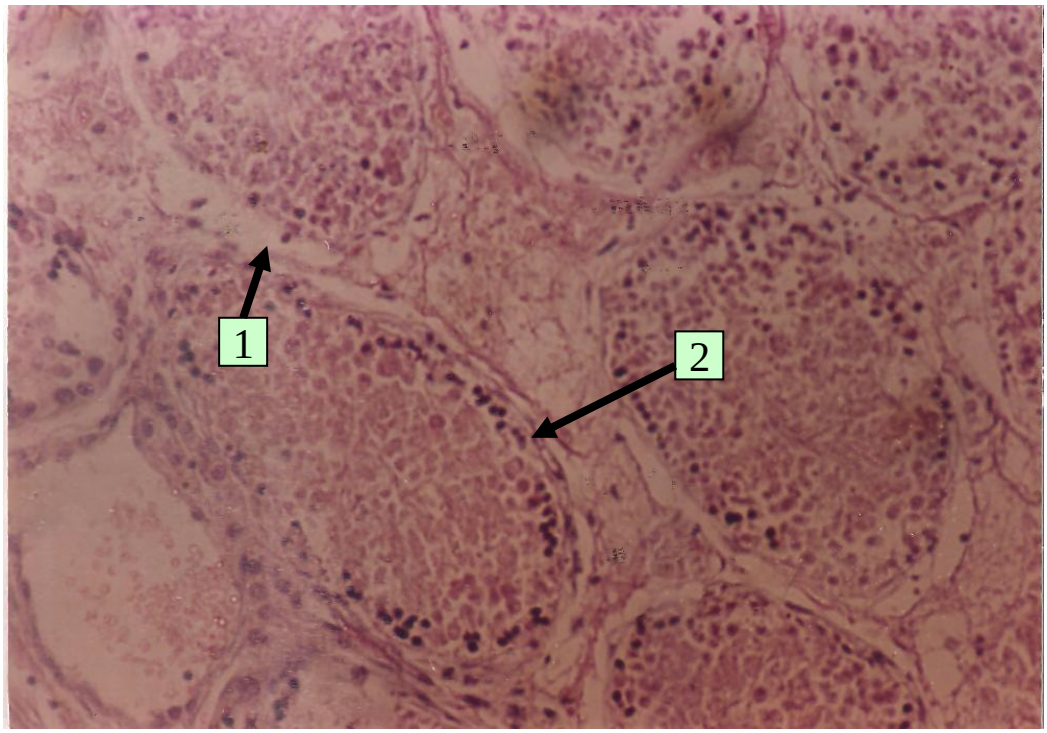
النتائج

الدراسه النسيجية :

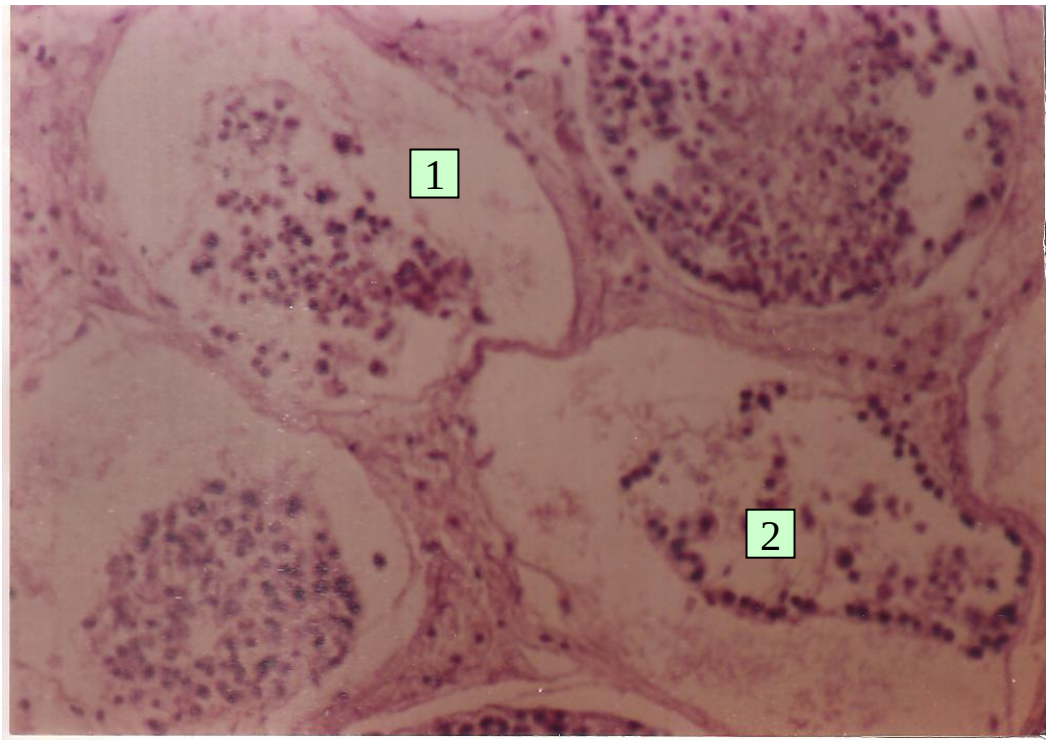
بينت نتائج الدراسة حدوث تغيرات نسجية مرضية عند حقن ذكور الفئران البيض بجرعة 3ملغم / كغم من وزن الجسم من خلات الكادميوم عبر غشاء البريتون بواقع (18) جرعة ،وكان الحقن جرعة واحدة كل(48)ساعة ة ولفترة (35) يوما ادت الى حدوث تنكس واسع فى النبيبات ناقلة المنى Seminiferous tubules وانتشار التغلظ النووى Nuclear pyknosis وظهور الخلايا العملاقة Giant cells (صورة 2). أما المعاملة بجرعة مقدارها 5 ملغم / كغم من وزن الجسم من خلات الكا دميوم (صورة 3) فلقد احد ثت احتقان شديد للأوردة الدموية إذ تميزت بكبر حجمها وكذلك لوحظ ظهور تنخر Necrosis للنبيبات ناقلة المنى مع انتشار السائل الوذمى وضمور النبيبات ناقلة المنى، وتوقف عملية الأنطاف واختفاء النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة (صوره1). اما المجا ميع المعاملة با الكا دميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء *Nigella sativa* ولكافة التراكيز (صوره 4) فلم يلاحظ حدوث اى تضرر او تلف لنسيج الخصية فى جميع حالات المعاملة ، فقد كانت الخصية وجميع مكونات النبيبات المنوية سليمة مما يدل على عدم تأثرها بهذة المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة . اما التغيرات الحاصله فى اعداد خلايا نشأة النطفه،فلقد ادت المعامله بالكادميوم ولكلا التركيزين(3و5) ملغم / كغم من وزن الجسم إلى حدوث انخفاضا معنويا ($P < 0.05$) فى أعداد خلايا سرتولى Sertoli Cell واختفائها من بعض النبيبات ناقلة المنى اذ بلغت (7.77±1.72) و(1.72±0.62)على التوالى مقارنة مع مجموعة السيطرة (15.69 ± 0.88) .ولقد كان التاثير على اشدة عند التركيز 5 ملغم/كغم من وزن الجسم (جدول1) . فى حين لم تؤدي المعاملة بالكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء ولكلا التركيزين إلى حدوث اى فروقات معنوية($p>0.05$) فى أعداد هذة الخلايا مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول 2) فى حين ادت المعاملة بالكا دميوم وللتركيزين (3و5) ملغم / كغم من وزن الجسم الى حدوث انخفاض معنوى عالى ($p<0.05$) فى أعداد سليفا ت النطف، الخلايا النطفية واروما ت النطف وكان التاثير على اشدة عند التركيز 5 ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول 1) ،اما المعاملة بالكاديميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء فانها لم تحدث اى فروقات معنوية ($p>0.05$) فى أعداد هذة الخلايا مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول 2) .



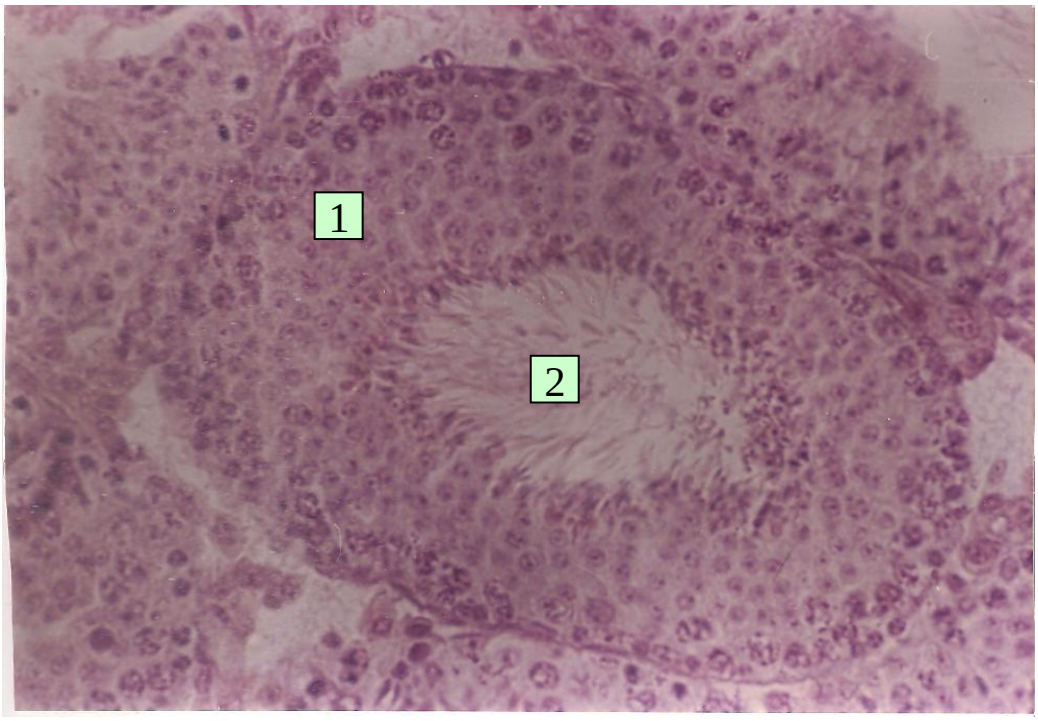
شكل رقم -1- : خصية فار من المجموعة المعاملة بالمحلول الفسلجي (مجموعة السيطرة)
يظهر فيها النبيبات المنوية في الحالة الطبيعية مع وجود النطف داخل تجاويفها (1) مع وجود جميع خلايا نشأة النطفة (2)
H&E(X270)



شكل رقم -2- : خصية فار من المجموعة المعاملة بجرعة مقدارها (3 ملغم / كغم) من وزن الجسم من خلات الكادميوم : لاحظ تنكس واسع ومتقدم في النبيبات ناقلة المني (1) وتغلظ نووي في الظهارة المنوية (2)
H&E(X270)



شكل رقم -3- : خصية فار من المجموعة المعاملة بجرعة مقدارها 5مغلم / كغم من وزن الجسم من خلات الكادميوم : لاحظ التنكس الشديد للنبيبات المنوية (1) ، قلة او عدم وجود النطف في تجاويف النبيبات المنوية (2) H&E(X270)



شكل رقم -4- : خصية فار من المجموعة المعاملة بجرعة مقدارها 3,5مغلم / كغم من وزن الجسم من خلات الكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولي للحبة السوداء : لاحظ مراحل عملية الانطاف (1) ووجود النطف في تجويف النبيب (2) H&E(X400)

الجدول 1. التغيرات الحاصلة في معدل خلايا نشأة النطفه Spermatogenesis ± الخطأ القياسي عند معاملة ذكور الفئران البيض البالغة بجرعة مقدارها(3 و5)ملغم/كغم من وزن الجسم خلات الكادميوم

السيطرة المعاملة	خلايا سرتولي (Sertoli cell)	سليفات النطف (Spermatogonia)	الخلايا النطفية (Spermatocytes)	اورمات النطف (Spermatids)
	A 0.88 ± 15.69	A 1.46 ± 56.41	A 4.87 ± 69.54	A4.12 ±192.81
3 ملغم/كغم خلات الكادميوم	AB 1.72 ± 7.77	B 4.21 ± 17.24	B 5.66 ± 22.96	B 14.72 ± 47.61
5 ملغم/كغم خلات الكادميوم	B 0.62 ± 1.72	C 1.46 ± 2.37	C 1.56 ± 6.21	C 2.57 ± 6.82

القيم التي تحمل حروفاً ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً (P <0.05)

جدول(2) : التغيرات الحاصلة في معدل خلايا الأنطاف Spermatogenesis و± الخطأ القياسي عند معاملة ذكور الفئران البيض البالغة بجرعة مقدارها (3 و5)ملغم/كغم من خلات الكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء*Nigella sativa*

السيطرة المعاملة	خلايا سرتولي (Sertoli cell)	سليفات النطف (Spermatogonia)	الخلايا النطفية (Spermatocytes)	اورمات النطف (Spermatids)
	0.88 ± 15.69	1.46 ± 56.41	4.87 ± 69.54	4.12 ±192.81
3 ملغم/كغم خلات الكادميوم + 30 ملغم/كغم مستخلص كحولي للحبة السوداء	1.29 ± 15.89	2.79 ± 57.41	2.21 ± 69.82	3.96 ± 188.25
5 ملغم/كغم خلات الكادميوم + 50 ملغم/كغم مستخلص كحولي للحبة السوداء	0.89 ± 15.82	2.92 ± 58.71	2.28 ± 68.27	5.11 ± 184.21

التغيرات فى وزن الجسم والخصى:

لقد ادت المعاملة بالكادميوم الى حدوث انخفاض معنوى (p<0.05) فى وزن الجسم وللتركيزين (3 و 5) ملغم /كغم حيث بلغت (23.80 .± 0. 79)و (32 .22 ± 67 . 0) على التوالى مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول 3) ، اما المعاملة بالكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء فلم تحدث اى انخفاض معنوى (p>0.05) فى وزن الجسم وللتركيزين (جدول 2)، اما التغيرات فى وزن الخصى فلقد ادت المعامله بالكادميوم وللتركيزين(3 و5) ملغم/ كغم من وزن الجسم الى حدوث انخفاض معنوى عالى(p<0.05) فى اوزان الخصى حيث بلغت (54.60±6.44)و(47.80± 84 .2) على التوالى مقارنة مع مجموعة السيطرة (60 .87 ± 2.35) (جدول 5) . أما المعاملة با الكا دميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء فلم تؤد الى حدوث اى انخفاض معنوى (5 0.0 <p) فى اوزان الخصى حيث بلغت (91.80±11.20)و(90.20 ±7.80)على التوالى ولكلا التركيزين مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول 6).

جدول(3) : التغيرات الحاصلة في معدل وزن الجسم (غم) و ± الخطأ القياسي قبل وبعد معاملة ذكور الفئران البيض البالغة بجرعة مقدارها (3و5)ملغم/كغم من وزن الجسم خلات الكادميوم

السيطرة المعاملة	قبل المعاملة	بعد المعاملة
	0.25 ± 26.72	A 0.38 ± 26.75
3 ملغم/كغم خلات الكادميوم	1.42 ± 28.54	B 0.79 ± 23.80
5 ملغم/كغم خلات الكادميوم	1.17 ± 25.22	B 0.67 ± 22.32

القيم التي تحمل حروفاً ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً (P <0.05)

جدول(4) : التغيرات الحاصلة في معدل وزن الجسم(غم) و ± الخطأ القياسي عند معاملة ذكور الفئران البيض البالغة بجرعة مقدارها (3 و5) ملغم/كغم من خلات الكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء *Nigella sativa*

السيطرة المعاملة	قبل المعاملة	بعد المعاملة
	0.25 ± 26.72	0.38 ± 26.72
3 ملغم/كغم خلات الكادميوم + 30 ملغم/كغم مستخلص كحولي للحبة السوداء	1.24 ± 28.62	0.98 ± 28.88
5 ملغم/كغم خلات الكادميوم + 50 ملغم/كغم مستخلص كحولي للحبة السوداء	1.89 ± 26.24	0.85 ± 26.82

جدول (5) :التغيرات الحاصلة في معدل أوزان الخصى و± الخطأ القياسي عند معاملة ذكور الفئران البيض البالغة بجرعة مقدارها (3و5)ملغم/كغم من وزن الجسم من خلات الكادميوم

السيطرة / المعاملة	معدل أوزان الخصى ± الخطأ القياسي (ملغم/100 غم)
	A 2.35 ± 87.60
3 ملغم/كغم خلات الكادميوم	B 6.44 ± 54.60
5 ملغم/كغم خلات الكادميوم	B 2.84 ± 47.80

القيم التي تحمل حروفاً ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً (P <0.05)

جدول(6) : التغيرات الحاصلة في معدل أوزان الخصى و± الخطأ القياسي عند معاملة ذكور الفئران البيض البالغة بجرعة مقدارها (3و5)ملغم/كغم من وزن الجسم خلات الكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء*Nigella* sativa

السيطرة / المعاملة	معدل أوزان الخصى ± الخطأ القياسي (ملغم/100 غم)
	2.35 ± 87.60
3 ملغم/كغم خلات الكادميوم + 30 ملغم/كغم مستخلص كحولي للحبة السوداء	11.20 ± 91.80
5 ملغم/كغم خلات الكادميوم + 50 ملغم/كغم مستخلص كحولي للحبة السوداء	7.80 ± 90.20

المناقشة

اظهرت نتائج الدراسة صورة (2) حدوث تغيرات نسجية مرضية للخصى عند معاملة ذكور الفئران البيض بجرعة مقدارها 3 ملغم / كغم من وزن الجسم من خلات الكادميوم عبر غشاء البريتون، اذ ادت المعاملة حدوث تغيرات تنكسية Degeneration changes للنبيبات ناقلة المنى مع انتشار التغلظ النووي وظهور الخلايا العملاقة مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 1).ولقد كان التاثيرعلى أشدة عند الجرعة 5 ملغم / كغم من وزن الجسم (صورة 3)اذ ادت المعاملة الى ظهور تنخر necrosis للنبيبات ناقلة المنى مع ظهور احتقان للاوردة الدموية وقلة أو انعدام النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة . ولقد اتفقت هذة النتائج مع ما توصل الية (20) عند معاملة الجرذان البيض بجرعة مقدارها 50ملغم / كغم من وزن الجسم من مادة الاكريلامايد اذ سببت تنكس للخلايا الجرثومية وانخفاض من مستوى هرمونى FSH ،LH وهرمون الشحمون الخصوىTestosterone وهذا ماكدة (21) عند معاملة الجرذان بجرعة مقدارها 25 ملغم/ لتر من كلوريد الكادميوم عن طريق ماء الشرب اذ سببت تنكس للخلايا الجرثومية وانخفاض فى مستوى افراز الهرمونات الستيرودية فى النسيج الخصوى . ويعزى سبب ذلك الى التاثير السمى الذى احدثة الكادميوم والذى ادى الى تكوين تراكيزعالية من اصناف الاوكسجين الفعالة و كذلك انتاج الجذور الحرة مثل جذر الهيدروكسيل السالب (OH) وجذر السوبراوكساید التى تؤدى الى زيادة نسبة بيروكسيد الدهون (22) والتى لها دور فى عملية ايض النطف وانخفاض فى مستوى الاندروجينات وبالتالى توقف عملية الانطاف Spermatogenesis

أما المعاملة بالكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء ولكلا التركيزين (صورة 4) فإنها لم تحدث اى تغيرات نسجية مرضية عند معاملة ذكور الفئران البيض البالغة بجرعة مقدارها(3و5)ملغم /كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة . وهذا ما اكدة (23) عند معاملة الجرذان بجرعة مقدارها (200) ملغم / لتر من المستخلص الكحولى للحبة السوداء ادت الى إزالة التاثيرات السمية لمادة الافلاتوكسينات، وهذا يتفق مع ما توصل الية (24) عند معاملة الجرذان البيض البالغة بجرعة مقدارها(5 .1)ملغم/كغم من وزن الجسم من المستخلص الكحولى للحبة السوداء إذ أدت إلى تحسن واضح فى معايير الخصوبة ، ويعود السبب فى ذلك الى دور الحبة السوداء فى زيادة مستوى هرمون الشحمون الخصوى الذي يحفزمنشطات المناسل والتى تشمل هرمونيLH وFSH اللذان يعملان على تحفيز خلايا لايدك على افراز هرمون الشحمون الخصوى وخلايا سرتولى لغرض إدامة عملية الانطاف .

التغيرات الوزنية

وزن الجسم

اظهرت نتائج الدراسة جدول (3) حدوث انخفاض معنوى (p<0 .05) فى وزن الجسم عند معاملة ذكور الفئران البيض البالغة بجرعة مقدارها (3 و5) ملغم/ كغم من وزن الجسم من خلات الكادميوم مقارنة مع مجموعة السيطرة . ولقد اتفقت هذة النتائج مع توصل الية (25) عند معاملة الجرذان البيض بجرعة مقدارها 25 ملى مل/ كغم من وزن الجسم من الكادميوم،اذ سببت انخفاضا معنويا فى وزن الجسم ، فيما لاحظ(26) الانخفاض نفسة عند معاملة الأرانب بجرعة مقدارها 18 ملغم/كغم من وزن الجسم من الكادميوم، وهذا ماكدة (27) ان الكادميوم من العناصر الثقيلة ذات التاثير السمى الحاد ويترسب على معظم انحاء الجسم المختلفة.اما المعاملة باالكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء وللتركيزين (3و5) ملغم/كغم من وزن الجسم فانها لم تحدث اى فروقات معنوية (p> 0.05) فى وزن الجسم (جدول 4) مقارنة مع مجموعة السيطرة . وهذا ماكدة (22) من ان الحبة السوداء تعمل على التقليل من مضادات اكسدة الدهون وذلك من خلال تثبيط الجذور الحرة التى تحدث التاثيرات السامة.

وزن الخصى

لقد اثبت الدراسة إن الخصى من المواقع الحساسة التى يتراكم عليها الكادميوم، اذ لوحظ انخفاض معنويا عال ($p < 0.01$) فى وزن الخصى عند معاملة ذكور الفئران البيض البالغة بجرعة مقدارها (3 و5)ملغم/كغم من وزن الجسم من خلات الكادمبوم ولقد ازداد التاثير بزيادة التراكيز،هذا يتفق مع ما توصل الية (28) عند معاملة الجرذان بجرعة مقدارها 50ملغم/كغم من وزن الجسم من مادة الاكريلامايد إذ سببت انخفاضا معنويا فى معايير الدم الهرمونية وأوزان الاعضاء التناسلية (الخصى والبربخ)، يعزى الانخفاض الى قلة افراز هرمون الشحمون الخصوى وبالتالى قلة افراز هرمونى FSH،LH فى النسيج الخصوى (29). امامعاملة باالكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء ولكلا التركيزين فانها لم تحدث اى فروقات معنوية ($p>0.05$) فى وزن الخصى (جدول 6) ،مقارنة مع مجموعة السيطرة.هذا ماكدة (30) من خلال استعمالةعشبا صينيا يدعى *ting _ tung _weng* اذ لاحظ زيادة فى مستوى هرمونى FSH،LH، وكان هذا مطابقا لماتوصل الية(31) عند دراسة تأثير المستخلص المائى للأوراق الطرية لنباتى *Basella alba* ، *Hibiscus macranthus* على الجهاز التناسلى للفئران البيض اذ سببت المعاملة زيادة معنوية فى اوزان الاعضاء التناسلية(الخصى والبربخ)، وهذا ما اكدة (32) عند معاملة الفئران البيض البالغة بجرع محدودة (6 و9.6) ملغم /كغم من وزن الجسم من المستخلص الكحولى لنبات الحنظل عن طريق ماء الشرب لم تحدث اى انخفاض معنوى فى اوزان الأعضاء التناسلية.

التغيرات الحاصلة فى اعداد خلايا الانطاف

لقد أظهرت نتائج الدراسة حدوث انخفاض معنوى ($p<0.05$) فى أعداد خلايا سرتولى عند معاملة ذكور الفئران البيض البالغة بجرعة مقدارها(3 و5) ملغم/كغم من وزن الجسم من خلات الكادميوم ولقد كان التاثير على أشدة عند التركيز 5ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول 1)، حيث سببت المعاملة الى انخفاض فى أعداد هذة الخلايا واختفائها من بعض النبيبات المنوية، وهذا يتفق مع ما توصل الية (33) عند معاملة الفئران البيض السويسرية بجرعة مقدارها 150 ملغم/كغم من وزن الجسم من مادة الا كريلامايد سببت انخفاضا معنويا فى أعداد خلايا سرتولى وازداد التاثير مع زيادة التركيز ومدة التعرض.ويرجع السبب فى ذلك الى التاثير السمى الذى يحدثة الكادميوم على الخلايا الجرثومية مسببا انخفاض فى انقسام هذة الخلايا وفى مستوى افراز هرمونىFSH،LH والذى سبب انخفاض فى أعداد خلايا سرتولى (34). اما المعاملة بالكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء ولكلا التركيزين فانها لم تحدث اى فروقات معنوية ($p>0.05$) فى اعداد هذة الخلايا مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول 2)، فى حين ادت المعاملة بالكادميوم وللتركيزين (3 و5) ملغم/كغم من وزن الجسم (جدول 1) الى حدوث انخفاضا معنويا عال ($p<0.05$) فى اعداد سليفات النطف،الخلايا النطفية واورومات النطف وكان التاثير على أشدة عند التركيز 5 ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة ،وهذا يتفق مع ذكره (35) عند معاملة الجرذان البيض بجرعة مقدارها 50ملغم/كغم من وزن الجسم من الكادميوم اذ سببت حدوث تنكس خصوى وتلف فى خلايا الانطاف . اما المعاملة بالكادميوم والمداخلة مع المستخلص الكحولى للحبة السوداء (جدول 2) فلم تظهر اى تغيرات معنوية ($p > 0.05$) فى اعداد هذة الخلايا مقارنة مع مجموعة السيطرة هذا ما اكدة (24) ان إعطاء المستخلص الكحولى للحبة السوداء احدث زيادة معنوية فى مستوى هرمون الشحمون الخصوى عن طريق تحفيز Gonad regulating cycle وهذا ينظم مستوى الشحمون الخصوي فى الاعضاء وربما قد يعود السبب الى ان إعطاء الحبة السوداء فى حالة انخفاض مستوى الهرمون فى الدم عند حدوث الكرب التاكسدى مما يؤدى الى قيام الخصية بارسال إشارات الى تحت المهاد Hypothalamus لتحرير هرمونات محفزات القند وبالتالى تحفز منشطات المناسل والتى تشمل FSH،LH لتحفيز خلايا ليدك على زيادة إنتاج الشحمون الخصوي وخلايا سرتولى التى سوف تؤثر ايجابيا فى تكوين النطف فى الخصية.

نستنتج من هذة الدراسة ان للحبة السوداء تأثيراً مضاداً للأذى التخريبى والسمّى الذى يحدثه الكادميوم على انحاء الجسم المختلفة وتاثيره على عملية الانطاف والخصوبة عند الذكور وكان لزيت الحبة السوداء اثر علاجى فاعل ومضاد للعديد من الجذور الحرة التى كونها الكادميوم والتى ساهمت فى تخريب انسجة الجسم وخاصة الاعضاء التناسلية ، وذلك لاحتوائها على العديد من مضادات الاكسدة مثل فيتامين (Cو E) وبعض المعادن التى تعمل على تقليل الجذور الحرة المتولدة بفعل الكادميوم.

Referance

1-**Riaz M.Syed M and Chaudhary F.M.(1996).**Chemistry of the medicinal plant of genus Nigella (family-Ranuculaceae).J.Hand Medicus.39(2):40-45.

2-**Dathner, A.M.,(2003)** .From medical herbalism to phytotherapy in dermatology back to the future . Dermatol Ther 16 : 106- 113.

3-**Chun, H., D. H; Shin B.S.; Hong,W.D.;Cho,H.Y. and Matsuyama,M.A.(2002).** Biochemical properties of polysaccharides from black pep-per.Bio Pharm Bull.,25:1203-1208.

4- **Dattner, A.M(2003).**From medical herbalism to phytotherapy in dermatology back to the future .Dermatol Ther 16:106-113.

5- **EL-Kadi A. and Kandilo .(1987).**The black seed (Nigella sativa) as a natural immune inducer .Presented in the IsIamic committee of the scientific Miracles in the Holy Guran, held Islam Abad, Pakistan .

6- **Dixit V.P.(1981)** .Effect of Nigella sativa extract on testicular function of presbytis entellus .Planta Medica, 41 : 288-94.

7-**Ratnsooriya W.D.; Amarasekera A.S.; Perera N.S.D. and Premakumara G.A.S. (1991)** Sperm antimotility propertics of aseed extract Cannabis sativa.J.Ethnoph armacol.,33:85-90.

8- **Haucja R.L.;Delgado N.M.;Carranco L.A.; ReyesL.R. and Rosado G.A.(1990)**.Agglutinating and immobilizing activity of an ethanol extract of Bursera Fagaroides on human and other mammalian spermatozoa Arch- Invest. Med. Mex.,2(14) : 393-8.

9- **Shihlm.;Chiang H.S.;Yang L.L.and Mang T.L.(1990)**.Antimotility effect of Chinese herbal medicines on human sperm .J.Form-Med.Assoc.,89(6) : 466-9 .

10-**Amann R.P.(1989)**.structure and function of the normal testis and epidymis .J.of Amer.coll.Toxicol.,8(3):457-71.

11-**Lohiya N.K.,SOYAL R.B.,Tayaprakash D.;Ansori A.S.and Sharmas S.(1994).**Antifertility effects of aqueous extract of Nigella sativa in male rat .Plant.Medica,60(5):400-4.

12-**Dixon R.L.(1985)**.Aspect of male reproductive toxicology.Hemminkik.

13-Aylett,B.J.(1979).The chemistry and bioinorganic chemistry of cadmium .In:The chemistry , Biochemistry and Biology of cadmium .Webb,M.(Ed).Elsevier,North Holland.

14-**Sikka S.C(1996).**oxidative street,role of antioxidants in normal and abnormal sperm function .fronties in biosciencev 1:78-86.

15-**Exon,J.H.;Lamberton,J.C.and Koller,L.D.(1977).**Effect of chronic oral cadminm residues in organs of mice .Bull.Enviran.Contam.Toxicol.18:74-76.

16-**Kar,A.B.and Das,R.P.(1962).**Sterilization of males by subcutaneous administration of cadmium chlorides .Acta Endocrinology .40,321-331.

17- **Ladd J. L.;Jacobson M. and Buriff M. C.R.(1978).**Japanes beetles extracts from neem treeas feeding deternts.J.Econ.Entomol.,71:810-3.

18-**Bancrofl J.D.and Stevens A.(1982).**Theory and practice of histological techininques.Churchill Iiving ston,New York.

19- **SAS(2010)**.statistical Analysis system ,Users Guid .Statistical Version 7ed.SAS.Inst.Inc. Cary.N.C.USA.

20- **McCollister,D.D.; Oyea,F. and Rowe,V.K.(1964).**Toxicology acrylamide.Toxicol. Appl. pharmaco. 6:172-81.

21-**Ghosh D,Dass S.S,Maiti R,Jana D,Das U.R.Rerod(2002).**Toxicol 16(4):385-390.

22 –**Sikka S .C(1996)** .oxidative strees ,role of antioxidants in normal and abnormal sperm function .fronties in biosciencev1:78-86.

23-**Abdel-Moniem A (2004).**Effect of Ngella sativa on aflatoxin B1 induced oxidative stress in male albino rat .Egypt Germ Soc Zool J .Com Physiol 44:301-22.

24- **Mclachlam R.I,O donnell ;Meachem S.J and Sanon D .M(2002)**. dentification of Specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis .J Clin Endocrinol Metab 57:149-179.

25- **Omaye ,S.T. and Tappel,A.L.(1975).**Effect of cadmium chloride on the rat testicular soluble seleno enzyme , glutathione peroxides .Res .Comm. hem. pathol .Pharmocol.12:695-710.

26- **Cameron,E.and Foster,C.L.(1963)**.Observation on the histological effects of Sub-Lethal doses of cadmium chloride in the rabbit . J.Anat.97:269-280.

27-**Fleisher,M.;Sarofim,A.F.;Fassett,D.W.;Hammond,P.;Schaklette,H.T.;Nisbet,I.C.and Epstein,S.(1974).** Environmental impact of cadmium .A review by the panel on hazardous trace substances .Environ. Health Perspect .7:253-323

28- **Sood,R.(1996)**.Hematology for students and practitioners 4,ed.Japee brothers medical puplishers(p) LTD.Indian.325-318.

29-**Pommerts,F.F.G.(1990).**Testosterone :An ovar view of biosy thesis transport ,Meta.5:29-30.

30-Miyake,M.D.;Lee,J.W.;Kehi,M.D.;Wen.Jine-Tang a tradition at chinese herbal medicine increase Lutinzin hormone release in Vivo, J.Chin-Med.Rd,nv.,5:157-60.

31-**Moundipa,F.P.;Katchouing,P.;Koueto,N.;Tantchou,J,;Foyang,N.P.and Mabiapo,F.T.(1990).** Effect of aqueous extract of Hibiscus macranthus and Bosella alba in mature rat testis function .J.of Ethnopharmacol.65(1):133-9.

32-**Essraa M.A.AI –Essawe,Akram F.Mahdi,F M.Aziz,Ali H.Hassan,Saad S.AI-Dujaily(2011).**Effect of Citrullus colocynthis on some physiological aspects of female reproductive system in mice as model for mammals.J.Biotecchnology .Res.Cent.5(2)61-66.

33-**Ghanayem,B.I.;Witt,K.L.;EI-Hadri,L.;Hoffler,U.;Kissling,G.E.and Shelby,M.D.(2005).** Comparison of germ cell mutagenicity in male CYP2EL-null and wild type mice treated with acrylamide:Evidence supporting aglycidamide-mediated effect ,Biol.reprod .,72:157-163.

34-**Hillier S.G.(1999).**Intragonadal regulation of male and female reproduction .Annqles d¸Endocrinologic(paris),60:111-7.

35-**Kumi-Diaka J.Nguyen V.and Butler A.(1999).**Cytotoxic potential of phytochemical genistein isoflavone and certain environmental chemical compound on testicular cells .Biology of cell ,91:515-23.