مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 22 (8) 2017
ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

التأثير الوقائي للجنكوبايلوبا وزيت الزيتون على الاداء التكاثري في حاله الكرب التاكسدي المحدث بثنائي كرومات البوتاسيوم في ذكور الجرذان

تقية شاكر احمد
كلية طب الاسنان ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

صممت هذه الدراسه للتحري عن تاثير الجنكوبايلوبا وزيت الزيتون على الاداء التكاثري في حالة الجهد التاكسدي المحدث بثنائي كرومات البوتاسيوم في ذكور الجرذان فيما يتعلق بنظام مضادات الاكسدة ومتغيرات السائل المنوي والهرمونات الجنسية الذكرية. قسمت الجرذان المهقاء (والبالغ عددها اربعون جرذاً الى اربع مجاميع تضمنت كل مجموعة (10) جرذان) الى مجموعة السيطرة السليمة ومجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم (تم تجريعها بثنائي كرومات البوتاسيوم عن طريق الفم بالتغذية الانبوبيه 24ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة شهرين) ومجموعة المعاملة بالجنكوبايلوبا وثنائي كرومات البوتاسيوم (جرعت بثنائي كرومات البوتاسيوم ومن ثم بالجنكوبايلوبا 40 ملغم/كغم بعد نصف ساعه ولمدة شهرين) ومجموعة المعاملة بزيت الزيتون وثنائي كرومات البوتاسيوم (جرعت بثنائي كرومات البوتاسيوم ومن ثم جرعت بزيت الزيتون 1مل/كغم بعد نصف ساعه ولمدة شهرين). أظهر التحليل الاحصائي للنتائج انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى الهرمونات الجنسية والعدد الكلي للنطف والنسبة المئوية للنطف الحية ومستوى السيرولوبلازمين والكلوتاثايون وفعالية السوبر اوكساید ديسميوتيز والنشاط العام لمضادات الاكسدة (AOA) Antioxidant Activity ومعدل اقطار وسمك ظهارة النبيبات المنوية رافقه أرتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في التشوهات النطفيه والنسبة المئوية للنطف الميتة ومستوى المالونداياالديهايد وجذر البيروكسي نتريت في مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم مقارنة مع مجموعة السيطرة.وعند التجريع بثنائي كرومات البوتاسيوم مع الجنكوبايلوبا وزيت الزيتون بصوره منفصلة ادى الى أرتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى الهرمونات الجنسية والعدد الكلي للنطف والنسبة المئوية للنطف الحية ومستوى السيرولوبلازمين والكلوتاثايون والسوبر اوكساید ديسميوتيز والنشاط العام لمضادات الاكسدة (AOA) ومعدل اقطار و سمك ظهارة النبيبات المنوية صاحبه انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في التشوهات النطفيه و النسبة المئوية للنطف الميتة ومستوى المالونداياالديهايد وجذر البيروكسي نتريت. من ذلك نستنتج إن العدد الكلي للنطف والنسبه المؤيه للنطف الحيه ومستويات مضادات الاكسدة الانزيمية اعيدت الى القيم الطبيعية عندما تم اعطاء ثنائي كرومات البوتاسيوم مع الجنكوبايلوبا او مع زيت الزيتون لذلك فأن الجنكوبايلوبا وكذلك زيت الزيتون قد تكون مفيدة لتحسين الاداء التكاثري لذكور الجرذان.

المقدمة

يعد الكروم من العناصر الثقيلة الموجودة طبيعياً في التربة والصخور والغبار والغازات البركانية وفي النباتات والحيوانات. ويستعمل الكروم في حفظ الاخشاب وفي صناعة الاصباغ وكمانع للتاكل وتقوية الحديد الصلب ودباغة الجلود ويستعمل في الخيوط الجراحية Chromic Cat Gutويتواجد في الاسبست، غبار السمنت والتبغ وان التعرض المفرط له يشكل خطرا على صحة الانسان.[1,2] عموما فأن العديد من البحوث تشير الى ان كميات صغيرة من معدن الكروم تلعب دوراً مهما في عملية ايض البروتينات والدهون والكربوهيدرات.[2, 3]

يتواجد عنصر الكروم بحالات تأكسدية عديدة منها الكروم ثلاثي التكافؤ Cr^{+3} والكروم سداسي التكافؤ Cr+6 و يتواجد بحالات تاكسدية اخرى ثنائية ورباعية Cr^{+2} وCr^{+4} لكن الكروم الثلاثي والسداسي التكافؤ هما الاكثر اهمية من الناحية الحيوية. وفي الخلية يختزل الكروم سداسي التكافو سريعاً الى كروم ثلاثي التكافو بوساطة الكلوتاثايون Glutathion ومضادات الاكسدة الاخرى, خلال عملية الاختزال هذه تتكون كميات كبيرة من اصناف الاوكسجين الفعالة و التي يتم كسحها بواسطة مضادات الاكسدة التي تحمي الخلايا من الكرب التأكسدي. [4]

هناك عدد من الدراسات تشير الى ان الكروم يحدث ضموراً لخصى الحيوانات وأن تعرض الجرذان للكروم السداسي التكافؤ في فترة ما قبل البلوغ يحدث أذى على الخصى النامية والذي ينعكس بدوره في فترة البلوغ على العمليات الوظيفية الطبيعية في الخصية. [5,6]

ذكر الباحثان Elbetieha and Al-Hamood (1997) [7] ان تجريع ذكور الفئران مركبات الكروم الثلاثية التكافؤ كان له تأثير معاكس على الخصوبة والتكاثر، وعند اعطاء الجرذان جرعات عالية من الكروم سببت تأثيرات ضارة على عمليتي تكوين النطف وإنتاج الستيرويدات اضافة الى أن معاملة الجرذان بالكروم لفترة اكثر من 90 يوم ادى الى فقدان في الفعالية الخلوية للنسيج الخصوي.

الجنكوبايلوبا شجرة معمرة كبيرة الحجم طويلة العمر، تنتمي الى فصيلة الجنكويات, ذات اوراق مروحية التشكل وثمارها تقارب حجم وشكل ثمار الجوز. تعد الجنكوبايلوبا مادة مضادة للاكسدة معروفة بقدرتها على تنشيط الدورة الدموية لذا تستعمل اوراق الجنكوبايلوبا كدواء عشبي منبه لدوران الدم حيث ان خلاصة العشب تستطيع الوصول لاضيق الاوعية الدموية من اجل ورود الاكسجين للقلب والمخ وبقية اجزاء الجسم فهي بذلك تنشط الذاكرة وتقلل من علامات تقدم العمر.[8,9] وتعتبر عشبة الجنكوبايلوبا مضادة للربو والتشنج

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

والالتهابات كما ان لها فائدة في الوقاية من مرض الزهايمر ولها دور ايضاً في معالجة العجز الجنسي الناتج عن تضيق الشرايين التي تنقل الدم الى اعضاء التناسل. [10,11]

زيت الزيتون العذري الممتاز (EVOO) هو مزيج من مركبات وعناصر مختلفة، منها الأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة والتي تعد من أهم مركباته ولها تأثيرات وفوائد صحية ومن أبرز هذه الدهون غير المشبعة حامض الأوليك (Oleic acid) ،حامض لينولييك (Linoleic acid), لينولينيك (Linolenic acid), مارجريك Margaric acid, حامض مارجروليك Margaroleic acid, حوامض البالميتك Palmitic acid, البالميتوليك Palmitoleic acid, إيكوسنويك Eicosenoic acid, بينيك Behenic acid ستياريك Stearic acid, مايرستك Myristic acid, لاوريك Lauric acid, وأراكيديك Arachidic acid. [12]

كذلك يحتوي (EVOO) على مركب السكوالين Squalene ومدى واسع من المحتويات الفينولية ومجموعة الفلافونويدات Flavenoids والفيتامينات الذائبة في الدهون مثل (β −Carotene, K, A, E) والأحماض الأمينية وكذلك يحتوي على معادن مثل الكالسيوم، الحديد، مغنيسيوم، سيلينيوم، منغنيز، الصوديوم، البوتاسيوم، نحاس وفسفور وهي تساهم بشكل كبير من الجانب الصحي كمضادات أكسدة وايضاً في اعطاء اللون والطعم والنكهه المميزة للزيت.[13,14]

الهدف من الدراسة: معرفة تأثير كل من الجنكوبايلوبا وزيت الزيتون على الاداء التكاثري للجرذان المعرضة للاجهاد التأكسدي بوساطة تنائي كرومات البوتاسيوم.

المواد وطرائق العمل

المواد الكيمياوية والنباتات:

1. ثنائي كرومات البوتاسيوم Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$)شركة فلوكا السويسرية Fluka AG.Buchs SG, Switzer land

أذيبت مادة ثنائي كرومات البوتاسيوم السريعة الذوبان في الماء المقطر وكانت جرعة 24ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم. [15]

2. عشبة الجنكوبايلوبا (*Ginkgo biloba* (leaf), Sante Naturelle Ltee.Canada) EGB جرعت عن طريق الفم وتم تحضيرها حسب الطريقة التي ذكرها Oka *et al.* [16]

3. زيت الزيتون العذري الممتاز (إنتاج شركة Hintz/Spain) وبجرعة1مل/كغم من وزن الجسم.[14]

تصميم التجربة

تضمنت الدراسة استخدام (40) ذكراً بالغاً من الجرذان البيض (Rattus norvegicus) ، تمت تربيتها في بيت الحيوان التابع لمختبر الادوية في معمل ادوية سامراء، واخضعت الحيوانات لظروف مختبرية تمثلت بدرجة حرارة (25±5م°) وبدورة ضوئية (12) ساعة ضوء و(12) ساعة ظلام ووضعت الجرذان في اقفاص بلاستيكية ابعادها (20×25×20) سم واعطيت الحيوانات العلف مع الماء المقطر بشكل حر *ad libitum*. وتركت الحيوانات لمدة أسبوع قبل بدء التجربة للتأقلم مع الظروف الجديدة وللتأكد من خلوها من الأمراض.

وزعت الحيوانات الى اربع مجاميع تتكون كل مجموعة من(10) ذكور جرذان بالغة بعمر (100) يوم عوملت الحيوانات يوميا ولمدة 60 يوما عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية Gavage needle.

- **المجموعة الاولى:** جرعت ماء مقطر (1) مل /كغم.
- **المجموعة الثانية:** اعطيت ثنائي كرومات البوتاسيوم بجرعة (24) ملغم/كغم من وزن الجسم .[15].
- **المجموعة الثالثة:** جرعت حيوانات هذه المجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم بجرعة(24) ملغم/كغم من وزن الجسم، ثم بعد نصف ساعة جرعت الحيوانات بالجنكوبايلوبا 40 ملغم/كغم من وزن الجسم[16].
- **المجموعة الرابعة:** اعطيت حيوانات هذه المجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم بجرعة (24) ملغم/كغم من وزن الجسم، ثم بعد نصف ساعة جرعت الحيوانات بزيت الزيتون 1مل/كغم من وزن الجسم. تم قتل الحيوانات بعمر 160 يوم.[14]

تحضير المقاطع النسجية لخصى الذكور ودراستها

بعد انتهاء التجربة قتلت الحيوانات وتم استخراج الخصيتين (اليمنى واليسرى) وفصلت البرابخ عن الخصى, حفظت الخصية اليمنى لكل حيوان بمحلول بونز لمدة (10) دقائق، بعد ذلك في محلول دارئ الفورمالين المتعادل لغرض أعدادها للفحص النسجي، اخذت (6) خصى لكل مجموعة تجريبية ومررت في سلسلة من الكحول الاثيلي المتصاعد التركيز (100,95,70)% لإزالة الماء منها، ثم الزايلول لغرض التوضيح، وطمرت بعد ذلك في البارافين تمهيدا لقطعها وصبغت بطريقة التصبغ المزدوج باستخدام صبغة الهيماتوكسلين – الايوسين H&E.

فحصت التغييرات التي طرأت على التركيب النسجي للخصى لكل مجموعة تجريبية معاملة مقارنة بمجموعات السيطرة. وقيست أقطار النبيبات المنوية وسمك ظهارتها باستخدام المايكروميتر العيني ocular micrometer وذلك بقياس قطرين متعامدين لكل انيبيب، ثم اخذ معدل قطر النبيب بالسنتيمترات وحول إلى المليمتر بضرب القيمة X 10 والى المايكروميتر بضرب القيمة × المعامل (8) نسبة إلى قوة التكبير للعدسة (X10)، وقد تم حساب معدل أقطار (30) انيبيب لكل مجموعة تجريبية من المجموعات المعاملة.

تم حساب محتوى البرابخ من النطف بعد فصل البربخ الايمن عن الخصية اليمنى وجمع محتواه من السائل المنوي بعصر البربخ وتم حساب عدد الحيوانات المنوية باستخدام شريحة العد hemocytometer.[17] ولحساب النسبة المئوية للنطف الحية والميتة والنسب المئوية للتشوهات النطفية عصر محتوى البربخ الأيسر في طبق بتري حاوي على (2) مل من محلول الملح الفسلجي وبدرجة

حرارة (37˚)، ثم اخذت قطرة من المحلول ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة وجافة واضيفت اليها قطرة من صبغة الايوسين واربع قطرات من صبغة النكروسين المحضرة انيا، ثم خلطت الصبغتان على الشريحة الزجاجية برفق ولمدة نصف دقيقة بوساطة حافة شريحة اخرى، واخذ بطرف الشريحة الثانية جزء من المزيج وسحب بزاوية حادة وبرفق على الشريحة الاولى، ووضعت جميع الشرائح الزجاجية المستخدمة بعد جفافها في الحاضنة بدرجة حرارة (37˚) وبعد تمام جفاف المسحة فحصت بالعدسة الزيتية 100X, بعدها تم حساب النسبة المئوية للنطف الحية والميتة والنسبة المئوية للتشوهات النطفية. [18]

الحصول على العينات الدموية

سحبت عينات الدم عن طريق قطع الوريد الودجي Jugular Veinفي الرقبة، إذ جمع مايقارب (5) مل من الدم فوضع في أنابيب اختبار (Test tubes) خالية من مانع التخثر تركت لمدة ربع ساعة تقريباً في حمام مائي بدرجة 37 م، وبعدها تم الحصول على المصل Serum بوساطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة/دقيقة، وحفظت بدرجة(−20) درجة مئوية في أنابيب بلاستيكية جديدة ونظيفة (Plane tubes) لحين إجراء الفحوصات الكيموحيوية والهرمونات مثل التيستستيرون,FSH, LH ، والكلوتاثايون (GSH), السيرولوبلازمين (Cp), السوبر اوكساید ديسميوتيز ، وقياس النشاط العام لفعالية مضادات الاكسدة والمالونداليديهايد MDA وجذر البيروكسي نتريت .(ONOO-).

التحليل الإحصائي

تم تحليل البيانات إحصائياً بوساطة برامج الاحصاء وتم استخدام تحليل التباين الأحاديOne way analysis of variance وتم تحديد الفروقات بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن Duncan multiple range test ، و قد كان مستوى التمييز الإحصائي المقبول هو (P<0.05).

النتائج

في الدراسة الحالية تم التحري عن تأثير الجنكوبايلوبا وزيت الزيتون على الاداء التكاثري في ذكور الجرذان فيما يتعلق بنظام مضادات الاكسدة ومتغيرات السائل المنوي والهرمونات الجنسية الذكرية في حاله الجهد التاكسدي المحدث بثنائي كرومات البوتاسيوم.

يلاحظ من الجدول (1) ان المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم ادت الى انخفاض معنوي (p<0.05) في عدد النطف الكلي والنسبة المئوية للنطف الحية وفي معدل اقطار النبيبات المنوية وسمك ظهارة النبيبات المنوية, مع زيادة معنوية (p<0.05) في النسبة المئوية للنطف الميتة والنطف المشوهة عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة و باقي المعاملات.

يلاحظ من الجدول (2) انخفاض معنوي (p<0.05) في مستوى الكلوتاثايون و السيرولوبلازمين وفعالية السوبر اوكساید ديسميوتيز والنشاط العام لمضادات الاكسدة (AOA) رافقه زيادة معنوية (p<0.05) في مستوى المالونداليديهايد وجذر البيروكسي نتريت في مصل دم الحيوانات المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجاميع الاخرى.

كذلك بين التحليل الاحصائي للنتائج المبينة في الجدول (3) انخفاض معنوي(p<0.05) في معدل مستوى هرمون التيستيستيرون و في مستوى الهرمون المحفز للجريبات (FSH) ومستوى الهرمون اللوتيني (LH) في المجموعة المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم مقارنة مع مجموعة السيطرة وزيادة معنوية(p<0.05) في بقية المجاميع مقارنة مع مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم.

ان تجريع الحيوانات بالجنكوبايلوبا مع ثنائي كرومات البوتاسيوم او بزيت الزيتون مع ثنائي كرومات البوتاسيوم كان له تأثير مضاد للاكسدة من خلال قدرته على التقليل من التاثير الضار للكرب التاكسدي المحدث بثنائي كرومات البوتاسيوم و قدرته على تقليل الاذى في الجهاز التناسلي الذكري مؤدياً الى تحسن في العدد الكلي للنطف, النطف الحية/الميتة, تقليل التشوهات النطفية, تحسن في معدل اقطار و سمك ظهارة النبيبات المنوية والهرمونات الجنسية وكذلك رفع مستوى مضادات الاكسدة والنشاط العام لها كما موضح في الجدول (1,2,3).

اظهر الفحص النسجي لشرائح خصى مجموعة السيطرة تركيبها الطبيعي حيث كانت الخصى محاطة بمحفظة من نسيج ضام والنبيبات المنوية ايضاً محاطة بغشاء قاعدي واحتوت تجاويفها على خلايا سرتولي (sertoli cells) والخلايا النطفية بأطوارها المختلفة، كما لوحظ أيضا وجود النطف داخل تجاويف النبيبات المنوية بين خلايا سرتولي الساندة ولم تبين هذه المجموعة أي تغييرات نسجية حيث توضح الصورة (1) الانقسام المنتظم لسليفات النطف spermatogonium مع وضوح وجود خلايا ليدك leydig cells بين النبيبات المنوية واحتواء تجويف النبيبات على النطف, بينما اظهر فحص شرائح خصى المجموعة المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم وجود تغييرات مرضية شديدة في النبيبات المنوية تمثلت بتنكس degeneration لبعض الخلايا النطفية داخل النبيبات المنوية و نخر necrosis وتوسف sloughing في بعض الخلايا الساندة وسليفات النطف مع وجود عدد قليل من النطف داخل النبيب كما لوحظ وجود الخزب odema بين النبيبات المنوية ولوحظ ايضا تضخم لبعض الخلايا النطفية الاولية والثانوية كما مبين في الصورة (2). بينما أظهر فحص شرائح خصى المجموعة المعاملة بالجنكوبايلوبا مع ثنائي كرومات البوتاسيوم او بزيت الزيتون مع ثنائي كرومات البوتاسيوم بصورة عامة تحسن الصورة النسجية لهذه المجموعة واقترابها بصورة بسيطة من مجموعة السيطرة كما موضح في الصورة (3) والصورة (4).

جدول (1) التأثير الوقائي للجنكوبايلوبا وزيت الزيتون في معدل العدد الكلي للنطف، النسبة المئوية للنطف الحية/الميتة, التشوهات النطفية, معدل اقطار وسمك ظهارة النبيبات المنوية في ذكور الجرذان البالغة المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم

المعايير المقاسة / المجاميع	العدد الكلي للنطف $\times 10^6$ mean± S.D	النسبة المئوية للنطف الحية% mean± S.D	التشوهات النطفية% mean± S.D	النسبة المئوية للنطف الميتة% mean± S.D	سمك ظهارة النبيبات المنوية mean± S.D	معدل اقطار النبيبات المنوية mean± S.D
مجموعة السيطرة	7.213±0.031 a	79.411±0.044 a	8.634±0.032 d	20.589±0.046 c	82.143±0.019 a	305.820±0.063 a
مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم	3.140±0.031 f	25.340±0.045 c	26.338±0.029 a	74.660±0.023 a	48.629±0.039 d	240.225±0.055 c
مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم مع الجنكوبايلوبا	7.012±0.057 c	80.040±0.034 a	9.819±0.036 c	19.960±0.028 c	74.722±0.042 c	268.400±0.029 b
مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم مع زيت الزيتون	6.429±0.057 b	65.113±0.058 b	15.072±0.028 b	34.887±0.036 b	77.832±0.032 b	266.423±0.048 b

الحروف المختلفة عمودياً تعني وجود فرق معنوي بين المجاميع عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$).

عدد الحيوانات في كل مجموعة =10

القيم تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

جدول (2) التأثير الوقائي للجنكوبايلوبا وزيت الزيتون في معدل مستوى المالونداياليديهايد (MDA) وجذر البيروكسي نتريت ($ONOO^-$) والكلوتاثايون (GSH) واالسوبر اوكساييد ديسميوتيز (SOD) وقياس النشاط العام لفعالية مضادات الاكسدة (AOA) والسيرولوبلازمين (Cp) في ذكور الجرذان البالغة المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم

المعايير المقاسة / المجاميع	MDA (µMOL/L) mean± S.D					
مجموعة السيطرة	1.613±0.078 c	ONOO⁻ (µMOL/L) mean± S.D	GSH (mg/dl) mean± S.D	SOD (U/L) mean± S.D	AOA (µMOL/L) mean± S.D	CP (µMOL/L) mean± S.D
مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم	4.565±0.185 a	42.141±0.057 d	12.015±0.142 a	0.939±0.066 a	44.638±0.107 a	328.300±1.026 a
مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم مع الجنكوبايلوبا	2.075±0.116 b	84.828±0.325 a	4.958±0.094 d	0.492±0.060 d	30.352±0.055 d	177.230±1.178 d
مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم مع زيت الزيتون	1.687±0.157 c	72.328±0.285 b	8.852±0.119 c	0.721±0.258 c	33.773±0.093 c	254.385±0.584 c

الحروف المختلفة عمودياً تعني وجود فرق معنوي بين المجاميع عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$).

عدد الحيوانات في كل مجموعة = 10

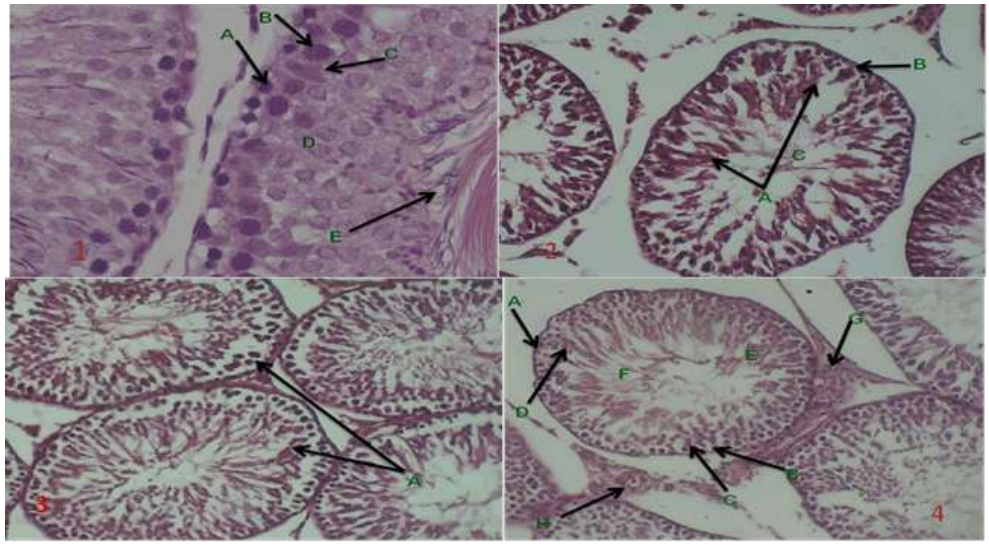
القيم تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

جدول (3) التأثير الوقائي للجنكوبايلوبا وزيت الزيتون في معدل مستوى هرمون التيستيستيرون (Testosterone) والهرمون المحفز للجريبات (FSH) و الهرمون اللوتيني (LH) في ذكور الجرذان البالغة المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم.

المعايير المقاسة / المجاميع	Testosterone (ng/dl) mean± S.D	FSH (mlU/ml) mean± S.D	LH (mlU/ml) mean± S.D
مجموعة السيطرة	123.463±0.037 a	1.223±0.018 a	1.258±0.032 a
مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم	42.999±0.025 d	1.016±0.026 d	0.988±0.025 c
مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم مع الجنكوبايلوبا	119.790±0.018 b	1.171±0.003 b	1.188±0.035 b
مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم مع زيت الزيتون	108.958±0.031 c	1.131±0.025 c	1.168±0.019 b

الحروف المختلفة عمودياً تعني وجود فرق معنوي بين المجاميع عند مستوى احتمالية ($p\leq 0.05$).

عدد الحيوانات في كل مجموعة=10



الصورة رقم (1) مقطع نسجي لخصية جرذ بالغ من مجموعة السيطرة تبين (A) أمهات النطفspermatogonia (B) خلية نطفية اولية primary spermatocyte(C) خلية سرتولي sertoli cell (D) خلية نطفية ثانوية secondary spermatocyte (E) طلائع النطف spermatids. الصورة رقم (2) مقطع نسجي لخصية جرذ بالغ من مجموعة ثنائي كرومات البوتاسيوم تبين تنكس لعدد من الخلايا النطفية داخل النبيبات المنوية (A) مع تثخن بالغشاء القاعدي (B) وتنكس في النطف في مختلف مراحل تكوينها (spermatogenesis). الصورة رقم (3) تمثل مقطع لخصية جرذ بالغ من مجموعة تنائي كرومات البوتاسيوم والجنكوباليلوبا اما الصورة رقم (4) فهي مقطع نسجي لخصية جرذ بالغ من مجموعة تنائي كرومات البوتاسيوم مع زيت الزيتون ويلاحظ من الصورتين (3,4) تحسن الصورة النسجية واقترابها من مجموعة السيطرة (H&E (400X).

المناقشة

في الحالة السوية يوجد اتزان بين إنتاج الجذور الحرة وقابلية الجسم لمجابهة هذه الجذور ويحدث الجهد التاكسدي عندما يفوق مستوى الجذور الحرة في الخلية على القابلية المضادة للأكسدة. تكون الجذور الحرة شديدة الفاعلية و غير مستقرة حيث تتفاعل مع الدهون,البروتينات و الأحماض النووية مؤدية إلى تلف الخلية. [19]

وجد في الدراسة الحالية ان المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم ادت الى انخفاض معنوي ($p<0.05$) في عدد النطف الكلي والنسبة المئوية للنطف الحية وفي معدل اقطار النبيبات المنوية وسمك ظهارة النبيبات المنوية, مع زيادة معنوية ($p<0.05$) في النسبة المئوية للنطف الميتة والنطف المشوهة عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة. وهذه النتيجة متفقة مع (Hipler *et al.* [20]) الذي ذكرفي دراسته على الفئران حدوث انخفاض معنوي في العدد الكلي للنطف وعدد خلايا سرتولي

وعزى سبب ان اعطاء ثنائي كرومات البوتاسيوم سبب زيادة في توليد اصناف الاوكسجين الفعالة التي تعمل على تحطيم الخلايا المبطنة للنبيبات المنوية (خلايا سرتولي) لذا فان ذلك يؤدي الى اعاقة في نضوج النطف.

واشار (Chowdhury [21]) في دراسته على ذكور الجرذان الى ان الغشاء المحيط بالنطف يكون غنياً بالاحماض الدهنية غير المشبعة التي تكون حساسة جداً لاصناف الاوكسجين الفعالة التي تودي الى التخريب عن طريق بيروكسدة الدهون مما يودي الى انخفاض في حركة النطف الذي يعتقد ان سببه هو فقدان الـ ATP داخل الخلية مما يؤدي الى تحطم الخيط المحوري يصاحبه انخفاض في حيوية النطف واعتلال عملها اذ تعد بيروكسدة دهون الغشاء الخلوي للنطف مفتاحاً لالية عمل اصناف الاوكسجين الفعالة التي تعمل على تحطيم النطف ومن ثم تسبب العقم.

وقد اظهرت نتائج هذا البحث حدوث تغيرات نسجية في خصى المجموعة المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم ووجود تغييرات مرضية شديدة في النبيبات المنوية تمثلت بتنكس degeneration لبعض الخلايا النطفية داخل النبيبات المنوية و نخر necrosis وتوسف sloughing في بعض الخلايا الساندة وسليفات النطف مع وجود عدد قليل من النطف داخل النبيب كما لوحظ وجود الخزب odema بين النبيبات المنوية وجاءت هذه النتائج مطابقة لدراسات تعود لعدد من الباحثين منهم (Murthy *et al.*[23], Chandra *et al.* [22], Rankov et al [24]).

تبين من نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثايون والسوبر اوكساید دسميوتيز والسيرولوبلازمين وفعالية نشاط مضادات الاكسدة في مصل الدم في المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم وهذه النتيجة متفقة مع (Eybl *et al.*,[25]) الذي أوضح أن معاملة الفئران بالمعادن الثقيلة أدى إلى انخفاض الكلوتاثايون في الكبد بسبب قلة الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل إنزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز و إنزيم الكتاليز في كبد الفئران المعاملة و قد اشار (Wohaieb and Godin [26]) الى ان تعرض الحيوانات المختلفة الى الكرب التاكسدي يؤدي الى حصول تاثيرات تاكسدية هدامة تعمل على رفع بيروكسدة الدهون في الانسجة مما يؤدي الى استنزاف كلوتاثايون الانسجة و حصول العديد من التغيرات في النظام المضاد للاكسدة.

كما أحدثت المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم ارتفاعا معنويا في مستوى المالونداليديهايد واتفقت هذه النتيجة مع (Chandra *et al.*, [15]) الذي أشار إلى أن معاملة الجرذان بالكروم أدت إلى زيادة في بيروكسدة الدهون و قلة في الإنزيمات المضادة للأكسدة وبما أن الأغشية الخلوية غنية بالدهون غير المشبعة والتي تعد هدفا رئيسا لأصناف الأوكسجين الفعالة فضلاً عن ذلك فان أصناف الأوكسجين الفعالة تعد المسؤولة عن تحطيم معظم البروتينات الرئيسة الداخلة في تكوين الخلية وكذلك خفض مستويات مضادات الأكسدة.

في دراسة للباحث Al-Damegh [27] تشير النتائج ان الاجهاد التاكسدي المستحدث بالكادميوم على ذكور الجرذان البالغة أدى إلى انخفاض معنوي($p<0.05$) في تركيز هرمون التيستيستيرون والهرمون المحفز للجريبات FSH والهرمون اللوتيني LH وهذه النتائج مطابقة لنتائج البحث الحالي وسبب هذا الانخفاض هو الضرر الحاصل في نسيج الخصية وبالتحديد في خلايا ليدك leydig cell كونها مسؤلة عن انتاج هذا الهرمون من جهة والتثبيت الحاصل في عمل الغدة النخامية من جهه اخرى بينما لاتتفق نتائج هذه الدراسة مع النتائج التي توصل اليها Meeker *et al.*, [28] . وأوعز السبب الى قصر فترة التعرض للكرب التاكسدي بوساطة المعادن الثقيلة او بسبب طريقة الاعطاء للحيوانات.

ان المعاملة بالجنكوبايلوبا مع ثنائي كرومات البوتاسيوم ادت الى زيادة معنوية في مستوى الكلوتاثايون, معدل سمك ظهارة النبيبات المنوية و مستوى هرمون التستوستيرون مع انخفاض معنوي في مستوى المالونداليديهايد مقارنة مع المجموعة المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم و قد جاءت هذه النتائج متفقة مع (Defeudis *et al.*[29]) الذي بين ان معاملة الفئران والجرذان بالجنكوبايلوبا سبب زيادة في تركيز وفعالية الكلوتاثايون والكاتليز والسوبراوكساید دسميوتيز والسبب في زيادة تركيز GSH في المصل فيأتي من خلال فعاليته الجنكوبايلوبا كمضاد أكسدة قوي يمنع عمليات الأكسدة عن طريق إزالة الجذور الحرة وكسر سلسلة تفاعلات الانتشار لبيروكسيدة الدهون.[30] وتساعد الجنكوبايلوبا في منع الاذى التاكسدي الذي تسببه جزيئات الجذور الحرة النشطة جدا بما فيها العوامل المؤكسدة القوية مثل جذر الهيدروكسيل , السوبر اوكسيد السالب في الدم وسوائل الجسم وبالتالي يقل استهلاك الكلوتاثايون الذي يعد من مضادات الاكسدة غير الانزيمية الموجودة داخل الجسم مما يسبب زيادة في مستواه في مصل الدم. [31] ويلاحظ ايضا نقصان معنوي في مستوى البيروكسي نايتريت $ONOO^-$ وقد يعود سبب هذا الانخفاض إلى طبيعة المكونات الفعالة وتراكيزها في المستخلص المائي للجنكوبايلوبا، إذ إنه يحتوي على تراكيز عالية من الفلافونويد flavonoids والتيربنويد terpenoids التي تمتاز بفعاليتها كمضادات أكسدة إذ تعمل على إزالة الجذور الحرة وبشكل خاص أصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) وبالتالي التقليل من حالة الإجهاد التأكسدي.[30]

وبينت هذه الدراسة الكفاءة العالية لزيت الزيتون في التقليل من سمية ثنائي كرومات البوتاسيوم في خصى الجرذان المعاملة بثنائي كرومات البوتاسيوم مع زيت الزيتون حيث بينت النتائج ارتفاع في العدد الكلي للنطف والنسبة المؤية للنطف الحية وارتفاع في مستوى الهرمونات الجنسية وكذلك تحسن واضح في المقاطع النسجية للخصى وزيادة في مضادات الاكسدة ونشاطها وقد يعلل سبب هذا الارتفاع إلى المحتوى العالي من المركبات الفينولية المتعددة Polyphenols والفلافونيدات وكذلك الكلايكوسيدات وفيتامين E والتي تعمل جميعاً على التقليل من الإجهاد التأكسدي عن طريق إزالة الجذور الحرة (ROS, RNS)

وزيادة تراكيز مضادات الأكسدة وتنشيطها وخصوصاً الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل الكتاليز، سوبرأوكسايددسميوتيز (SOD) وكلوتاثيون بيروكسديز وريدكتيز.[14,32,33] وقد لوحظ انخفاض معنوي في النسبة المؤية للنطف الميتة والنطف المشوهة وانخفاض في مستوى البيروكسي نايتريت والمالونداليديهايد وقد يعزى سبب الانخفاض في تركيز المالونداليديهايد في هذه الحالات إلى فعالية المركبات الفينولية المتعددة والفلافونيدات والتي تثبط تفاعلات تكوين الجذور الحرة وتعمل على إزالتها كما أنها تعمل على زيادة نشاط الإنزيمات الكبدية المضادة للأكسدة مثل الكتاليز Catalase، سوبرأوكساید دسميوتيز (SOD) وكلوتاثيون بيروكسديز (Gpx) التي تعمل جميعاً على تثبيط أكسدة وبيروكسيدة الدهون وتمنع إنتاج MDA [34,35]، أو قد يعود السبب إلى وجود تراكيز عالية من الأحماض الدهنية الأحادية غير المشبعة وخصوصاً حامض الأوليك (Oleic acid) والتي تعمل على تقليل تركيز الدهون المشبعة في الجسم وبالتالي خفض مستويات الإجهاد التأكسدي وبيروكسيدة الدهون [13,14] ولذلك تنخفض البيروكسيدة ونواتجها مثل MDA.

نستنتج من الدراسة الحالية ان لثنائي كرومات البوتاسيوم تأثير ضار على الاداء التكاثري في الجرذان من خلال احداثه جهداً تأكسدياً وان للجنكوبايلوبا وزيت الزيتون القدرة على تحسن الاداء التكاثري لكونهما مواد طبيعية مضادة للاكسدة.

المصادر

1. Banu S.; Stanley J.; Lee J.; Stephen S.; Arosh J.and Hoyer P. (2011). Hexavalent chromium-induced apoptosis of granulosa cells involves selective sub-cellular translocation of Bcl-2 members, ERK1/2 and p53. Toxicol Appl Pharmacol; 251(3):253–66.
2. Reda H.; El Bakry A.; Sadika M and Tawfik A. (2014). Histological study of the effect of potassium dichromate on the thyroid follicular cells of adult male albino rat and the possible protective role of ascorbic acid (vitamin C). Journal of Microscopy and Ultrastructure ;2: 137–150.
3. Samuel J.; Stanley J and Vengatesh G. (2012). Ameliorative effect of vitamin C on hexavalent chromium-induced delay in sexual maturation and oxidative stress in developing Wistar rat ovary and uterus. Toxicol. Ind. Health; 28(8):720–33.
4. Valko M.; Rhodes C.J.; Moncol J.; Izakovic M. and Mazur M. (2006). Free radicals. metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem. Biol. Interact;160:1–40.
5. Saxena D.K.; Murthy R.C.; Lal B.; Srivastava R.S. and Chandra S.V. (1990) Effect of hexavalent chromium on testicular maturation in the rat. Reproductive Toxicology; 4: 223–228.
6. Acharya U.R.; Mishra M.; Mishra I and Tripathy R.R. (2004). Potential role of vitamins in chromium induced spermatogenesis in Swiss mice. Environmental Toxicology and Pharmacology;15:53–59.
7. Elbetieha A. and Al-Hamood M.H. (1997). Long term exposure effect on fertility of male and female mice to trivalent and hexvalent chromium compounds. Toxicology; 116:39-47.
8. Michel P.F. (1986). The oldest tree: Ginkgo biloba. Presse Med; 15:1450-1454.
9. Deep K.; Parminder, N. and Jaspreet N. (2012) .*In vitro* antimicrobial and antioxidant activity of Ginkgo biloba: Bark extract. IRJP; 3(6):116-122.
10. Alan R. and Gaby M.D. (1996). Ginkgo Biloba Extract: A Review. Alt Med Rev; 1(4):236-242.
11. Fei C.; fang L.; Lei Z.; Ying S.; Li C.; Bo H. and Tang T. (2013). Ginkgo Biloba Extract Protects Substantia Nigra Neurons from Apoptosis in PD Rat Model. J. Neurol. Disord; 2(1):118-122.
12. Priora R.; Summa D.; Frosali S.; Margaritis A. and Di Giuseppe D. (2008). Administration of minor polar compound-enriched extra virgin olive oil decreases platelet aggregation and the plasma concentration of reduced homocysteine in rats. J.Nutr;138:36–41.
13. Assy N.; Nassar F.; Nasser G. and Grosovski M. (2009). Olive oil consumption and non-alcoholic fatty liver disease. World . J. Gastroenterol; 15(15): 1809-1815.
14. AL-Ani N.K. (2013) Protective influence of olive oil on reproductive parameters in male rat treated with cadmium. G.J.B.B; 2(4):500-505.
15. Chandra A.K.; Chatterjee A.; Ghosh R. and Sarkar M. (2007). Effect of curcumin on chromium-induced oxidative damage in male reproductive system. Environ. Toxicol. And Pharmacol; 24:160-166.
16. Oka T.; Itoi T.; Terada N.; Nakanishi H.; Taguchi R. and Hamaoka K. (2008). A change in the membranous lipid composition accelerates lipid peroxidation in young rat hearts subjected to 2 weeks of hypoxia followed by hyperoxia. Circ. J; 72:1359-66.
17. Yokoi K.; Uthus E.O. and Nielsen F.H. (2003). Nickel deficiency diminishes sperm quality and movement in rats. Biol. Trace. Element Res;93:141-153.
18. Atessahim A.; Turk G.; Karaham I.; Yilmaz S.; Ceribast A.O. and Bulmus O. (2006). Lycopene prevent adriamycin-induced testicular toxicity in rats. Fertil. Steril; 85(1):1216-1222.
19. Ranjbar A.H.; Solhi F.J.; Mashayekhi A.M. and Abdollahi A. (2005). Oxidative stress in acute human poisoning with organophosphorus insecticides; a case control study. Environ. Toxicol. Pharmacol; 20:88-91.

20. Hipler U.C.; Gornig M. Hipler B.; Romer W. and Schreiber G. (2000) . Stimulation and scavestrogen-induced inhibition of reactive oxygen species generated by rat sertoli cells . Arch . Androl; 44:147-154.
21. Chowdhury A.R. and Mitra C. (1995) Spermatogenic and steroidogenic impairment after chromium treatment in rats, Indian Journal of Experimental Biology; 33(7): 480-484.
22. Chandra A.K.; Chatterjee A.; Ghosh R.; Sarkar M. and Chaube S.K.(2004) Chromium induced testicular impairment in relation to adrenocortical activities in adult albino rats, Reproductive Toxicology; 24:388-396.
23. Murthy R.C.; Saxena D.K.; Gupta S.K. and Chandra S.V. (1991). Ultrastructural observations in testicular tissue of chromium-treated rats, Reproductive Toxicology; 5: 443-447.
24. Rankov J.; Trif A.; Brezovan D. and Muselin F. (2010) Potassium Dichromate Impact on Male Reproductive Integrity Biomarker in Rat. Two Generation Study. Animal Science and Biotechnologies; 43(1):224-229.
25. Eybl V.; Kotyzova D. and Koutensky J. (2006). Comparative study of natural antioxidants curcumin, resveratrol and melatonin in cadmium-induced oxidative damage in mice. Toxicology; 225:150-156.
26. Wohaieb S.A. and Godin D.V. (1987). Starvation-related changes in free radical tissue defense mechanisms in the rat . Diabetes; 36:169-173.
27. Al-Damegh M.A.(2014). Stress-induced changes in testosterone secretion in male rats: Role of oxidative stress and modulation by antioxidants. j.Ani.Scie;4:70-78.
28. Meeker J.D.; Rossano M.G.; Bridget P. and Padmanabhan V. (2010). Environmental exposure to metals and male reproductive hormone:Circulating testosterone is inversely associated with blood molybdenum.Fertil Steril;93(1):130-149.
29. Defeudis F.V.; Papadopoulos V. and Drieu K. (2003) .Ginkgo biloba extracts and cancer: a research area in its infancy. Fundam. Clin. Pharmacol; 17:405-417.
30. Gohil K. and Packer L. (2002). Global gene expression analysis identifies cell and tissue specific actions of Ginkgo biloba extract, EGb 761. Cell Mol. Biol ; 48: 625-631.
31. Zhou L.J. and Zhu X.Z. (2000). Reactive oxygen species-induced apoptosis in PC12 cells and protective effect of bilobalide. J. Pharmacol. Exp. Ther; 293:982-988.
32. Paiva M.V.; Rodrigues V.; Calheiros R. and Marques M.P. (2011). Characterization of antioxidant olive oil biophenols by spectroscopic methods. Sci. Food Agric; (2):309-14.
33. Rafehi H.; Ververis K. and Karagiannis T.C.(2012). Mechanism of action of phenolic compound in olive.J.Diet.Suppl; 9(2): 96-109.
34. Cicerale S.; Lucas L.and Keast R. (2010). Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. Deakin university, Int.J.Mol.Sci; 11: 458-479.
35. Jemai H.; Fki I.; Bouaziz M.; Bouallagui Z.; EL-Feki A.; Isoda H. and Sayadi S. (2007). Lipid lowering and antioxidant effects of hydroxytyrosol and its triacetylated derivative recovered from olive tree leaves in cholesterol-fed rats. J. Agric. Food Chem ;74: 440 452.

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)
مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 2017 (8) 22

Protective effect of *Ginkgo biloba* and Olive oil on the reproductive performance of male albino rats exposed to oxidative stress induced by Potassium dichromate.

Takea S. A.
College of Dentistry , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

Abstract

The present study is designed to demonstrate the effect of Ginkgo biloba and Olive oil on the reproductive performance of male rats exposed to oxidative stress induced by Potassium dichromate with respect to male sex hormones, semen parameters and testicular antioxidant system,. Forty Wister albino rats were distributed into four groups and each group have ten rats, control group, Potassium dichromate group (Potassium dichromate 24 mg/kg administered with gavage for 2 month), Potassium dichromate treated with *Ginkgo biloba* group (Potassium dichromate and Ginkgo biloba 40 mg/kg administered at half an hour interval for 2 months) and Potassium dichromate treated with olive oil group (Potassium dichromate and Olive oil 1 ml/kg administered at half an hour interval for 2 months). The statistical analysis of results showed a significant ($P<0.05$) decrease in sperms count, the percentage of sperms viability, the level of sex hormones, ceruloplasmin, glutathione concentration, and superoxide dismutase activity, antioxidant activity (AOA), germinal epithelium height and diameter of seminiferous tubules and a significant increase of sperm percentage abnormalities, dead sperm, malondialdelyde (MDA), peroxynitrite (ONOO-) in Potassium dichromate group, compared with control group. The administration of Potassium dichromate with Ginkgo biloba and Olive oil separately result in a significant increase of sperms count, sperms viability, sex hormones levels, ceruloplasmin, glutathione concentration , superoxide dismutase and antioxidant activity, germinal epithelium height and diameter of seminiferous tubules and a significant decrease of sperm abnormalities, dead sperm percentage, MDA, ONOO-. In conclusion the levels of antioxidant parameters, sperm count and sperm viability were restored to normal values when Potassium dichromate administered in combination with Ginkgo biloba or with Olive oil therefor Ginkgo biloba and Olive oil may be beneficial for improving reproductive performance of male rats.