

دراسة تجريبية لتأثير مادة البنزانثراسين Benz(a)anthracene المسرطنة من خلال بعض المعايير الكيموحيوية والنسجية في ذكور الارانب المحلية

موفق مطلق زيدان

جامعة تكريت / كلية العلوم

الخلاصة

شملت الدراسة اختبار دور مركب الكارنتين L-Carnitine في اختزال التأثيرات الجانبية التي أحدثتها المادة المسرطنة Benz(a)anthracene وذلك من خلال حقن ذكور الارانب تحت الجلد بالمادة المسرطنة وتم تقسيم الحيوانات إلى أربعة مجاميع كل مجموعة 5 حيوانات ، المجموعة الأولى السيطرة C غذيت على علفه طبيعية ولم يتم معاملتها بأي مادة ، المجموعة الثانية G1 غذيت هذه الحيوانات على نفس العلفه وتم تجريعها بمقدار 200 ملغم /كغم من الكارنتين مع الماء المقطر يوميا، إما المجموعة الثالثة G2 فشملت المجموعة التي حقنت بمقدار 5 ملغم /كغم من المادة المسرطنة فقط أما المجموعة الرابعة G3 فقد شملت حيوانات حقنت بمقدار 5 ملغم /كغم من المادة المسرطنة وتم معاملتها بمركب الكارنتين بمقدار 200 ملغم /كغم يوميا . وقد أظهرت النتائج تأثيرا واضحا لمركب الكارنتين في اختزال التأثير الجانبي لمادة Benz (a) anthracene حيث سجلت نتائج تقدير تركيز المألون ثنائي الالدهايد (MDA) في المجاميع الاربعة على التوالي السيطرة (C) : (1.016±0.212) : G1 : (1.296±0.251) : G2 : (2.754±0.493) : G3 : (1.444±0.324) ومن خلال هذه النتائج نلاحظ الارتفاع المعنوي في المجموعة المعاملة بالمادة المسرطنة مقارنة بالسيطرة وعند المعاملة بالكارنتين لوحظ الانخفاض المعنوي في تركيز (MDA) ، أما بالنسبة لتركيز جذر البيروكسي نترتت فقد أظهرت النتائج في المجاميع الاربعة على التوالي السيطرة (C) : (42.440±8.353) : G1 : (43.140±7.478) : G2 : (62.080±7.817) : G3 : (49.840±1.117) ومن خلال هذه النتائج ايضا نلاحظ الارتفاع المعنوي في المجموعة المعاملة بالمادة المسرطنة مقارنة بالسيطرة وعند المعاملة بالكارنتين لوحظ الانخفاض المعنوي في تركيز جذر البيروكسي نترتت ، اما بالنسبة للجانب الهرموني فقد سجلت النتائج في المجاميع الاربعة على التوالي ، السيطرة (C) : (4.32±1.306) : G1 : (4.66±0.646) : G2 : (2.440±0.433) : G3 : (3.50±0.393) نلاحظ الانخفاض المعنوي في تركيز هرمون الشحمون الخصوي في المجموعة المعاملة بالمادة المسرطنة مقارنة بالسيطرة وعند المعاملة بالكارنتين لوحظ الارتفاع الواضح في تركيز الهرمون. كما بينت المقاطع النسجية للخصية تأثيرا واضحا للاجهاد عند المعاملة بمادة Benz (a) anthracene مقارنة بالتحسن الواضح عند المعاملة بالكارنتين ، مما يثبت إن للكارنتين دورا وقائيا في اختزال التأثيرات الجانبية للمادة المسرطنة.

الكلمات المفتاحية :

البنزانثراسين ، الكارنتين ،
الجذور الحرة .

للمراسلة :

موفق مطلق زيدان

البريد الالكتروني:

moofman@yahoo.com

Experimental Study For The Effect of Benz (a) anthracene in Some Biochemical Variants and Tissue in Male Domestic Rabbits

Mowafaq M. Zaidan

Science College/ Tikrit University

ABSTRACT

Key words:
L-carnitine,
Benz[a]anthracene, Free
radicals.

Correspondence:
Mowafaq M. Zaidan
E-mail:
moofman7@yahoo.com

The study included the test of protective role of L-carnitine in reduce the side effects which happened by using **Benz(a)anthracene** as carcinogenic material by injected male rabbits , and dividing the animals into 4 groups which included : (C) control group fed with normal diet only , group(G1) treated with 200 mg / kg of L-carnitine daily , group (G2) injected with (5 mg / kg) of carcinogenic material only , group(G3) injected with (5mg /kg) with **Benz(a)anthracene** and treated with 200 mg / kg of **L-carnitine** daily. The results showed the effective role of L-carnitine in decreasing the side effects of **Benz(a)anthracene** the results recorded **malondialdehyde** concentration (MDA) in 4th group C : (1.016±0.212)

G1: (1.296±0.251), G2: (2.754±0.493) G3: (1.444±0.324) respectively , the results showed increase significant in (MDA) compared with the control and decrease in levels (MDA) with group treatment carnitine and the results **Peroxy nitrite** (ONOO) recorded in 4th group C : (43.140±7.478) G1: (42.440±8.353) G2: (62.080±7.817) G3: (49.840±1.117) respectively the results showed increase significant in (MDA) compared with the control and decrease in levels (MDA) with group treatment carnitine , in addition to the testosterone hormone The results showed in 4th group C: (4.32±1.306) G1 : (4.66±0.646) G2 : (2.440±0.433) G3: (3.50±0.393) respectively the results showed decrease significant in (MDA) compared with the control and increase in levels (MDA) with group treatment carnitine , The histological sections revealed clearly side effects caused by use **Benz(a)anthracene** compared with control and which treated L-carnitine This indicate of L-carnitine have a protective role to decrease the side effects.

المقدمة:

يتعرض جسم الانسان لكثير من المواد الضارة والسموم التي قد تتراكم في انسجته واغلب هذه المواد تأتي للجسم عبر الغذاء الذي يتناوله او من البيئية المحيطة به وينتج عن ذلك العديد من الامراض مثل تصلب الشرايين وارتفاع ضغط الدم والجلطات الدماغية والرئوية ومرض السرطان وامراض المناعة وان العديد من هذه العوامل تسبب زيادة في انتاج اصناف الاوكسجين الفعالة (ROS) Reactive Oxygen species وبنفس الوقت تسبب استنزاف الانظمة الدفاعية المضادة للأكسدة كذلك دورها في حدوث حالات العقم وفقدان الخصوبة infertility (Sharma ; 1996, Sikka; 2001) .

يعد مركب benz(a)anthracene البنزانثراسين من المركبات المسرطنة الحاوية على حلقتين او اكثر من حلقات البنزين ويعود الى مجموعة الهيدروكربونات الاروماتية متعددة الحلقات polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (Faust, 1991) واهم مصادره البيئية هي الماء والغذاء والهواء وعمليات الاحتراق والاحتراق غير الكامل للوقود والفحم الحجري والنفط (Xue و Wang و 2015) كذلك عمليات الطهي وخاصة الطهي المتكرر للزيوت وشواء الاغذية مثل اللحوم عند تساقط الدهون على مصادر الحرارة مؤديا الى تكوين PAHs في تفاعلات متلاحقة تنتطير مع الادخنة وتتساقط على اللحوم (Supinska وآخرون 2004) ، اضافة الى مصادره الاخرى مثل دخان السكائر وعوادم السيارات والنفط (Ramesh وآخرون 2015) . وبسبب قدرة الهيدروكربونات في احداث السرطان اتجهت الدراسات قديما نحو تقدير تركيزها في الهواء والماء الملوث بالدخان الناتج عن احتراق الفحم في لندن حيث تم تحديد اثنا عشر نوعا من الهيدروكربونات وكان من ضمنها خمسة انواع مسرطنة من ضمنها benz(a)anthracene (Klasinc و Srzic و 1980) وعند التعرض لهذه المادة بشكل مستمر يؤدي الى طفرات وراثية وبالتالي حدوث السرطان (Von وآخرون 1999) .

يعد الكارنتين من مضادات الاكسدة المهمة للجسم (Arockia و Panneerselvam , 2001) ويعد من المكملات الغذائية ويصنع داخل الجسم من الاحماض الامينية الميثيونين واللايسين ،ويتم ذلك في الكبد والكلى ويخزن الكارنتين في العضلات الهيكلية والقلب والدماغ والنفط والامعاء الدقيقة ، يعمل على حماية الاغشية الخلوية والحامض النووي DNA من ضرر الجذور الحرة كذلك دوره في انتاج الطاقة في المايوتوكونديريا من خلال دوره في اكسدة الاحماض الدهنية (Kumaran و Panneerselvam) (2006)

وتهدف الدراسة الى :

- 1- معرفة تأثير الاجهاد التاكسدي الناتج عن المركبات الهيدروكربونية ودورها بمرور الزمن بإحداث السرطان .
- 2- معرفة تأثير المركبات الهيدروكربونية على الخصوبة من خلال قياس هرمون الشحمون الخصوي والمقاطع النسيجية للخصية .

3- معرفة دور مركب L-carnitine في التخفيف من الاجهاد التأكسدي الناتج عن مركب benz(a)anthracene كونه احد المركبات الهيدروكاربونية المسرطنة .

المواد وطرائق العمل :

حيوانات التجربة : Experimental Animals

اجريت الدراسة الحالية على (20) ذكر بالغ من الأرناب المحلية التي تم شراؤها من الأسواق المحلية ، ناضجة جنسياً تراوحت اوزانها من (1300-1500غم) وأعمارها من (7 - 9) أشهر. وضعت هذه الحيوانات في أقفاص أعدت لغرض الدراسة وقد روعي جانب العناية بنظافة الاقفاص وتعقيمها بين حين وآخر مع تبديل نشارة الخشب كل اسبوع . وغذيت الارانب بالعليقة (35% حنطة 34% ذرة صفراء ، 20% فول الصويا ، 10% بروتين حيواني ، 1% حليب مجفف يضاف اليها 50 غراما موادحافظة وفيتامينات وتحت ظروف مسيطر عليها من تهوية ودرجة حرارة (2±25) ودورة ضوئية National,1994 (Research Council)(NRC) ، واعطيت الحيوانات الماء والعليقة بشكل مستمر طيلة فترة التجربة لمدة شهر ، تم تحضير المادة المسرطنة Benz من خلال اذابة 100 ملغم من المادة في 2 مل من التولوين Toluene وبذلك تم الحصول على 5 ملغم / 0.1 مل و تم حقن الحيوانات تحت الجلد بالمادة بعد تحديد اوزان الحيوانات (الاسدي، 1988) . اما بالنسبة للكارتنين المستعمل في هذه الدراسة تم الحصول عليه من الصيدليات امريكي الصنع والمصنع بشكل اقراص Tablets بتركيز (1000) ملغم للقرص الواحد وبعد اذابتها بالماء المقطر اعطيت الجرعة فمويا Orally ، بوساطة محقنة خاصة معدة لهذا الغرض لضمان حصول الحيوان على الجرعة الكاملة . وحضرت التراكيز المطلوبة للمادتين وفقاً لقانون التخفيف $C1 \times V2 = C2 \times V1$ ، (C = التركيز = V الحجم)

تصميم التجربة : Experimental design

قسمت الحيوانات الى اربعة مجاميع كل مجموعة 5 حيوانات وبأوزان متقاربة 1300 - 1500 غرام وهي:
مجموعة الاولى C : اعطيت هذه المجموعة العليقة وماء الشرب الاعتيادي طيلة فترة التجربة كسيطرة
المجموعة الثانية G1 : تم تجريعها محلول الكارتنين فمويا 200 ملغم/كغم يومياً الى نهاية التجربة
المجموعة الثالثة G2 : حقنت بمادة Benz تحت الغشاء البريتوني 5 ملغم /كغم
المجموعة الرابعة G3 : حقنت بمادة Benz تحت الغشاء البريتوني 5 ملغم /كغم وجرعت بمحلول الكارتنين فمويا 200 ملغم/كغم يومياً الى نهاية التجربة

جمع عينات الدم Collection of Blood

بعد انتهاء فترة التجريع جوعت الحيوانات لمدة 12 ساعة بعدها تم سحب 5 مل من الدم بطريقة طعنة القلب Heart Puncture باستخدام محاقن نبيذة معقمة ووضعت عينات الدم في انابيب بلاستيكية جافة ومحكمة سعة 10 مل خالية من اية مادة مانعة للتخثر، تركت 20 دقيقة وبدرجة حرارة الغرفة لحصول تخثر للدم . ثم نبذت الانابيب مركزياً بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقيقة لفصل المصل Serum وحفظ في درجة (- 20 م°) بعد تقسيمه الى انابيب صغيرة لحين اجراء الاختبارات المطلوبة (1999,Tietz) .

الفحوصات الكيموحيوية والمقاطع النسجية :

بعد انتهاء فترة التجربة تم قتل الحيوانات للمجاميع الاربعة والبالغ عددها 20 حيوان لاجراء الفحوصات حيث تم تقدير تركيز المألون ثنائي الالدهايد Malondialdehyde (MDA) في مصل الدم عن طريقة تفاعل حامض الثايوباربيتورك (TBA) (Thiobarbituric acid) المحورة المتبعة من قبل (Shah و Guidet ، 1989) لتقدير (MDA) الذي يمثل احد النواتج النهائية لعملية بيروكسيدة الدهن. كذلك تقدير تركيز جذر بيروكسي نترت Peroxynitrite radical باستخدام الطريقة المحورة من قبل (Vanuffelen واخرون ، 1998) ، إذ يعمل جذر البيروكسي نترت (ONOO⁻) على نترجة (Nitration) الفينول إلى نايتروفينول الذي يمكن قراءة شدة الامتصاص له عند طول موجي nm (412) نانوميتر. وتم تقدير تركيز هرمون الشحمون الخصوي باتباع الخطوات المبينة في مرفق عدة التحليل الجاهزة الخاص به وحسب تعليمات الشركة المصنعة الخاصة بتقنية ELISA. كما حضرت المقاطع النسجية حسب الطريقة التقنية النسجية لـ 20 ارنب للمجاميع المعاملة والسيطرة (الحاج ، 1998) لغرض اجراء الدراسة النسجية ، بعدها تم فحص المقاطع النسجية المحضرة باستخدام المجهر الضوئي المركب نوع Olympus وباستخدام قوى تكبير مختلفة لمعرفة التغييرات التي طرأت على التركيب النسجي للخصى لكل مجموعة تجريبية معاملة مقارنة بمجموعة السيطرة وصورت المقاطع النسجية بعد فحصها باستخدام مجهر تصوير نوع Mitotic وآلة تصوير رقمية Mercury

التحليل الاحصائي :

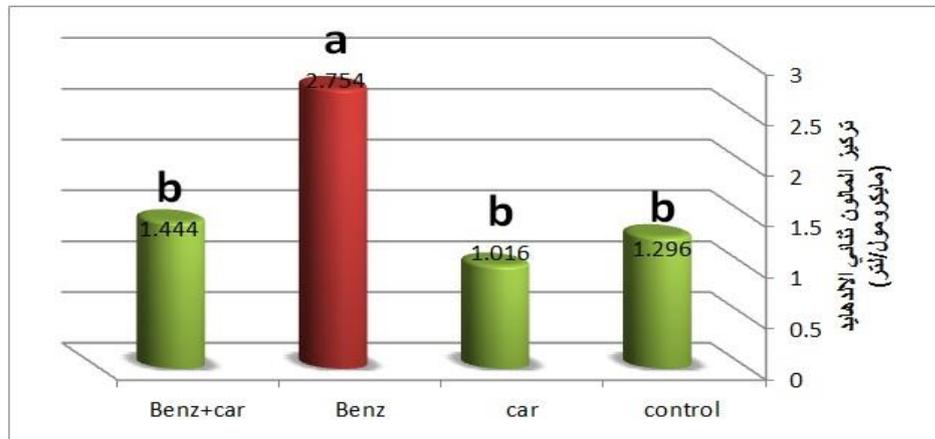
استخدم التصميم العشوائي CRD وحللت البيانات إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الاحصائي الجاهز (SAS، 2001) ووفق تحليل التباين باتجاه واحد One-way analysis of variance واختبرت المتوسطات الحسابية للمعاملات باستخدام اختبار دانكن متعدد الحدود (Duncan multiple range (Duncan، 1955) .

1- النتائج والمناقشة: المألون ثنائي الالدهايد (MDA) :

يوضح الشكل (1) تقدير تركيز MDA للمجاميع المعاملة مقارنة مع السيطرة اذ يلاحظ ارتفاع معنوي في تركيز MDA في مصل دم الحيوانات المعاملة بالـ Benz (a) anthracene حيث سجلت النتائج (2.754 ± 0.493) مايكرومول / لتر مقارنة مع السيطرة (1.296 ± 0.251) مايكرومول/لتر وتفسير هذه الحالة يعود الى تكون الجذور الحرة الناتجة عن سمية Benz (a) anthracene والذي يعكس مدى تحلل الاحماض الدهنية غير المشبعة في الاغشية الخلوية خلال تفاعلات الجذور الحرة لتوليد هيدروبيروكسيدات الدهون التي تتحلل الى مركبات اصغر مثل الالكانات والالكينات والالدهايدات مثل المألون ثنائي الالدهايد والذي يعد الناتج الثانوي لعملية بيروكسدة الدهن (Celik واخرون 2007) وعند معاملة مجموعة الحيوانات المحقونة بالمادة المسرطنة بالكارتنين أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في تركيز MDA (1.444 ± 0.324) مايكرومول / لتر مقارنة مع مجموعة Benz فقط (2.754 ± 0.493) مايكرومول / لتر .

اتفقت نتائج دراستنا مع ماتوصل اليه (El-Sayed، 2005) تجريبياً على الجرذ في الحد من ملوثات البيئة مثل عنصر الرصاص واشعة كاما من خلال اعطاء اسيتات الرصاص واستخدام الكارنتين Carnitine, 3-hydroxy-4-N-trimethyl-aminobutyric acid الذي ادى الى انخفاض معنوي بمؤشرات الاجهاد التاكسدي . كذلك يعزى السبب إلى امتلاك الكارنتين تأثير وقائي ضد بيروكسدة الدهن Lipid peroxidation من خلال اختزال تكوين H₂O₂ ، كذلك دوره في تحسين حالة مضادات الأكسدة ودورها في إزالة الجذور وفعالية المشابهة لمضادات الأكسدة غير الأنزيمية المضادة لبيروكسدة الدهون (Skrzydowska و Augustyniak ، 2010 ; Bodea واخرون ، 2010). يعمل الكارنتين على حماية الأغشية الخلوية والحامض النووي DNA ضد التلف المستحدث جراء اصناف الأوكسجين والسموم . كذلك دوره في إنتاج الطاقة جراء أكسدة الأحماض الدهنية طويلة السلسلة داخل المايوتوكونديريا ، لذا فإن أي خلل في وظيفة المايوتوكونديريا يؤدي إلى إزالة غير كاملة

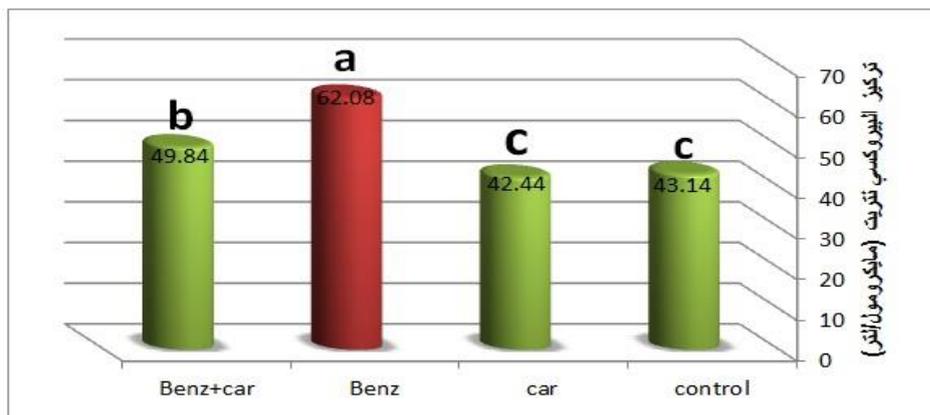
للسموم الناتجة عن الإجهاد التأكسدي وبالتالي يؤدي إلى تلف وأكسدة مجموعة من التراكيب مثل الدهون والبروتينات والـ DNA (Panneerselvam و Kumaran، 2006).



(شكل 1) تركيز المالون ثنائي الايديهايد (MDA) في مصل الدم (مايكرومول / لتر)

2- تركيز جذر بيروكسي نترت في المصل :

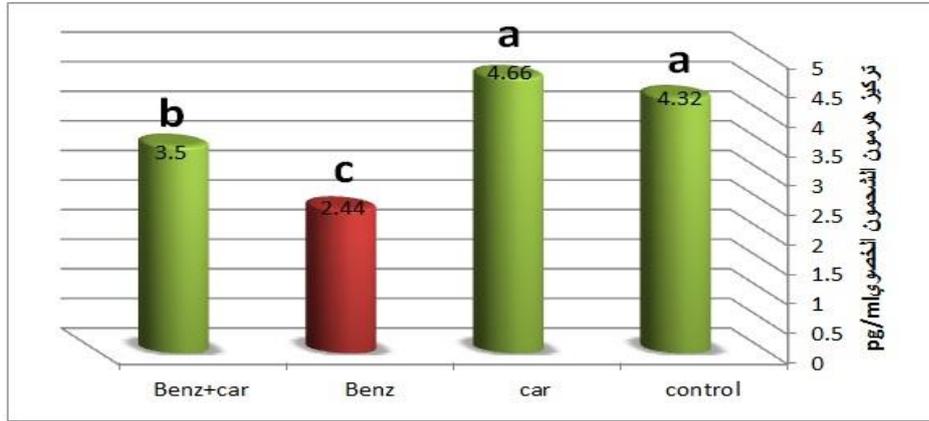
يوضح الشكل (2) تقدير تركيز جذر بيروكسي نترت للمجاميع المعاملة مقارنة مع السيطرة ويلاحظ ارتفاع معنوي في تركيز $ONOO^-$ في مصل دم الحيوانات المعاملة Benz حيث سجلت النتائج (62.080 ± 8.602) مايكرو مول/لتر مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة (43.140 ± 7.478) مايكرو مول/لتر ويعود سبب ارتفاع جذر $ONOO^-$ الى زيادة الجذور الحرة وخاصة السوبر أوكساييد السالب O_2^- وهذا الاخير بدوره يبقى حرا ونشطا داخل الجسم يبحث عن إلكترون مفرد كي يرتبط معه لذا فإنه يتفاعل مع أوكسيد النترتك (NO°) لينتج بالتالي $ONOO^-$ (Takimoto وآخرون، 2007) وتتفق النتائج مع (Gokkusu وآخرون ، 2001) من خلال دراسته حول التدخين ومن خلال احتواء دخان السكائر العديد من المواد الكيميائية والتي يطلق عليها Polyunclear Aromatic Hydrocarbone (PAH) تعمل على اكسدة الكترولون واحد في الجزيئات الحيوية ومن ثم توليد جذور حرة وسطية ذات فعالية عالية تعمل بوصفها محفزات لبدء حدوث اورام سرطانية من خلال ارتباطها مع الحوامض النووية مؤدية الى حدوث الطفرات (Cavalieri و Rogan، 1995) كما بينت دراسة حول اعطاء مستخلصات الثوم للجرذان ادى الى الحد من مادة 7,12-dimethyl benz (a) anthracene (DMBA) والتي تسبب السرطان كذلك قلل من بيروكسدة الدهون وعزز من مستوى الكلوتاتايون والكلوتاتايون بيروكسيديز والكلوتاتايون ترانس امينيز (Balasenthil وآخرون ، 2000) . وعند المعاملة بالكارتنين للحيوانات المجعدة باستخدام Benz (a) anthracene، أظهرت النتائج انخفاض معنوي في تركيز $ONOO^-$ في مصل دم الحيوانات حيث كانت النتائج (49.480 ± 0.846) مايكرو مول/لتر مقارنة مع المجموعة المعاملة بالـ Benz (a) anthracene لوحده اذ سجلت (62.080 ± 8.602) مايكرومول/لتر ويعزى السبب في هذا الانخفاض إلى دور الكارتنين بالإزالة غير المباشرة لـ $ONOO^-$ من خلال تحفيزه الأنزيمات المضادة للأكسدة ورفع تركيزها داخل الجسم وخاصة أنزيمي الكتاليز و SOD إذ يعمل أنزيم SOD بالتنافس مع أوكسيد النترتك (NO°) على الارتباط بجذر السوبر أوكسيد السالب O_2^- وينتج عن هذا التفاعل H_2O_2 الذي يتم إزالته بوساطة أنزيم الكتاليز (Szabo وآخرون ، 2007) .



(شكل 2) تركيز جذر البيروكسي نترت في مصل الدم (مايكرومول / لتر)

3- هرمون الشحمون الخصوي:

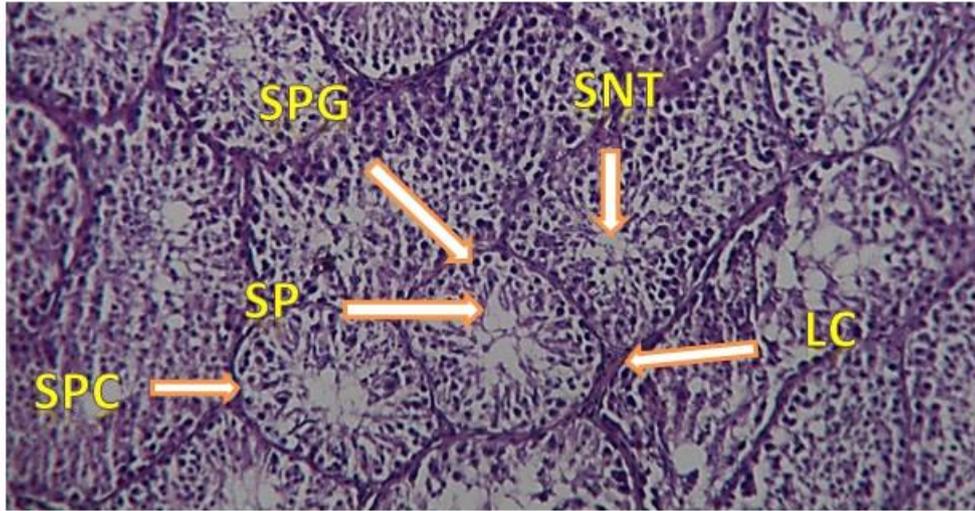
يوضح الشكل (3) تقدير تركيز هرمون الشحمون الخصوي للمجاميع المعاملة مقارنة مع السيطرة ويلاحظ انخفاض معنوي في تركيز الهرمون في مصل دم الحيوانات المعرضة للإجهاد بواسطة Benz (a) anthracene حيث كانت النتائج (2.440 ± 0.433) بيكوغرام / مل مقارنة مع مجموعة السيطرة (4.320 ± 1.306) بيكوغرام / مل . ويرجع السبب إلى انخفاض مضادات الأكسدة وخاصة الأنزيمية داخلية المنشأ مثل SOD و GPx التي تعمل على حماية الخلايا ضد الإجهاد التأكسدي (Wohaieb وآخرون ، 1994) كذلك يعزى السبب في انخفاض الهرمون إلى دور المركبات الهيدروكربونية الناتجة عن Benz (a) anthracene كذلك الجذور الحرة والتي بدورها تكون غير مستقرة تتفاعل بشكل واسع مع الخلايا الحساسة جدا مثل الاحماض النووية والبروتينات والدهون وهرمونات الجنس (Ceccatelli وآخرون ، 2007) وبالتالي تاتير الجذور الحرة على خلايا سرتولي مما يؤدي إلى اضطراب في وظيفة الخصية (Nambu و Kumamoto ، 1995) . وعند معاملة الحيوانات بالكارتنين بينت النتائج ارتفاعاً معنوياً في تركيز هرمون الشحمون الخصوي في مصل دم الحيوانات المعاملة بالكارتنين مع Benz (شكل 3) حيث سجلت النتائج (3.500 ± 0.393) بيكوغرام / مل مقارنة مع المجموعة المعاملة بال Benz (2.440 ± 0.433) بيكوغرام / مل، وقد يعود السبب إلى دور الكارتنين في إزالة الجذور الحرة التي تؤثر بشكل مباشر على الخصية الناتجة عن Benz ودوره في إزالة جذر السوبر أوكسايد السالب كذلك دوره في تثبيط بيروكسدة الدهون وتحسين وظيفة المايوتونديا التي تعمل على إزالة السموم الناتجة عن الجذور الحرة، إذ يمتلك الكارتنين خاصية عالية في السيطرة على تكوين الجذور الحرة من خلال دوره في حماية المكونات الفعالة للنيبيب المنوي والنسيج البيني للخصية كمضاد أكسدة قوي (Agarwal و Said ، 2004) كذلك يرجع دور الكارتنين في زيادة تركيز الشحمون الخصوي من خلال التأثير المباشر في حماية محور تحت المهاد- النخامية المهمة لاطلاق هرمون GnRH الذي يحفز افراز هرمونات FSH , LH ، كذلك تاتيره المباشر في حماية الخصى وخلايا ليديك لانتاج وافراز الهرمون (Kraemer وآخرون ، 2005) .



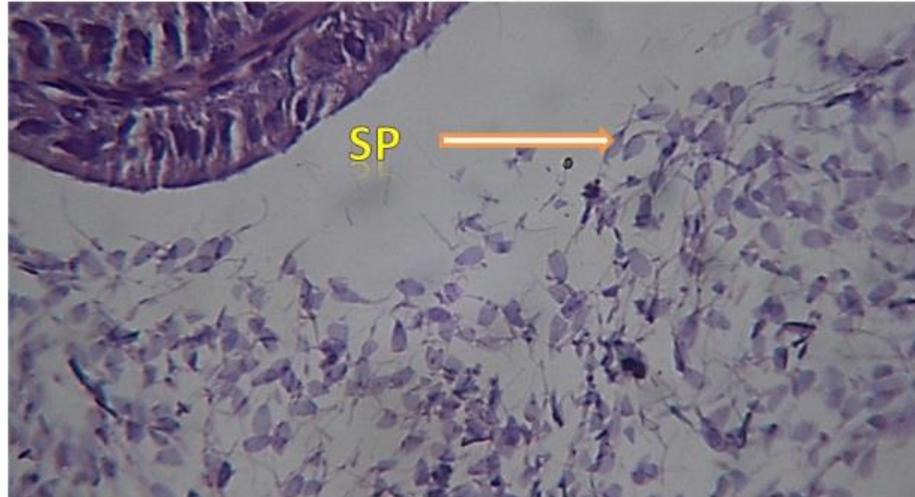
(شكل 3) تركيز هرمون الشحمون الخصوي (Testosterone) في مصل الدم (pg/ml)

4- الفحص النسيجي :

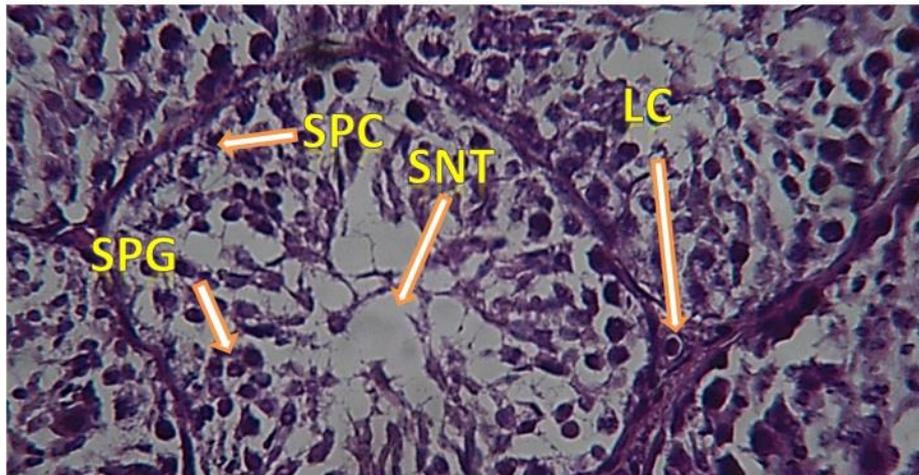
يوضح الفحص النسيجي لمقاطع مستعرضة من نسيج الخصية للمجموعة المعاملة بالكارنتين (صورة 2، 3) انتظام كل من النيببات المنوية seminiferous tubules وارومات النطف Spermatogonia والخلايا المولدة للنطف Spermatocytes كما يلاحظ الاشكال والاعداد الطبيعية لخلايا لايدك Leydig cells ، بالإضافة الى وجود Spermatide بأعداد كبيرة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 1) اما المجموعة المحقونة بالمادة المسرطنة البنزانثراسين كما في (صورة 4) لوحظ التأثير الواضح للمادة المسرطنة في المقاطع المستعرضة للخصية من خلال عدم وجود مراحل عملية تكوين النطف Spermatogenesis وأغلب النيببات المنوية لاتحتوي على أرومات النطف spermatogonia والخلايا المولدة للنطف Spermatocytes كذلك تحطم خلايا لايدك وتتكس Degeneration قسم كبير منها ، كما لوحظ وجود مواد متحللة ومنتخرة Necrotic materials ويعود السبب في هذه التغيرات إلى الاضطرابات الناتجة عن سمية البنزانثراسين ،والتي ترتبط مع تولد أصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) والتي تؤدي إلى زيادة بيروكسدة الدهن ، كذلك دور الجذور الحرة بمهاجمة ال DNA والتي تؤدي إلى التسريع من عمليات الموت المبرمج apoptosis للخلايا (Agarwal وآخرون ، 2003) ، وبالتالي تأثير الجذور الحرة على الخلايا البينية للخصية موديا الى منع اوتقليل من إفراز هرمون الشحمون الخصوي ، وهذا التأثير يكون من خلال تحطيم خلايا لايدك في الخصية (Nishimura وآخرون ، 2001) وقد اشارت العديد من الدراسات الى دور السموم في ذلك ومنها استحداث السمية للخصية عن طريق التعرض للكادميوم ادى إلى انخفاض هرمون الشحمون الخصوي (Yang وآخرون ، 2003) . اما عند المعاملة بالكارنتين مع المادة المسرطنة (صورة 5) لوحظ التحسن في مقاطع الخصية في هذه المجموعة من خلال وضوح أرومات النطف كذلك لوحظ وجود الخلايا المولدة للنطف ، كما ان أشكال النيببات المنوية تحسنت مع وجود خلايا لايدك ، ويعود سبب التحسن إلى دور الكارنتين المضاد للأكسدة (Neumn و Hcste ، 2002) ، وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي تاكد بأن الكارنتين ضروري في توفير آليات الحماية لمختلف الخلايا من التأثيرات الضارة ومنها انسجة الخصية كذلك دوره بتجهيز الطاقة اللازمة للخلايا للقيام بوظائفها عن طريق المايتوكوندريا (Agarwal و Abdelrazik ، 2009) ، ودوره في تنظيم وظيفة خلايا سارتولي واختزال الموت المبرمج للخلايا المولدة للنطف Spermatogenic cells ودوره في حماية النطف ضد الإجهاد التأكسدي اذ تعد خلايا سرتولي من الأهداف المحتملة لانتشار الفعل الأيضي للكارنتين والذي يعد مهما في تغذية الخلايا المولدة للنطف ودوره في ثبات الأغشية الخلية عن طريق خفض مستويات ROS. (Shang وآخرون ، 2007) كذلك يعد الكارنتين من المواد المهمة المضادة للاكسدة من خلال دورها في حماية الخلايا من خلال كسح الجذور الحرة (Agarwal و Abdelrazik ، 2009) .



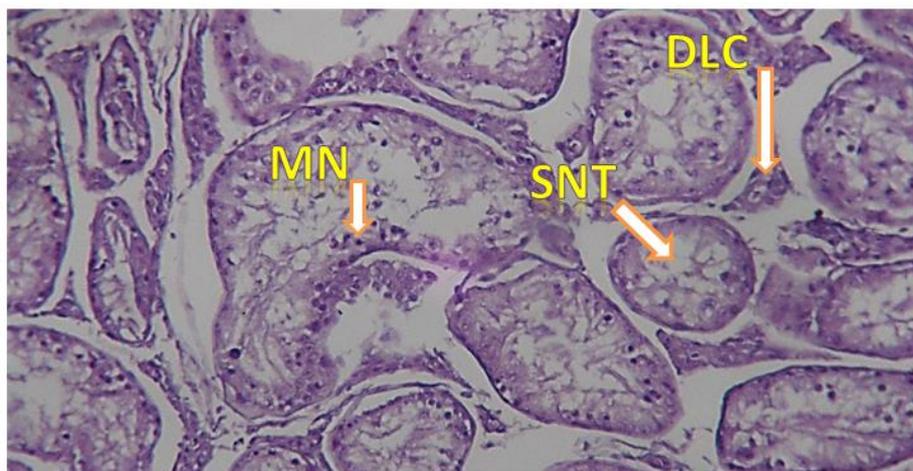
(صورة 1) مقطع مستعرض لخصية أرنب سيطرة يوضح الشكل الطبيعي للتبويض المنوية وارومات النطف والخلايا المولدة للنطف وخلايا لايدك H&E . 200 X



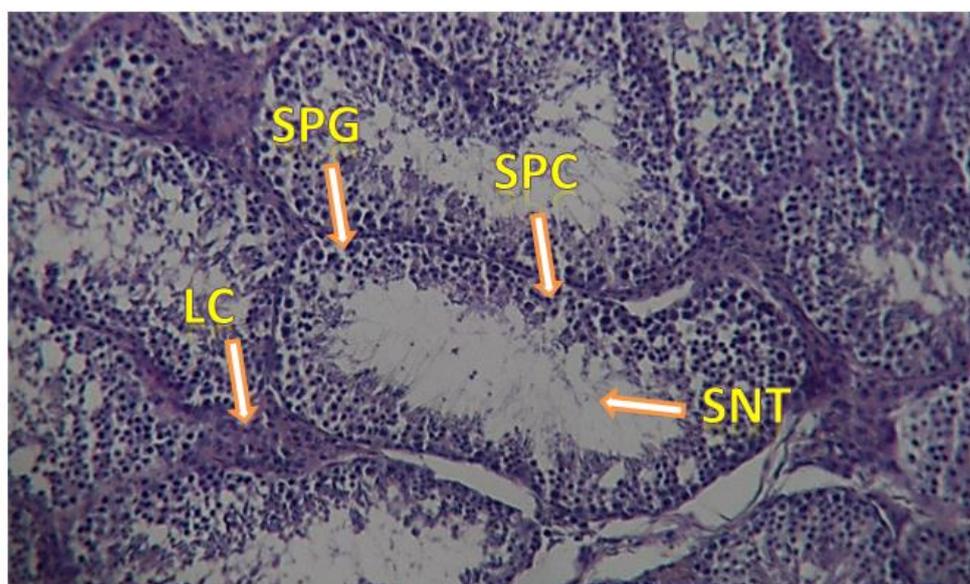
(صورة 2) مقطع مستعرض لخصية أرنب مجرع بالكارتنين يوضح السبيرماتيد H&E . 400 X



(صورة 3) مقطع مستعرض لخصية أرنب مجرع بالكارتنين لوحده يوضح الشكل الطبيعي للتبويض المنوية وارومات النطف والخلايا المولدة للنطف وخلايا لايدك H&E 400 X



(صورة 4) مقطع مستعرض لخصية أرنب محقون بمادة البنزانتراسين يوضح شكل النبيبات المنوية وعدد قليل من ارومات النطف وتنكس خلايا لايدك كذلك وجود المواد المتخثرة والمتحللة H&E 200 X



(صورة 5) مقطع مستعرض لخصية أرنب مجرع بالكارتين مع الحقن بمادة البنزانتراسين يوضح عودة الشكل الطبيعي للنبيبات المنوية وارومات النطف والخلايا المولدة للنطف وخلايا لايدك H&E . 400 X

- 1- Spermatogonia (SPG) سليفات النطف
- 2- Spermatocytes (SPC) الخلايا المولدة للنطف
- 3- Seminiferous tubule (SNT) النبيبات المنوية
- 4- Spermatids (SP) طلائع النطف
- 5- leydig cell (LC) خلايا لايدك
- 6- Necrotic material (NM) مواد متخثرة
- 7- Degeneration leydig cell (DLC) تنكس خلايا لايدك

نستنتج من الدراسة :

- 1- ان مادة Benz (a) anthracene قد احدثت إجهادا تأكسديا وذلك من خلال نتائج تركيز MDA و ONOO
- 2- Benz (a) anthracene قد احدثت انخفاض معنوي في تركيز هرمون الشحمون الخصوي كذلك تلف لنسيج الخصية

3- دور الكارنتين الايجابي في المؤشرات اعلاه ودوره في تخفيف الاجهاد الناتج عن Benz (a) anthracene ودوره كمضاد اكسدة قوي .

المصادر :

- الحاج ، حميد احمد (1998) . التحضيرات المجهرية الضوئية (التقانات الاحيائية) ، الطبعة الاولى ، قسم العلوم الحياتية - الجامعة الاردنية ، مركز الكتب الاردني ، عمان ، الاردن ، ص 121-140، 148-221 ، 232 .
- الاسدي ، اسعد عبد الواحد بدر (1988). " التاثيرات الوراثية للمسرطن بنزانتراسين في الفئران واختبار تاثير بعض الفيتامينات " . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة صلاح الدين _اربيل .
- Abdelrazik H, and Agarwal A.**(2009) L-carnitine and assisted reproduction. Rev. Article .Arch of Med Sci;5:1:528-562.
- Agarwal A. and Said TM.** (2004).Carnitines and male infertility. Reprod.Biomed. Online (4): 376 – 384.
- Agarwal, A.; Saleh, R.A. and Bedaiwy, M.A.** (2003). Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. Fertil. Steril., 79: 829-843.
- Aitken, R.J. and Roman, S.D.** (2008): Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 1(1), 15-24.
- Anderson, KE, Kadlubar FF, Kulldorff M, Harnack L, Gross M, Lang NP, Barber C, Rothman N, Sinha R.** (2005). Dietary intake of heterocyclic amines and benzo(a)pyrene: Associations with pancreatic cancer. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention 14:2261-2265.
- Anisimov ,V.; Irina, G.; Popovich, Mark, A.; Zabezhinski , Sergey V.; Anisimov ,Georgy, M.; Vesnushkin and Irina, A.**(2006). Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen. Biochimica et Biophysica, Acta., 17 : 573–589
- Arockia Rani, P. J. and Panneerselvam, C.** (2001): L-carnitine as a free radical scavenger in aging.Exp. Gerontol. **36**, 1713–1726.
- Augustyniak A, and Skrzydlewska E.** (2010)The influence of L-carnitine supplementation on the antioxidative abilities of serum and the central nervous system of ethanolinduced rats. Metab Brain Dis.
- Balasenthil, S., Arivazhagan, and Nagini, S.** (2000). Garlic enhances circulatory antioxidants during 7,12-dimethylbenz [a] an thracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. J. Ethnopharmacol., 72: 429-33.
- Bodea F, Bocea A, and Decea N.**(2010) L-carnitine decreases oxidative stress induced by experimental hypobaric hypoxia]. Pediatr Endocrinol Diabetes Metab;16:78-81.
- Cavalieri, EL. and Rogan EG.** (1995) Central role of radical cations in metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Xenobiotica* 25:677-688
- Ceccatelli, S. C, Tamm, Q. Zhang, and Chen, M**(2007). Mechanisms and modulation of neural cell damage induced by oxidative stress. *Physiol. Behavior*;92:87-92.
- Celik I. M, Turker, and Tuluçe Y** (2007) Abscisic acid and gibberellic acid cause increased lipid peroxidation and fluctuated antioxidant defense systems of various tissues in rats. *J Hazard Mater* 148: 623-9.
- Duncan , D.B.** (1955). Multiple range and F-test . *Biomertic* ; 11:42 .
- Elhajouji, A.P, Santos, P., Van Hummelen and Kirsch-Volders, M.** (1994) Metabolic differences between whole blood and isolated lymphocyte cultures for micronucleus (MN) induction by cyclophosphamide and benzo[a]pyrene. *Mutagenesis.*, Vol 9.pp. 307–313.
- El-Sayed, N.M.** (2005). Role of carnitine in ameliorating the lead and / or irradiation induced toxicity in male albino rats. *Isotope and Radiation Research* Vol.37 (5).
- Faust RA** (1991) Oak Ridge National Laboratory, Chemical Hazard Evaluation Group. Toxicity Summary for Anthracene, Oak Ridge, Tennessee, USA
- Gokkusu, C.E, Ademoglu, and Alkan,G.** (2001). Oxidant-antioxidant profiles of platelet rich plasma in smokers. *Addiction Biology.* 6 : 325-330.

- Guidet, B. and Shah, S. V.** (1989). *Am J. Physiol*; 257(26):440. cited by Muslih, R. K., Al-Nimer, M. S and Al-Zamely, O. Y. (2002). The level of Malondialdehyde after activation with H₂O₂ and CuSO₄ and inhibition by deferoxamine and Molsidomine in the serum of patient with acute Myocardial infarction. *National journal of chemistry*; 5: 139-148.
- Kilesch, U. I, Roupova,** and Adler, L. D. (1982) Inducation of chromosome damage in mouse bone marrow by benzo (a) pyrene. *Mutat. Res.*, Vol102, pp.265-273.
- Khan M.S, Varadharaj, JC, Shobha MU,** Naidu NL, Parinandi, and Kutala VK,. (2006). C-phycocyanin ameliorates doxorubicin-induced oxidative stress and apoptosis in adult rat cardiomyocytes. *J Cardiovasc Pharmacol*;47:9-20.
- Kraemer WJ,JS, Volek,BA Spiering,**and Vingren JL. (2005). L – carnitine supplementation: a new paradigm for its role in exercise. *Monatshefte fur Chemie*.136: 1383 – 1390.
- Minato K , Miyake Y.S ,** Fukumoto , K.Yamamoto , Y.,Kato ,Y,shimomura , Osawa and T.lemon(2003) Flavonoid eriocirin suppresses exercise-induced oxidative damage in rat liver *Life sci*;72:1609-161 .
- National Research Council.**(1994) Nutrient Requirements of Poultry. 9th ed. National Academy Press, Washington.
- Nambu, A. and Kumamoto, Y.**(1995): Effect of follicle stimulating hormone (FSH) on protection or acceleration to recovery from spermatogenic damage induced by anti-cancer agents. *Nippon-inyokika-Gakkai- Zasshi*;86:1231-1239.
- Nishimura, K., Matsumiya, K.,** Tsujimura, A., Koga, M., Kitamura, M. and Okugama, A. (2001). Association of selenoprotein P with testosterone production in cultured leydig cells. *Arch. Androl.*, 47: 67 – 76.
- Neumn SL,Liu TL and Hcste PY**(2002) The effect of dietary carnitine on semen traits of white leghorn roosters.*Poult.Sci*.Apr;81(4):495-503.
- Panneerselvam KS, Kumaran S**(2006). L- carnitine & alpha lipoic acid improves mitochondrial function during aging process. *Clin Nutr*.
- Ramesh A, Kumar A, Aramandla MP,** Nyanda AM (2015) Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Residues in Serum Samples of Autopsied Individuals from Tennessee. *Int J Environ Res Public Health* 12: 322-34.
- Sharma, R.K.F.F; Pasqualotto,** Nelson, D.R.; Thomas, J.R. & Agarwal, A. (2001). Relationship between seminal white blood cell counts and oxidative stress in men treated at an infertility clinic. *J. Androl.*, 22 (4): 575-583.
- Shang XJ. YF,Huang** and Shang XY (2007).Correlation of free L-carnitine level with accessory gland makers and its clinical significance (Chinese) *Zhonghaa Non Ke Xue*:13:1507- 10.
- Sikka, S. C.** (1996). Oxidative stress and role of antioxidants normal and abnormal sperm function. *Frontiers in bioscience*, 1: 78.
- Stillman, R.J. M.J.,** Rosenberg, and Sachs, B.P. (1986). Smoking and reproduction. *Fertil. Steril.*, 46: 454-466.
- Szric, D. and Klasinc I.** (1980). Mass-spectrometric and fluorometric identification and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban air *Eur. J. Mass Spectrom. Biochem. med. Environ. Res.*, 1, 155-158.
- Supinska k, Misiewicz I,** Guttman TK (2004) Polycyclic aromatic hydrocarbons: physicochemical properties, environmental appearance and impact on living organisms. *Acta Pol Pharm* 61: 233-40.
- Szabo,C. H.,** Ischiropoulos, and Radi,R. (2007). Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutic, Nature Publishing Group. *Drug Discovery*; 6: 662-680.
- Takimoto E.A, David** and Kass A (2007) Role of oxidative stress techniques (6th Edn) New York, London: Churchill Livingstone, USA
- Tietz, N. W.** Textbook of clinical chemistry. 3rded. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders. 1999; 819-861,1245-1250.

- Vanuffelen, B. E. J, VanDerzecz,** and Dekoster, B. M. (1998). Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidants status in the Serum of patients with acute myocardial infraction national. *Biochem. J*; 330:719. (Cited by Al-Zamely *et al.*,: 2001).
- Vicari, E. & Calogero, A.E.** (2001). Effects of treatment with carnitines in infertile patients with prostate-vesiculo-epididymitis. *Human Reproduction*, 16: 2338-2342
- Von Tungeln LS, Xia QS, Fu PP.** (1999). Benz(a)anthracene is a potent liver tumorigen in the neonatal B6C3F1 mouse. *Polycycl Aromat Compd*16(1-4): 245-254.
- Wang Q, Xue Y** (2015). Characterization of Solid Tumors Induced by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mice. *Med Sci Monit Basic Res* 21: 81-5.
- Wohaieb, S.A.; S.H. , Tohala,** and Al-Dewachi, D.S. (1994) : Effect of Vit E on hydrogen peroxide-induced oxidative stress in rabbits. *Iraq. J. Vet. Sci.*, 7:81-84
- Xue, J., Y., Yu, Y., Bai, L. Wang,** and Wu, Y. (2015) Marine Oil-Degrading Microorganisms and Biodegradation Process of Petroleum Hydrocarbon in Marine Environemts: A Review. *Current Microbiology*, 71, 220-228.
- Yang, J.M.; Arnush, M.; Chen, Q.Y., Wu, X.D.; Pang, B. and Jiang, X.Z.** (2003). Cadmium-induced damage to primary cultures of rat leyding cell. *J. Reprod Toxicol.*, 17(5): 60-553.