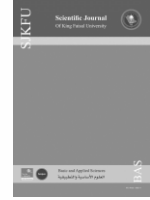




المجلة العلمية لجامعة الملك فيصل The Scientific Journal of King Faisal University

العلوم الأساسية والتطبيقية
Basic and Applied Sciences



The Therapeutic Role of Astaxanthin in Countering the Effects of Cadmium on the Structure and Function of the Male Reproductive System

Mohammad Amer Salaho and Mahmoud Kassem
Department of Zoology, Faculty of Sciences, Aleppo University, Aleppo, Syria

الدور العلاجي للأستازانتين في الحد من تأثيرات الكاديوم على بنية ووظيفة الجهاز التناسلي الذكري

محمد عامر صلاحو ومحمود قاسم
قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة حلب، حلب، سوريا

KEYWORDS الكلمات المفاتيحية

Astaxanthin, cadmium, testis, testosterone, and therapy
الأستازانتين، التستوستيرون، الخصية، الكاديوم

RECEIVED الاستقبال

01/10/2020

ACCEPTED القبول

02/11/2020

PUBLISHED النشر

01/06/2021



<https://doi.org/10.37575/bjsci/0035>

ABSTRACT

The purpose of this study is to determine the therapeutic role of Astaxanthin in reducing the effect of cadmium chloride (CdCl₂) on the reproductive function of Syrian hamsters. Blood and testis were collected from the study subjects and analyzed for biochemical and histopathological changes, respectively. To distinguish the therapeutic impact of the treatment, a quantitative study was also conducted to examine testicular weights, testosterone concentration, the vitality of sperm, and the diameter of seminiferous tubules. Male adult hamsters (28hamsters; n=7/group) were divided into four equal groups: a control group, a group treated with cadmium chloride (5mg/kg/day), and two groups treated with both CdCl₂ and Astaxanthin; the latter was given at (2.5mg/kg/day) or (5mg/kg/day). The results showed an improvement in the histological structure of the Astaxanthin-treated groups as well as a significant increase in their testosterone concentration and other quantitative measures compared to the cadmium group.

المخلص

هدفت الدراسة إلى تحديد الدور العلاجي للأستازانتين في الحد من التأثير السمي لكبريت الكاديوم على الوظيفة التناسلية عند ذكور الهامستر السوري، حيث تمت دراسة البنية النسيجية للخصية، وتم تحديد تراكيز هرمون التستوستيرون في المصل، كما تم إجراء دراسة كمية على أوزان الخصى وتركيز وحيوية النطاف وأقطار الأنابيب المنوية لدى مجموعات التجربة. تم العمل على (28) ذكر هامستر، قُسمت إلى (4) مجموعات بمعدل (7) أفراد لكل مجموعة: مجموعة الشاهد، ومجموعة مجزعة بكبريت الكاديوم (5mg/kg/day)، ومجموعتا الدور العلاجي للأستازانتين بجرعة (2.5mg/kg/day) وجرعة (5mg/kg/day) على التوالي. بيّنت النتائج حصول تخرب في نسيج الخصية، وانخفاضاً في أوزان الخصى وفي تركيز هرمون التستوستيرون وفي تركيز وحيوية النطاف وفي أقطار الأنابيب المنوية لدى أفراد المجموعة المجزعة بكبريت الكاديوم، في حين بيّنت نتائج دراسة تأثير الأستازانتين حصول تحسن في المعايير السابقة، وتدل هذه النتائج على فعالية الأستازانتين سواء بالتركيز 2.5ملغ/كغ أو بالتركيز 5ملغ/كغ في الحد من سمية الكاديوم على الجهاز التناسلي الذكري.

كاروتين يرتقالي ذوّاب في الدهون مائل للون الوردى شبيه إلى حد كبير بالتركيب الكيميائي لطليعة الفيتامين أ ولكنه أكثر أماناً في الاستخدام، يوجد في المأكولات البحرية مثل الروبيان والسرطانات وأسماك السلمون، كما يوجد في طحالب *Haematococcus pluvialis* التي تعد المصدر الرئيسي له (Yuan and Wang, 2010).

بيّنت دراسات عدّة بأن لهذا الكاروتين نشاطاً مضاداً لأكسدة ليبيدات الخلية يصل إلى مئة ضعف من فعالية فيتامين (E)، وحوالي أربعين ضعف من فعالية مضادات الأكسدة الموجودة في بيتا كاروتين، ويتمثل نشاط الأستازانتين الرئيسي في غشاء الخلية (Mori et al, 2013).

وللأستازانتين فوائد مختلفة على صحة الإنسان فهو على سبيل المثال يحفز حصول الاستجابة المناعية ويقلل من تخرب (DNA) الخلايا المناعية، كما يعد مضاداً للالتهاب، ويعزز من صحة البشرة، ويعمل على تحسين جودة السائل المنوي، ويخفف من إجهاد العين، ويحسن الأداء الرياضي والقدرة على التحمل، ويمنع تطور ما يسمى بأمراض العصر مثل السمنة، وتصلب الشرايين، وارتفاع ضغط الدم، وهناك دراسات وتجارب أخرى بشأن تأثيره الإيجابي في الأمراض المزمنة مثل التهاب الكبد الدهني غير الكحولي والسكري وغيرها (Tominaga et al, 2012).

تنمى في الوقت الحاضر الأبحاث المتعلقة بدور الأستازانتين في تطبيقات الصحة البشرية، حيث يستعمل بعض الأطباء الأستازانتين المستخرج من الطحالب البحرية *Haematococcus pluvialis* كمتّم غذائي للمرضى الذين لا يستطيعون تناول الأدوية بسبب أعراضها الجانبية على صحتهم، وتقترح إحدى الدراسات إطلاق لقب "الطعام الطبي" (medical food) على الأستازانتين (Ambati et al, 2014).

2. أهداف الدراسة

- تحديد التأثيرات السمية الناتجة عن الكاديوم في الجهاز التناسلي الذكري للهامستر السوري على المستويين النسيجي والهرموني.
- تحديد دور الأستازانتين بالتركيزين (2.5, 5mg/kg/day) في علاج السمية

1. المقدمة

تتميز المعادن الثقيلة بتأثيرها الكبير في الصحة العامة وذلك من خلال دخولها في السلاسل الغذائية وانتقالها بين المكونات البيئية كالهواء والماء والتربة والغذاء (Valko et al, 2005). ويعد الكاديوم من أكثر المعادن الثقيلة سمية (Goering et al, 1995)، وبالرغم من وجوده في القشرة الأرضية بكميات محدودة إلا أن نشاطات الإنسان المختلفة وخاصة الصناعية منها رفعت من تراكيزه بشكل كبير في الأوساط البيئية المختلفة وما لذلك من تأثيرات سلبية في الكائنات الحية، وأصبح الكاديوم اليوم من الملوثات البيئية واسعة الانتشار، حيث يدخل في العديد من الصناعات كصناعة البطاريات والأصبغة وغلظنة المعادن والخلات المعدنية كما ينتج عن حرق السجائر والقمامة وعوادم السيارات (Fraga, 2005) (Giuseppe et al, 2020).

لقد تم تسجيل قيمة عنصر الكاديوم الموجودة في هواء المناطق الريفية التابعة لدول الشمال الأوروبي بين الأعوام (1980-1988) بحدود (0.001-0.005 ug/m³)، في حين وصل تركيزه في هواء المدن الصناعية في تلك الدول (0.02-0.05 ug/m³)، وكما حددت كل من منظمة الصحة العالمية (WHO) ومنظمة الأغذية والزراعة (FAO) معدل تحمل الجسم من الكاديوم بـ (1ug/kg/day) (Martin and Wendy, 2009).

تعدّ الأغذية المصدر الرئيسي للكاديوم لدى الأشخاص غير المدخنين وغير المعرضين له مهنيًا ومن أهم الأغذية التي تحتوي على كميات كبيرة من الكاديوم هي النباتات ذات الأوراق الخضراء كالخس والملفوف والجرجير... ويتزايد تركيزه في الجسم مع تقدم الإنسان بالعمر وذلك بسبب تناقص الفعالية البيوكيميائية للتخلص منه، إضافة إلى إعادة الامتصاص الكلوي مما يؤدي إلى تراكمه في أعضاء معينة مثل الكبد وقشرة الكلية والخصى وغيرها، كما أن الكاديوم يتميز بعمر نصف بيولوجي طويل (Biological half life) في جسم الإنسان (Elgawish and Ghanem, 2014)، ويصنف الكاديوم بأنه أحد المواد المسرطنة (carcinogen) (Liu and Kadiiska, 2009).

ينتج الأستازانتين (C₄₀H₅₂O₄) إلى عائلة الكاروتينات (Carotenoids) فهو

النتيجة عن الكاديوم على الجهاز التناسلي الذكري عند الهامستر السوري.

3. أهمية الدراسة

تتبع الأهمية العلمية للدراسة من كون الكاديوم يعدّ من أخطر المعادن السامة للكائنات الحيّة وأكثرها انتشاراً، وعلى الرغم من ذلك فإننا لا نستطيع تجنّب آثاره الضارة في حياتنا اليومية، ونظراً لانتشار هذا المعدن الثقيل في وقتنا الراهن (نتيجة انتشار الملوّثات المختلفة بشكل كبير وخاصة في مدينة حلب)، كان لا بدّ من تسليط الضوء على مخاطره من خلال دراسة تأثيره في العملية التناسلية، وذلك من خلال إجراء دراسة هرمونية ونسجية للخصية عند الهامستر السوري، وتتبع أهمية هذا البحث أيضاً من خلال اختبار فعالية الأستازانثين (كمركب غني بمضادات أكسدة) في العلاج من سمية الكاديوم على الجهاز التناسلي الذكري.

4. مواد البحث وطرائقه

4.1. حيوانات التجربة:

أجريت التجربة على 28 ذكراً من الهامستر السوري (*Mesocricetus auratus*)، تمت تربيتها في مختبر حيوانات التجربة والبحث العلمي في كلية العلوم جامعة حلب، تراوحت أوزان الحيوانات قبل البدء بالتجربة بين (90-110) غرام، عُرضت الحيوانات إلى ظروف طبيعية من حيث درجة الحرارة (22 ± 2) والإضاءة (12/12)، مع وصول حرّ للماء والغذاء (*ad libitum*)، وتركت الحيوانات مدة أسبوعين قبل بدء التجربة من أجل التأقلم، حيث قُسمت الأفراد إلى أربع مجموعات:

- المجموعة الأولى (مجموعة الشاهد): تمّ تجرع أفرادها بمحلول فيزيولوجي لمدة (60) يوم.
- المجموعة الثانية (مجموعة الكاديوم): تمّ تجرع أفرادها بكلوريد الكاديوم بتركيز (5mg/kg/day) لمدة (30) يوم، ومن ثمّ تمّ تجرعها بمحلول فيزيولوجي لمدة (30) يوم أخرى.
- المجموعة الثالثة (المجموعة المعالجة1): تمّ تجرع أفرادها بكلوريد الكاديوم بتركيز (5mg/kg/day) لمدة (30) يوم، وفي اليوم الحادي والثلاثين تمّ تجرع الأفراد ذاتها بالأستازانثين بتركيز (2.5mg/kg/day) وذلك حتى اليوم (60).
- المجموعة الرابعة (المجموعة المعالجة2): تمّ تجرع أفرادها بكلوريد الكاديوم بتركيز (5mg/kg/day) لمدة (30) يوم، وفي اليوم الحادي والثلاثين تمّ تجرع الأفراد ذاتها بالأستازانثين بتركيز (5mg/kg/day) وذلك حتى اليوم (60).

4.2. مواد التجربة:

- تم تحضير محلول كلوريد الكاديوم (5mg/kg/day)، (Merck company, Germany) بحل الكمية المطلوبة في محلول فيزيولوجي (كلوريد الصوديوم 0.09%).
- تم تحضير محلول الأستازانثين ($C_{40}H_{52}O_4$) (Sigma, MO:63103, USA) بالتركيزين (2.5mg/kg/day) و (5mg/kg/day) بحل الكمية المطلوبة في المحلول الفيزيولوجي (كلوريد الصوديوم 0.09%) وذلك بمعدل (1mg/ml) حسب ما هو موصى به في بروتوكول الشركة المصنعة.

4.3. الدراسة الكمية والهرمونية والنسجية:

- تمّ وزن أفراد المجموعات قبل البدء بالتجربة وكُوزت عملية الوزن أسبوعياً وصولاً إلى نهاية التجربة، حيث تمت آخر عملية وزن بعد الامتناع عن تقديم الطعام لمجموعات التجربة خلال الليلة الفاتنة (*fasted overnight*)، وتمّ الوزن باستخدام ميزان حساس (0.01غ).
- تم سحب الدم من الجيب الجعاجي للعين وجمعه في أنابيب بلاستيكية جافة، وجرى تنفيذه بسرعة (3000) دورة/الدقيقة لمدة 20 دقيقة، وأخذت الأمصال مباشرة لتحليل هرمون التستوستيرون بطريقة المقاييس المناعية بالتألق الكيميائي الكهربائي (ECL: Electrochemoluminescence) وذلك باستخدام جهاز تحليل الهرمونات (Hitachi, Roche, cobas e 411) والعتيبة الخاصة بهذا الجهاز.
- شُرّحت الحيوانات بعد تخديرها وذلك بحجزها بجو مشبع بالإيثير.
- عُزلت الخصية وتمّ وزنها بواسطة ميزان حساس (Sartorius 1535) يزن من (0.0001-160) غرام، وتمّ قياس أبعادها (الطول والعرض) باستخدام مسطرة باكوليس (piacolis ruler).
- تم تثبيت الخصية بميثيل بوان، وقطعت العينات بسماكة (7µm) وتمّ توليها باستخدام ملون (هيماتوكسيلين-ايوزين) تمهيداً لإجراء الفحص

- بعد استئصال أحد البربخين (البربخ الأيسر) وعزل ذيله (*cauda epididymis*)، تم غمره في واحد مليلتر من المحلول الفيزيولوجي الدافئ، ثمّ قطع بواسطة مقص طبي دقيق إلى قطع صغيرة جداً بمعدل 200 مرة وذلك بهدف مجانسته (*homogenized*) وتحرير النطف الموجودة فيه، ثمّ ترك المزيج لمدة دقيقة في درجة حرارة 37 مئوية، بعدها تم وضع قطرة من المزيج (النطف البربخية + المحلول الفيزيولوجي) بواسطة ماصة باستور على شريحة زجاجية نظيفة وجافة وفحصت تحت المجهر باستخدام التكبير (x100)، وتم حساب تركيز النطف (*sperm concentration*) (نطفة/مليلتر من محلول تمديد البربخ) بأخذ متوسط عدد النطف في عشرة حقول مجهرية اختيرت بشكل متعرج وذلك لكل فرد من أفراد التجربة.
- كما تم حساب حيوية النطف (*Sperm viability*) (النسبة المئوية للنطف الحية/ النطف الميئة)، وذلك بأخذ قطرة من مزيج (النطف البربخية + المحلول الفيزيولوجي) ووضعها في إحدى نهايتي شريحة زجاجية داكنة ثمّ أضيف إليها قطرة من ملون الإيوزين - نيجروسين (*eosin/nigrosin*) ثمّ خلط المزيج لمدة 30 ثانية وتُرك 10 دقائق ليُجف في الهواء، بعدها تمّ الفحص تحت المجهر على التكبير (x400) إذ ظهرت رؤوس النطف الميئة مصبوغة باللون الوردي (لون الإيوزين) بينما لم تصطبغ رؤوس النطف الحية، وتم حساب 200 نطفة على امتداد الشريحة وبشكل متعرج، حيث تم حساب النسبة المئوية لحيوية النطف وفق المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للنطف الحية} = \frac{\text{عدد النطف الحية (غو المصبوغة)}}{\text{العدد الكلي للنطف (المصبوغة وغو المصبوغة)}} \times 100\%$$

- تم حساب القياسات المورفومترية لأقطار الأنابيب المنوية حيث تم حساب أقطار 10 أنابيب منوية لكل فرد من الأفراد في المجموعات المختلفة وأخذ المتوسط الحسابي لها وذلك باستخدام برنامج Celestron Digital Imager HD (Imager HD) يتبع لكاميرا (Celestron Microscope) موصولة إلى المجهر.
- تم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام برنامج SPSS وباستخدام اختبار (One-Way ANOVA) لإظهار الفروق في أوزان الأجسام والخصي وأبعاد الخصي وتركيز وحيوية النطف وتركيز هرمون التستوستيرون والقياسات المورفومترية لأقطار الأنابيب المنوية بين المجموعات الأربع في نهاية التجربة، وتكون القيمة الاحتمالية معنوية عندما ($p < 0.05$)، وتم استخدام اختبار (LSD) لتبيان المجموعات التي ظهرت فيها الفروق المعنوية.

5. النتائج

5.1. الدراسة الكمية لأوزان الأجسام والخصي:

لوحظ بعد قياس أوزان الحيوانات في نهاية التجربة حصول انخفاض في متوسط أوزان أفراد المجموعة المعرّعة بكلوريد الكاديوم (85.57غ) مقارنة مع مجموعة الشاهد (124.57غ)، أما بالنسبة للمجموعة المعالجة بالأستازانثين بالتركيز (2.5mg/kg/day) والمجموعة المعالجة بالتركيز (5mg/kg/day) فقد طرأ ارتفاع في متوسط أوزان الأجسام (110.5غ) (112.1غ) على التوالي، الجدول (1).

وبينت الدراسة الإحصائية وجود فروق معنوية في أوزان أفراد المجموعات الأربع، إذ كانت القيمة الاحتمالية ($P = 0.00 < 0.05$)، ولتبيان المجموعات التي ظهرت فيها الفروق المعنوية تم استخدام اختبار (LSD) فكان للكاديوم تأثير سلبي على أوزان الأجسام مقارنة مع المجموعات الأخرى، وكان للأستازانثين بالتركيز 5ملغ/كغ التأثير الإيجابي الأفضل يليه الأستازانثين بالتركيز 2.5ملغ/كغ.

الجدول (1): الفرق في متوسط أوزان الأجسام لدى مجموعات التجربة M-المتوسط الحسابي، SE- الخطأ المعياري، SD-الانحراف المعياري

وزن الجسم (gr)	الشاهد		الكاديوم		الأستازانثين 2.5		الأستازانثين 5	
	قبل	بعد	قبل	بعد	قبل	بعد	قبل	بعد
حيوان 1	101	104	78	100	105	100	100	106
حيوان 2	103	104	82	102	106	100	107	107
حيوان 3	105	105	86	104	109	105	110	110
حيوان 4	108	110	84	107	112	106	115	115
حيوان 5	108	109	88	107	113	108	114	114
حيوان 6	110	113	93	110	114	109	116	116
حيوان 7	110	112	88	110	115	110	117	117
M ± SE	106.42 ± 1.57	105.7 ± 1.75	85.57 ± 1.92	105.42 ± 1.85	110.5 ± 1.71	110.5 ± 1.71	110.5 ± 1.64	110.5 ± 1.64
SD	3.5	3.8	4.8	3.8	3.77	3.65	3.44	3.44

كما تم تحديد أوزان خصي أفراد المجموعات المدروسة بعد الانتهاء من التجربة، ولوحظ حصول تراجع في متوسط مجموع أوزان الخصي عند الأفراد المعرّعة بكلوريد الكاديوم (1841.53ملغ) مقارنة مع تلك الموجودة في مجموعة الشاهد (3619.43ملغ)، كما لوحظ حصول ارتفاع في متوسط

5.3.2. حيوية النطف

كان متوسط حيوية النطف لدى أفراد مجموعة الشاهد (91.6%)، ولدى أفراد المجموعة المجرّعة بـكلوريد الكاديوم (43.71%)، ولدى أفراد المجموعة المعالجة بالأستازانتين بالتركيز 2.5 ملغ/كغ (74.07%)، ولدى أفراد المجموعة المعالجة بالأستازانتين بالتركيز 5 ملغ/كغ (69.91%)، وبينت الدراسة الإحصائية لحيوية النطف في المجموعات الأربع وجود فروق معنوية ($P=0.00<0.05$)، وكان لتجرع الكاديوم الأثر الأكبر في خفض حيوية النطف مقارنة بالمجموعات الأخرى، وكان للأستازانتين بالتركيز 2.5 ملغ/كغ التأثير الإيجابي الأفضل، يليه الأستازانتين بالتركيز 5 ملغ/كغ، الجدول (5).

حيوية النطف %	الشاهد	الكاديوم	أستازانتين 2.5	أستازانتين 5
حيوان 1	95.1	38.4	65.1	63.8
حيوان 2	90.3	45.8	70.3	78.4
حيوان 3	91.2	43.6	72.8	73.5
حيوان 4	87.3	50.8	80.4	66.6
حيوان 5	93.5	40.7	78.3	69.2
حيوان 6	91.8	43.6	81.2	77.5
حيوان 7	92	43.1	70.4	60.4
M±SE	91.6±0.14	43.71±0.24	74.07±1.54	69.91±0.58
SD	2.28	3.63	5.58	6.34

5.4. قياس أقطار الأنابيب المنوية:

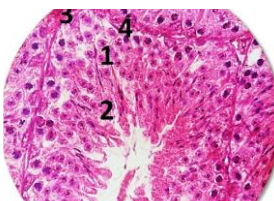
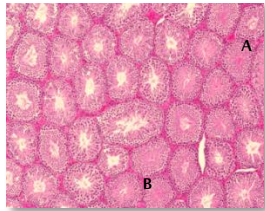
أظهرت نتائج قياس أقطار الأنابيب المنوية لكل فرد من أفراد مجموعات التجربة أن متوسط الأقطار لدى مجموعة الشاهد (259.14µm) ولدى مجموعة الكاديوم (193.28µm) ولدى أفراد المجموعة المعالجة بالأستازانتين بالتركيز 2.5 ملغ/كغ (214.42µm)، ولدى أفراد المجموعة المعالجة بالأستازانتين بالتركيز 5 ملغ/كغ (213.85µm)، وبينت الدراسة الإحصائية لنتائج أقطار الأنابيب المنوية لدى مجموعات التجربة وجود فروق معنوية ($P=0.00<0.05$)، وكان لتجرع الكاديوم الأثر السلبي الأكبر على قطر الأنابيب المنوية مقارنة بالمجموعات الأخرى، وكان للأستازانتين بالتركيز 2.5 ملغ/كغ التأثير الإيجابي الأفضل يليه الأستازانتين بالتركيز 5 ملغ/كغ، الجدول (6).

قطر الأنابيب المنوية (µm)	الشاهد	الكاديوم	أستازانتين 2.5	أستازانتين 5
حيوان 1	286	194	215	212
حيوان 2	248	189	205	222
حيوان 3	267	201	218	203
حيوان 4	253	205	223	216
حيوان 5	260	178	206	210
حيوان 6	245	180	226	211
حيوان 7	255	206	208	223
M±SE	259.14±3.7	193.28±0.17	214.42±0.32	213.85±0.64
SD	12.88	10.6	7.76	6.53

5.5. الدراسة النسيجية للخصية:

بينت الدراسة النسيجية لخصى أفراد مجموعة الشاهد بأن الأنابيب المنوية تتوضع بشكل متجاور ومنظم دون وجود فراغات بينها، وتظهر مراحل تشكل الحيوانات المنوية بشكل سلسلة متدرّجة منتظمة التوضع، كما وتظهر النطف بشكلها السليم وبغزارة واضحة، الشكل (1).

الشكل (1): A- مقطع نسيجي في خصية هامستر شاهد، B- 40X، مقطع نسيجي في أحد الأنابيب المنوية في خصية هامستر شاهد، 1000X.



مراحل تشكل النطف (1)، غزارة النطف (2)، خلايا ليدغ (3)، خلايا سرتولي (4). (H&E)

مجموع أوزان الخصى لدى المجموعتين المعالجتين بالأستازانتين بالتركيزين (2.5mg/kg/day) و (5mg/kg/day) حيث كانت القيم (2761.12 ملغ) و (2770.29 ملغ) على التوالي، الجدول (2).

وباستخدام التحليل الإحصائي وُجدت فروق معنوية في أوزان الخصى ($P=0.00<0.05$)، ولتبيان المجموعات التي ظهرت فيها الفروق المعنوية تم استخدام اختبار (LSD) فكان للكاديوم تأثير سلبي على أوزان الخصى مقارنة مع المجموعات الأخرى، وكان للأستازانتين بالتركيز 5 ملغ/كغ التأثير الإيجابي الأفضل يليه الأستازانتين بالتركيز 2.5 ملغ/كغ.

مجموع أوزان الخصى (mg)	الشاهد	الكاديوم	أستازانتين 2.5	أستازانتين 5
حيوان 1	3578	1727	2755	2739
حيوان 2	3373	1762	2688	2792
حيوان 3	3560	1859	2745	2695
حيوان 4	3584	1903	2810	2788
حيوان 5	3760	1828	2753	2733
حيوان 6	3836	2014	2807	2832
حيوان 7	3641	1795	2770	2813
M±SE	3619.43±1.03	1841.53±24.1	2761.12±10.39	2770.29±12.14
SD	49.79	96.07	38.32	45.44

5.2. الدراسة الكمية لهرمون التستوستيرون:

لدى مقارنة قيم تراكيز هرمون التستوستيرون بين أفراد المجموعات المدروسة، لوحظ حدوث تراجع في متوسط تركيز الهرمون عند الأفراد المجرّعة بـكلوريد الكاديوم (0.52ng/ml) مقارنة مع تلك الموجودة في مجموعة الشاهد (2.68ng/ml)، كما لوحظ حصول ازدياد في متوسط تركيز الهرمون لدى المجموعتين المعالجتين بالأستازانتين بالتركيزين (2.5mg/kg/day) و (5mg/kg/day) حيث كانت القيم (1.55ng/ml) (1.42ng/ml) على التوالي، الجدول (3). وباستخدام التحليل الإحصائي لوحظ وجود فروق معنوية في تراكيز التستوستيرون بين المجموعات الأربع ($P=0.02<0.05$)، وتبين لدى استخدام اختبار (LSD) أن الكاديوم له تأثير سلبي على تركيز الهرمون مقارنة مع المجموعات الأخرى، وكان للأستازانتين بالتركيز 2.5 ملغ/كغ التأثير الإيجابي الأفضل يليه الأستازانتين بالتركيز 5 ملغ/كغ.

تركيز التستوستيرون (ng/ml)	الشاهد	الكاديوم	أستازانتين 2.5	أستازانتين 5
حيوان 1	1.66	0.61	0.95	1.43
حيوان 2	2.51	0.55	1.60	0.98
حيوان 3	2.64	0.51	1.74	1.13
حيوان 4	2.60	0.45	1.19	2.18
حيوان 5	3.10	0.48	1.85	1.24
حيوان 6	2.58	0.025	1.32	1.35
حيوان 7	2.57	0.78	2.22	1.65
M±SE	2.68±0.115	0.52±0.036	1.55±0.12	1.42±0.05
SD	0.237	0.062	0.39	0.36

5.3. دراسة النطف:

5.3.1. تركيز النطف

كان متوسط تركيز النطف لدى أفراد مجموعة الشاهد (86.14)/مل من محلول تمديد البربخ، ولدى أفراد المجموعة المجرّعة بـكلوريد الكاديوم (34.57)، ولدى أفراد المجموعة المعالجة بالأستازانتين بالتركيز 2.5 ملغ/كغ (63)، ولدى أفراد المجموعة المعالجة بالأستازانتين بالتركيز 5 ملغ/كغ (61)، وبينت الدراسة الإحصائية لتركيز النطف في المجموعات الأربع وجود فروق معنوية ($P=0.00<0.05$)، ولتبيان المجموعات التي ظهرت فيها الفروق المعنوية تم استخدام اختبار (LSD) فكان لتجرع الكاديوم الأثر الأكبر في خفض تركيز النطف مقارنة بالمجموعات الأخرى، وقد كان للأستازانتين بالتركيز 2.5 ملغ/كغ التأثير الإيجابي الأفضل، يليه الأستازانتين بالتركيز 5 ملغ/كغ، الجدول (4).

متوسط تركيز النطف/1 مل محلول تمديد البربخ	الشاهد	الكاديوم	أستازانتين 2.5	أستازانتين 5
حيوان 1	77	22	59	58
حيوان 2	75	40	60	59
حيوان 3	81	33	65	63
حيوان 4	99	37	61	59
حيوان 5	110	29	72	70
حيوان 6	78	43	65	61
حيوان 7	83	38	59	57
M±SE	86.14±0.28	34.57±0.60	63±1.89	61±1.78
SD	4.10	4.37	12.21	6.65

6. المناقشة

يعد الكاديوم من أخطر المعادن الثقيلة ذات التأثير السام، حيث يحتل المرتبة السابعة بينها (Satarug and Moore, 2004)، ويؤثر الكاديوم في العديد من الأعضاء والأجهزة في الجسم، وتعدّ الخصى من الأعضاء الرئيسية المستهدفة من قبل الكاديوم (Qiqi Zhu *et al*, 2020).

بينت نتائج دراستنا بأن المعاملة بالكاديوم أدت إلى حدوث تغيرات في بنية ووظيفة الخصى شملت حدوث انخفاض في أوزان الخصى، وعدد النطاف، وتركيز هرمون التستوستيرون، إضافة إلى حدوث تراجع في البنية النسيجية للخصية تمثل باضطراب في مراحل تشكل الحيوانات المنوية وتشوهاً في النطاف، وظهور فراغات بين الأنابيب المنوية، وهذا يتفق مع العديد من الدراسات (Santos *et al*, 2004) (Manna *et al*, 2008) (Badr *et al*, 2019)، وقد تؤدي العوامل السابقة مجتمعة إلى العقم (Akinloye *et al*, 2006). بيّنت دراسات عدّة بأن الكاديوم يسبب حدوث خلل في عملية تشكل خلايا السلسلة المنوية (Spermatogenesis) والذي من المحتمل أنه يساهم في الخسارة الوزنية للخصى، وهذا ما ظهر من خلال دراستنا النسيجية لنسيج خصى الأفراد المعاملة بالكاديوم.

تشير بعض الأبحاث إلى أن انخفاض تعداد النطاف الناجم عن التعرض للكاديوم قد يعود إلى ضعف التمايز في خلايا المنويات (Spermatids) وعدم قدرة الكثير منها على التحول إلى نطاف، وذلك بسبب المستويات المنخفضة من الهرمونات المنشطة للمناسل (Gonadotropins) وكذلك من هرمون التستوستيرون (Zeng *et al*, 2003) (Thompson and Bannigan, 2008)، وهذا يتوافق مع نتائج دراستنا لهرمون التستوستيرون التي أشارت إلى انخفاض تراكمه عند أفراد المجموعة الجرعة بالكاديوم مقارنة مع المجموعة الشاهد ومع المجموعتين المعالجتين، ومن المعروف بأن التستوستيرون ينتج من الخلايا الخلالية (ليدغ)، وتبين من خلال دراستنا النسيجية لخصى الأفراد الجرعة بالكاديوم حدوث انخفاض في عدد هذه الخلايا المنتشرة بين الأنابيب المنوية وفي كثير من الحالات لم يتم ملاحظتها.

كما بيّنت النتائج التي حصلنا عليها وجود احتقان دموي في العديد من الأوعية الدموية المنتشرة بين الأنابيب المنوية وهذا يتفق مع العديد من الدراسات (Oteiza *et al*, 1999) (Yang *et al*, 2006).

أما بالنسبة لانخفاض تركيز هرمون التستوستيرون في الخصية فإنه قد يعزى إلى الخلل الحاصل في الآليات المسؤولة عن إنتاجه من خلايا ليدغ (الخلايا البينية) والتي تعد المصدر الأساسي له، وقد يكون هذا الانخفاض ناجماً عن النقص في النشاط الإنزيمي أو النقص في إفراز حاثّة (LH) من الغدة النخامية (Jacob K *et al*, 2015)، واقترحت بعض الدراسات بأن الانخفاض في تركيز التستوستيرون قد يكون ناتجاً عن انخفاض عدد مستقبلات هرمون (LH) في نسيج الخصية، وفي إنتاج مركب أدنينوزين أحادي الفوسفات الحلقي (cAMP) الذي يلعب دوراً مهماً في تشكيل التستوستيرون (El-Demerdash *et al*, 2004)، كما بيّنت إحدى الدراسات بأن الزيادة في تركيز مركب أكسيد النتريك (NO) الناتجة عن المعاملة بالكاديوم تؤدي إلى حدوث انخفاض في تركيز التستوستيرون وذلك عن طريق التأثير في الغدة النخامية وكبح نشاطها الإفرازي لهرمون (LH) (Serah *et al*, 2012)، وتقتصر بعض الدراسات بأن التسمم المزمن بالكاديوم يقود إلى تدهور في نظام إزالة الماء الأوكسجيني في خلايا الخصية والذي يؤدي بالنتيجة إلى كبح إفراز الحاثات الجنسية من خلايا ليدغ (Djukić *et al*, 2008).

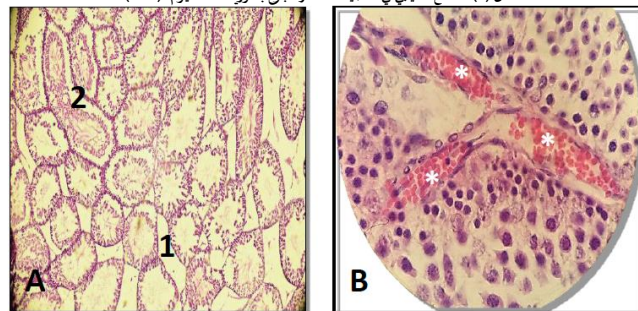
إن الآلية الدقيقة التي تفسر حصول الأذية نتيجة المعاملة بالكاديوم غير معروفة بشكل واضح حتى الآن (Waisberg *et al*, 2003)، مع ذلك فإن العديد من الدراسات بيّنت بأن الكاديوم يؤدي إلى تعطيل عمل مضادات الأكسدة في الخلايا مما يؤدي إلى زيادة في أصناف الأوكسجين الفعالة (ROS)، وهذا بدوره يؤدي إلى خلل في إفراز الهرمونات الجنسية (Thijssen *et al*, 2007) (Ehitare *et al*, 2020).

إن التعرض الحاد للكاديوم يؤدي إلى انخفاض كبير في مستويات الغلوتاثيون (GSH) المعروف عنه بأنه خط الدفاع الأول ضد الكاديوم، كما لوحظ حدوث انخفاض كبير في مستويات مضادات الأكسدة الأخرى مثل

أما عند دراسة المقاطع النسيجية لخصى الأفراد الجرعة بالكاديوم فلاحظ حصول تراجع كبير في البنية النسيجية مثل وجود فراغات بين الأنابيب المنوية بسبب تراجع النسيج الضام، وحدث انسلاخ بين ظهارة الأنبوب المنوي وبين الخلايا المشكّلة للسلسلة المنوية، كما لوحظ حصول انخفاض في عدد هذه الخلايا إضافة إلى الخلل الحاصل في موضعها في لمعة الأنبوب المنوي، كما لوحظ حصول تشوه كبير في بنية النطاف تمثل بحدوث تقطعات فيها، حيث لوحظ انفصال الرأس عن الذيل، إضافة إلى ضعف انغراسها في خلايا سرتولي المغذية لها، والتي شهدت هي الأخرى انخفاضاً في عددها واضطراباً في موضعها داخل الأنابيب المنوية، الشكل (2-A) والشكل (3)، كما لوحظ وجود احتقان دموي في كثير من الأوعية الدموية المنتشرة بين الأنابيب المنوية، الشكل (2-B).

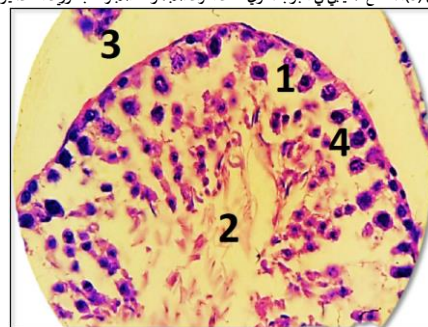
وعند دراسة البنية النسيجية لخصى أفراد المجموعتين المعالجتين بالأستازانثين بالتركيزين (2.5mg/kg/day) لوحظ حصول تحسن نسبي فيما من حيث شكل خلايا السلسلة المنوية وموضعها داخل الأنبوب المنوي وانتشار خلايا ليدغ وخلايا سرتولي، إلا أن هذا التحسن لم يرق إلى مستوى مجموعة الشاهد، حيث أن عدد طبقات خلايا السلسلة المنوية كان قليلاً مقارنة معها، وغزارة النطاف في اللمعة كان منخفضاً، ولم يلاحظ وجود فروق في البنية النسيجية بين خصى هاتين المجموعتين، الشكلان (4-A، 4-B).

الشكل (2): مقطع نسيجي في خصية هامستر جرعة بكلوريد الكاديوم، (H&E)



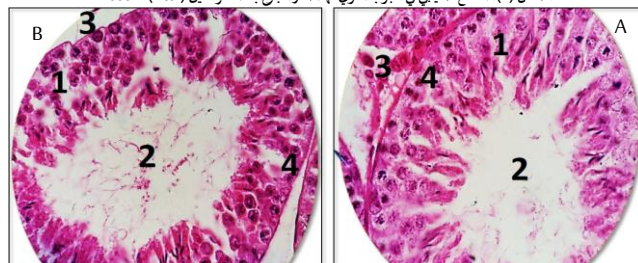
A- أنابيب منوية غير منتظمة يلاحظ وجود فراغات بينها (1) وانسلاخ ظهارة الأنبوب عن محتواه (2). 40X، B- احتقان دموي بين الأنابيب المنوية (*). 1000X

الشكل (3): مقطع نسيجي في أنبوب منوي لأحد أفراد المجموعة الجرعة بكلوريد الكاديوم.



الفراغات بين الخلايا المنوية (1)، انقطاعات لرووس النطاف عن الذيل في لمعة الأنبوب (2)، تجمعات قليلة لخلايا ليدغ (3)، ضعف انغراس النطاف في خلايا سرتولي القليلة (4). (H&E)، 1000X

الشكل (4): مقطع نسيجي في أنبوب منوي لهامستر جرعة بالأستازانثين (H&E)، 1000X



A- تركيز (2.5mg/kg) B- تركيز (5mg/kg)، مراحل تشكل النطاف (1)، النطاف في اللمعة (2) خلايا ليدغ (3)، خلايا سرتولي (4)

- Tominaga K., Hongo N., Karato M. and Yamashita, E. (2012). Cosmetic benefits of astaxanthin on humans subjects. *Acta Biochim Polonaca*, 59(1), 43–47.
- Ambati, R.R., Phang S.M., Ravi, S. and Aswathanarayana, R.G. (2014). Astaxanthin: Source, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications. *Marine Drugs*, 12(1), 128–52.
- Satarug, S. and Moore, M. (2004). Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in food stuffs and cigarette smoke. *Environmental Health Perspectives*, 121(10), 1099–103.
- Qiqi Zhu, X., and Ren-Shan, G. (2020) Toxicological effects of cadmium on mammalian testis. *Front Genet*, 11(n/a), 527.
- Santos, F.W. Oro, T., Zeni, G. Rocha, J.B.T., Nascimento, P.C. do and Nogueira, C.W. (2004). Cadmium Induced Testicular Damage and its Response to Administration of Succimer and Diphenyl Diselenide in Mice. *Toxicol. Lett*, 152(3), 255–63.
- Manna, P., Sinha, M. and Sil, P.C. (2008). Cadmium induced testicular pathophysiology: Prophylactic role of taurine. *Reprod. Toxicol*, 26(3), 282–91.
- Badr, G.M., Elsayy, H., Sedky, A. Rania Eid, A. Awatef, Abdallah B.M., Alzahrani, A.M., Abdel-Moneim, A.M. (2019). Protective effects of quercetin supplementation against short-term toxicity of cadmium-induced hematological impairment, hypothyroidism, and testicular disturbances in albino rats. *Environ Sci Pollut Res*, 26(4), 8202–8211.
- Akinloye, O., Arowojolu, A.O., Shittu, O.B. and Anetor, J.I. (2006). Cadmium toxicity: a possible cause of male infertility in Nigeria. *Reprod. Biol*, 6(1), 17–30.
- Zeng, X., Jin, T., Zhou Y. and Nordberg, G.F. (2003). Changes of serum sex hormone levels and mt mrna expression in rats orally exposed to cadmium. *Toxicology*, 186(1), 109–18.
- Thompson, J. and Bannigan, J. (2008). Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reprod. Toxicol*, 25(3), 304–15.
- Yang H.S., Han D.K., Kim J.R. and Sim J.C. (2006). Effects of alpha-tocopherol on cadmium-induced toxicity in rat testis and spermatogenesis. *J Korean Med Sci*, 21(3), 445–51.
- Oteiza, P.L., Adonaylo, V.N. and Keen, C.L. (1999). Cadmium-induced testes oxidative damage in rats can be influenced by dietary zinc intake. *Toxicol*, 137(1), 13–22.
- Kresovich, J.K., Argos, M., and Turyk, M.E. (2015). Associations of lead and cadmium with sex hormones in adult males. *Environmental Research*, 142(2015), 25–33.
- El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Kedwany, F.S. and Baghdadi, H.H. (2004). Cadmium induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and b-carotene. *Food Chem Toxicol*, 42(10), 1563–71.
- Serah, F., Samuel B., Roland E, Titilayo A., Olanrewaju A. and Utibe, S. (2012). Testicular toxicity and sperm quality following cadmium exposure in rats: Ameliorative potentials of *Allium cepa*. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 5(1), 37–42.
- Djukić-Cosić, D., Curčić Jovanović, M., Plamenac Bulat, Z., Ninković, M., Malicević, Z. and Matović, V. (2008). Relation between lipid peroxidation and iron concentration in mouse liver after acute and subacute cadmium intoxication. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 22(1), 66–72.
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B. and Beyersmann, D. (2003). Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis: A review. *Toxicol*, 192(2), 95–117.
- Thijssen, S., Cuyppers, A., Maringwa, J.; Smeets, K.; Horemans, N.; Lambrichts, I. and Van-Kerkhove, E. (2007). Low cadmium exposure triggers a biphasic oxidative stress response in mice kidneys. *Toxicol*, 236(1), 29–41.
- Ehitare E., Samson O., and Santos E. (2020). Comparison of the deleterious effects of yaji and cadmium chloride on testicular physiomorphological and oxidative stress status: The gonadoprotective effects of an omega-3 fatty acid. *Clin Exp Reprod Med*, 47(3), 168–79.
- Naskar S., Islam A., Mazumder U.K., Saha P., Haldar P.K. and Gupta, M. (2010). In vitro and in vivo antioxidant potential of hydromethanolic extract of Phoenix dactylifera fruits. *J Sci Res*, 2(1), 144–57.
- Elgarem, Y., Lignell, A. and Comhaire, F.H. (2002). Supplementation with Astaxanthin (Astacarox) improves semen quality in infertile men. In: *The 13th International Carotenoid Symposium*. Honolulu HI, USA, 6–11/01/2002.
- (Naskar et al, 2010) (SOD, Catalase).
- أظهرت دراستنا الحالية بأن تجرع الأستازانتين بالتركيزين (2.5mg/kg) (5mg/kg) أدى لحدوث تحسن في أوزان الأجسام والخصى وفي البنية النسيجية للأعضاء التناسلية وتركيز النطاف وحيويتها وتركيز هرمون التستوستيرون وفي أقطار الأنابيب المنوية مقارنة مع الأفراد المجرعة بالكاديوم، حيث لم يلاحظ وجود فروق في التركيزين المستخدمين، وفي حين أنه لم تتوافر أية دراسات أخرى عن تأثير الأستازانتين في الوظيفة التناسلية عند الحيوانات المعرّضة للكاديوم، فإنه من المعروف عن الأستازانتين بأنه يحتوي الكثير من المواد المضادة للأكسدة أهمها البيتا كاروتين التي تلعب دوراً مهماً في كبح الجذور الحرة في خلايا الجسم، ومن المعروف بأن المواد ذات الدور الموقفي تلعب دوراً في التخفيف من امتصاصية خلايا الخصية للكاديوم (Thijssen et al, 2007) (Naskar et al, 2010). فقد أظهرت إحدى الدراسات بأن تناول الرجال لعقار الأستازانتين على شكل أقراص كمتعم غذائي (16ملغ/ يومياً) لمدة 12 شهر أدى للعلاج من العقم حيث لوحظ حصول انخفاض في أصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) وتحسناً في شكل وحركة النطاف (Elgarem et al, 2002).

نبذة عن المؤلفين

محمد عامر صلاحو

قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة حلب، حلب، سوريا،
00963947816233, dimorphism@hotmail.co.uk

أ. صلاحو طالب دكتوراه قسم علم الحياة الحيوانية-كلية العلوم-جامعة حلب-حلب-سوريا قمت بنشر 6 أبحاث سابقاً، أحدها خارجي، وعنوان رسالتي في الماجستير: تأثير الفترة الضوئية وهرمون التيروكسين على الجهاز التناسلي الذكري عند طائر الزبيرا -2017-جامعة حلب، مشرف على البيت الحيواني منذ 7 سنوات وحتى تاريخه، اهتمامات بحثية في تأثير المواد في الوقاية والعلاج من سمية الملوثات على الفقاريات. وتأثير العوامل البيئية على التكاثر عند الفقاريات.

محمود قاسم

قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة حلب، حلب، سوريا،
00963944799547, kassem-mahmoud@hotmail.com

أ.د. قاسم حصل على درجة الدكتوراه في بيئية ووظيفة الفقاريات من جامعة باريس 7 – فرنسا عام 1987، مؤلف للعديد من الكتب الجامعية كما نشر أكثر من 50 مقالة محلية ودولية باللغتين العربية والإنكليزية، إشراف على 8 رسائل دكتوراه و13 رسالة ماجستير وشارك بحضور مؤتمرات محلية وعالمية كمتحدث ومستمع، له اهتمامات بحثية في تأثير المواد والعناصر الكيميائية على أعضاء وأنسجة الفقاريات، كما له اهتمامات بحثية في سبل حماية الكائنات المهددة بالانقراض مثل السلمندر السوري.

المراجع

- Valko M., Morris H. and Cronin M.T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*, 12(10), 1161–208.
- Goering, L., Waalkes, P. and Klaassen, D. (1995). Toxicology of cadmium. *Toxicology of Metals*, 115(n/a), 189–214.
- Fraga C.G. (2005). Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol Aspects Med*, 26(4), 235–44.
- Martin, S. and Wendy, G. (2009). Human health effects of heavy metals. *Environ. Sci. Technol*, 15(n/a), 1–6.
- Giuseppe Genchi, Maria Stefania Sinicropi, Graziantonio Lauria, Alessia Carocci and Alessia Catalano. (2020). The effects of cadmium toxicity. *Int J Environ Res Public Health*, 17(11), 3782.
- Elgawish, R.A.R. and Ghanem, M.E. (2014). Effect of long-term cadmium chloride exposure on testicular functions in male albino rats. *Am J Anim Vet Sci*, 9(4), 182–188.
- Liu, J., Qu, W. and Kadiiska, M.B. (2009). Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. *Toxicol. Applied Pharmacol*, 238(3), 209–214.
- Yuan, J.P., Peng, J., Yin K. and Wang, J.H. (2010). Potential health-promoting effects of astaxanthin: A high-value carotenoid mostly from microalgae. *Mol Nutr Food Res*, 55(1), 150–65.
- Mori J., Yokoyama, H., Sawada, T., Miyashita, and Nagata, K. (2013). Anti-oxidative properties of astaxanthin and related compounds. *Mol. Cryst. Liq. Cryst*, 580(1), 52–57.