جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء ـ كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

دراسة فسلجية و نسجية للدور الوقائي للمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء في خصى و برابخ ذكور الجرذان البيض المعاملة برباعي كلوريد الكاربون

رسالة تقدّم بها الطالب

علاء كريم هادي الحسناوي
بكالوريوس علوم الحياة / جامعة كربلاء 2012

إلى

مجلس كلّية التَّربية للعلوم الصرفة ـ جامعة كربلاء وهي جزء
من متطلّبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة ـ علم الحيوان

بإشراف

أ.د أشواق كاظم عبيد الطائي

ذي القعدة / 1442 هـ

حزيران / 2021 م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

﴿ قَالُواْ سُبۡحَٰنَكَ لَا عِلۡمَ لَنَآ إِلَّا مَا عَلَّمۡتَنَآۖ إِنَّكَ أَنتَ ٱلۡعَلِيمُ ٱلۡحَكِيمُ﴾

صَدَقَ اللّٰه العلي الْعَظِيمِ

سورة البقرة ﴿الآية:32﴾

الإهداء

إلى الشــمس التي غمرتني بدفئها، والقمر الذي أنار لي طريقي، والهواء الذي به أحيا

إلى مَنْ علّمتني وعانت الصعاب لأصل إلى ما أنا فيه إلى نور العين ومهجة الفؤاد

((أمي الغالية حفظها الله))

إلى من وهبــه الله الهيبــة والوقــار، إلى من عَلّمني العطــاء بــدون انتظــار، إلى من أحمل اسمه بكل افتخار

((والدي الغالي –أطال الله في عمره))

إلى سـندي وقوتي وملاذي بعد الله من آثروني على أنفسـهم، إلى رمز الأمان وكنز الزمان

((اخوتي وأخواتي الأعزاء))

إلى أروع من جسّد الحبّ بكلّ معانيه ... فكانت السند والعطاء ... قدمت لي الكثير في صور الصبر.. والأمل.. والمحبة.. لن أقول شكراً.. بل سأعيش الشكر معكِ دائماً

((زوجتي الغالية))

إلى ملائكة الرحمن.. إلى طيور الجنان.. إلى مرسم الأمان.. ملاك و ليان

((بناتي حفظهن الله))

إلى كل من يتمنّى لي الخير.. أهدي لهم ثمرة هذا الجهد المتواضع

علاء

شكر وتقدير

أول من يُشـــكر و يُحمد آناء اللّيل و أطراف النّهار ، هو العليُّ القهّار ، الأول و الآخر و الظاهر و الباطن الذي أغرقنا بنعمه التّي لا تحصـــى و أغدق علينا برزقه الذي لا يفنى و أنار دروبنا ، فله جزيل الحمد و الثناء العظيم ، إذ أرســل فينا عبده ورســوله " محمد ابن عبد الله " عليه أزكى الصـــلوات و أطهر التســـليم ، أرســـله بقرآنه المبين و عترته الطاهرة آهل البيت (عليهم السلام) فعلّمنا مالم نعلم و حثّنا على طلب العلم أينما وجد ، لله الحمد كله و الشكر كله أن وفقنا و ألهمنا الصبر على المشاق التي و اجهتنا لإنجاز هذا العمل المتواضع .

إلى من اقترح مشـــروع البحث و كان لي نعم المرشـــد ونعم المشـــرف ونعم الناصـــح ، الى الذي كان حريصاً على مصداقية البحث وأن تكون المادة ذا قيمة علمية عالية لإظهار البحث في أروع صورة وأكمل وجه ، إلى من كان سبباً في إعطائي دافعاً ايجابيا في انجاز البحث بهمة ونشاط إلى مشرفتي الأستاذ الدكتورة **اشواق كاظم عبيد الطائي** أطال الله في عمرها ورفع من قدرها، وجزاها عني كل خير .

كما أتقدم بالشكر الجزيل لرئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة لإتاحتهم الفرصـــة لي لإكمال دراســـتي وشـــكري الخاص لرئيس القســـم المحترم الاستاذ المساعد الدكتور **نصير ميرزا حمزة** والاستاذ الدكتورة **رشا عبد الأمير جواد** لما قدّموه لي من العون والجهد لتذليل الصـعاب التي واجهتني أثناء الدراسـة وكذلك إلى أسـاتذتي كافة في قسم علوم الحياة لما أبدوه من رعاية واحتضان أبوي طيلة مدة الدراسة فجزاهم الله خيرا.

وأتقدم بالشـكر الجزيل إلى الأسـتاذ المسـاعد الدكتورة **نيبال امطير طراد** لتفضـلها بالتعرف على النبات المستخدم وتصنيفه فاسأل الله أن يوفقها لكل خير.

كما أتقدم بالشـكر والامتنان إلى ابن عمي الأسـتاذ **محمد مهدي هادي** لما قدّمه لي من مسـاعدة كبيرة لإنجاز هذا البحث فجزاه الله خير الجزاء.

كما أتقدم بجزيل الشـــكر إلى جميع الأخوة الأعزاء زملائي وزميلاتي في قســـم علوم الحياة وإلى كل من مدّ يد العون ممن لم تسعفني الذاكرة بذكرهم فجزاهم الله خيرا.

علاء

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير المستخلص المائي فاكهة التنين الحمراء *Hylocereus polyrhizus* على التغيرات النسجية في الخصى والبرابخ وبعض معايير الدم الفسلجية في ذكور الجرذان البيض *Rattus Norvegicus* المعاملة بمادة رابع كلوريد الكاربون.

أجريت الدراسة الحالية في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء للمدة من شهر تشرين الثاني من سنة 2020 ولغاية شهر كانون الثاني سنة 2021، تم استخدام 36 من ذكور الجرذان البيض البالغة بمعدل اوزان تراوحت (250-310) غرام و أعمارها بين (11-13) أسبوع تقريباً، وزعت الجرذان عشوائياً على ست مجاميع بواقع (6 حيوانات في كل مجموعة) عدت المجموعة الاولى G1 مجموعة السيطرة السالبة والتي جرعت فمويا وبشكل يومي بالمحلول الفسيولوجي (0.09% NaCl) ولمدة 30 يوما ، و المجموعة الثانية G2 حقنت تحت الغشاء البريتوني بمادة رابع كلوريد الكاربون وبتركيز 0.1 مل / 100 غم من وزن الجسم لمدة يومين في الأسبوع طوال مدة التجربة وعدت السيطرة الموجبة ، والمجموعة الثالثة G3 والرابعة G4 جرعت فمويا بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350، 650 (mg/kg)على التوالي يوميا ولمدة 30 يوما ، أما بخصوص المجموعة الخامسة G5 و السادسة G6 فجرعت فمويا بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350، 650 (mg/kg)على التوالي بعدها حقنت تحت الغشاء البريتوني بمادة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم من وزن الجسم بعد ساعة من التجريع .

جمعت عينات الدم في الست مجاميع بعد مرور شهر من التجريع والحقن لقياس المعايير الأتية : المالون ثنائي الالديهايد Malonadialdehyde (MDA) والكلوتاثيون glutathione (GSH) و هرمون الشحمون الخصوي Testosterone (T) والهرمون المحفز للخلايا البينية Luteinizing (LH) hormone والهرمون المحفز للجريبات Follicle stimulating hormone (FSH) و تركيز النطف ، فضلاً عن أخذ مقاطع نسجية للخصية والبربخ لغرض دراسة التغييرات النسجية عليها من خلال قياس معدل اقطار كل من النبيبات الناقلة للمني و تجاويفها و خلايا سليفات النطف و الخلايا النطفية الأولية و اورمات النطف و خلايا سرتولي و معدل سمك الطبقة الجرثومية للنبيبات المنوية و قياس معدل اقطار كل من البرابخ وتجاويفها و معدل ارتفاع الظهارة البربخية وقد أظهرت نتائج دراستنا الحالية وظيفياً و نسجياً الى :

أن الحقن برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم من وزن الجسم (السيطرة الموجبة) أدى الى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى GSH، ومستوى الهرمونات والتي تشمل هرمون (T) ، (LH) ، (FSH) و كذلك في تركيز النطاف مع ارتفاع معنوي($P<0.05$) للـ(MDA) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

كذلك حدوث تغييرات نسجية في نسيج الخصية تمثلت بوجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل سمك الطبقة الجرثومية ومعدل اقطار كل من النبيبات الناقلة للمني وخلايا سليفات النطف و الخلايا النطفية الأولية و ارومات النطف و خلايا سرتولي ، ووجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل قطر تجويف النبيبات الناقلة للمني مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة ، فضلاً عن حدوث انسلاخ وتضرر طبقات الخلايا المكونة للنطف و تنخر و تنكس الخلايا المبطنة للنبيبات الناقلة للمني و انعدام النطف ، أما بالنسبة لنسيج البربخ فقد لوحظ وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل اقطار كل من البرابخ وتجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية فضلا عن تحطم الخلايا الظهارية المبطنة للنبيب وتنكس بعض الخلايا و خلو تجاويفها من النطف مع وجود مسافات بينية واضحة بين نبيبات البربخ و قلة وجود العضلات الملساء المحيطة بالنبيب .

أدى التجريع الفموي بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بالتركيز 350، 650 (mg/kg) فقط الى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز الـ(GSH) ومستوى الهرمونات التي تشمل هرمون (T) ، (LH) ، (FSH) و كذلك في تركيز النطاف وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز الـ(MDA) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة، بينما لم يتسبب بتغييرات نسجية في نسيجي الخصى والبربخ للجرذان التي تم تجريعها بالمستخلص بالتركيزين مقارنة مع مجموعة السيطرة.

كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية في المجاميع الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350، 650 (mg/kg) مع رابع كلوريد الكربون حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في كل من الـ(GSH) ومستوى الهرمونات التي تشمل هرمون (T) ، (LH) ، (FSH) و كذلك في تركيز النطاف مع وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز الـ(MDA) بالمقارنة مع مجموعة رابع كلوريد الكربون .

كما بينت نتائج الفحص النسجي لأنسجة الخصية حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدلات مستويات اقطار النبيبات الناقلة للمني وفي معدل سمك الطبقة الجرثومية ومعدل اقطار سليفات النطف والخلايا النطفية الاولية ووارمات النطف وخلايا سرتولي ووجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل قطر تجويف النبيب الناقل للمني مقارنة مع مجموعة رابع كلوريد الكاربون، وحصول تحسن واضح اقرب

للطبيعي للنبيبات المنوية مع وجود خلايا لايدك ، أما بالنسبة لنسيج البربخ فقد لوحظ وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل اقطار كل من البرابخ وتجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية ، وحصول تحسن واضح في نسيج البربخ ظهر فيه النسيج أقرب للطبيعي للنبيبات البربخية، وازدياد اعداد النطف في تجويف قناة البربخ، مع وجود الاهداب الساكنة وخلايا العضلات الملساء المحيطة بالنبيبات.

نستنتج من هذه الدراسة مدى فعالية المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء في كبح نشاط الجذور الحرة ومعادلة الاجهاد التأكسدي المستحث بمادة رابع كلوريد الكربون في نسيجي الخصية والبربخ وبعض المعايير الوظيفية في ذكور الجرذان البيض.

قائمة المحتويات

الموضوع	رقم الصفحة
الخلاصة	I
قائمة المحتويات	IV
قائمة الجداول	X
قائمة الأشكال والصور	XII
قائمة المختصرات	XV
الفصل الأول : المقدمة (Introduction)	**3-1**
1.المقدمة	1
1-2. الهدف من الدراسة	3
الفصل الثاني : استعراض المراجع (Literature Review)	**27-4**
2-1. النباتات الطبية	4
2-2. النبات المستخدم (فاكهة التنين الحمراء)	5
2-2-1. التصنيف العلمي لنبات فاكهة التنين الحمراء	5
2-2-2. الوصف العام للنبات	6
2-2-3. وصف وموطن نبات فاكهة التنين الحمراء وتسميتها	6
2-2-4. الجوانب الانتاجية والاقتصادية	8
2-2-5. الفعالية البايلوجية لفاكهة التنين الحمراء	9
2-3. رابع كلوريد الكاربون CCL_4	12
2-3-1. الوصف الكيميائي	12
2-3-2. الأسماء الكيميائية و التجارية	14
2-3-3. وجوده	14

الموضوع	رقم الصفحة
2-3-4. التأثيرات السمية لرابع كلوريد الكربون	15
2-3-4-1. التأثير السمي على الجهاز التناسلي	17
2-3-5. حركة رابع كلوريد الكربون ومساراته الأيضية في الجسم	18
2-3-5-1. الامتصاص	18
2-3-5-2. الانتشار	19
2-3-5-3. الايض	19
2-3-5-4. الإخراج	20
2-4. الجذور الحرة	20
2-4-1. مصادر الجذور الحرة	21
2-5. الإجهاد التأكسدي	22
2-5-1. بيروكسدة الدهن	23
2-5-2. المالون ثنائي الديهايد	23
2-6. مضادات الأكسدة	24
2-6-1. مضادات الأكسدة الانزيمية	24
2-6-1-1. انزيم كلوتاثيون بيروكسيديز	24
2-6-1-2. انزيم كلوتاثيون ريدكتيز	25
2-6-1-3. انزيم الكاتاليز	25
2-6-1-4. انزيم سوبر اوكسايد ديسموتيز	25
2-6-2. مضادات الأكسدة غير الانزيمية	26
2-7. الكلوتاثيون	26

الموضوع	رقم الصفحة
الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل (Materials and Methods)	**48-28**
3. المواد وطرائق العمل	28
3-1. المواد والأجهزة والأدوات المستعملة	28
3-1-1. المواد الكيميائية	28
3-1-2. الأجهزة المستعملة	29
3-1-3. الادوات المستعملة	30
3-2. طرائق العمل	31
3-2-1. الحيوانات المستخدمة في التجربة	31
3-2-2. جمع النبات المستخدم	31
3-2-3. تحضير المستخلص المائي لفاكهة التنين	32
3-2-4. حساب جرعة رابع كلوريد الكربون	32
3-2-5. مجاميع التجربة	33
3-2-6. تصميم التجربة	34
3-2-7. جمع عينات الدم	35
3-2-8. المعايير الكيموحيوية	35
3-2-8-1. قياس مضادات الاكسدة والمؤكسدات	35
3-2-8-1-1. تقدير مستوى بيروكسيد الدهون في الدم (المالونديهايد)	35
3-2-8-1-2. قياس مستوى تركيز الكلوتاثيون (GSH) في مصل الدم	37
3-2-9. الفحوصات الهرمونية	40
3-2-9-1. قياس مستوى تركيز هرمون الشحمون الخصوي	40
3-2-9-2. قياس مستوى الهرمون المحفز للجريبات	41

الموضوع	رقم الصفحة
3-2-9-3. قياس مستوى الهرمون المحفز للخلايا البينية (الهرمون اللوتيني)	42
3-2-10. دراسة معايير النطف	43
3-2-10-1. تركيز النطف في البربخ	43
3-2-11. جمع عينات الأنسجة	43
3-2-12. تحضيرات المقاطع النسجية	44
3-2-12-1. الأنكاز	44
3-2-12-2. الترويق	44
3-2-12-3. التشريب	44
3-2-12-4. الطمر	44
3-2-12-5. التشذيب والتقطيع	45
3-2-12-6. التصبيغ	45
3-2-12-6-1. صبغة الهيماتوكسلين هارس	45
3-2-12-6-2. صبغة الأيوسين الكحولي	46
3-2-12-7. التحميل	47
3-2-13. الفحص والتصوير المجهري	47
3-2-14. القياسات النسجية	47
3-2-14-1. الخصية	47
3-2-14-1-1. حساب معدل قطر النبيبات الناقلة للمني و تجويفها و خلايا الانطاف	47
3-2-14-2. البربخ	48
3-3. التحليل الاحصائي	48

الموضوع	رقم الصفحة
الفصل الرابع – النتائج والمناقشة	**94-49**
4-1. تأثير مجموعة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم على معدل مستوى مضادات الأكسدة الكلوتاثيون (GSH) والمواد المؤكسدة المالونديهايد (MDA) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض و لمدة (30) يوم	49
4-2. تأثير مجموعة المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350 - 650 ملغم / كغم و مجموعة المستخلص المائي المعاملة برابع كلوريد الكربون على معدل مستوى مضادات الأكسدة الكلوتاثيون (GSH) والمواد المؤكسدة المالونديهايد (MDA) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض و لمدة (30) يوم	52
4-3. تأثير مجموعة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم على معدل مستوى هرمون الشحمون الخصوي T والهرمون المحفز للخلايا البينية ICSH (LH) والهرمون المحفز للجريبات FSH في مصل الدم لذكور الجرذان البيض و لمدة (30) يوم	57
4-4. تأثير مجموعة المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350 - 650 ملغم / كغم و مجموعة المستخلص المائي المعاملة برابع كلوريد الكربون على معدل مستوى هرمون الشحمون الخصوي T والهرمون المحفز للخلايا البينية (LH) والهرمون المحفز للجريبات FSH في مصل الدم لذكور الجرذان البيض و لمدة (30) يوم	61
4-5. تأثير مجموعة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم على مستوى معدل تركيز النطف لذكور الجرذان البيض و لمدة (30) يوم	65
4-6. تأثير مجموعة المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350 - 650 ملغم / كغم و مجموعة المستخلص المائي المعاملة برابع كلوريد الكربون على مستوى معدل تركيز النطف لذكور الجرذان البيض و لمدة (30) يوم	68
4-7. تأثير مجموعة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم على نسيج الخصية ومعدل أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها	72

الموضوع	رقم الصفحة
ومعدل سمك الطبقة الجرثومية ومعدل أقطار كل من سليفات النطف والخلايا النطفية وأرومات النطف وخلايا سرتولي مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.	
4-8. تأثير مجموعة المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350 - 650 ملغم / كغم ومجموعة المستخلص المائي المعاملة برابع كلوريد الكربون على نسيج الخصية وقياس معدلات أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية ومعدل أقطار كل من سليفات النطف والخلايا النطفية وأرومات النطف وخلايا سرتولي مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.	75
4-9. تأثير مجموعة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم على نسيج البربخ وقياسات معدلات اقطار البرابخ واقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرون لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.	85
4-10. تأثير مجموعة المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350 - 650 ملغم / كغم ومجموعة المستخلص المائي المعاملة برابع كلوريد الكربون على نسيج البربخ وقياسات معدلات اقطار البرابخ واقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.	87
الاستنتاجات والتوصيات Recommendations & Conclusions	**96-95**
الاستنتاجات	95
التوصيات	96
المصادر (References)	**130-97**
المصادر العربية	97
المصادر الأجنبية	98
الخلاصة باللغة الإنكليزية (Abstract)	**A**

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
1-2	الخواص الفيزيائية والكيميائية لرابع كلوريد الكربون	13
1-3	المواد الكيمائية المستعملة بحسب المنشأ والشركة المصنعة	28
2-3	الأجهزة المستعملة بحسب المنشأ والشركة المصنعة	29
3-3	الادوات المستعملة بحسب المنشأ والشركة المصنعة	30
1-4	تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على معدل مستوى مضادات الأكسدة الكلوتاثيون(GSH) والمواد المؤكسدة المالوندالديهايد (MDA) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض المعاملة برابع كلوريد الكربون و لمدة (30) يوم	56
2-4	تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على معدل مستوى هرمون الشحمون الخصوي T والهرمون المحفز للخلايا البينية ICSH (LH) والهرمون المحفز للجريبات FSHفي مصل الدم لذكور الجرذان البيض المعاملة برابع كلوريد الكربون و لمدة (30) يوم	64
3-4	تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على مستوى معدل تركيز النطاف في ذكور الجرذان البيض المعاملة برابع كلوريد الكربون و لمدة (30) يوم	71
4-4	تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على قياسات معدل أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرون لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم المعاملة برابع كلوريد الكربون	83

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
5-4	تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على قياسات معدل أقطار كل من سليفات النطف والخلايا النطفية وأرومات النطف ومعدل اقطار خلايا سرتولي في النبيبات الناقلة للمني مقاسة بالمايكرون لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم المعاملة برابع كلوريد الكربون	84
6-4	تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على قياسات مستوى معدل اقطار البرابخ واقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم المعاملة برابع كلوريد الكربون	94

قائمة الاشكال والصور

الرقم	العنوان	رقم الصفحة
1-2	(A) توضح الشكل العام لفاكهة التنين الحمراء (B) انواع فاكهة التنين	7
1-2	التركيب الكيميائي لرابع كلوريد الكربون	13
1-3	مخطط يوضح تصميم التجربة	34
1-4	مقطع عرضي من نسيج الخصية لمجموعة السيطرة (H & E 100X)	79
2-4	مقطع عرضي من نسيج الخصية لمجموعة السيطرة (H&E400X)	79
3-4	مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بمادة رابع كلوريد الكاربون (0.1 مل / 100 غم) من وزن الجسم (H & E 100X)	80
4-4	مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بمادة رابع كلوريد الكاربون (0.1 مل / 100 غم) (H & E 400X)	80
5-4	مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (350 ملغم / كغم) من وزن الجسم (H & E 100X)	81
6-4	مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين بتركيز (650 ملغم / كغم) من وزن الجسم (H & E 100X)	81

الرقم	العنوان	رقم الصفحة
7-4	مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء (350 ملغم / كغم) مع رابع كلوريد الكاربون بتركيز (0.1 مل / 100غم) من وزن الجسم(H & E 100X)	82
8-4	مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء (650 ملغم / كغم) مع رابع كلوريد الكاربون بتركيز (0.1 مل / 100غم) من وزن الجسم(H & E 100X)	82
9-4	مقطع عرضي في قناة البربخ لمجموعة السيطرة (H & E 100X)	90
10-4	مقطع عرضي في قناة البربخ في المجموعة المعاملة بمادة رابع كلوريد الكاربون (0.1 مل / 100 غم) من وزن الجسم(H & E 100X)	90
11-4	مقطع عرضي في قناة البربخ في المجموعة المعاملة بمادة رابع كلوريد الكاربون (0.1 مل / 100 غم) من وزن الجسم(H & E 100X)	91
12-4	مقطع عرضي في قناة البربخ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء (350 ملغم / كغم) من وزن الجسم (H & E 100X)	91
13-4	مقطع عرضي في قناة البربخ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء (350 ملغم / كغم) من وزن الجسم (H & E 100X)	92

الرقم	العنوان	رقم الصفحة
14-4	مقطع عرضي في قناة البربخ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء (350 ملغم / كغم) مع رابع كلوريد الكاربون بتركيز (0.1 مل / 100غم) من وزن الجسم (H & E 100X)	92
15-4	مقطع عرضي في قناة البربخ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء (650 ملغم / كغم) مع رابع كلوريد الكاربون بتركيز (0.1 مل / 100غم) من وزن الجسم (H & E 100X)	93

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلحات
ABP	Androgen – binding protein
CAT	Catalse
CYP-450	Cytochrome P450
DNA	Deoxy Ribo Nucleic acid
D.P.X.	Destrin Plasticizer Xylen
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FSH	Follicle stimulating hormone
GSH – RD	Glutathion Reductase
GSH	Glutathione
GSH-PX	Glutathione Peroxidase
GnRH	gonadotropin –release hormone
H&E	Hematoxylene and Eosin

المختصر	المصطلحات
L.S.D	Least Significant Deference
LPO	Lipid Peroxidation
LH	Luteinizing hormone
LDL	Low density lipoprtein
MDA	Malondialdyhde
NADPH	Nicotineamide Adenine Dinucleotide Phosphate
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	Superoxid Dismutase
SCN	Suprachiasmatic nucleus
T	Testosterone
TBA	Thiobarbituric acid
TCA	Tri Chloro Acetic acid
WHO	World Health Organization

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

1. المقدمة: Introduction

تعدّ النباتات الطبية من الأمور التي زاد الاهتمام بها في القرن الحالي من قبل منظمة الصحة العالمية WHO على الرغم من التطور الحاصل في مجالات علوم الكيمياء والصيدلة لكون هذه الأدوية الكيميائية لها تأثير سلبي يظهر بعد مدة طويلة من العلاج (Jamshidi-Kia *et al*., 2018; Am Ende & Am Ende, 2019) . كذلك أشارت الدراسات الحديثة الى الفعالية الدوائية للمركبات النباتية التي تحمل الصفات المضادة للأكسدة اذ أصبحت هذه النباتات مصدراً أكثر اماناً لصناعة الادوية ومصدراً وقائياً من حدوث العديد من الامراض ومنها السرطان عند الانسان و انخفاض في معدل الإصابة بالأمراض المزمنة عند الناس الذين يعتمدون على الفواكه و الخضروات في نظامهم الغذائي اليومي (Abdullahi *et al*., 2018; Dwivedi *et al*., 2019; Siew *et al*., 2019) . اهتم الباحثون بالأعشاب الطبية والادوية المعزولة منها لأثبات فعاليتها والجدوى الاقتصادية فضلاً عن الامان وعدم ترك اثار جانبية (Roy *et al*., 2018; Shakya, 2016). اذ تعد النباتات الطبية من المصادر الأساسية والرئيسة لاستخلاص العلاجات الدوائية والعقاقير الطبية (Nankaya *et al*.,2020).

فاكهة التنين الحمراء من النباتات التي تتميز بكونها مصدر غني بالمركبات الفينولية المتعددة ذات نشاط فعال ومضاد للأكسدة وهذه المركبات هي احدى مضادات الاكسدة القوية والفعالة في كسح الجذور الحرة، و لها دور مهم ووقائي ضد الإصابة بالأمراض (Mihir *et al*., 2019). تؤدي فاكهة التنين دورًا مهمًا كعامل خصوبة بسبب خصائصها المضادة للأكسدة ، اذ تعمل على زيادة عدد الحيوانات المنوية و معدل انتاجها، كذلك تزيد بشكل فعال من تخليق هرمون التستوستيرون ، و عليه يمكن استخدامها كأعشاب معززة للنشاط الجنسي والخصوبة عند الذكور . (Abdul Aziz & Noor ,. 2010 ; Kanedi *et al*., 2016)

تم استخدام الكثير من النباتات الطبية لعلاج العديد من الامراض والسرطانات الناتجة من عدة اسباب ومن اهمها التعرض للمواد الكيميائية التي يتعرض اليها الانسان والحيوان بكثرة بحيث تقوم هذه المواد بتدمير

الخلايا وحدوث الاورام عبر حدوث تغيرات في تسلسل الاحماض النووية المكونة للجين ، إن المنتجات الطبيعية التي تحتوي على مضادات الأكسدة لديها القدرة على حماية الخصية من الأضرار التأكسدية وبيروكسيد الدهون والضعف في مضادات الأكسدة عند التعرض الى المواد الكيميائية الضارة ومنها مركب رابع كلوريد الكربون الذي يعد من أهم هذه المواد الكيميائية والمصنفة من المواد المسرطنة الثانوية (Manibusan *et al* ., 2007 ; Satyam *et al* .,2013 ; Al-Olayan *et al* ., 2014; Ge *et al* ., 2015 ; Qin *et al* ., 2019)

يعدّ الجهاز التناسلي من أجهزة الجسم التي تتأثر بهذه المواد الكيميائية التي يتعرض لها الانسان و الحيوان عن طريق الهواء و الماء و الغذاء (Patel *et al*.,2015) . إن الإجهاد التأكسدي الذي يظهر عبر التعرض للمواد الكيميائية السامة، يسبب ضررًا كبيرًا لجودة الحيوانات المنوية عن طريق تعطيل توازن مضادات الأكسدة و زيادة أنواع الأكسجين التفاعلية(Reactive Oxygen Species (ROS، مما يؤدي إلى حدوث خلل في تكوين الحيوانات المنوية وعقم الذكور (Othman *et al* ., 2014 ; Maestra *et al*., 2015) .

مركب رابع كلوريد الكاربون (CCl_4) Tetrachloride carbon هو مادة كيميائية تسبب الإجهاد التأكسدي بسبب تحفيز إنتاج الجذور الحرة التي تسبب أكسدة الخلايا الجرثومية في الخصيتين ، و يؤثر على إنتاج الحيوانات المنوية ويقلل من حركتها عن طريق إنتاج الجذور الحرة (Gharagozloo & Aitken .,2012 ; Agarwal *et al* ., 2014). وللحفاظ على وظيفة الخلية وحمايتها، يجب تعطيل الجذور الحرة الزائدة باستمرار بواسطة مضادات الأكسدة في البلازما المنوية ومنع تكوين (ROS) الجديدة أو الاستمرار في إزالة (ROS) المتولدة (Agarwal *et al* ., 2014).

كما أظهرت الدراسات أن استخدام مضادات الأكسدة يمكن أن تعالج العقم عند الذكور بشكل فعال عبر تقليل الأضرار التي تسببها الجذور الحرة ، وحماية وإصلاح الحامض النووي (DNA) للحيوانات المنوية (Choudhary *et al*.,2010; Gharagozloo & Aitken., 2012).

1.1: الهدف من الدراسة Aim of Study:

تهدف الدراسة الحالية الى اختبار فاعلية المستخلص المائي لثمرة فاكهة التنين الحمراء (*Hylocereus polyrhizus*) كمادة وقائية لتقليل الاثار السمية لمادة رابع كلوريد الكاربون ودراسة بعض التغييرات الوظيفية و النسجية الناتجة من التعرض لمادة رابع كلوريد الكاربون والمساهمة للتوصل الى علاج نباتي يقلل او يعالج بعض التغيرات النسجية للجهاز التناسلي لذكور الجرذان الحاصل بسبب المادة السمية ومن خلال دراسة الجوانب التالية :

اولا: الجانب الفسلجي

- تقدير مستوى كل من تركيز المواد المؤكسدة Malonadialdehyde (MDA) والمواد المضادة للأكسدة الكلوتاثيون(GSH) Glutathione.
- تقدير مستوى هرمون الشحمون الخصوي(T) Testosterone والهرمون اللوتيني(LH) Leutining Hormone وهرمون المحفز للجريبات(FSH) follicle-stimulating hormone.
- تقدير حساب عدد النطف وتشمل قياس تركيز النطف.

ثانيا: الجانب النسجي

- دراسة التغيرات النسجية للخصية Testes والبربخ Epididymus في ذكور الجرذان المعاملة برابع كلوريد الكربون.
- معرفة التأثير الوقائي للمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على التغيرات المستحثة من خلال قياس معدل كل من أقطار النبيبات الناقلة للمني وقطر التجويف ومعدل سمك الطبقة الظهارية للنبيبات المنوية، ومعدل اقطار خلايا سليفات النطف والخلايا النطفية الأولية وارومات النطف وخلايا سرتولي، ومعدل اقطار البربخ ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية ومعدل قطر التجويف.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

2. استعراض المراجع Literature Review

1.2. النباتات الطبية Medicinal plants:

استخدمت النباتات الطبية لمعالجة الامراض التي يصاب بها البشر منذ الاف السنين وفي أجزاء مختلفة من العالم، وتم توارثها للسيطرة على الأمراض أو الوقاية منها، ويعد السومريون والأكديون أول من استعمل النباتات علاجاً للعديد من الأمراض في حوالي عام 2600 قبل الميلاد لما تحتويه من مركبات كيميائية ذات فائدة كبيرة والتي تعد مصدراً دوائياً ضد الامراض المختلفة، لتأثيرها الوظيفي والعلاجي للإنسان والحيوان (الزبيدي وآخرون، 1996).

تعدّ النباتات الطبية مصدراً مهماً للمركبات الكيميائية التي تدخل في تحضير العقاقير الطبية المختلفة وتكمن اهميتها بعدم احتوائها على مواد ذات تأثيرات جانبية ضارة، لذا اهتم العلماء والباحثون في السنوات الأخيرة لاستخدامها لعلاج الأمراض بدلا من المركبات الصناعية التي تنتج اضراراً (Shakya, 2016 ; Roy *et al*, 2018). كما تعدّ النباتات الطبية في العالم العربي موارد ذات أهمية كبيرة للرعاية الصحية ، كونها تعد من العناصر البارزة في الطب النبوي (Aati *et al*., 2019) ، كما تمثل النباتات الطبية مصدرا غذائيا و ودوائيا ضد الامراض في الوقت نفسه ، ولها مكانة كبيرة وجيدة في الانتاج الزراعي والصناعي والاقتصادي و هي تلاقي اهتماماً بالغاً في كثير من الدول المنتجة لها، حيث تعد مصدراً جيداً في تحضير الدواء، كونها تنتج عدداً من الجزيئات الفعالة بيولوجياً ،مثل استخلاص المورفين Morphine من نبات الخشخاش *Papaver argemone* . والاتروبين Atropine من نبات البيلادونا *Atrpa Belladona* (Dimitrov *et al*.,2005). ومصدرا للمواد ذات الفعالية المضادة للأكسدة Antioxidants ومضادات السرطانات Anticancer. (Roy *et al*.,2018 ; Sytar *et al*., 2018).

يعد التنوع في النباتات الطبية امرا جيدا في توفير التنوع في الدواء للإنسان نتيجة لاختلاف التركيب الكيميائي لكل نبات، على رغم من قلتها بالوقت الحاضر وعدم الاهتمام بها وانقراض انواع عديدة منها الا ان المتوفر حاليا يسد الحاجة إذا ما استغلت بشكل جيد (موسى واخرون، 2015). اذ ترجع الخصائص الوقائية للأعشاب المختلفة الى أنشطتها المضادة للأكسدة، ومضادات فرط كولسترول الدم، ومضادة نقص التروية الدموية وغيرها (Naveed *et al*., 2020). و تحتوي النباتات الطبية على مجموعة متنوعة من المكونات

الكيميائية الفعالة مثل الفينولات و الفلافونات والكلايكوســـيدات والكاريتينويدات والتربينات والاحماض العضوية و الزانثينات ، واستعمالها ايضا كمواد منكهة وحافظة للأغذية، بالإضافة الى ذلك اهميتها كمصدر للتغذية (Hassan ,2012 ; kumar, 2012) .

2-2: النبات المستخدم في الدراسة: فاكهة التنين الحمراء *Hylocereus polyrhizus*

الاسم العلمي: *Hylocereus polyrhizus*

الاسم الشائع: Red Pitaya

الاسم العربي: فاكهة التنين الحمراء

2-2-1: التصنيف العلمي لنبات فاكهة التنين الحمراء: Scientific classificatio

صنف نبات فاكهة التنين الحمراء كالاتي و حسب (Mohd .,2010)

Kingdom : Plantae

Sub kingdom : Tracheobionat

Super division : Spermatophyta

Division : Magnoliophyt

Class : Magnoliopsida

Order : Caryophyllales

Family : Cacataceae

Sub family : Cactoidea

Tribe : Hylocereae

Genus : *Hylocereus*

Species : *polyrhizus*

2-2-2: الوصف العام للنبات: Morphology

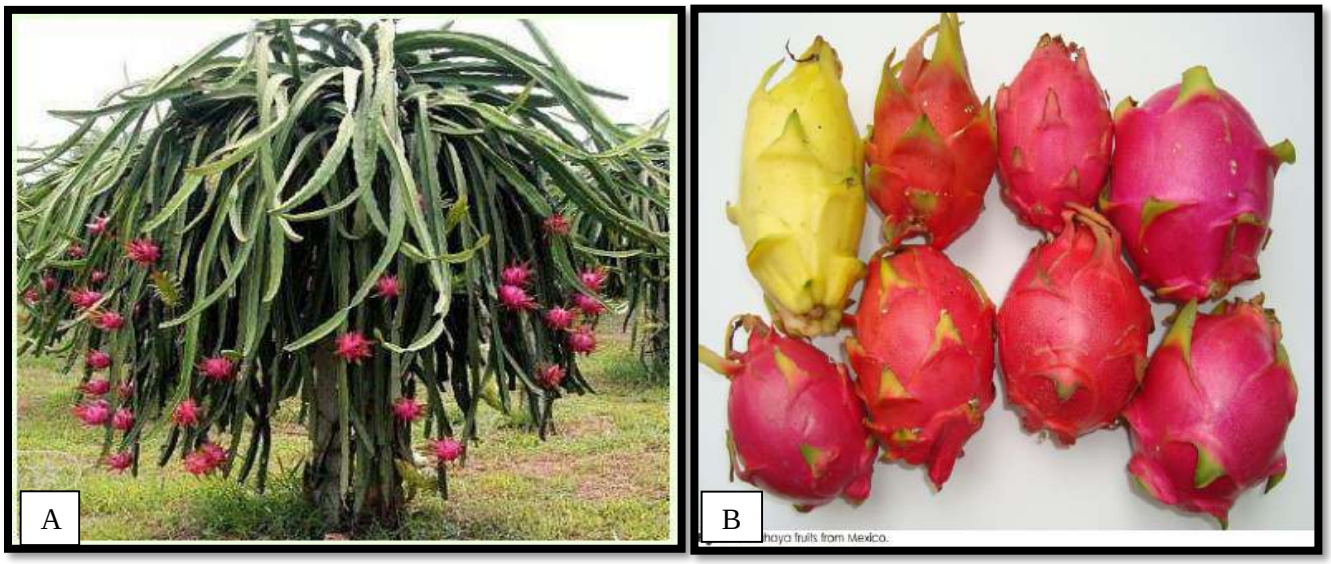
تعدّ فاكهة التنين من النباتات الأستوائية وهي عبارة عن صبّار متسلق بسيقان ذات زوايا، ينتمي الى العائلة الصبارية cactaceae ، مزهر ليلا ، تعيش بعيدا عن مستوى سطح الأرض ، يحتوي على الثمرة dragon fruit و التي تكون كبيرة في الحجم و شكلها بيضوي ، قطرها 36-33 سم وطولها 14- 16 سم و تزن حوالي بمقدار 550-280 غرام ، الفاكهة حلوة المذاق ذات قشرة حمراء ارجوانية ذات تركيب حرشفي تشبه جلد التنين و هذا سبب تسميتها بهذا الاسم، اما داخلها اللب فيكون لحمياً ذا لون أبيض أو لون أحمر أو ارجواني تتخللها الكثير من البذور الصغيرة سوداء اللون غنية بالأحماض الدهنية الأساسية (Nurul&Asmah,2012). تم تقديم الفاكهة لأول مرة على الإطلاق في الفلبين في التسعينات، وكان يطلق عليها اسم Sanaita (Romero *et al.*, 2017).

هناك ثلاثة أنواع مختلفة وشائعة من نبات فاكهة التنين تختلف فيما بينها في الحجم و الشكل و لون الثمرة من الداخل و الخارج و هي: Hylocereus *undatus* و يكون ذو قشرة حمراء و لب ابيض، جنس البيتايا الصفراء *Selenicereus megalathus* ذو قشرة صفراء و لب ابيض ، و جنس *Hylocereus polyrhizus* ذات قشرة حمراء و لب احمر (Claudya & Febrianti , 2019) .

2-2-3: وصف وموطن نبات فاكهة التنين الحمراء وتسميتها Plant &nomenclature Discribtion habitat

التسمية الشائعة للنبات فاكهة التنين الحمراء Red Dragon fruit او ما تدعى بالبيتايا الحمراء Red Pitaya، كذلك تسمى في جنوب شرق اسيا بالفراولة الكمثرية المزهرة ليلاً، اما في ماليزيا فتدعى Buah Naga، وتعد من الأشجار الاستوائية التي تنبت في المناطق المدارية وشبه المدارية في أجزاء مختلفة في العالم مثل جنوب شرق آسيا وأمريكا الوسطى والجنوبية،أما موطنها الأصلي فهو امريكا في المناطق المدارية لغابات المكسيك، وجنوب امريكا وقد جرى زراعتها في كل من تايوان وماليزيا ونيكارغوا وكولومبيا و كذلك فيتنام، كما تم زراعتها في استراليا أيضا، الثمرة الناضجة تكون بيضوية الشكل كبيرة الحجم وتزن

حوالي 460 – 330 غم ، ذات قشرة حمراء و لب احمر ارجواني، كما تحوي على بذور سوداء صغيرة الحجم مغروسة في اللب تشابه بذور الكيوي من حيث مظهرها (أي اللون والحجم والملمس) (Febrianti *et al*., 2018). تعرف الزهرة في هذا النبات باسم ملكة الليل لأنها تزهر تماما في الليل عادة ما تكون الزهرة طويلة يصل طولها إلى 25-30 سم (Barbeau, 1993; Le Bellec *et al*., 2006) . الفاكهة غنية بالألياف والفيتامينات والكالسيوم والفوسفور والمغنيسيوم والمواد الكيميائية النباتية ومضادات الأكسدة و أن فاكهة التنين معروفة أيضًا بخصائصها الطبية والصيدلانية التي يمكن أن تقي من مرض السكري والسرطان وتقييد السموم في الجسم كذلك مفيدة في تقليل مستويات السكر في الدم لدى الأشخاص الذين يحملون مرضى السكري من النوع الثاني (Le Bellec *et al*., 2006 ; Nurul & Asmah ., 2012) .



صورة رقم (2-1) (A) توضح الشكل العام لفاكهة التنين الحمراء (Liaotrakoon,2013)

(B) توضح انواع فاكهة التنين(Ortiz-Hernández & Carrillo-Salazar, 2012) .

4-2-2 الجوانب الانتاجية والاقتصادية

فاكهة التنين اكتسبت اهتمامًا كبيرًا من المزارعين في جميع أنحاء العالم بما في ذلك تايلاند و تم تقديمها لأول مرة في عام 1991 وتم إنتاجها بنجاح في عام 1994 بجودة عالية وإنتاج عالي وان نجاح زراعة هذه الفاكهة في هذا البلد تُعزى الى ملاءمة المناخ الاستوائي و هطول الأمطار، وشدة الضوء ونوع التربة (Jantrachu, 2013) .

فاكهة التنين منتجة على مدار السنة في تايلاند ، لكن مدة الحمل الطبيعية لفاكهة التنين هي أساسًا من أبريل إلى أكتوبر ، الثمرة عبارة عن محصول فاكهة عالي الإنتاجية وسريع العودة مع الإنتاج في السنة الثانية بعد الزراعة والإنتاج الكامل في 5 سنوات ، ومع ذلك يمكن حصاده بشكل مستمر لمدة 10-15 سنة (Thaisme , 2013) . يمكن أن تكون زراعة فاكهة التنين في تايلاند حوالي 44 إلى 65 طنًا للهكتار في السنة (Duangtaweesub *et al.*, 2011) . ويمكن مقارنة ذلك بإنتاجية مزرعة مدارة بشكل جيد في ماليزيا (70 طنًا للهكتار في السنة) (Mohd, 2010) .

من ناحية أخرى يمكن أن تصل إنتاجية فاكهة التنين في فيتنام إلى حوالي 50 إلى 80 طنًا للهكتار سنويًا مع تكييف الممارسات الثقافية الجيدة (FAO, 2004) ، ومع ذلك يمكن أيضًا العثور على مزارع فاكهة التنين في تايوان ، ولكن الإنتاج منخفض جدًا (16-27 طنًا للهكتار في السنة) (Zee *et al.*, 2004) . يمكن استخدام فاكهة التنين كمكون للمنتجات الغذائية المبتكرة التي تستجيب لاهتمام المستهلكين (Le Bellec *et al* ., 2006 ; Sabbe *et al.*, 2009) ، و يزداد الطلب على هذه الفاكهة على نطاق واسع اذ يمكن العثور عليها اليوم في جميع أسواق الفواكه الغريبة تقريبًا في جميع أنحاء العالم ، يمكن تفسير هذا النجاح بارتباطه جزئيًا بصفات الفاكهة ، على سبيل المثال المظهر والقيم الغذائية والفوائد الصحية ولاسيما لونها الاحمر الارجواني المميز تبعا لاحتوائها على صبغة البيتاسيانين Betacyanin ولكن ايضا عبر السياسات التجارية للبلدان المنتجة والمصدرة مثل تايلاند وفيتنام ، والتي تعد الدول الرئيسية المنتجة لثمار فاكهة التنين (Choo&Yong,2011;Heryani ,2016) .

2 -5-2 الفعالية البايلوجية لفاكهة التنين Dragons fruits biological activity

إن تناول الغذاء الذي يحتوي على مضادات الاكسدة له دور مهم في حماية اغشية الخلايا الموجودة داخل الجسم من الاكسدة (بروكسيدة الدهون)Lipid Peroxidation (LPO) ، عبر القضاء على أنواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) و التي تعد من اهم مسببات الاكسدة المسؤولة عن شيخوخة الانسان و مرضه (Tesoriere *et al.*,2009) .

بشكل عام أن المركبات الفينولية التي تتكون من مجموعة هيدروكسيل ترتبط مباشرة بحلقة عطرية وتعدّ من أكثر المكونات المضادة للأكسدة وفرة في أغلب الأطعمة النباتية ، إذ تتكون من مجموعة من التراكيب ذات وظائف بيولوجية مختلفة و لها فوائد صحية (Ignat *et al.*, 2011). تتميز فاكهة التنين الحمراء كونها مصدراً غنياً بالمركبات الفينولية المتعددة ذات نشاط فعال ومضاد للأكسدة، وهذه المركبات هي احدى مضادات الاكسدة القوية و الفعالة في كسح الجذور الحرة، و لها دور مهم في حماية الافراد (Mihir *et al.*, 2019) . اذ تتكون المركبات الفينولية بشكل رئيس من حامض الغاليك Gallic acid و هي اعلى تركيزا في القشرة منها في اللب(Kim *et al.*,2011) . و إن الفعالية المضادة للأكسدة تعود بشكل أساسي إلى جهد الاختزال مما يسمح لها بالعمل كعوامل اختزال مانحة للهيدروجين إلى الجذور الحرة المتكونة من ذرات أو جزيئات حاوية على الأقل الكترون واحد حر غير مرتبط ، كذلك له القابلية على استخلاص المعادن المشابهة لوظيفة مركبات البوليفينولية (Karadag *et al.* , 2009) . وهذا يفسر المستوى العالي من النشاط المضاد للأكسدة لفاكهة التنين وهو أعلى من بعض الفواكه الاستوائية مثل الليتشي و البابايا و المانجو و اللوجان تحتوي في الغالب هذه الفواكه مركبات البوليفينوليك مثل الغلوتانينات gallotannins ، جليكوسيدات فلافون flavone glycosides و الكاتشين المقترن catechin conjugates (Mahattanatawee *et al.* ,2006) .

فضلاً عن ذلك، فإن الخصائص المضادة للأكسدة لفاكهة التنين الحمراء عالية وحتى أعلى مقارنة بأنواع فاكهة التنين البيضاء، يُظهر قشر كلا انواع فاكهة التنين أيضًا إمكانيات ملحوظة من مضادة للأكسدة (Choo & Yong.,2011).

فضلاً عن وظيفة اللون فان صبغة فاكهة التنين البيتا سيانين Betacyanin لها خصائص مضادة للأكسدة و لها فوائد صحية أخرى، يمكن تفسير ذلك عن طريق التركيب الكيميائي للصبغة اذ تحتوي على جزء من الفينول ومجموعة الأمين الدائرية وقد عُدّ مركباً مختزلاً له نشاط مضاد للأكسدة و مضاد للميكروبات ، كذلك تعدّ Betacyanin هي متبرع ممتاز للإلكترون وهذا يؤدي الى حدوث استقرار للجذور الحرة ، و عليه إظهار دوره كمضاد للأكسدة (Kanner *et al*.,2001; Mihir *et al*., 2019).

ان فاكهة التنين الحمراء تحتوي على صبغة البيتانين Betanin وبشكل عام في الصبار نلحظ وجود الصبغة الصفراء(البيتازانثين betaxanthins) و الصبغة الحمراء البنفسجية (البيتاسيانين) والتي تعد من الاصباغ المهمة في هذه الفاكهة المنتمية الى اصباغ (Betalain) و هي من الاصباغ القابلة للذوباء في الماء كذلك تتميز هذه الفاكهة بوجود صبغة الفايلوكاكتين phyllocactin وصبغة الهايلوسيرينين hylocerenin ونظائرهم الأيزوميرية مع مجموعة أقلية من مركبات البيتيسانين (Kim *et al*. , 2011).

فاكهة التنين تحتوي ايضاً على صبغة الانثوسيانين Anthocyanin التي لها القابلية على الذوبان في المذيبات القطبية و هي تعطي اللون الأحمر و البرتقالي و الارجواني و الأزرق و كذلك الأسود للنباتات مثل الزهور والفواكه والحبوب والخضروات والدرنات (Lubis *et al*.,2020) ، توجد هذه الصبغة في الطبيعة بأكثر من 700 نوع و تكون معزولة من النباتات المحددة و تؤدي دوراً مهماً في المواد الغذائية (Tonny *et al*.,2017) .

فضلاً عن وجود الأحماض الفينولية والفلافونويد وبيتاسيانين ، فاكهة التنين أيضًا غنية بمضادات الاكسدة الأخرى مثل حامض الأسكوربيك (فيتامين C) و التوكوفيرول (فيتامين E) (Choo & Yong.,2011) . يعد فيتامين (C) من مضادات الاكسدة غير الانزيمية الخلوية الضرورية المهمة الذي بإمكانه حماية الغشاء الخلوي من التلف التأكسدي من خلال كسح الجذور الحرة و بيروكسيد الهيدروجين و هيبوكلوريت و جذر الهيدروكسيل و جذر البيروكسيل والأكسجين الحر ، و يمكن لهذا الفيتامين أيضًا حماية الأغشية ضد البيروكسيد عبر تعزيز نشاط التوكوفيرول المضاد للأكسدة (Liaotrakoon.,2013) .

أما التوكوفيرول فهو من مضـــادات الاكســـدة الطبيعية ، يقوم بحماية النســـيج الدهني من التأكســـد من هجوم الجذور الحرة التي تنشـــأ من الاحماض الدهنية المتعددة الغير مشـــبعة في الليبيدات المفســـفرة phosplipids في الاغشـــية او في البروتينـات الدهنيـة lipoproteins عن طريق إزالـة الهيدروجين اثناء بدء عملية الاكســـدة ، وكذلك يمكن ان تنشـــأ هذه الجذور الحرة من إضـــافة جزيء الاكســـجين (Kedari& khan .,2014) . فضـلاً عن احتواء فاكهة التنين على الفيتامينات مثل فيتامين C وفيتامين B1 (الثيامين) وفيتامين B2 (الرايبوفلافين) والمغنيسـيوم و البوتاسـيوم والكالسـيوم والفوسـفور والحديد وكما تحوي على البروتين والدهون والكاربوهيدرات (Liaotrakoon ،2013).

بجانب خصـــائصـــها المضـــادة للأكســـدة، فاكهة التنين الحمراء لديها أيضًـــا نشـــاط مضـــاد للتكاثر (منع تكاثر الخلايا اللمفاوية التائية عن طريق تغيير تخليق البيورين) ، وقد تبين أن القشـــرة الخارجية للفاكهة ذات نشاط أقوى ضد الخلايا السرطانية من لب الفاكهة (المادة اللحمية) (Kim *et al*.,2011) و قد يقلل هذا من خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان ، والأمراض التنكسية العصبية ، والالتهابات وتلف الكبد (Liaotrakoon,2013) .

اثبتت الدراسات ان فاكهة التنين الحمراء ذات خصائص طبية التي يمكنها ان تقي من مرض داء السكري و السـرطان و كذلك تعادل السـموم في الجسـم وذات فائدة في خفض مسـتوى السـكر في الدم للمصـابين بداء السـكري من النوع الثاني الغير معتمد على الانسـولين و لها دور في تقليل مسـتوى الكوليسـترول في الدم وكـذلـك تقلـل من ارتفـاع ضـــغط الـدم و ســـرطـان القولون و تكون فعـالـة في علاج الســـعـال و الربو (Le Bellec *et al*. ,2006) ، و في مجال الصناعات الدوائية فان العديد من المركبات الموجودة في فاكهة التنين الحمراء هي المسـؤولة عن العديد من الأنشـطة الدوائية مثل مضـادات الأكسـدة، مضـادات السـرطان ومضـــادات الالتهابات اذ تقوم المركبات النشـــطة بيولوجيا في هذه الفاكهة على حفظ وتحســـين التوازن الهرموني و عوامـل النســـخ و التحكم في دورة الخليـة و موت الخلايـا المبرمج Apoptosis و انخفـاض الالتهابات في الأوعية الدموية ، والســـيطرة على الانتشـــار metastasis والتأثير الســـام على الخلايا السرطانية (Ross & Davis ., 2011) .

3-2: رابع كلوريد الكاربون (CCl_4) Carbon tetrachloride

ينتمي هذا المركب العضـــوي الى مجموعة من المركبات العضـــوية المعروفة و التي تســـمى بـــ(هاليدات الالكيل) ، ولتوفر شروط الانتماء مثل : مركب تساهمي و وجود ذرة الكربون و تفاعلاته بطيئة و جزيئاته المســتقلة وغيرها من هذه الشــروط جعل انتمائه الى هذه المجموعة من المركبات ، تم اكتشــاف هذا المركب من لدن العالم الفرنســـي الكيميائي و الصـــيدلي هنري فيكتور وكان ذلك في عام 1839 عن طريق مزج الكلور مع الكلوروفورم وتفاعلهما ، وكذلك في عام 1950 تم تكوينه صـــناعيا عن طريق كلورة ثاني كبريتيد الكربون في درجة حرارة تتراوح 105 – 130 درجة مؤية ، اما في الوقت الحاضر فان هذا المركب يتم إنتاجه بواسطة غاز الميثان بشكل رئيسي (Provincial ، 2010) . يستخدم رابع كلوريد الكربون في أسطوانات إطفاء الحرائق، وفي صناعة مبيدات الحشرات كمادة أولية، ويستخدم ايضاً كمذيب في الصناعة لإذابة المركبات غير القطبية والدهون (Samanta & Nandi.,2017)

1-3-2: الوصف الكيميائي

هو ســائل نقي غير قابل للاشــتعال، ســريع التبخر، ذو كثافة بخار عالية ورائحته مميزة هذا المركب يتكون من مزج غاز الميثان CH_4 مع غاز الكلور في ضوء الشمس الغير مباشرة، او عن طريق تعرضه الى الاشعة فوق البنفسجية تكون نسبة الاتحاد هي 4 : 1 حيث الرقم 1 يشير الى حجم الميثان و الرقم 4 يشير الى حجم غاز الكلور لان التفاعل بين الغازين يكون بالاســتبدال أي يســتبدل الكلور بالهيدروجين و حســب التسلسل و في النهاية ينتج رابع كلوريد الكربون و كلوريد الهيدروجين وحسب ما مبين بالمعادلة ادناه :

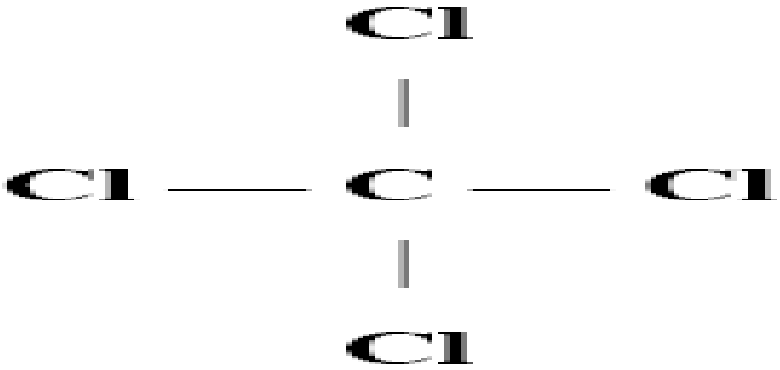
$$CH_4 + 4Cl_2 \longrightarrow CCl_4 + 4HCl$$

وفي حال تم هذا التفاعل تحت ضــوء اشــعة الشــمس المباشــرة فانه يتم ولكن بشــدة عالية وغالبا ما يكون مصـحوبا بانفجارات لانتزاع ذرات الهيدروجين من الميثان و انتاج الكربون الأسود و كلوريد الهيدروجين و يمكن انتاجه أيضا من خلال كلورة ثاني الكبريتيد او الهيدروكربونات ، وغالبا يمكن تحضيره من تفاعل ثنائي كلورو ميثان و الكلوروفورم (Faroon , 2005 ; Provincial، 2010) ، له بنية رباعية الأوجه ويكون شـكله العام مشـابه لغاز الميثان إذ يتكون من ارتباط أربع ذرات كلور بجزيئة كربون واحدة مرتبطة باصـرة

هيدروجينية، (Hickox & Denton,2000)، كما في الشـــكل (2-1) (NLM,2003). وزنه الجزيئي 153.82 غم /مول[1] له رائحة شـــبيهه برائحة الايثر، ويبين الجدول (2-1) الصـــفات الفيزيائية والكيميائية لرابع كلوريد الكربون (HSDB,2009; NLM,2003) .

جدول رقم (2-1) الخواص الفيزيائية والكيميائية لرابع كلوريد الكربون(HSDB,2009; NLM,2003)

الصيغة الجزئية	CCl4
الوزن الجزيئي	153.82 g mol^{-1}
المظهر	سائل عديم اللون
الرائحة	تشبه رائحة الأيثر
الكثافة	1.5867 g cm^{-3} (liquid) , 1.831 g cm^{-3} at −186 °C (solid) 1.809 g cm^{-3} at −80 °C (solid)
درجة الذوبان	-22.92 °C, 250 K, -9 °F
درجة الغليان	76.72 °C, 350 K, 170 °F
ذوبانه في الماء	0.081 g/100 mL (25 °C)
ضغط البخار	11.94 kPa at 20 °C
Log P	2.64



شكل (2-1) التركيب الكيميائي لرابع كلوريد الكربون (NLM,2003).

2-3-2: الأسماء الكيميائية & التجارية:

الاسم الكيميائي للمركب هو رابع كلوريد الكربون Carbon tetrachloride ورمزه (CCl_4) ، اما الأسماء التجارية له فهي :Flukoids, Halen 104, R10 Freon 10, Necatorine و كذلك له العديد من الأسماء الشائعة منها : Tetra chloride methane ، perchloromethane ، Methane tetra chlorid، Tetra cloro carbon ، Carbon chloride . (NLM , 2003)

2-3-3: وجوده

يوجد رابع كلوريد الكاربون في الهواء و التربة و الماء و كان المصـدر الأكبر للمركب قبل عام 1986 هو الدخان المتكون من حرق الحبوب و المواد الأخرى و على الرغم من هذا تم منع اسـتخدامه لسـميته و اقتصـر استخدامه فقط كمادة حافظة للأثار (Faroon , 2005 ; Provincial، 2010) . ويعد رابع كلوريد الكربون من المركبات سـريعة التبخر و المتزنة و المسـتقرة نسـبيا في الطبيعة و يلاحظ في حالة التبخر بقائه في الهواء الجوي باستثناء الأجزاء المتحولة من المركب الى المواد الكيميائية الأخرى بواسطة عملية التصنيع (Kellogg ، 2019)، .

هناك العديد من العمليات والاليات التي لها دور في إزالة رابع كلوريد الكربون من الهواء ومنها : الامتصاص من المحيطات و التفاعل مع الجذور او شوارد OH و التحلل الحيوي و الضوئي للجزيئات الموجودة و المحملة في الهواء (Faroon ، 2005) .

تم اكتشاف مركب رابع كلوريد الكربون عام 1982 في مياه الأنهار و البحيرات و بنسبة 3.2 % تقريبا في (466) عينة اما في المياه الصالحة للشرب فوجد بتركيز 0.5 – 30 ملغم ، و تعد عملية التبخير من العمليات الأساسية لنزع المركب من الماء ، و بسبب عملية التلوث وجد رابع كلوريد الكربون في الغذاء نتيجة التعرض للمواد الكيميائية كالمبيدات و ان مقدار الكمية المتبقية من المركب على الغذاء تعتمد على كل من الكمية المتبخرة و ظروف التبخير للغذاء و المدة الزمنية للتهوية (Provincial، 2010) .

2-3-4 التأثيرات السمية لرابع كلوريد الكربون

عندما يتعرض الانسان للمركب العضوي رابع كلوريد الكربون عن طريق الفم أو عبر الاستنشاق عن طريق الانف او الجلد فان هذا التعرض يؤدي الى اختزال لنشاط الجهاز العصبي المركزي ، و كذلك يؤثر على الجهاز الهضمي بعدة تأثيرات مثل الغثيان و القيء و الاعياء ، فضلا عن تأثيره على نسيجي الكلى و الكبد (Dutta *et al* ., 2018) .

يعد هذا المركب ذا تأثير سام للكبد في الانسان وهو سريع الظهور والتأثير اذ عند تعرض عضو الكبد لهذا المركب لمدة 30 دقيقة يؤدي الى تغيرات في ايض الدهون، وعندما يتعرض الكبد لمدة ساعة واحدة فهذا يؤدي الى تغيرات في الانسجة، و يحدث تحلل لدهون الكبد و الموت الموضعي لخلاياه بعد يوم الى 4 أيام من التعرض لهذا المركب و اللذان يعدّان من اعراض تسمم الكبد، وان تأثر الكبد يأتي بعد تأثر الجهاز العصبي المركزي ، و كذلك ارتفاع في انزيمات الكبد (Khan *et al*., 2009).

كما أنه يسبب ضرر بطبقة الدهون الفوسفاتية المزدوجة في اغشية الخلايا، وان تليف الكبد الحاصل بسبب تأثير رابع كلوريد الكربون يزيد مستوى الكلوكوز في الدم و يختزل نشاط انزيم كلوكوز 6 فوسفيت

بسبب انخفاض نشاط الميكروسومات microsomes (الاجسام الدقيقة) في الكبد نتيجة السمية التي سببها رابع كلوريد الكربون، كذلك يؤدي الى انخفاض كمية البروتين الكلي (Megli & Sabatini., 2004).

تعد الكلى من الأعضاء المهمة التي تتعرض للسمية بهذا المركب ، وهذه السمية تسبب اضرار متعددة بعد أيام قليلة من التعرض و منها التهاب و تليف النيفرون و الفشل الكلوي و نقص في البول او انعدامه ، بعد تضرر الكبد بسبب هذا المركب ووصوله الى قمة المرض يحدث الفشل الكلوي مباشرة بعد الأسبوع الثاني من التعرض له كذلك يصاحب هذا التعرض وجود البروتين و السكر و الهيموكلوبين في البول ، وظهوره قد يكون سبب في ارتفاع ضغط الدم و الحامضية (Lee *et al* ., 2004 ; Abd-Elhakim *et al* ., 2020).

سجلت وفيات نتيجة التسمم الحاصل برابع كلوريد الكربون عن طريق تناوله عبر الفم و بتراكيز قليلة مثل (1.5 ml) في البالغين ، حدثت تغيرات في كبد الانسان و هي نفس التغيرات التي حدثت في الحيوان ومنها الموت الموضعي للفص المركزي للكبد مع نزيف وعندما يحدث الموت الموضعي للكبد ستظهر كريات الدم البيضاء، و يكون تجمعها في الكبد و بعد ذلك يحدث تجديد لأنسجة الكبد من قبل الخلايا الكبدية المحيطة به (Megli & Sabatini ., 2004) . يؤثر رابع كلوريد الكربون و بشكل حاد على أجهزة الجسم حسب طريقة دخوله لهذا الجسم مثل الهضم و الاستنشاق ، بحيث يكون سبب في انخفاض الجهاز العصبي المركزي و كذلك يسبب ضرر في الكبد و الكلى ، و بعد 4 أيام من التعرض تظهر اعراض سميته في الكبد اما في الرئة فانه يسبب تحلل لكريات الدم الحمراء و اضطرابات في الجهاز الدوري (Elmore , 2006).

تزيد خطورة التأثير السمي لمركب رابع كلوريد الكربون بزيادة تركيز الجرعة المعرضة له سواء أكان بالاستنشاق أم الحقن أم عن طريق الفم ، ففي احدى الدراسات التي أجريت على الفئران والتي تم تعريضها لتراكيز مختلفة و لحقب طويلة ظهرت عليها عدة اعراض منها زيادة وزن الكبد وتحلل الدهن الكبدي وارتفاع الكوليسترول وتأخر النمو وكذلك السمية الكلوية ونقص البروتين . (Gabal *et al* ., 2007)

2-3-4-1 التأثير السمي على الجهاز التناسلي الذكري

هنالك دراســـات متعددة تم اجرائها على الحيوانات أظهرت حدوث نقص في وزن الخصـــى و الغدد التنـاســـليـة الملحقـة ، اذ تم تعريض مجموعـة من الفئران برابع كلوريـد الكربون وبعـدة تراكيز وكانت النتيجة نقص في وزن الخصـى مع ضـمور كامل للعناصـر الأولية في الأنابيب الناقلة للسـائل المنوي (Hamid *et al* ., 2018; Elsawy *et al* .,2019) . اثبتـت العـديـد من الـدراســـات أن الإجهـاد التأكســدي الذي ينتج عبر التعرض للمواد الكيميائية الســامة يســبب ضــررًا كبيرًا لجودة الحيوانات المنوية لحدوث خلل في توازن مضادات الأكسدة وأنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) ، مما يؤدي إلى حدوث خلل في تكوين الحيوانــات المنويــة وعقم الــذكور (Othman *et al*., 2014; La Maestra *et al*., 2015). و يعـد رابع كلوريـد الكـاربون مـادة كيميـائيـة تســبـب الإجهـاد التـأكســـدي عن طريق تحفيز إنتاج الجذور الحرة التي تســبب أكســدة الخلايا الجرثومية في الخصــيتين و يقلل من عدد الحيوانات المنوية (Gharagozloo & Aitken .,2012; Agarwal *et al*., 2014) . يظهر رابع كلوريد الكاربون آثاره الســامة و الخطيرة عبر تفاعل هذه الجذور الحرة المتولدة عند تنشـيط السـيتوكروم P450 في الكبد بشـكل مباشر مع الأغشية الخلوية ، و الجذور الحرة الناتجة لا تستهدف الكبد فقط بل تستهدف انسجة الجسم الأخرى مثل الرئتين والقلب والكلى والخصــيتين والدماغ والدم (Khan.,2012) . يمكن أن تولد الجذور الحرة النـاتجـة عن اســتقلاب رابع كلوريـد الكـاربون بيروكســيـدات دهنيـة عـاليـة النشـــاط من خلال الارتبـاط بـالأحمـاض الـدهنيـة المتعـددة غير المشـــبعـة Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA) لغشـــاء الحيوانـات المنويـة وتغيير في تركيز الحيوانـات المنويـة والمســتويـات الهرمونيـة والنشـــاط الأنزيمي و كذلك يمكن أن تحفز التنخر (El-Kashoury *et al* .,2010) . تعمل الجذور الحرة على احداث العقم عند الذكور وتعمل على تلف الخلايا والأنســجة والأعضــاء (Misro *et al*., 2004; Aitken & Roman., 2008) .

اوضـــحت الدراســـات أن إعطاء رابع كلوريد الكربون الحاد أو المزمن إلى ذكور الجرذان البالغة يؤدي الى زيـادة في مســتوى اكســـدة بيروكســـيـدة الـدهون (LPO) في أنســـجـة الخصـــيـة (Soliman & Fahmy, 2011; Khan, 2012) . كـذلـك حـدوث تشـــوهـات في الحيوانـات المنويـة لأنســـجة الخصـــية ، وانخفاض عدد الحيوانات المنوية وقلة حركتها و انخفاض في حجم الخلايا الظهارية

الجرثومية و قلة خلايا لايدك ، و انخفاض في أوزان الجسم والخصيتين، و انخفاض في الإنزيمات المضادة للأكسدة وتحطم في جدران النبيبات المنوية وعدم انتظامها، وتنكس في الخلايا الظهارية الجرثومية فضلاً عن حدوث اضطرابات في هرمونات الستيرويد وهرمونات الغدد التناسلية (Horn *et al*., 2006; Manjrekar *et al*., 2008; Khan &Ahmed.,2009;Abdou *et al*., 2012).

أشارت العديد من الدراسات أن المنتجات الطبيعية التي تحتوي على مضادات الأكسدة لديها القدرة على حماية الخصية من الأضرار التأكسدية ، وبيروكسيد الدهون ، والضعف في حالة الاجهاد التأكسدي التي يسببها رابع كلوريد الكربون (Satyam *et al* ., 2013; Al-Olayan *et al* ., 2014 ;Ge *et al* ., 2015).

2-3-5 حركة رابع كلوريد الكربون ومساراته الأيضية في الجسم

2-3-5-1: الامتصاص

اشارت الدراسات التي أجريت على العديد من أنواع الكائنات الحية ، ومن ضمنها الانسان بان رابع كلوريد الكربون يمتص بعدة بطرق مختلفة ، فيمتص بسهولة عن طريق الجهاز الهضمي بعد تناوله عبر الفم ، و تعد الأمعاء الدقيقة الموقع الرئيس لامتصاصه في القناة الهضمية اما القولون و المعدة فيكون الامتصاص بنسبة اقل من الأمعاء ، و تم اثبات ذلك عن طريق سلسلة من التجارب والدراسات التي تم اجرائها على بعض الحيوانات حيث اجريت تجربه درست فيها كميه رابع كلوريد الكربون الممتصة من القناة الهضمية وتقدير الكمية الناتجة من عملية الزفير (Provincial.,2010 ; Gerba.,2019) .

كذلك أجريت عدة دراسات من لدن عدد من الباحثين باستخدام الفئران ، فوجدوا ان اعلى تركيز للمركب في الدم يبلغ كحد اقصى بعد ساعة ونصف من ابتلاعه ، و اثبتوا ان معدل الامتصاص من قبل الجهاز الهضمي يكون سريعاً وذا تأثير قوي عندما يتم تناوله مع الغذاء ، ووجدوا عند تناول الفئران لرابع كلوريد الكربون عن طريق الفم يكون توزيعه بكميات كبيرة في الانسجة اكثر من الحقن ، وافترضوا أن عملية التخلص من النواتج الأيضية للمركب في الأنسجة تكون بنسبه قليلة جداً (Gerba , 2019) .

2-5-3-2: الانتشار

يعتمد توزيع رابع كلوريد الكربون في جســـم الحيوان على عدة عوامل أهمها الطريقة التي دخل فيها الى الجســـم و تركيز المركب و المدة الزمنية للتعرض لهذا المركب ، و لان هذا المركب له قابلية ذوبان في الدهون فيكون وجوده في الانســجة التي تحتوي على نســبة عالية من الدهون بشــكل كبير ، مثل النســيج الدهني و الكبد و الكلى و نخاع العظم (Sanzgiri *et al* .، 1997) .

ان تناول المركب عبر الفم يســاهم بشــكل فعال على انتشــاره في الجســم اذ ينتشــر في (1.5-15) دقيقة في كل من الكبد والكلى والدماغ على التوالي ، و مدة نصف العمر له حتى يتم ازالته هي 323 دقيقه في الكبد والكلى والــدمــاغ ، أمــا في النســـيج الــدهني فــان الانتشـــــار يكون بطيئــاً ويتم في 120 دقيقــه و مدة نصف العمر له هي 780 دقيقة (Provincial ، 2010; Faroon , 2005) .

2-5-3-3: الايض

تم دراســـة عملية الأيض لرابع كلوريد الكربون في كل من الانســـان والحيوان مثل الفئران والأرانب والكلاب ، وجد ان نصـــف هذا المركب الذي انتشـــر في الجســـم يفرز دون ان يطرأ عليه أي تغير أمــا البــاقي فــأنــه يتحول بعمليــة الايض إلى (OOCCI3) proxy trichloromethyl radical و (-CCI3) trichloromethyl radical عن طريق انزيم الســيتوكروم p450 و يعد انزيم P450 - 2E1 الأنزيم الرئيســي المسؤول عن التنشيط الحيوي لرابع كلوريد الكربون عند مستويات منخفضــه في الانســان (Zhang *et al*., 2018; Abu *et al* ., 2019) .

الجزيء المتحرر يمكنه الارتباط مباشره مع دهن الميكروسوم Microsome والجزيئات الخلوية الكبيرة الأخرى كما يســـاهم في تحلل الغشـــاء الخلوي وتعطيل نشـــاط وتفاعلات الخلية ، ونظرا لأن هذا الجزيء يتعرض لتفــاعلات لاهوائيــة فــان ذلــك يؤدي إلى تكون مواد ســـــامــة مثــل مركبــات الكلوروفورم واول اكســـيد الكربون و Hexachloroethane ، وبذلك ترتبط النواتج الأيضـــية لرابع كلوريد الكربون بالبروفين والدهون وكذلك الحامض النووي DNA (Venkatachalam *et al* ., 2018) .

ان ماده الـــــ Trichloromethyl المتكونة هي ناتج ايضـــي كبدي ســـام من رابع كلوريد الكربون له قدرة فائقة على الارتباط بمجاميع الكبريت الموجودة في بعض مضـــادات الأكســـدة ومنها الكلوتاثيون والانزيمات الأخرى مثل الكتاليز (Chinwe *et al* ., 2019 ; Sujatha *et al* ., 2019) .

4-5-3-2: الإخراج

كمية رابع كلوريد الكربون التي تدخل الجســم عن طريق الاســتنشــاق والابتلاع أو الحقن يتم إخراجها بشــكل كبير عن طريق الرئتين ، وتتم عملية الإخراج في مرحلتين اذ تكون المرحلة الثانية بطيئة نســبيا لذلك يتراكم المركب بســـبب التعرض المتكرر له والذي ينتج عنه تســـمم مزمن ، وبعد توقف دخوله للجســـم يتحرر من الدهن ويزال اوليا بواسطة الرئتين دون ان يحدث له ايض ، الجزء الأكبر المتبقي في الجسم يكون متحـد مع البروتينـات وجزئيـات خلويـة أخرى وهـذه بـدورهـا تتحلـل وتخرج من الجســـم عن طريق البول وفترة نصـــف العمر لهـا هي 24 ســـاعـة فقط وهـذه هي المرحلـة الأولى (Elmor.,2006 ; Provincial, 2010) .

4-2 الجذور الحرة :Free Radicals

تعرف الجذور الحرة بأنها عبارة جزيئة أو ذرة تمتلك واحدة من الالكترونات المفردة غير المزدوجة في مدارها الخارجي (Pan *et al* ., 2019 ; Suleman *et al* ., 2019) ، وهذا يجعلها ذات فعالية قوية اكثر من غيرها وتكون غير مســـتقرة لوجود الالكترون المفرد في غلافها الخارجي ، حيث تميل إلى اكتســـاب الكترون من الجزيئات المحيطة لتصبح مستقرة بإنتاج مزدوج الكتروني وتكون ذات طاقة عالية وشديدة الألفة للتفاعل مع الجزيئات الحيوية في الجسم (Gao *et al*., 2001; Huang *et al*., 2005) ، وتكون فعالية هذه الذرات أو الجزيئات عالية جدا لكي تصل إلى حالة من الاستقرار ، ويتم ذلك عن طريق التفاعل مع جذر حر آخر أو أي جزيئة أخرى بتفاعلات مختلفة و بالتالي يؤدي الى انتاج جذور حرة متســـلســـلة ومتعاقبة وتؤدي هـذه العمليـة الى انشـــطـار الجزيئـات المجـاورة ممـا يجعـل الجـذور الحرة مفيـدة وخطرة في نفس الوقت (Nimse & pal., 2015; Branchaud., 2018) ، ان الاوكسجين الذي يعد من العناصر المهمة التي لا يمكن الاستغناء عنها ممكن أن يحدث أضرار خطيرة في الجسم في ظروف معينة لأن اختزال

الاوكسجين بإلكترون واحد يؤدي الى تكوين عدد من المركبات الكيمياوية الفعالة التي تعرف بأسم أصناف الاوكسجين الفعالة (ROS) مثل بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) وجذر الهيدروكسيل (OH^-) وجذر السوبر أوكسيد السالب(O_2^-) (Kumar, 2011) .

حسب تفاعلات الجذور الحرة للأوكسجين فأنها تصنف إلى جذور مختزلة Reducing radicals وجذور مؤكسدة Oxidizing radicals (Ruan *et al* ., 2019) ، عند اتحاد الجذور الحرة للأوكسجين مع جزيئات المادة الحية في خلايا وانسجة الجسم الحية فأنها تتحول الى جذور حرة جديدة و هذه التفاعلات تحدث بشكل طبيعي و منتظم في الجسم لكنها تزداد في حالة المرض ، مسببة بذلك اذى في الخلايا الحية و هذا الضرر يكون غير محسوس في مثل هكذا تفاعلات لحين الوصول إلى مراحل متقدمة من الضرر و التي تسمى بالأذى التأكسدي Oxidative Damage (Lushchak., 2015; Atwood *et al* ., 2018) .

وتكون لها القدرة على أكسدة الجزيئات الحيوية التي تشمل البروتينات والدهون والأحماض النووية والكربوهيدرات (El-Bahr, 2013; Lushchak,2014) ، في الحالات المرضية تزداد أهمية الجذور الحرة بسبب زيادة تولدها مثل السرطان وداء السكر وأمراض القلب المزمنة (Asmat *et al*., 2016; Valko *et al*., 2016; Vincent *et al*., 2019) .

2-4-1 مصادر الجذور الحرة:

تعد الفعاليات الأيضية الناتجة عن نشاط المايتوكوندريا Mitochondria من اهم المصادر الطبيعية المولدة للجذور الحرة (Lobo *et al*., 2010 ; Nanda ., 2019) ، وكذلك تتكون الجذور الحرة من نشاط و اكسدة الخلايا الملتهمة ومن التراكيز العالية للأوكسجين الذي تم استنشاقه بشكل مستمر داخل الجسم فضلاً عن ارتفاع السكر في الدم و الذي يؤدي الى ارتفاع في بيروكسيدة الدهون (Pham-Huy *et al*., 2008 ; Poprac *et al* ., 2017) .

تعد الجزيئات البيولوجية الحية الأهداف الرئيسة لهذه الجذور الحرة ولعل أهم هذه الأهداف هو الدهون والبروتينات والأحماض النووية (Nimse & Pal,2015 ; Phaniendra *et al*.,2015) .

2-5: الإجهاد التأكسدي Oxidative stress

الاجهاد التأكسـدي هو حالة عدم التوازن بين مضـادات الأكسـدة من جهة والجذور الحرة ونواتجها من العمليات الايضية (المواد المؤكسدة) من جهة أخرى، اذ تمتلك الخلايا مواد مؤكسدة أكثر من المواد المضادة للأكسدة، وهذا يؤدي إلى تدمير الجزيئات الحيوية الكبيرة في الجسم ويحدث الاجهاد التأكسدي عندما يتجاوز مستوى مركبات الاكسدة قدرة مضادات الاكسدة على ازالتها (Sekhon *et al*., 2010).

في الأنظمة الحيوية ينتج الإجهاد التأكسـدي عن عدم التوازن ما بين إنتاج وإزالة تفاعلات الجذور الحرة وعند وجود الجذور الحرة بكميات كبيرة يحدث العديد من التغيرات الكيميائية الحياتية داخل الخلايا، ويمكن اعتماد الإجهاد التأكسدي كتفسير لآلية حدوث المرض وموت الخلايا (Volpe *et al*., 2018).

الإجهاد التأكسـدي له علاقة واضـحة مع الكثير من حالات العقم الحاصـلة في الذكور بسـبب الارتفاع الحاصـل في معدل الأحماض الدهنية المتعددة غير المشـبعة الموجودة في أغشـية الخلايا النطفية مما يجعلها أكثر عرضـة لبيروكسـدة الدهون حيث تعمل أصـناف الـ(ROS) على تثبيط عمل المايتوكوندريا بـالإضـافـة الى تـأثيرهـا على الاديـنوسـين ثلاثي الفوسـفـات (ATP) في الخلايـا النطفيـة (Ko *et al*., 2014; Aitken *et al*., 2019) ، يعد الجهد التأكسدي أحد اكثر الأسباب أهمية لعدم الخصوبة Infertility، بالرغم من فعالية مضـادات تأكسـد البلازما المنوية والبرابخ والنطف ، وان هذا الجهد يدمر وظيفة النطف (Lanzafame *et al*., 2009) .

تعد الصدمات والحرارة والإشعاعات الأيونية والسموم والتمارين العنيفة من العوامل المؤثرة والتي تزيد من حدوث الاجهاد التأكسدي (El-Missiry *et al*., 2015) . ان الاجهاد التأكسدي يسبب عدة تغيرات داخل الخلايا ومن هذه التغيرات زيادة في تخليق الإنزيمات التي تولد الجذور الحرة او تزيد فعالية ما هو موجود منها مثل (Xanthine Oxidase, Phospholipase) و تحرير أيونات العناصـر النزرة التي تسـاعد في تكوين الجذور الحرة مثل الحديد والنحاس عبر تحطيم البروتينات المفيدة لها و زيادة في نشـاط الخلايا البلعمية ، و اسـتنفاذ مضـادات الأكسـدة غير الإنزيمية الذائبة مما يضـعف قدرة الخلايا على مقاومة التأكسـد وكلها بالنتيجة تؤدي الى تلف الخلايا وتكوين الإجهاد التأكسدي (Liguori *et al*.، 2018) .

2-5-1: بيروكسدة الدهن :Lipid peroxidation

تعرف بيروكسدة الدهن هي عملية تعرض الأحماض الدهنية غير المشبعة الموجودة في أغشية الخلايا للجذور الحرة. (Nouri *et al*., 2008) ، و كذلك تسمى عملية التفاعل بين الحوامض الدهنية Fatty acids والجذور الحرة Free radicals بـــــ(عملية تزنخ الدهون)، وتشمل تحلل الاحماض الدهنية غير المشبعة في سلسلة من التفاعلات التي تؤثر مباشرة على تركيب الأغشية الخلوية وبالتالي تؤثر على وظيفة تلك الأغشية (Sergent *et al*.,2018) ، بحيث تجعل الأغشية الخلوية أكثر صلابة (More Rigid) و كذلك تسبب تغيرات يمكن ملاحظتها في نشاط البروتينات الاساسية المكونة للغشاء ، و هذا بدوره يؤثر على معدل الايونات الداخلة والخارجة عبر الغشاء (Niki.,2018) ، و من اهم الجذور المحطمة للأغشية الخلوية هو جذر الهيدروكسيل OH (Kagan.,2018) .

2-5-2: المالون ثنائي الديهايد Malondialdehyde (MDA)

يعرف (MDA) هو الناتج الأخير من عملية بيروكسيدة الدهن وهو منتج داخلي المنشأ Endogenous و تحدث هذه العملية بصورة تلقائية في خلايا الجسم (Atip *et al*., 2010; Ayala *et al*., 2014) . عند نقصان مستوى مضادات الاكسدة وزيادة الاجهاد التأكسدي في الجسم فهذا يؤدي الى زيادة بيروكسدة الدهن (Sewerynek *et al*., 2000) ، كذلك تحدث عملية بيروكسدة الدهن عند زيادة انتاج الجذور الحرة و التي تفوق قابلية و قدرة مضادات الاكسدة على كسحها او التخلص من نواتجها بسبب اكسدة الحوامض الدهنية المتعددة غير المشبعة و الموجودة في الاغشية الخلوية و بالتالي تفقد الصفة النفاذية الاختيارية للسوائل و المواد من خلاله (Van der Paal *et al*.,2016) ، و عليه فان تكون (MDA) يعتبر نتيجة لزيادة حالات توليد الجذور الحرة والاجهاد التأكسدي (الجراح,2005; Weismann *et al*.,2011).

يرتبط تركيز الـــــ(MDA) الناتج من بيروكسدة الحوامض الدهنية غير المشبعة ارتباطاً سلبيا بتركيز وحركة النطف ، حيث تعتبر أغشية الخلايا النطفية أكثر عرضة لهجوم الأنواع الاوكسجينية الفعالة أو أيون بيروكسدة الدهون ، لأنها تحتوي على نسبة عالية من الحوامض الدهنية غير المشبعة (Hsieh *et.al*. , 2006) . وتسبب بيروكسدة الدهون فقدان تكامل الغشاء و بهذا تسبب زيادة في نضوحية الخلية وتعطيل عمل الأنزيمات وكذلك تسبب ضرر في تركيب الـDNA (Halliwell , 1994) .

6-2 مضادات الأكسدة :Antioxidant

تعرف مضـادات الاكسـدة بأنها مركبات معقدة لها خصـائص بيولوجية مهمة جدا لجسـم الكائن الحي ، و هي تمثل الدفاعات الخاصة التي يمتلكها الجسم و التي تحميه من الأذى و الضرر الذي تسببه الجذور الحرة (Rajendran *et al*., 2014; Neha *et al*., 2019) ، وهي تعمل كدرع واقي يقلل من مخاطر الإصـابة بالأمراض ومنها أمراض القلب ، واعتام عدسـة العين Cataracts والسـرطان Cancer وتصـلب الشـرايين Atherosclerosis والشـيخوخة Aging و السـكري و الكبد ، كذلك لها دور مهم في الحفاظ على صـحة الكائن الحي و خاصة في المراحل العمرية المتقدمة (Chen *et al*., 2012).

تتميز مضـادات الاكسـدة بقابليتها على إعطاء الكترون الى الجذور الحرة بحيث تتحول هذه الجذور الحرة من تفاعلاتها ونشاطها الضار الى مركبات مستقرة غير قادرة على التفاعل مع الجزيئات الحيوية في الجسم وكما تعمل على تفكيك البيروكسـيد (Shih *et al* ., 2002; Rahal *et al*.,2014) ، و ان مضـادات الأكسـدة تكون إما ذائبة بالدهون أو ذائبة في الماء (Nimse & pal., 2015) .

تصنيف مضادات الاكسدة

: بشكل عام تصنف مضادات الأكسدة تبعاً لطبيعتها الى صنفين أساسيين (Reddy *et al* .,2018) وهما:

1-6-2: مضادات الأكسدة الانزيمية :Enzymatic Antioxidant

1-1-6-2: انزيم كلوتاثيون بيروكسيديز Glutathion Peroxidase (GSH - PX)

يوجد انزيم كلوتاثيون بيروكسـيديز في المايتوكوندريا والسـايتوبلازم في الخلايا الحية لأنسـجة الكبد و كريات الدم الحمراء و البلازما و النطف ويعمل على نقل الالكترون من المادة الأسـاس الى البيروكسـيد و بـالتـالي التخلص من البيروكسـيـد الـذي يختزل الى المـاء (Ursini, *et al*., 1999; Sisein.,2014) ، يعمـل الانزيم على اختزال بيروكسـيـدات الـدهون إلى كحول ، وبيروكسـيـد الهيـدروجين إلى مـاء (Knapen, 2000) ، كذلك هذا الانزيم لـه القـابليـة على حمـايـة غشـاء كريـات الدم الحمراء من التلف و التحطم الناتج عن زيادة تكوين البيروكسيد ونواتجه من الجسم (Oroian & Escriche., 2015) .

2-1-6-2 : انزيم كلوتاثيون ريدكتيز Glutathion Reductase (GSH – RD)

هذا الانزيم يعمل على اختزال الكلوتاثيون المؤكسد Oxidized Glutathion عبر العامل المساعد NADPH الذي ينتج من تحويل السكر الخماسي Pentose shunt بمساعدة انزيم Glucose -6- phosphate dehydrogenase (G - 6 - PD) . (Sisein.,2014)

2-1-6-3 : انزيم الكاتاليز Catalase (CAT)

(CAT) هو أحد مضادات الاكسدة الانزيمية الموجودة في خلايا الجسم المختلفة وهو من انزيمات الـHydroperoxidas ، يحطم هذا الانزيم (H_2O_2) و يحوله الى جزيئة ماء H_2O و أوكسجين جزيئي (Pisoschi & Pop.، 2015) ، فعالية الانزيم تختلف في الثدييات من نسيج الى أخر مثلا تكون واطئة في الانسجة الرابطة وعالية في الكبد والكلية ، يوجد انزيم الـ(CAT) و انزيم (GSH - PX) في كريات الدم الحمراء حيث يمتلكان معاً وظيفة حماية الهيموغلوبين والبروتينات ، وعندما يقل مستوى الـ(CAT) في كريات الدم الحمراء تزداد فعالية العوامل المؤكسدة مثل البيروكسيد H_2O_2 (Kaushal *et al*.,2018; Gebicka & Krych-Madej .,2019)

2-1-6-4 : انزيم سوبر اوكسايد ديسموتيز Superoxid Dismutase (SOD)

(SOD) هو من الانزيمات المضادة للأكسدة المهمة في الجسم و الذي يعدّ من البروتينات المعدنية و يوجد بكثرة في الخلايا التي تتميز بارتفاع معدل الايض فيها ، يحفز الـ(SOD) على تحول جذور الاوكسجين الحر إلى الأوكسجين الجزئي وH_2O_2 وهو يمتلك دوراً مهماً في حماية الخلية من الجهد التأكسدي المحدث بفعل الجذور الحرة ، و توجد ثلاثة أنواع من الـ(SOD) تم تشخيصها في اللبائن اثنان منهما داخل الخلية والثالث خارج الخلية (Pham - Huy *et al*.,2008; Neha *et al*., 2019) :

1. Cu, Zn – SOD يوجد في السايتوبلازم .
2. Mn – SOD يوجد في المايتوكندريا .
3. يوجد خارج الخلية ويفرز ويرتبط مع سلفات الهيبارين على السطح الخارجي للخلية . (Kabel.,2014)

2-6-2: مضادات الأكسدة غير الانزيمية Non - Enzymatic Antioxidant

وهي من مضــادات الأكسـدة التي تتميز بقلة أوزانها الجزيئية ، و مصــادرها إما تكون خارجية المنشــأ Exogenous من الغذاء أو داخلية المنشــأ Endogenous تنشــأ من داخل جســم الكائن الحي ، ومن اهم مضادات الاكسدة هذه هو الكلوتاثيون (GSH) ، و يعدّ الكاسح الرئيس للجذور الحرة و العامل المساعد للعديد من انزيمات المضادة للأكسدة (Mirofczuk - Chodakowska *et al*.,2018) ، كذلك تشمل مضادات الاكســــدة الـغير انزيـميــة الفيتــامينــات مثــل فيتــامين A و C و E (He *et al*.,2017) ، بعض النباتـات الطبية مثل مركبات البروســـيانـدين Procyanidines في الكركم والكولا و بذور الحلبـة (Chen *et al*.،2018) ، و ايضـــا تشـــمل الفلافونويدات والادينوســين والالبومين ، كذلك البيليروبين Billirubin و حامض اليوريك Uric acid والبروتينات المرتبطة بالحديد مثل Ferritin و Transferrin و غيرهــا مـن الـتـي تـعـمـل عـلـى تـحـطـيـم الـجـذور الـحـرة و مـنـع اكســـدة LDL بــالـجســـم (Pisoschi & Pop.،2015).

2-7: الكلوتاثيون: (GSH) Glutathion

هو ببتيد مكون من ثلاثة احماض امينية وهي الســـستين (Cysteine) و كلوتاميت (Glutamat) و الكلايسين (Glycine) (Ribas *et al*.,2014) ، يحتوي الـــ(GSH) على آصرة كاما (*y*) بين الحامض الأول والثـاني ، و بواســطـة أنزيمـات الببتـايـديز Peptidase يعمـل على مقـاومـة التحلل داخل الخلية (Dickinson *et al*., 2003 ; Marin & Garcia.,2008) ، يتواجد الــــ(GSH) في الكائنات الحية المختلفـة مثـل الانســـان و الحيوان و النبـات و كـذلـك الاحيـاء المجهريـة ويعـد من أكثر المواد الـغـيـر الـبـروتـيـنـيـة الـتـي تـحـتـوي عـلـى مـجـمـوعـة الـثـايـول Thiol group فـي تـركـيـبـه (Oroian & Escriche .، 2015) ، وهو من مضـــادات الاكسـدة غير الأنزيمية و التي تذوب في الماء ، و لانــه يتم تكوينــه في الجســـم بوســـاطـــة عمـل انزيم GSH Synthase و انزيم Synthase δ – glutamylcysteine| باستخدام 2ATP فانه يختلف عن المضادات الاكسدة غير الأنزيمية مثل فيتامين (E) و (A) و (C) (Rajendran *et al* ., 2014) ، وله شكلين هما الشكل المختزل GSH والشكل المؤكسد GSSG ، بحيث يتواجد الكلوتاثيون في مختلف أعضاء الجسم مثل الكلية و الكبد و الدماغ و العين وكريات

الدم الحمراء والسائل المنوي ، وهو مهم أيضا في الحفاظ على اغشية الخلية من التلف والاكسدة و لوجود مجموعة الثايول SH فيه ، فانه يوفر حماية رئيسة ضد حالات الأكسدة اذ يعمل على ازالة اصناف الأوكسجين الفعالة (Marin & Garcia, 2008 ;Aquilano *et al*.، 2014)، ومن الظواهر الحيوية المهمة التي يشارك فيها الكلوتاثيون هي تكوين البروتينات والنيوكليونيدات ، وكذلك ومن خلال وجوده كماده اساسية Substreate او مرافق انزيمي Co - Enzyme فانه يساهم في فعالية بعض الأنزيمات لبعض العمليات الانزيمية في الخلية (Flohé.,2018) .

الكلوتاثيون يذوب في الماء (H_2O) ويتكون في الكبد وله دور كبير و مهم في الحفاظ على الخلية من الأذى التأكسدي ، و كذلك يساعد على إزالة سمية بيروكسيد الهيدروجين و يعد ضروري لعمل الأنسولين Insulin و يعمل على إعادة الفعالية لبعض مضادات الأكسدة مثل فيتامين C (Garrett & Grisham , 2010) .

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials

&

Methods

3 – المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1-3 المواد والأجهزة والأدوات المستعملة Materials and Tools and Devices

1-1-3 المواد الكيمائية Chemical materials

جدول (3-1) يوضح المواد الكيمائية المستعملة بحسب المنشأ والشركة المصنعة

ت	المواد الكيميائية Chemical materials	المنشأ Origin	الشركة المصنعة Company
.1	أوكسيد الزئبقيك الأحمر Red Mercuric oxide	England	BDH
.2	ايثانول Ethanol %96	England	BDH
.3	ايثانول مطلق *Absolute alcohol* %99	Netherland	J.T.Baker
.4	حامض الخليك الثلجي (Glacial Acetic acid)	Spain	Scharlau
.5	حامض الهيدروكلوريك المركز HCl	England	
.6	حامض ثايوباربيوترك TBA	England	Hopkin & Williams
.7	حامض خليك ثلاثي الكلور TCA	England	BDH
.8	رابع كلوريد الكربون CCl_4 Tetrachloride carbon	England	BDH
.9	زايلين Xylene	Spain	Scharlau
.10	شب البوتاسيوم	Germany	Mark
.11	شمع البرافينParaffin wax	Germany	Merck
.12	صبغة الايوسين Eosin stain	England	BDH
.13	صبغة الهيماتوكسلين Hemotoxyline	England	BDH
.14	عدة قياس MDA & GSH	Solarbio	China

.15	عدة قياس الهرمونات Testosterone – LH – FSH	USA	Monobind-Inc
.16	فورمالين Formalin	Germany	Merck
.17	فورمالين Formalin 10%	USA	TEDIA
.18	كلوروفورم Chloroform	England	BDH
.19	كلوروفورم Chloroform	Spain	Scharlau
.20	مادة DPX	India	Himedia Lab. Put. Ltd
.21	محلول الملح الفسيولوجي Normalphsiological slain 0.9%	India	Ahlcon

3-1-2 الأجهزة المستعملة:

جدول (3-2) الأجهزة المستعملة مؤشرا ازائها المنشأ والشركة المصنعة

ت	الاجهزة Devices	المنشأ Origin	الشركة المصنعة Company
.1	ثلاجة Refrigerator	Jaban	Concord
.2	جهاز ELISA	USA	BioTek
.3	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	USA	Bio-Rad
.4	جهاز المشراح الدوار Rotary Microtome	Italy	Histo-line
.5	حاضنة Incubator	Germany	Memmert
.6	حمام مائي Water bath	Germany	Memmert
.7	خلاط كهربائي blender	China	China
.8	صفيحة ساخنة Hot plate	India	Tjlassco
.9	فرن كهربائي Electric oven	Germany	Xmta
.10	كاميرا Digital Camera	JAPAN	Canon
.11	مازج Vortex	China	China

.12	مجهر ضوئي Light Microscope	Japan	Olympus
.13	مجهر ضوئي مركب Compound light microscope	Germany	ZEISS
.14	ميزان حساس سعة 1500 غم	Germany	Sartorius
.15	ميزان حساس سعة 330 غم	Germany	Sartorius

3-1-3 الادوات المستعملة:

جدول (3-3) يوضح الادوات المستعملة بحسب المنشأ والشركة المصنعة

ت	الادوات Tools	المنشأ Origin	الشركة المصنعة Company
.1	ادة تجريع gavage	USA	Oxford
.2	ادوات بلاستكية مختلفة الاحجام	Denmark	Nunclon
.3	ادوات زجاجية مقاومة الحرارة Pyrex	France	Pyrex
.4	انابيب ابندروف Eppendrof tubes	China	Acon Laborties.Inc
.5	انابيب اختبار زجاجية Test tube	India	Super star
.6	انابيب غير حاوية على مادة مانعة التخثر Gel Test tube	Jordan	Gold star
.7	اواني تلوين زجاجية	Pakistan	S.I.E.
.8	حامل انابيب Racks	Germany	Nether
.9	دوارق زجاجية Beakers	Germany	Nether
.10	سلة اواني التصبيغ Basket Staining Gar	Germany	Harshman
.11	شاش طبي	.S.A.R	Medical ject
.12	شرائح زجاجية Slides	China	MHEC
.13	عدة تشريح Dissecting Set	Pakistan	S.I.E.

.14	عيدان خشبية Wood sticks	China	Medicare
.15	غطاء شرائح زجاجية Cover slide	China	MHEC
.16	قطن طبي Medical cotton	Turkey	Kardelen Hidrophile Pamuk
.17	ماصات دقيقة Micropipette	Germany	Human
.18	محاقن طبية مختلفة الاحجام Disposable Syringes	U.A.E	Al-Rawabe
.19	ورق ترشيح Filter paper	China	Belgium-Zelpa

3-2. طرائق العمل Methods

3-2-1. الحيوانات المستخدمة في التجربة: Experiment animals

استخدمت في هذه الدراسة 36 من ذكور الجرذان البيض البالغة ، و بمعدل اوزان تراوحت بين (250 - 310) غرام و اعمارها بين (11-13) أسبوع تقريباً ، تم وضعها في البيت الحيواني التابع الى كلية الصيدلة / جامعة كربلاء للمدة من شهر تشرين الثاني من سنة 2020 و لغاية شهر كانون الثاني سنة 2021 ، تم وضع الحيوانات في اقفاص بلاستيكية ابعادها (40×20×20) سم مغطاة بأغطية معدنية معدة لهذا الغرض ، فرشت أرضية الاقفاص بنشارة الخشب وتم مراعاة العناية بنظافة الاقفاص و تعقيمها مع تبديل ارضيتها بشكل مستمر ، كذلك العناية المستمرة بنظافة قناني الارواء وغرفة الايواء ، و قد خضعت الحيوانات لظروف مختبرية ملائمة كدرجة الحرارة المناسبة وصلت الى (22±2) درجة مئوية ، و التهوية المناسبة، و مدة الإضاءة 12 ساعة ضوء و 12 ساعة ظلام ، و زودت حيوانات التجربة بالماء و العليقة القياسية بصورة حرةAd libitum طوال مدة البحث ، و تركت الحيوانات لمدة أسبوعين للتكيف مع الظروف قبل اجراء التجربة و للتأكد من خلوها من الامراض .

3-2-2 جمع النبات المستخدم: Collection of plant used

جمع النبات المستخدم في البحث (فاكهة التنين الحمراء) من أحد الأسواق المحلية في محافظة النجف الاشرف ، و تم احضارها الى جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة و صنفت من

لدن التدريسية الاختصاص في تصنيف النبات الأستاذ المساعد الدكتورة نيبال امطير طراد.

3-2-3 تحضـــير المســـتخلص المائي لفاكهة التنين Dragon fruit preparation of Aqueous extract:

تم غســل فاكهة التنين الحمراء وتنظيفها بشــكل جيد في الماء الجاري لإزالة الشــوائب و الاتربة منها و بعدها تم تجفيف الفاكهة من الماء و تم خلطها و هرســها في الخلاط الكهربائي لتحويلها الى عصــير ، تم ترشــيح عصــير الفـاكهـة بورق شـــاش بعـدة طبقـات، و بعـدهـا خفف الراشــح بنســبـة 20% بالماء المقطر و ترك المزيج بإناء مغلف بورق الالمنيوم مع التحريك المستمر للمزيج و لمدة 12 ساعة ، بعد هذا تم صـــبه في اواني معقمة بعد تصـــفيته و ترك المزيج ليجف بدرجة حرارة (40 - 45) درجة مئوية في الفرن الكهربائي ، و بعدها جمع المسـتخلص الخام (crude) بواسـطة قشـطه ووضـعه بأواني زجاجية معتمة و معقمة ونظيفة بالثلاجة تحت درجة حرارة (2-4) درجة مئوية لاســتخدامها في التجربة لاحقا و اعتمد المصدر (Harborne ,1984) في طريقة التحضير ، بتحويرات حسب (Sato , *et al* , 1990) .

4-2-3. حساب جرعة رابع كلوريد الكربون Calculation of Carbon tetrachloride dose:

استعمل في هذه الدراسة مركب رابع كلوريد الكربون (CCl_4) كمادة سمية انكليزي المنشأ ، جهز من مكتب سـكما للتجهيزات الكيميائية / بغداد اسـم الشـركة المجهزة BDH ، تم حقن الحيوانات بها في التجويف البريتوني بجرعة (0.1 ml / 100 g BW) (Alhazza *et al* ., 2008) .

3-2-5. مجاميع التجربة: Experimental Group

وزعت 36 من الحيوانات التجريبية عشوائيا الى ستة مجاميع وبواقع (6) حيوانات لكل مجموعة و هي :

- مجموعة السيطرة السالبة (G1) : تم تجريع الحيوانات المحلول الملح الفسلجي normal saline يوميا طول مدة التجربة .

- مجموعة السيطرة الموجبة (G2) : حيوانات تم حقنها تحت الغشاء البريتوني برابع كلوريد الكاربون وبتركيز 0.1 مل / 100 غم من وزن الجسم لمدة يومين في الأسبوع .

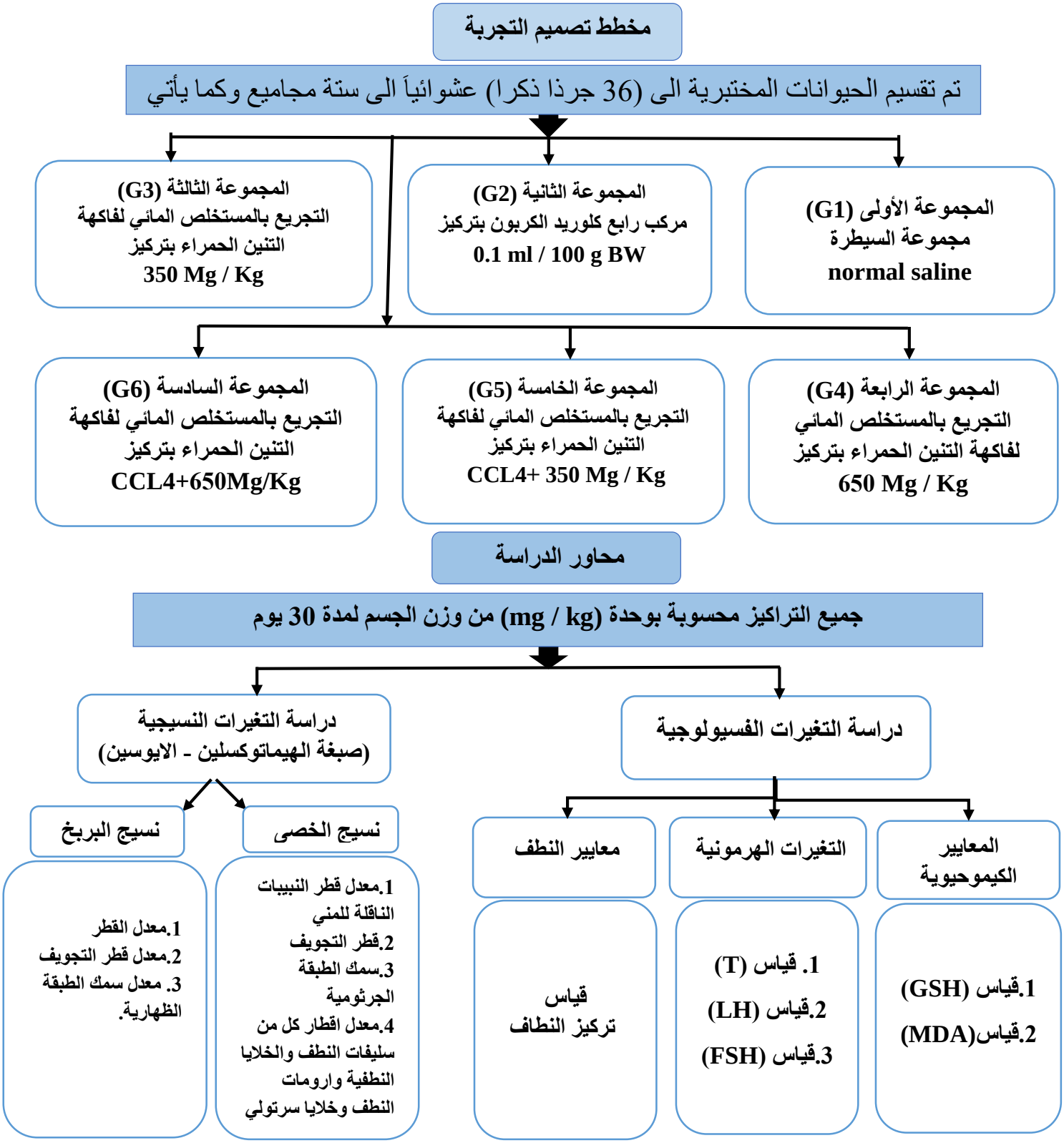
- المجموعة الثالثة (G3) : حيوانات جرعت فموياً بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء و بتركيز (350) ملغم \ كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوما .

- المجموعة الرابعة (G4) : حيوانات جرعت فموياً بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء وبتركيز (650) ملغم \ كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوما .

- المجموعة الخامسة (G5) تضمنت حيوانات جرعت فموياً بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء وبتركيز (350) ملغم \ كغم من وزن الجسم يومياً، يتبعها بعد ساعة حقن تحت الغشاء البريتوني برابع كلوريد الكاربون وبتركيز 0.1 مل / 100 غم من وزن الجسم تحت الغشاء البريتوني و لمدة يومان في الأسبوع .

- المجموعة السادسة (G6) تضمنت حيوانات جرعت فموياً بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء وبتركيز (650) ملغم \ كغم من وزن الجسم يومياً يتبعها بعد ساعة حقن تحت الغشاء البريتوني برابع كلوريد الكاربون وبتركيز 0.1 مل / 100 غم من وزن الجسم و لمدة يومين في الأسبوع .

3-2-6. تصميم التجربة: Design of the Experiment



شكل (3-1) مخطط يوضح تصميم التجربة

3-2-7. جمع عينات الدم: Blood sample collection

بعد انتهاء مدة التجربة تم تخدير الحيوانات المستخدمة باستعمال مادة التخدير (الكلوروفوم) ، وذلك عن طريق وضع المادة على القطنه وو ضعها في وعاء شفاف كبير ثم وضع الحيوان داخل الوعاء و غلق بأحكام ليتم تخدير الحيوان عن طريق التنفس ، بعد انتهاء عملية التخدير تم إخراجه و سحب منه الدم (5) مل مباشرةً من القلب بواسطة طعنة القلب Heart puncture للحصول على اكبر كميه من الدم بعد ذلك وضع الدم في انابيب خاصة غير حاوية على أي مادة مانعة للتخثر وحاوية على مادة الجل الهلامية Gel Tubes الخاصة بإجراء الفحوصات الكيموحيوية ، بعدها وضعت في جهاز الطرد المركزي Centerfuge بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 15 دقيقة لغرض فصل مصل الدم بعد اكمال العملية يوضع المصل في انابيب بلاستيكية صغيرة Eppendrof Tubes نظيفة وجافة تم تعليمها مسبقاً ، و قد تم حفظ هذه الامصال في الثلاجة Refrigerator في درجة حرارة منخفضة 20-مئوية لحين أجراء الفحوصات الكيموحيوية عليها والتي تشمل :

- تركيز المالونداياالديهايد Malondialdehyde (MDA) .
- تركيز الكلوتاثيون Glutathion (GSH) .
- هرمون الشحمون الخصوي Testosterone (T).
- والهرمون اللوتيني Leutining Hormone (LH).
- هرمون المحفز للجريبات follicle-stimulating hormone (FSH).

3-2-8. المعايير الكيموحيوية : Biochemical parameters

3-2-8-1 قياس مضادات الأكسدة والمؤكسدات Antioxidation and Oxidation

3-2-8-1-1: تقدير مستوى بيروكسيد الدهن في مصل الدم (المالونداي الديهايد) MDA Determination of Lipid Peroxidation in blood (Malondialdehyde)

المبدأ الاساسي Basic Principle

يقدر مستوى المالونداياالديهايد MDA في مصل الدم اعتمادا على طريقة (Al- *et al.*,2001 Zamely)، اذ تقيس الطريقة المالونداياالديهايد وهو من اهم نواتج بيروكسيد الدهون في مصل الدم ، المبدأ الاساسي لهذه الطريقة هو تفاعل جزيئه واحده من المالونداياالديهايد وجزيئتين من حامض الثايوباربيوتريك Thiobarbituriacid (TBA) وناتج هذا التفاعل يكون ملونا باللون الاحمر ويجب ان يتم التفاعل في وسط حامضي بعدها تقاس شدة الامتصاصية لناتج التفاعل بواسطة جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية Spectrophotometer عند 532 نانوميتر.

تحظير مخزون الكواشف Preparation of Reagent (TCA –TBA –HCl)

تحظر بإذابة 15% W/V من حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro Acetic Acid (TCA) مع 0.375% W/V من حامض الثايوباربيوترك (TBA) معN 0.25 من حامض الهيدروكلوريك بالطريقة الآتية :

1. محلول حامض الثايوباربتيورك TBA- solution: الذي يحضر من اذابة 0.6 غم من مادة TBA في 100 من الصودا الكاوية بتركيز 0.05% مولالي مع التسخين البسيط، ويحضر هذه المحلول عند الاستعمال.

2- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro Acetic Acid (TCA-solution): يتم تحظير هذا المحلول بتركيزين، التركيز الاول 17.5% بإذابة 17.5 غم من مادة TCA في 100 مل من الماء المقطر، اما التركيز الثاني 70% يحضر بإذابة 70 غم من مادة TCA في 100 مل من الماء المقطر.

طريقة العمل

1- يؤخذ 150 مايكرو ليتر من المصل ويضاف له 1 مل من محلول (TCA) الذي يكون تركيز 17.5% ثم يضاف له 1 مللتر من محلول TBA الى الخليط ويرج جيدا، وتحضن الانابيب في حمام مائي لمدة 15 دقيقة.

2- بردت العينات واضيف لها 1 مللتر من محلول TBA بتركيز 70% ويترك المزيج عند درجة حرارة 37م° في الحاضنة لمدة 20 دقيقة.

3- بعد التبريد يفصل الراشح بجهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة / دقيقة ولمدة 5 دقائق.

4- تقرأ الامتصاصية عند الطول الموجي 532 نانومتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي وقدر التركيز وفق المعادلة الاتية:

$$serumMDA = \frac{Absorbance}{d\ X \in} X\ D.F$$

الحسابات:

Serum MDA = تركيز المالونداياالديهايد = χ / 0.0624 nmol / ml

Absorbance = هو مقدار الامتصاصية.

d = عرض الخلية ويعد مقدار ثابت (1 سم).

$\in$ = معامل الامتصاصية ويقدر ($M^{-1}cm^{-1}$ $1.56x\ 10^5$).

F.D = معامل التخفيف و يقدر بـ (5.15)

3-2-8-1-2 قياس مستوى تركيز الكلوتاثيون (GSH) في مصل الدم

يقاس انخفاض الكلوتاثيون بوساطة كاشف إيلمان Ellman's reagent والذي هو عبارة عن ثنائي حامض النايتروبنزويك [5,5'-Dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid) DTNB] تبعا لطريقة (Rotruck *et al.*,1973) كما في التفاعل التالي:

$$2GSH + LOOH \xrightarrow{GPX} GSSG + LOH + H2O$$

المحاليل المستعملة

1- المحلول: A (0.4 M NaH_2PO_4) : يذاب 55.6 غم من NaH_2PO_4 في لتر من الماء.

2- المحلول B: ($0.1\ M\ NaH_2PO_4$) :يذاب 107.12 غم من NaH_2PO_4في لتر من الماء.

3- ازيد الصـــوديوم sodium azide (10 ملم): يذاب 0.06501 غم من NaN3 في 100 مللتر من الماء المقطر.

4- دارئ فوسفات الصوديوم Sodium phosphate (محلول متعادل 7.0) (0.4 م): يتم تحضيره عبر خلط 39 من المحلول A و 61 مـل من المحلول B وتخفف إلى 200 مـل مع المـاء المقطر التي تحتوي على 0.0744 غرام من مانع التخثر EDTA.

5- Tert - butylhydroperoxide (2.5 مم)

6- مختزل الجلوتاثيون 2 ملم: يتم تحضـــيره عبر إذابة 0.0614 غم من GSH في الحجم النهائي من 100 مللتر من محلول EDTA 0.4M.

7- نترات الصوديوم المقطر(0.1 ٪) Sodium nitrat .

8- كاشف DTNB 19.8ملغ في 100 مل 0.1 ٪ نترات الصوديوم Sodium nitrate (0.1 ٪).

9- NaH_2PO_4,0.4 :يذاب 5.68 غم من NaH_2PO_4في 100 مل من الماء.

Test	STD	Blank	الكواشفReagents
400 µL	400µL	400µL	كاشف Sodium phosphate
100 µL	100µL	100µL	أزيد الصوديوم Sodium azide
200 µL	200 µL	.....	محتزل الجلوتاثيون Reduced glutathione
200 µL	250 µL	450 µL	ماء مقطر D.W.

العينة Sample	.....	.....	50 µL
Butylhydroperoxide-Tert	200 µL	200 µL	200 µL
تم خلطها بواسطة دوامة vortex ثم حضنت لمدة 3 دقائق عند 37 درجة مئوية ، فيما بعد ، تم ايقاف التفاعل بإضـــافة 0.5 مل من 10 ٪ TCA ثم وضـــعت في جهاز الطرد المركزي دورة /الدقيقة 3000 لمدة 15 دقيقة ، ثم أزيل 2 مل من الطافي في أنبوب نظيف ، وأضيف			
NaH_2PO_4	3ml	3ml	3ml
DTNB	1ml	1ml	1ml

ثم قرأ بوساطة جهاز الاليزا Eliza عند الطول الموجي 412 نانومتر.

الحسابات:

$$\text{The residue reduced GSH in test tube} = \frac{\text{A.test}}{\text{A.STD}} * Conc.of \quad STD$$

فعالية الجلوتاثيون بيروكسيديز (مايكرومول للجلوتاثيون المستخدم/ دقيقة) = نسبة الجلواتثيون في STDمحلول × نسبة الجلوتاثيون في التجربة × D.F

$$\text{Se - GPX activity (µmol of GSH utilized/min)} = \frac{\text{Conc. of GSH in STD - Conc. of GSH in test}}{\text{time(3min)}} * D.F.$$

إذ ان: D.F محلول التخفيف dilution factor.

3-2-9. الفحوصات الهرمونية: Measurements of hormones

تم تقدير مستويات الهرمونات في مصل الدم باستخدام طريقة التقدير المناعي الممتص المرتبط انزيمياً Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) و كانت القراءة الامتصاصية على الطول الموجي 450 نانومتر، حيث تم قياس تراكيز الهرمونات : (هرمون الشحمون الخصوي T- الهرمون المحفز للجريباتFSH - الهرمون اللوتيني LH) في مصل الدم باستخدام عدة قياس (KIT) بواسطة جهاز ELISA reader المصنع من شركة Monobind- Inc ذات المنشأ الأمريكي ، تمت الفحوصات الهرمونية في مختبر الرسول في محافظة كربلاء المقدسة وهي كالاتي :

3-2-9-1. قياس مستوى تركيز هرمون الشحمون الخصوي Estimation of Testosterone hormone level :

تم قياس مستوى التركيز للهرمون وفق طريقة Tietz (1995) وحسب الخطوات التالية: -

1- تم ثبيت العدد المناسب من الحفر Wells فوق الحامل او المسند الخاص بها الذي تم تجهيزه مع طقم الهرمون .

2- اخذ احجام متساوية من مصل الدم والمادة القياسية Standard بمقدار 20 µl، والتي ثم وضعها في الحفر المهيأة لها .

3- إضافة 50 µl من كاشف Testosterone- Hrp لكل حفرة .

4- إضافة 50 µl من الكاشف مضاد هرمون الشحمون الخصوي و المستخلص من الجرذان Rat antiserone Reagent لكل حفره .

5- مزج المحتويات الحفر مزجا جيدا و لمدة (20-30) ثانيه وتم وضعها في الحاضنة لمدة 60 دقيقه بدرجة حراره 37 درجه مئوية.

6- غسل الحفر مع محتوياتها بواسطة الماء المقطر و يكون الغسل برفق و على نحو متقطع لخمس مرات، و يتجنب استعمال ماء الحنفية في الغسل.

7. يتم اضـــافـة كـاشـــف TMB (Tetramethylbenzidine) لكـل حفرة و بمقـدار 100 µl مايكرولتر .
8. حضـــن الحفر مع محتويـاتهـا لمـدة (20) دقيقـة بـدرجـة حرارة الغرفـة والتي تتراوح مـا بين (18-25) درجه مئوية في الظلام .
9. يضاف محلول الموقف للتفاعل Stop Solution (حامض HCL ذو عيارية (1) N) و بمقدار 50 µl لكل حفره مع مزجه بهدوء و لمدة (15-20) ثانيه ليوقف التفاعل .
10. قرأت الامتصاصية باستخدام جهاز (Elisa Reader) لمحتويات كل حفره عند الطول الموجي 450 نانوميتر.

2-9-2-3. قياس مســـتوى الهرمون المحفز للجريبات Estimation of Follicles Stimulating hormone level :

تم قياس مستويات تركيز الهرمون وفقاً لطريقة (Simoni *et al.*,1997) وحسب الخطوات التالية: -

1- تم ثبيت العدد المناســب من الحفر Wells فوق الحامل او المســند الخاص بها الذي تم تجهيزه مع طقم الهرمون .

2- يؤخذ مقدار 50 µl بشكل متساوي لكل من المصل ومواد السيطرة والمادة القياسية Standard ، بعد ذلك وضعت في الحفر المهيأة لهذا الغرض .

3- اضافة 100 µl من الكاشف الانزيم الرابط Enzyme conjugate و لكل حفره .

4- خلطت محتويات الحفرة ومزجت بشكل دقيق و لمدة 20-30 ثانيه ، بعدها حضنت الصفيحة ولمدة 60 دقيقه بدرجة حرارة الغرفة (18-25) .

5- بعد الحضــن تم سـكب الخليط من الحفر و من ثم غسـلت الصـفيحة بالماء المقطر و لخمس مرات بعدها تم وضـــع الحفر بالمقلوب على ورق نشـــاف لكي يتم التخلص من قطيرات الماء الزائدة بعد الغسل .

6- يضـاف بعدها 100 µl من المادة العاملة TMB لكل حفرة ، بعد ذلك تم مزجها برفق و لمدة (10) ثانية وحضنت الصفيحة بمحتوياتها لمدة 15 دقيقه و عند درجة حرارة الغرفة في مكان مظلم .

7- إضـــافة المحلول الموقف Stop solution (1 N HCL) بمقدار 50 µl لكل حفرة ، ثم بعدها يتم مزج المحتويات بدقه لمدة 15-20 ثانية.

8- بعدها تم قراءة الامتصـاصـية لكل حفرة عند الطول الموجي 450 نانومتر بواسـطة اسـتخدام جهاز ELISA reader (Simoni *et a.*,1997) .

3-9-2-3. قيـاس مســـتوى الهرمون المحفز للخلايـا البينيـة (الهرمون اللوتيني Luteinizing Estimation of Inter Cellular Stimulating Hormone level (Hormone

تم قياس مستوى التركيز للهرمون وفق طريقة Kosasa (1981) وحسب الخطوات التالية: -

1- تم ثبيت العدد المناسب من الحفر Wells فوق الحامل او المسند الخاص بها الذي تم تجهيزه مع طقم الهرمون .

2- يؤخذ مقدار 50 µl بشكل متساوي لكل من المصل ومواد السيطرة والمادة القياسية Standard ، و توضع في الحفر المهيأة لهذا الغرض .

3- إضافة 100 µl من كاشف الانزيم الرابط Enzyme conjugate لكل حفره .

4- خلطت محتويات الحفرة ومزجت بشـكل دقيق و لمدة 20-30 ثانيه ، بعدها حضـنت الصـفيحة ولمدة 60 دقيقه بدرجة حرارة الغرفة (18-25) .

5- بعد الحضن تم سكب الخليط من الحفر و من ثم غسلت الصفيحة بالماء المقطر و لخمس مرات بعدها تم وضع الحفر بالمقلوب على ورق نشاف لكي يتم التخلص من قطيرات الماء الزائدة بعد الغسل .

6- يضـــاف بعدها 100 µl من المادة العاملة TMB لكل حفرة ، بعد ذلك تم مزجها برفق و لمدة (10) ثانية وحضنت الصفيحة بمحتوياتها لمدة 15 دقيقه و عند درجة حرارة الغرفة في مكان مظلم .

7- إضـــافة المحلول الموقف Stop solution (1 N HCL) بمقدار 50 µl لكل حفرة ، ثم بعدها يتم مزج المحتويات بدقه لمدة 15-20 ثانية.

8- بعدها تم قراءة الامتصـاصـية لكل حفرة عند الطول الموجي 450 نانومتر بواسـطة اسـتخدام جهاز ELISA reader .

3-2-10. دراسة معايير النطف Sperms Parameters Study

3-2-10-1. تركيز النطف في البربخ: Sperms Concentration in Epididymis

بعد استئصال البربخ الايسر مباشرةً من الحيوان تم تقطيعه بواسطة مشرط حاد لكي نستخرج النطف الموجودة فيه في (1) مل من المحلول الفسيولوجي normal saline السكري و بتركيز 5 % انتاج الشركة المصـــرية (ADWIC) ، بعدها تم تدفئة المزيج في الحاضـــنة و بدرجة حرارة (37 م^{o}) ، بعد ذلك تم اخذ قطره من المزيج بوساطة ماصة باستور و التي وضعت على شريحة زجاجية نظيفة و معقمة خاصة بالعد Improved Hemocytometer بعد ما تم تدفئتها داخل الحاضنة ، ثم تم وضع غطاء الشريحة الزجاجية Cover slide عليها و فحصها تحت مجهر ضوئي نوع Olympus بقوة تكبير (40X) ، وتم الاعتماد على الطريقة الموصوفة في Ranawat and Bansal (2009) في حساب تركيز النطف ، بحيث تم الحساب في الحقول الخمسة الصغيرة المخصصة لعد كريات الدم الحمراء و بعدها سجلت القراءات و ضرب الناتج $\times 10^{6}$ لمعرفة تركيز النطف في (1 مل) من البربخ .

3-2-11. جمع عينات الأنسجة: Collection of tissue samples

بعد الانتهاء من عملية ســحب الدم من الحيوانات تم تشــريح الحيوانات بشــكل مباشــر عن طريق فتح التجويف البطني بواسطة مشرط ومقص حاد من الاسفل ، بعدها تم استئصال الاعضاء الخاضعة للدراسة (الخصى و البرابخ) ، ثم غسلت بالماء لإزالة الدم الموجود عليها ، بعده تم وضعها على ورق ترشيح لغرض تجفيفها ، ثم قطعت هذه الاعضاء الى قطع صغيرة بشكل عرضي و طولي لكي يتم حفظها بسهولة و ضمان وصـــول المادة الحافظة اليها ، تم حفظ هذه العينات في الفورمالين بتركيز10% في عبوات بلاستيكية نظيفة و معلمة و تم غلقها بأحكام لحين اجراء التقطيع النسجي عليها .

3-2-12. تحضيرات المقاطع النسجية: Histological preprations

تم اخراج العينات المحفوظة في الفورمالين بتركيز 10% وغسلها بالماء الجاري وبعدها اجريت عليها سلسلة من العمليات اعتماداً على الطريقة (Bancroft & Stevene., 2010)، وكما في الخطوات الأتية:

3-2-12-1. الأنكاز: Dehydration

مررت العينات بسلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي و التي تبدأ بتركيز (70%، 80%، 90%، 100%، 100%) ولمدة ساعتين في كل تركيز لغرض سحب الماء من النسيج بصورة تدريجية .

3-2-12-2. الترويق: Clearing

تم ترويق العينات بوضعها بمحلول الزايلين Xylene مرتين و لمدة 5 دقائق لكل مرة لإزالة محلول الانكاز و جعل العينة اكثر شفافية .

3-2-12-3. التشريب: Infiltration

بعد الانتهاء من عملية الترويق تم نقل النماذج الى قناني زجاجية حاوية على خليط من شمع البرافين Paraffin wax المنصهر والمرشح (درجة انصهاره 57-60˚م) والزايلين بنسبة 1:1 لمدة نصف ساعة داخل فرن كهربائي درجة حرارته 57˚م وذلك لإبقاء الشمع منصهراً ولضمان تمام عملية التشريب الكامل للنماذج بالشمع ، بعدها نقلت الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين المنصهر داخل الفرن ايضاً لمدة ساعة واحدة بعد ذلك نقلت مرة اخرى الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين لمدة ساعة واحدة ايضاً.

3-2-12-4. الطمر: Embedding

تم طمر العينات في قوالب حديدية خاصة بواسطة شمع البرافين، وتم استخدام ابرة سخنت على لهب لإزالة الفقاعات حول العينة وتركت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ثم فصلت عن القالب وحفظت حتى وقت تقطيعها الى مقاطع نسجيه.

3-2-12-5. التشذيب والتقطيع: Trimming and Sectioning

شذبت قوالب الشمع الحاوية على العينات بواسطة مشرط حاد ، بعدها تم تثبيتها في جهاز المشراح اليدوي الدوار Rotary Microtome لتقطيع النماذج وقطعت بسمك 5 مايكروميتر، ثم حملت اشرطة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة بعد ان وضعت في حمام مائي درجة حرارته (45-50) درجة مئوية لمدة دقيقة واحدة لضمان فرش النسيج جيدا ، ثم وضعت على صفيحة ساخنة Hot Plate لكي تجف بدرجة حرارة 37 ْم لمدة ساعة واحدة ثم تركت بدرجة حرارة المختبر 24 ساعة .

3-2-12-6. التصبيغ: Staining

تم وضع الشرائح الزجاجية في الزايلين و لمدة (5) دقائق لكي يتم التخلص من بقايا الشمع الموجود ، بعدها تم تمريرها بسلسلة من تراكيز الكحول الاثيلي تنازلياً (100%، 100%، 90%، 80%، 70%) و لمدة ثلاثة دقائق لكل تركيز ، بعد ذلك تم تصبيغ جميع المقاطع النسجية باستعمال صبغة الهيماتوكسلين-ايوسين Haematoxylin-Eosin stain والتي تم تحضيرها مسبقاً و كما يلي :

3-2-12-6-1. صبغة الهيماتوكسلين هارس: Harris, Hematoxylin Stain

و هي من الصبغات القاعدية التي تستعمل بصورة عامه لتلوين النواة بلون ازرق غامق و التي تتكون من :

ت	المادة	الكميه
1	مسحوق الهيماتوكسلين	2.5 غم
2	شب البوتاسيوم $AIK(SO_4)_2.12H_2O$ او شب الامونيا $NH_4AI(SO_4)_2.12H_2O$	50 غم
3	كحول اثيلي مطلق	25 مل
4	ماء مقطر دافئ	500 مل

5	اوكسيد الزئبقيك الأحمر ((Red mercuric oxide))	1.25 غم
6	حامض الخليك الثلجي ((Glacial acetic acid))	20 مل

حضر الملون حسب الخطوات التالية اعتمادا على (Suvarna *et al*., 2013) :

أذيب الهيماتوكسلين بالكحول المطلق بعدها اضيف الى الشب المذاب بالماء المقطر الدافئ ، ووضع هذا المزيج على مصدر حراري حتى بلغ درجة الغليان ، ثم اضيف اليه أوكسيد الزئبقيك الأحمر الى المزيج في الدورق و تم تبريده بشكل مباشر عبر وضعه في الماء البارد و بعدها تم إضافة حامض الخليك الثلجي اليه ورشح الخليط قبل الاستعمال لتصبح الصبغة جاهزة للاستخدام .

3- 2- 12- 6- 2. صبغة الأيوسين الكحولي Eosin stain

حضرت صبغة الايوسين اعتمادا على (Suvarna *et al* ., 2013) ، إذ تم اذابة الأيوسين في الكحول بشكل جيد بعدها أضيف إليه حامض الخليك الثلجي ورشح بواسطة ورق ترشيح قبل الاستخدام في اليوم اللاحق .

ت	المادة	الكمية
1	مسحوق الأيوسين	1 غم
2	حامض الخليك الثلجي ((Glacial acetic acid))	1 مل
3	الكحول الاثيلي بتركيز 70 %	99 مل

لونت الشرائح باستعمال ملون الهيماتوكسلين – ايوسين اعتمادا على (Suvarna *et al*., 2013) ، اذ لونت بملون الهيماتوكسلين لمدة (4-5) دقيقة، بعدها غسلت الشرائح الزجاجية بالماء الجاري ولمدة دقيقتين ، ثم غطست بالكحول الحامضي لمرتين او ثلاث مرات لإزالة الصبغة الزائدة ثم لونت بملون الايوسين

لمدة 7 دقائق ونقلت بعدها الى سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70% ، 80% ، 90% ، 100% ، 100%) ولمدة دقيقتين لكل تركيز ما عدا التركيز الاخير والتي وضعت فيه لمدة 5 دقائق ثم روقت بالزايلين على مرحلتين لمدة 10 دقائق في كل مرحلة 5 دقائق.

3- 2- 12- 7. التحميل: Mounting

استخدمت مادة التحميل (D.P.X) Distrine Plasticizer Xylene لتثبيت أغطية الشرائح الزجاجية ، بعدها تركت الشرائح الزجاجية بدرجة حرارة المختبر لمدة 24 ساعة لتجف بعدها تكون جاهزة للفحص في المجهر الضوئي .

3-2-13. الفحص والتصوير المجهري Microscopic examination and Photomicrography

تم اجراء الفحص المجهري للشرائح الزجاجية لتحديد التغيرات الحاصلة في المقاطع النسجية المدروسة بواسطة استعمال المجهر الضوئي Light microscope و بقوى تكبير مختلفة ، كذلك تم تصوير الشرائح الزجاجية بواسطة المجهر الضوئي من نوع MEIJI light microscope والمزود بكاميرا رقمية نوع Canon ذات دقة عالية و موصلة الى جهاز الحاسوب واخذت مواقع مناسبه منها وبقوى تكبير مختلفة (10X و 40X) .

3- 2- 14. القياسات النسجية Histological morphomtry :

3-2-14-1. الخصيه Testes:

3-2-14-1-1. حساب معدل قطر النبيبات الناقلة للمني وتجويفها وخلايا الانطاف: Account of diameter of seminiferous tubule and spermatognic cells

تم استخدام المقياس العيني الدقيق Ocular micrometer في قياس النبيبات ناقلة المني و اقطار خلايا الانطاف وخلايا سرتولي بعد ما تم معايرته بالمقياس الدقيق المسرحي Stage micrometer (الهادي ، 1989) ، وتحت قوة 20 X حيث تم حساب معدل اقطار (10) نبيبات منويه و التي تكون منتظمة

الشكل اما دائرية او قريبه من الدائرية، في كل مقطع ثم حساب المعدل العام لاستخراج معدل قطر النبيب ناقل المني، كذلك تم قياس سمك الطبقة الجرثومية عن طريق قياس السمك من الغشاء القاعدي الى الفراغ للنبيب ناقل المني وبواقع (10) قراءات لكل حيوان، بعدها استخراج المعدل العام (Akdere *et al*.,2015).

2-14- 2-3 البربخ: Epididymis

تم استخدام المقياس العيني الدقيق تحت قوة 20 x في قياس أقطار نبيبات البرابخ للحيوانات، بحيث تم قياس اقطار النبيبات وتجويفها ذات الشكل الدائري أو القريبة من الدائري وبمعدل (10) قراءات لكل حيوان، بعدها استخرج المعدل العام لها، ثم بعدها تم قياس سمك الطبقة الظهارية المبطنة للبربخ من غشاء القاعدي إلى تجويف البربخ وبمعدل (10) قراءات لكل حيوان واستخرج المعدل العام لها (Balash *et al.*, 1987).

3-3 التحليل الاحصائي statistical analysis

حللت نتائج البحث احصائياً باستخدام التصميم تام العشوائية Design Randomized Completey و اختبرت معنوية الفروق بين المعدلات باستخدام اقل فرق معنوي Least significant (L.S.D difference عند مستوى المعنوية ($P<0.05$) اذ حللت النتائج احصائيا بواسطة تحليل التباين Anova One – Way واستخراج الخطأ القياسي Standard Error(SE) والمعدل Mean و حللت البيانات باستخدام برنامج SAS (SAS ., 2012).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results

&

Discussion

الدراسة الفسلجية أو الوظيفية

1-4 : تأثير مجموعة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم على معدل مستوى مضادات الأكسدة الكلوتاثيون (GSH) والمواد المؤكسدة المالونديهايد (MDA) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض و لمدة (30) يوم.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-1) حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدلات مستويات مضادات الاكسدة الكلوتاثيون (GSH) (0.14 ±14.41) لمصل دم مجموعة ذكور الجرذان المحقونة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم فقط ، و لمدة يومان في الأسبوع على طول مدة التجربة بالمقارنة مع مجموعة ذكور الجرذان للسيطرة السالبة (0.32 ±41.38) ، كما يلاحظ حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدلات مستويات المالوندای الديهاد (MDA) (0.18 ±54.29) لمصل دم مجموعة ذكور الجرذان المحقونة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم فقط ، و لمدة يومين في الأسبوع على طول مدة التجربة بالمقارنة مع مجموعة ذكور الجرذان للسيطرة السالبة (0.12 ±15.47) .

بصورة عامة ان انخفاض مستوى الكلوتاثيون يتزامن مع حدوث انخفاض في مستوى مضادات الاكسدة الاخرى مثل انزيمات Superoxide dismutase وGlutathione peroxidase و بهذا تزداد حساسية الخلايا للضرر التأكسدي مما يؤدي الى حدوث أكسده للدهون (Bartosikova *et al.*, 2003) ، اما المالنوديهايد (MDA) فيعدّ احد هذه النواتج (Halliwell &Gutteridge , 2015) وعليه يؤدي الى ارتفاع مستوى أصناف الأوكسجين الفعالة ويتفاعل مع مضادات الأكسدة Antioxidants ومنها الكلوتاثيون (GSH) مما يسبب انخفاض في تركيزه (Schieber& Chandel , 2014) ، كما جاءت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع ما توصل اليهAbdel Moneim ، (2014) و Hussein ، (2019) و Abdel-Wahhab وجماعته، (2021) و الذين أشارو بان رابع كلوريد الكاربون يسبب ضررا مؤكسدا في نسيج الخصية ويتضح هذا من الزيادة المعنوية الحاصلة في المواد المؤكسدة (MDA) وحدوث انخفاض معنوي في مضادات الاكسدة (GSH) في ذكور الجرذان المعاملة بمادة رابع كلوريد الكربون .

يعد رابع كلوريد الكربون مادة كيميائية تسبب الإجهاد التأكسدي عن طريق تحفيز إنتاج الجذور الحرة التي تسبب أكسدة الخلايا الجرثومية في الخصيتين (Agarwal *et al*., 2014) ، كذلك اثبتت الدراسات الحديثة أن إعطاء رابع كلوريد الكربون إلى ذكور الجرذان البالغة يؤدي الى زيادة في مستوى اكسدة بيروكسيدة الدهون (LPO) في أنسجة الخصية (Soliman & Fahmy, 2011; Khan, 2012) . تسبب الجذور الحرة انخفاضًا في محتويات GSH في الخصية وتغيرًا في الهرمونات التناسلية ، وأضرار الحمض النووي المؤكسد ، والطفرة الجينية ، (Jia *et al*., 2002 & Khan&Ahmed, 2009) ، كما تم استخدام رابع كلوريد الكربون على نطاق واسع للحث على الإجهاد التأكسدي في حيوانات التجارب و الذي يتسبب في اطلاق الجذور الحرة في العديد من الأنسجة مثل الكبد والكلى والقلب والرئة والخصية والدماغ والدم (Haghi *et al*., 2014). كذلك أكدت النتائج السابقة أن رابع كلوريد الكربون يسبب أضرارًا مؤكسدة لعدة أعضاء بما في ذلك الخصية ، ويكمن أساس سميته في توليد الجذور الحرة وتحريض الإجهاد التأكسدي من خلال تحويله الحيوي و النشط إلى شق ثلاثي كلورو ميثيل (•CCl3) بواسطة Cyt P-450 الكبدية (Dutta *et al* .,2018) . تتفاعل الجذور الحرة المتكونة مع الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة مما يؤدي إلى تكوين مستقبلات سامة مع الدهون والبروتينات الدقيقة (Rabiei *et al* .,2019). و عليه يؤدي إلى أكسدة الدهون وتلف أغشية الخلايا وإصابة الخصية (Szymonik-Lesiuk *et al* ., 2003) ، ايضاً يمكن تفسير التأثير السام لرابع كوريد الكربون عبر التقارب العالي مع نسيج الخصية، اذ تحتوي الخصيتان على السيتوكروم P450 و هذا بدوره ينشط تحويل رابع كلوريد الكربون إلى مستقلبات سامة (Paustenbach *et al*., 1986) ، حيث تمثل الخطوة الأولى في إصابة نسيج الخصية عبر تكوين رابع كلوريد الكاربون بوساطة السيتوكروم P450 جذور ثلاثي كلورو ميثيل (CCl3) وجذور ثلاثي كلورو ميثيل بيروكسيل (CCl3OO)، كما يؤدي الإفراط في إنتاج هذه الجذور الحرة إلى بدء أكسدة الغشاء الدهني والبروتيني ، مما يؤدي في النهاية إلى أضرار مختلفة في الخصية (Halliwell & Gutteridge ., 2007; Noureen *et al* ., 2017).

كما تتفق نتيجة الدراسة الحالية مع دراسة مع كل من Shah & Khan (2017) و Rahmouni وجماعته (2018) و الذين افادوا بأن رابع كلوريد الكربون تسبب في الإجهاد التأكسدي للخصية ، كذلك تتفق النتائج الحالية مع ما توصل اليه Sonmez و جماعته (2014) ، عن انخفاض إنزيمات مضادات الأكسدة في أنسجة الخصية في الحيوانات المعالجة برابع كلوريد الكربون وأشار إلى انخفاض التوافر البيولوجي

للكلوتاثيون بسبب تعزيز بيروكسيد الدهون أو تعطيل إنزيمات مضادات الأكسدة أثناء الإجهاد التأكسدي وتراكم أنيون الاكسيد الفائق O_2^- ، كما يمكن ان يشير الانخفاض في نشاط إنزيمات مضادات الأكسدة GR و GST و GSH في نسيج الخصية للحيوانات المعالجة برابع كلوريد الكربون إلى تثبيط البروتين بواسطة ROS لأن الضرر التأكسدي يؤدي إلى استنفاد وظيفة البروتين (Amzar & Iqbal., 2017) أو خلال الإفراط في إنتاج الجذور الحرة مما يؤدي إلى تعزيز بيروكسيد الدهون أو تعطيل آلية مضادات الأكسدة (Khan *et al*.,2012) ، كما اثبت Soliman & Fahmy (2011) و Khan (2012) أن إعطاء رابع كلوريد الكربون الحاد أو المزمن إلى ذكور الجرذان البالغة يؤدي الى زيادة في مستوى اكسدة بيروكسيدة الدهون (LPO) في أنسجة الخصية و ايضاً انخفاض في الإنزيمات المضادة للأكسدة.

2-4 : تأثير مجموعة المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350 ، 650 ملغم / كغم و مجموعة المستخلص المائي المعاملة برابع كلوريد الكربون على معدل مستوى مضادات الأكسدة الكلوتاثيون (GSH) والمواد المؤكسدة المالوندای الديهايد (MDA) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض و لمدة (30) يوم .

أوضحت نتائج الدراسة الحالية في الجدول (4-1) حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستويات مضادات الاكسدة الكلوتاثيون (GSH) (51.16± 0.23) (55.96±0.24) لمصل دم ذكور الجرذان للمجموعتين التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء فقط بتركيز (350،650) ملغم / كغم لمدة (30) يوم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (41.38± 0.32) ، وحصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستويات المالوندای الديهاد (MDA) (12.62±0.15)(8.32± 0.15) للتركيزين على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (15.47± 0.12).

كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-1) حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستويات مضادات الاكسدة الكلوتاثيون (GSH) (34.22 ±0.28)(40.44 ± 0.14) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (14.41 ± 0.14) ، و حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستويات المالوندای الديهاد (MDA) (19.34 ±0.26)(16.27 ± 0.14) في المجاميع الوقائية للجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (350-650) ملغم / كغم لمدة (30) يوم و المحقونة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100غم من وزن الجسم لمدة يومان في الأسبوع على طول فترة التجربة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (54.29± 0.18) .

تتفق نتائج دراستنا الحالية مع Mihir و جماعته (2019) في حصول ارتفاع معنوي في الكلوتاثيون للمجاميع المجرعة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء والذي اعتمد في دراسته على المستخلص الكحولي للفاكهة بتركيز (300 ، 500) mg/kg (Mahdi, *et al*., 2019) ، و الذي تم اجراء دراسته على الجرذان البيض لتحديد انخفاض مستوى معدل المالوندای الديهايد و الذي كان بسبب الدور الوقائي لفاكهة التنين الحمراء لاحتواء هذه الفاكهة على عدد من المركبات الفينوليه والفلافونيدية وفيتامينات منها فيتامين (C) حامض الاسكوربك و فيتامين (E) التوكوفيرول التي تكسح الجذور الحرة واصناف الاوكسجين التفاعلية

ROS و عليه تعمل على تثبيط الضـــرر التأكســـدي وتمنع بيروكســـيدة الدهون (عبد الشـــهيد ، 2020) (Mahdi, 2016) (Mahdi, *et al.*, 2019) .

كما أظهرت نتائج دراســـتنا الحالية جدول (4-1) انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مســـتوى معدل المالنودايالديهايد في المجاميع المجرعة بفاكهة التنين الحمراء و تتفق هذا النتائج مع توصـــل اليه Novita وجماعته (2020) و الذي أجريت دراســـته على الجرذان البيض المجرعة بمســـتخلص فاكهة التنين فلاحظ هنالك انخفاض معنوي في قياس مستوى تركيز الـــــMDA و ان سبب هذا الانخفاض يعزى الى المركبات الفعالة الموجودة في الفاكهة و التي توفر وظيفية بايلوجية مثل حامض السكوربيك بالتآزر synergistically مع فيتامين (E) التوكوفيرول لكســـح الجذور الحرة عن طريق منح ذرة الهيدروجين للجذور الحرة و بالتالي منعها من بيروكسدة الدهون المتواجدة في الاغشية الخلوية و بهذا يمنع او يقلل من اطلاق المالوندای الديهايد ، كما تتفق نتائج الدراســة الحالية مع كل (Ibrahim *et al.*, 2018) (Mihir *et al.*, 2019) (Yan *et al.*, 2020) ،

كذلك بينت نتائج الدراســـة الحالية في المجاميع الوقائية المجرعة بالمســـتخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء و المعاملة برابع كلوريد الكربون الى حدوث ارتفاع معنوي في تركيز GSH بالمقارنة مع مجموعة الســـيطرة الموجبة و يتفق هذا مع دراســـة Harahap و جماعته (2020) و التي أجريت على الجرذان البيض بالمســـتخلص المائي لفاكهة التنين لقياس تركيز الـــــGSH ، و متفقة أيضـــا مع Mihir وجماعته (2019) و الذي اجرى دراســـته على الجرذان البيض و المجرعة بمســـتخلص فاكهة التنين الحمراء لتحديد ارتفاع الكلوتاثيون و الذي يعود ســـببه لامتلاك هذه الفاكهة الى مركبات كيميائية نباتية فعالة لانها مضـــادات اكســـدة قوية و الغنية بالفيتامينات التي لها القدرة على الحماية من الاجهاد التـأكســـدي عن طريق تحطيم الجذور الحرة و تثبيط عمل بروكســـيدة الدهون (Ibrahim *et al.*, 2018; Mahdi, *et al.*, 2019;Harahap *et al.*, 2020 ; Yan *et al.*,2020).

كما أظهرت نتائج الدراســـة الحالية في المجاميع الوقائية المجرعة بالمســـتخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء و المحقونة برابع كلوريد الكربون انخفاض في مستوى معدل الـــMDA بالمقارنة مع مجموعة رابع كلوريد الكربون و هذه تتفق مع ما توصـــل اليه Mahdi و جماعته (2019) و التي أجريت على الجرذان البيض لاحظ هنالك انخفاض معنوي مستوى معدل المالوندای الديهايد للجرذان المجرعة بمستخلص الفاكهة

لاحتوائه على المضـادات الاكسـدة القوية و الفعالة في كسـح الجذور الحرة في الجسـم و منها ، الفلافونويد ، flavonoids, و مجموعة فيتامين B المركب و التي تشـمل : الثيامين thiamine ، النياسـين niacin ، البيريـدوكسـين pyridoxine ، كوبـالامين cobalamin ، الفينول، كـاروتين صـبغـة لأنثوسـيـانين anthocyanin . كذلك يعد الأنثوسيانين ذو نشاط فعال في الحد من الأضـرار التأكسدية عبر التبرع بذرات الهيدروجين للجذور الحرة، و بهذا يمنع إنتاج الجذور الحرة و تكوين الـــMDA ، و بهذا يتحقق توازن المؤكسـدات مع مضـادات الاكسـدة و عليه يؤدي الى التقليل من مسـتوى الاجهاد التأكسـدي و تلف الخلايا الأنسـجة (Sugiyanta *et al*.,2013) (Lianiwati,2011) ، كما تتفق نتائج دراسـتنا الحالية مع Aziz Abdul & Noor (2010) ، بان فاكهة التنين الحمراء لها تأثير سـريع على معاملات وظيفة الخصـية لما تظهره من نشـاطاً عاليا مضـادا للأكسـدة و الذي له العديد من الأدوار الايجابية في الجهاز التناسـلي (Morakinyo *et al* ., 2008) ، تمتلك الفينولات خواص لتكون من المواد المانعة للأكسدة حيث تقوم بدور فعال في كبح الجذور الحرة و محفزة لمناعة الجسم ومضادة للأمراض كذلك تعمل كمضاد للالتهابات Anti inflammatory ، و لها دور فعال في تعزيز مناعة الجسم تجاه الامراض كتصـلب الشـرايين وبعض انواع السرطان (Dharmendra *et al*, 2010 ; Katarzyna *et al*.,2011).

يعد حامض السكوربيك (فيتامين C) ضـروري للتخليق الحيوي biosynthesis للكولاجين collagen . والكارنيتين carnitine والناقلات العصـبية neurotransmitters و هو كاسـح للجذور الحرة فهو يعمل كمضـاد للاكسـدة ، مضـاد للتصـلب anti-atherogenic، مضـاد للسـرطان anti-carcinogenic، إضـافة لوظيفتـه المنـاعيـة immunomodulator (Naidu,2003) ، كمـا يعـد فيتـامين E α-tocopherol من الفيتامينات القابلة للذوبان في الدهون، ومهم في توفير الحماية للأغشـية من التلف الذي تسـببه الجذور الحرة، وتكمن وظيفته كمضاد للأكسدة في الحماية ضد بيروكسيد الدهون (Miller *et al*., 2005 ; Mayo,2005) ، كما تعد مركبات الفلافونويد من المضـادات للاكسـدة و اليه عملها كما اقترحها Tonny وجماعته (2017) هي التبرع بأيونات الهيدروجين لتقليل الآثار السـامة للجذور الحرة ، ويمكن أن تعمل بشـكل غير مباشـر من خلال زيادة التعبير الجيني المضاد للأكسدة الذاتية من خلال تنشيط العامل النووي 2 المتعلق بالعامل إرثرويد 2 nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) التي تؤدي إلى زيادة التعبير عن الجينات المشاركة في تخليق إنزيمات مضادات الأكسدة الذاتية (Wu & Cederbaum., 2009) ، و التي تم الكشف

عن هذه المركبات الفعالة في فاكهة التنين الحمراء بواسطة (عبد الشهيد ، 2020) ، اذ اتضح تأثيرهما في تثبيط تفاعلات تكوين الجذور الحرة Free radicales ، لكونها مركبات فعالة مانحة للهيدروجين لهذه الجذور ، وتعمل كنظام كاسح Scavengers لأصناف الاوكسجين التفاعلية ROS وتنشط تكوين الانزيمات المضادة للأكسدة كالكلوتاثيون وانزيم الكاتليز التي تمنع عملية بيروكسيدة الدهون التي تسبب تلف الانسجة . (Hernawati *et al*.,2018;Novita *et al*.,2020)

جدول (4-1) تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على مستوى مضادات الأكسدة الكلوتاثيون (GSH) و المالونداي الديهايد (MDA) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض المعاملة برابع كلوريد الكربون لمدة 30 يوماً .

المعايير Means ± S.E / المجاميع	MDA µ mol / L	GSH µ mol / L
السيطرة السالبة (G1)	15.47 ± 0.12 D	41.38 ± 0.32 C
رابع كلوريد الكربون السيطرة الموجبة 0.1 مل /100غم (G2)	54.29 ± 0.18 A	14.41 ± 0.14 F
مستخلص الفاكهة 350 ملغم / كغم (G3)	12.62 ± 0.15 E	51.16 ± 0.23 B
مستخلص الفاكهة 650 ملغم / كغم (G4)	8.32 ± 0.15 F	55.96 ± 0.24 A
مستخلص الفاكهة 350غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل /100غم (G5)	19.34 ± 0.26 B	34.22 ± 0.28 E
مستخلص الفاكهة 650 غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل /100غم (G6)	16.27 ± 0.14 C	40.44 ± 0.14 D
L.S.D	0.5138	0.69

- **المعدل ± الخطأ القياسي n=6**
- **المتوسطات التي تحمل حروف غير متشابهة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى الدلالة (P<0.05).**

3-4: تأثير مجموعة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم على معدل مستوى هرمون الشحمون الخصوي(T) والهرمون اللوتيني (LH) والهرمون المحفز للجريبات (FSH) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-2) حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدلات مستويات الهرمونات الجنسية Sex hormones المستخدمة في الدراسة الشحمون الخصوي T (0.01 ± 0.14) و الهرمون اللوتيني LH (0.006 ±0.04) والهرمون المحفز للجريبات FSH (0.007 ±0.06) لمجموعة ذكور الجرذان المحقونة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم و لمدة يومين في الأسبوع على طول مدة التجربة بالمقارنة مع مجموعة ذكور الجرذان للسيطرة السالبة (0.22± 5.25) (0.12 ±3.26)(0.04 ±2.92) على التوالي .

اتفقت نتائج دراستنا الحالية مع كل من Khan & Ahmed (2009) ومع Khan (2012) اللذان اثبتوا ان التعرض الحاد او المزمن لرابع كلوريد الكربون يؤدي الى حدوث اضطرابات في هرمونات الستيرويد وهرمونات الغدد التناسلية ، و ايضاً مع ما توصل اليه Hussein (2019) يتسبب رابع كلوريد الكربون سمية في الخصية يؤدي الى انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستويات هرمون FSH و LH و هرمون التستيرون T، و جاءت هذه النتيجة متفقة مع كل من Soliman & Fahmy (2011) و Pirinççioğlu و جماعته (2012) و Khan (2012) و Rahmouni وجماعته (2018) ، و الذين اشاروا إلى أن المركب الكيميائي رابع كلوريد الكربون يتسبب في انخفاض مستويات الهرمونات التناسلية في ذكور الجرذان و يمكن تفسير انخفاض مستويات هذه الهرمونات في المصل على الأرجح عبر تلف الإجهاد التأكسدي الناجم عن هذا المركب الكيميائي في أنسجة الخصية مع التنكس للخلايا الجرثومية بالإضافة إلى التأثيرات السامة لرابع كلوريد الكربون على نواة الوطاء فوق التصالبية (SCN) Suprachiasmatic nucleus مما يؤدي إلى فشل الغدة النخامية الأمامية في إفراز FSH و LH مما يؤدي إلى اختلال وظيفي في الخصية (Khan *et al.*, 2011)، او قد يرجع السبب الى الانخفاض الحاصل في هذه الهرمونات الى ارتفاع أصناف الاوكسجين الفعالة (ROS) والتي تتزامن مع انخفاض في مضادات الاكسدة وبالتالي يؤدي الى حصول اكسدة للبروتينات والدهون في اغشية خلايا الجسم بما فيها الدماغ (Mclachlan *et al.*,2002).

فضـلاً عن ذلك فقد ذكر Knol (1991) بشـكل عام كافة أنواع الاجهاد التأكسـدي تعمل على تثبيط في محور hypothalamus-pituitary-testis نظام (HPT) مما يؤدي الى انخفاض في مسـتويات الهرمون اللوتيني (LH) و هرمون التسـتوسـتيرون (T) كذلك يؤدي الى حصـول تنشـيط محور hypothalamus - pituitary- adrenocortical axis نظـام (HPA) ، كمـا يعمـل هرمون CRH (Corticotrophin releasing hormone) تثبيط افراز هرمون GnRH (Hypothalamic gonadotrophin-releasing hormone) و الذي يعمل على تثبيط او التقليل من افراز هرمونات LH و FSH من الغدة النخامية و الذي يتبعه بعد ذلك انخفاض في مستوى هرمون التستوستيرون الذي يؤثر بدوره على عملية تكوين النطف . او قد يعزى السـبب الى تحول هرمون الشـحمون الخصـوي التسـتوسـتيرون (T) الى الأسـترادیول (Estradiol) (الغزالي ، 2020) .

كما تتفق نتائج الدراســة الحالية مع ما جاء به Abdel Moneim (2014) ، بان إعطاء رابع كلوريد الكربون بتركيز 2 مل / كغم من وزن الجسـم (مرة واحدة في الأسـبوع ولمدة 12 أسـبوعًا) للجرذان البيض يتسـبب في انخفاض كبير في مسـتويات هرمون التسـتوسـتيرون في الدم ، والهرمون اللوتيني ، والهرمون المحفز للجريب ، كما يمكن أن يتسـبب رابع كلوريد الكربون في حدوث أكسـدة دهنية ، وتلف وزيادة نشـاط الإنزيمات المؤكسدة في الخصيتين ، كما أن أنشطة جميع الإنزيمات اللايسوسومية تزداد في خصية الجرذان ، وكذلك يسبب الإجهاد التأكسدي وانخفاض في أنزيمات مضادات الأكسدة وتثبيط الستيرويد الحيوي بواسطة أنواع الأكسـجين التفاعلية (ROS) التي تشـير إلى انخفاض في هرمون التسـتوسـتيرون (Abraham & Wilfred, 2000 ; Rajesh & Latha 2004; Ying-min *et al.*,2004; Tijani *et al* 2010). ، كما يســبب رابع كلوريد الكربون تليف الكبد المتقدم الذي يؤدي الى حدوث قصــور في الغدد التناســلية و كذلك انخفاض في هرمون التسـتوسـتيرون في الدم (Castilla-Cortazar *et al.*,2000) ، كما ذكر كل من El-Faras (2016) و جمـاعتـه و Rahmouni و جمـاعتـه (2019) ، بـأن رابع كلوريـد الكربون يسـبب انخفاض كبير في مسـتوى هرمون التسـتوسـتيرون في الدم ، وقد يعزى سـبب هذا الانخفاض بشـكل مباشــر من خلال تنكس خلايا لايدك بســبب الإجهاد التأكســدي المفرط (Al-Olayan *et al* ., 2014)، أو بشــكل غير مباشــر من خلال تحفيز P450 ، والذي يحفز إنتاج هرمون الاســتروجين من الأندروجين (Santos *et al* ., 2004 ; Chemes & Rawe ., 2010) ، كذلك تؤثر ســمية رابع كلوريد الكربون

على الغدة النخامية مما يؤدي إلى انخفاض في مستويات معدلات FSH و LH وهذا يؤدي إلى تثبيط التخليق الحيوي للستيرويد بواسطة خلايا لايدك مما يسبب في انخفاض هرمون التستوستيرون (Ismail & Al- nahri., 2009).

كذلك يمكن الاستنتاج في انخفاض مستوى هرمون التستوستيرون للجرذان المعاملة بواسطة رابع كلوريد الكربون من الفحص النسيجي للخصية الصور (4-3) و (4-4) و التي تظهر انخفاض واضح في اعداد خلايا لايدك المسؤولة عن تخليق وإفراز هرمون التستوستيرون و ملاحظة التنكس و التغيير و الانحطاط و النخر والضمور الحاصل في خلايا سيرتولي و الذي يؤدي بدوره الى انخفاض في مستوى هرمون التستوستيرون (Kaloyanova & Ivanova- Chemishanska, 1989;Cuningham & Klein,2007) ، وقد يكون هذا الانخفاض بسبب زيادة في مستوى هرمون الاستراديول في الدم مما يؤدي إلى إفراز خلايا سيرتولي لهرمون Inhibin والذي يسبب رد فعل سلبي على الغدة النخامية وتحت المهاد لمنع إطلاق GnRH و افراز FSH من الغدة النخامية (Martini ,2000;Hafez&Hafez,2000; Pineda & Dooley,2003;Bahmanpours *et al*., 2006) ، و تتفق نتيجة دراستنا الحالية مع دراسة Ismail & Al- nahri (2009) والذي يعزى انخفاض تركيز هرمون FSH إلى تأثير السلبي لرابع كلوريد الكربون على الغدة النخامية ، كما أن الإجهاد التأكسدي الناجم عن رابع كلوريد الكربون قد يتسبب في تقليل تركيز (FSH)(Khan & Ahmed 2009; Bansal & Bilaspuri,2011) .

وقد يعزى هذا الانخفاض الى الإجهاد التأكسدي الناتج عن إنتاج الجذور الحرة وتقليل الإنزيمات المضادة للأكسدة ، مما يؤدي إلى تقليل تركيز الهرمون (LH) (Khan & Ahmed 2009; Bansal & Bilaspuri,2011) ،عند التعرض الى المركب الكيميائي رابع كلوريد الكربون و لفترة طويلة سوف تتأثر الغدة النخامية ، قد يؤدي انخفاض في تخليق مستوى تركيز هرمون LH في الدم ، وهذه النتيجة تتفق مع Ismail & Al- nahri (2009) الذي أظهر أن رابع كلوريد الكربون يتسبب في انخفاض تركيز مستوى هرمون اللوتيني LH .

قد يُعزى هذا التأثير على الخصيتين إلى التأثير السام المباشر لرابع كلوريد الكربون على الأنسجة ومن المرجح أن يضعف استجابة الغدد التناسلية لـــ FSH و LH ويقلل من إنتاج هرمون التستوستيرون،

قد يؤثر رابع كلوريد الكربون على نواة فوق التصـــالبية (SCN) التي تنظم إفرازات هرمون الغدة النخامية (Abdel Moneim., 2014) .

كما أشـار Khalaf (2020) ان رابع كلوريد الكربون يسـبب انخفاض في مسـتوى FSH وLH نتيجة لأثاره السـمية على الغدة النخامية مما أدى إلى تثبيط التخليق الحيوي للسـتيرويد بواسـطة خلايا لايدك مما قد يؤدي إلى انخفاض هرمون التستوستيرون، او قد يكون بسبب ضمور خلايا لايدك بسبب تحفيز هذا المركب للإجهاد التأكسدي وزيادة الجذور الحرة في الخصية (Jorsaraei *et al*., 2010).

4-4: تأثير مجموعة المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350 ، 650 ملغم / كغم ومجموعة المستخلص المائي المعاملة برابع كلوريد الكربون على مستوى هرمون الشحمون الخصوي(T) والهرمون اللوتيني (LH) والهرمون المحفز للجريبات (FSH) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-2) حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى معدلات كل من هرمون الشحمون الخصوي T (7.11±0.04) (9.65±0.0) و الهرمون المحفز للخلايا البينية (اللوتيني) LH (4.12±0.06)(5.77± 0.09) والهرمون المحفز للجريبات FSH (3.58±0.06) (4.91±0.05) لمجموعتي الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء فقط بتركيز (650-350) ملغم / كغم لمدة (30) يوماً على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (5.25±0.22)(3.26± 0.12)(2.92± 0.04) على التوالي .

كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-2) حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى معدلات كل من هرمون الشحمون الخصوي T (2.88 ±0.04)(5.11± 0.06) والهرمون المحفز للخلايا البينية (LH) (2.52 ±0.10)(3.12 ± 0.10) والهرمون المحفز للجريبات FSH(1.96 ±0.04)(2.72 ± 0.07) لمجموعتي الجرذان الوقائية التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (650-350) ملغم / كغم لمدة (30) يوم و المحقونة برابع كلوريد الكربون لمدة يومين في الأسبوع على طول مدة التجربة على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (0.14± 0.01)(0.04± 0.006) (0.06± 0.007) على التوالي .

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع Kanedi و جماعته (2016) بان فاكهة التنين تزيد و بشكل فعال من تخليق هرمون التستوستيرون و تؤدي دورًا مهماً في تكوين الحيوانات المنوية ، و عليه يمكن استخدامها كأعشاب معززة للنشاط الجنسي والخصوبة عند الذكور ، مستخلص فاكهة التنين يعزز و بشكل فعال تركيز الأندروجين و يزيد من عدد الحيوانات المنوية وحيوية الحيوانات المنوية وحركة الحيوانات المنوية و عدد الحيوانات المنوية . و هذا قد يفسر ارتفاع مستويات هرمون التستيرون إذ إن التأثير الاندروجيني يتعلق بمستويات التستوستيرون في الدم (Amini & Kamkar , 2005) . و يعزى ارتفاع مستويات الهرمونات

الجنسـية في المجاميع التي جرعت فقط بالمسـتخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء الجدول (4-2) الى وجود السـابونيات Saponins و السـتيرويدات Steroids ، حيث في دراسـة مشـابهة الى دراسـتنا الحالية قام بها Shukla & Khanuja (2004) إذ وجد ان السابونين saponin والستروید steroid موجودين في نباتات عديده كأوراق نبات Tribulis terrestris L ويمتلكان خصـــائص تعزيز الخصـــوبة ومفيدين في علاج الضعف الجنسي الذي يحدث بسبب عدم توازن الهرمونات الجنسية ، كما تتميز فاكهة التنين الحمراء بوجود السابونيات Saponins و الستيرويدات Steroids و بشكل فعال جدا (Mihir *et al*., 2019 ; Cheok *et al*., 2020) ، كما ذكر Luo و جماعته (2014) أن مســتخلص فاكهة التنين يؤدي دورًا مهما في تكوين الســتيروید وتكوين الحيوانات المنوية ، من المرجح أن يكون التأثير الســتيرويدي لفاكهة التنين ناتجًا عن مركبات فيتوستيرول ، كما تم الكشف بواسطة Wang و جماعته (2011) عن أن ثمار فاكهة التنين تحتوي على بعض مشــتقات فيتوســتيرول مثل بيتوســتيرول ، ســتيغماســتيرول ، كامبيســترول تم التعرف على الستيرولات كمواد خام جيدة لإنتاج هرمونات الستيروید ، قد تكون الزيادة في الأنشطة الستيرويدية في ذكور الجرذان التي يتم تجريعها بواسطة مستخلص فاكهة التنين مرتبطة أيضًا بدور المركبات النشطة بيولوجيًا مثل octadecadienoic acid; eicosane; squalene; octadecane; hexadecyl oxirane; ergosta-4, 6, 8 (Hoesla *et al*., 2005) ، كما اشرنا سابقا يسبب بيروكسيد الدهون قلة في انتاج وإفراز GnRH تحت المهاد و هذا يؤدي إلى فشـــل الغدة النخامية في انتاج وإفراز كل من هرمون (FSH) و (LH) و بذلك تفشـل خلايا لايدك في تصـنيع هرمون التسـتوسـتيرون و كذلك تكون خلايا سـيرتولي غير قادرة على أداء وظيفتها بالشكل الطبيعي (Nugroho , 2007) .

تزيد فاكهة التنين الحمراء من مضادات الأكسدة في الجسم و قد يؤدي هذا إلى تحسن منطقة ما تحت المهاد تدريجياً وزيادة في إفراز GnRH ، كما تؤدي الزيادة في إفراز GnRH إلى زيادة في إفراز الغدة النخامية للهرمونات LH و FSH كما تحفز وظيفة الهرمون LH خلايا لايدك على إنتاج هرمون التستوستيرون ، اما هرمون FSH فهو يتفاعل مع خلايا سيرتولي لتحفيز بروتين الأندروجين الرابط Androgen (ABP) binding protein –الذي يعد مستقبل لهرمون التستوستيرون في الدم ، كما يؤدي زيادة إفراز الهرمونات LHو FSH إلى زيادة في بروتين الاندروجين الرابط وهرمون التستوستيرون ، كما جاءت هذه النتائج متفقة مع Itishom وجماعته (2020) والتي أجريت على الجرذان البيض،التي جرعت بتركيز 250 ملغم / كغم

من وزن الجسم من المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء يمكن أن تزيد من مستويات هرمون التستوستيرون ، وجاءت هذه النتائج متوافقة ايضا مع ما توصل اليه Kanedi و جماعته (2016) حيث وجد أن مستخلص فاكهة التنين يزيد و بشكل فعال من تخليق هرمون التستوستيرون و يزيد من عدد الحيوانات المنوية ، وحيوية الحيوانات المنوية ، وحركة الحيوانات المنوية وبالتالي يمكن استخدام أعشاب فاكهة التنين كمعزز للنشاط الجنسي والخصوبة عند الذكور .

جدول رقم (4-2) تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على مستوى هرمون الشحمون الخصوي(T) والهرمون اللوتيني (LH) والهرمون المحفز للجريبات (FSH) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض المعاملة برابع كلوريد الكربون لمدة 30 يوماً .

المعايير / المجاميع (Means ± S.E)	التستيرون T mIU / ml	اللوتيني LH mIU / ml	المحفز للجريبات FSH mIU / ml
السيطرة السالبة (G1)	5.25±0.22 C	3.26±0.12 C	2.92± 0.04 C
رابع كلوريد الكربون السيطرة الموجبة 0.1 مل /100غم (G2)	0.14 ± 0.01 E	0.04 ± 0.006 E	0.06 ± 0.007 F
مستخلص الفاكهة 350 ملغم / كغم (G3)	7.11 ± 0.04 B	4.12 ± 0.06 B	3.58 ± 0.06 B
مستخلص الفاكهة 650 ملغم / كغم (G4)	9.65 ± 0.0 A	5.77 ± 0.09 A	4.91 ± 0.05 A
مستخلص الفاكهة 350غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل /100غم (G5)	2.88 ± 0.04 D	2.52 ± 0.10 D	1.96 ± 0.04 E
مستخلص الفاكهة 650 غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل /100غم (G6)	5.11 ± 0.06 C	3.12 ± 0.10 C	2.72 ± 0.07 D
L.S.D	0.3075	0.2656	0.1528

- المعدل ± الخطأ القياسي n=6

- المتوسطات التي تحمل حروف غير متشابهة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى الدلالة (P<0.05).

5-4: تأثير مجموعة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم على مستوى معدل تركيز النطف لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-3) حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدلات مستوى تركيز النطاف لمجموعة ذكور الجرذان المحقونة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم من وزن الجسم فقط ولمدة يومين في الأسبوع على طول مدة التجربة (70.16± 0.70) بالمقارنة مع مجموعة ذكور الجرذان للسيطرة السالبة (230.83± 0.60).

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع كل من Khan (2012) و Yuce و جماعته (2013) و Türk و جماعته (2016) و Okolo و جماعته (2016) و El-Faras و جماعته (2016) ، ان اعطاء رابع كلوريد الكربون الى الجرذان البيض يؤدي الى انخفاض كبير في تركيز الحيوانات المنوية و حركتها مقارنةً بمجموعة السيطرة ، و قد يعزى سبب انخفاض تركيز الحيوانات المنوية بسبب الإجهاد التأكسدي الذي يسببه رابع كلوريد الكاربون والذي يؤثر على تركيز الحيوانات المنوية، وجودة الحيوانات المنوية وخصوبة الذكور، كما أن خلايا الحيوانات المنوية معرضة بشدة للجذور الحرة، و عليه فهي مؤكسدة، كذلك يسبب الإجهاد التأكسدي تثبيط تخليق الستيرويد الحيوي لخلايا لايدك مما يؤدي إلى فقد النطاف (Helfenstein *et al.*, 2010) ، كما يعزى سبب انخفاض تركيز و حركة الحيوانات المنوية في ذكور الجرذان المعاملة برابع كلوريد الكربون إلى بيروكسيد الدهون ، بسبب أغشية الحيوانات المنوية للثدييات غنية بالأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة (PUFAs) وهي حساسة جدا للضرر الناجم عن الأكسجين الناتج عن أكسدة الدهون ، و عليه فهي حساسة لهجوم ROS الذي يؤدي إلى تقليل تركيز الحيوانات المنوية وحركتها (Yoshida *et al.*, 2005;Bansal & Bilaspuri.,2011)، تعد عملية تكوين الحيوانات المنوية تكرارية نشطة للغاية ولها معدلات عالية من انقسام الخلايا تؤدي هذه العملية إلى ارتفاع معدلات استهلاك الأوكسجين في الميتوكوندريا من قبل الخلايا المولدة للحيوانات المنوية والظهارة الجرثومية ، ومع ذلك، فإن ضعف الأوعية الدموية في الخصيتين يعني أن تركيز الأكسجين في هذا النسيج منخفض وأن المنافسة على هذا العنصر الحيوي داخل الخصيتين شديدة للغاية، على الرغم من توترات الأكسجين المنخفضة التي تميز البيئة الدقيقة للخصية، تظل الحيوانات المنوية والخلايا الأخرى داخل الخصية عرضة للإجهاد

التأكســـدي بســـبب وفرة PUFAs العالية ووجود أنظمة محتملة لتوليد أصـــناف الاوكســـجين الفعالة . (Aitken & Roman., 2008)

كما تتوافق نتائجنا الحالية مع دراســـة كل من Khan (2012) و Yu¨ce وجماعته (2013) التي أظهرت انخفاض عدد الحيوانات المنوية وحركتها ، و زيادة شـذوذ في شـكل الحيوانات المنوية ، و قد يعزى ذلك لزيادة بيروكسيدة الدهون LPO وانخفاض نشاط إنزيم مضادات الأكسدة ، كما يتضح من زيادة مستوى MDAوانخفاض نشـاط GSH الذي يسـببه رابع كلوريد الكاربون في دراسـتنا هذه ، و تعد قابلية الحيوانات المنوية الحية معيارًا حقيقيًا لتقييم إمكانات خصوبة الذكور ويمكن أن تتأثر بالإجهاد التأكسدي الذي يسببه رابع كلوريد الكربون و الذي يتســـبب في إلحاق الضـــرر بالحيوانات المنوية و حركتها وحيويتها ، لهذا ارتبطت مســـتويات ROS المرتفعة في البلازما المنوية بتثبيط وظيفة الحيوانات المنوية وحيويتها بســـبب أكســـدة الأحماض الدهنية الغشـــائية المتعددة غير المشـــبعة (Saleh & Agarwal ., 2002; Bansal & (Bilaspuri,2009; DAS *et al.*, 2009

في حين أشـــارت دراســـة Ahmed وجماعته (2011) أن زيادة مســـتوى أكســـيد النيتريك بواســـطة رابع كلوريـد الكربون لـه تـأثيرات ضـــارة على وظـائف الحيوانـات المنويـة الطبيعيـة ممـا يثبط حركـة الحيوانـات المنويـة ولـه ارتبـاط ســـلبي بتشـــكيـل الحيوانـات المنويـة وتفتـت الحمض النووي .(Bansal & Bilaspuri 2011)

كما يشـير الفحص النسـيجي الصـور (4-3) و (4-4) الى تأثير الإجهاد التأكسـدي في تكوين الحيوانات المنوية مع توقف نضـج الخلايا المنوية و بالتالي يسـبب تقليل عدد الحيوانات المنوية التي تصـل إلى البربخ و هذه النتيجة متفقه مع El-kholy و جماعته (2013)، كما ذكر كل من Horn و جماعته (2006) و Khan & Ahmed (2009) و Khan (2012) ، ان التعرض الى رابع كلوريد الكربون على المدى الطويل (من 20 يومًا إلى 16 أسبوعًا) يؤدي إلى أضرار جسيمة في الدورة المولدة للحيوانات المنوية مثل تقشير الظهارة الجرثومية ، ونضـــوب وانحلال الخلايا الجرثومية ، وانكماش الأنابيب ، وتفريغ الظهارة الجرثومية .كما تعزز أنواع الأكســـجين التفاعلية موت الخلايا المبرمج مما يؤدي إلى انخفاض تركيز الحيوانات المنوية وزيادة مسـتوى الكاسـبيسـات والبروتياز التي تزيد من موت الخلايا المبرمج في الحيوانات المنوية الناضـجة (Ahmed., 2019)، وذكر البـاحثون أن الحيوانـات المنويـة أكثر عرضـــة للإجهـاد التـأكســـدي

من الخلايا الأخرى بسبب قلة كمية السيتوبلازم وتركيز مضادات الأكسدة ROS في الحيوانات المنوية الناضجة فضلاً عن مستويات عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة في بنية الحيوانات المنوية (Sheweita *et al* ., 2016)، و قد يعزى سبب ذلك كون غشاء البلازما للحيوانات المنوية يحتوي على كمية عالية من الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة (PUFAs) لذلك هو عرضة بشكل خاص للتلف بسبب الأكسدة، اذ يدمر بيروكسيد الدهون LPO بنية مصفوفة الدهون في أغشية الحيوانات المنوية، و هذا يؤدي الى عيوب في سلامة الغشاء، وفقدان الحركة (Turner & Lysiak ., 2008) ، بالإضافة إلى ذلك، بما أن خلايا الخصية والبروستاتا و الخلايا الجرثومية تحتوي على إنزيمات السيتوكورمp450 (CYP) ، فمن الممكن أن يتسبب رابع كلوريد الكاربون في تلف مؤكسد في الدهون في هذه الأنسجة والخلايا ، و هذا يؤدي الى انخفاض كمية الحيوانات المنوية الناضجة في الخصية مع انحلال في الحيوانات المنوية وفقدان الحيوانات المنوية في أنبوب البربخ (Liu *et al*., 2007 ; Manjrekar *et al*., 2008).

كما أشار Khan & Ahmed (2009) ان التعرض الى رابع كلوريد الكربون يسبب خللًا في عمل الخصية بسبب فشل الغدة النخامية في إفراز الهرمونات (LH) و (FSH) ، و قد يؤدي انخفاض مستويات هرمون LHو FSH وهرمون التستوستيرون داخل الخصية إلى تثبيط عملية تكوين الحيوانات المنوية مما يؤدي إلى ضعف الخصية (Tohda *et al* ., 2001) ، جاءت هذه النتيجة متوافقة مع دراسة Momeni وجماعته (2012) والذي اكد ان التأثير الضار لرابع كلوريد الكربون والذي يسبب انخفاض في مستويات هرمونات FSHأو LH أو هرمون التستوستيرون هو السبب الرئيس في الانخفاض الحاصل في تركيز الحيوانات المنوية.

6-4: تأثير مجموعة المســـتخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350 ، 650 ملغم / كغم ومجموعة المســتخلص المائي المعاملة برابع كلوريد الكربون على مســتوى معدل تركيز النطف لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (3-4) حصول ارتفاع معنوي (P<0.05) في مستوى معدلات تراكيز النطف (302.00±0.73)(342.00± 0.73) لمجموعتي الجرذان التي جرعت بالمســـتخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء فقط بتركيز (350،650) ملغم / كغم لمدة (30)يوماً على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (230.83± 0.60) ، كذلك أظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (3-4) حصول ارتفاع معنوي (P<0.05) في مستوى معدلات تراكيز النطف (133.00 ±0.73)(203.16 ± 0.94) لمجموعتي الجرذان الوقائية التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (350،650) ملغم / كغم لمدة (30) يوم و المحقونة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم من وزن الجســم لمدة يومان في الأسبوع على طول فترة التجربة على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (70.16± 0.70).

تتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما توصل اليه كل من Abdul Aziz & Noor (2010) و Kanedi و جماعته (2016) و Cantika و جماعته (2019) ، اذ اظهر تجريع الجرذان البيض بالمســـتخلص المائي لفاكهة التنين يؤدي الى زيادة في عدد الحيوانات المنوية و حركتها و معدل انتاجها و حيوية الحيوانات المنوية ، كذلك تعزز وبشـــكل فعال اندروجين الخصـــى testicular androgenesis الضـــروري لتمايز الخصـــى واكتمالها ووظائف الســـترويد ، كما تعمل مضـــادات الأكســـدة وبشـــكل عام على القضـــاء على الآثار الضـــارة لأصـــناف الاوكســـجين الفعالة وبيروكســـيدة الدهون، وبالتالي فإن تثبيط عمل ROS من المرجح أن يحســن وظيفة الحيوانات المنوية (Borreli ., 2015) .اذ تزيد فاكهة التنين الحمراء من مضـــادات الأكســـدة في الجســم و قد يؤدي هذا إلى تحســن منطقة ما تحت المهاد تدريجياً وزيادة في إفراز GnRH ، كما تؤدي الزيادة في إفراز GnRH إلى زيادة في إفراز الغدة النخامية للهرمونات LH و FSH كما تحفز وظيفة الهرمون LH خلايا لايدك على إنتاج هرمون التستوستيرون المهم في تكوين الحيوانات المنوية ، كما تزيد فاكهة التنين الحمراء و بشـــكل كبير من عدد خلايا ســـرتولي (Wulandari *et al* ., 2020 ; I'tishom *et al* ., 2020)، حيث تؤدي الزيادة في خلايا ســرتولي الى

الزيادة في تركيز النطاف و نضج الخلايا الجرثومية (Mahriani., 2008) ، كما أشار Cantika و جماعته (2019) ، بأن فاكهة التنين الحمراء تحتوي على الصـــابونيات و التي تعمل مثل عقاقير الســـتاتين التي لها الخصائص الوقائية للخصيتين، بل إنه يزيد من معايير تركيز النطاف ويحسن ضعف الغدد الصماء التناسلية (Mahattanatawee *et al*., 2006). اذ استعملت في هذه الدراسة الجرذان البيض وتم تجريعها بمستخلص فاكهة التنين الحمراء بتركيز 500 ملغم / كغم ولمدة 25 يوم والتي زادت من عملية تكوين الحيوانات المنوية للجرذان (Cantika *et al*., 2019) ، كما أشـار Khalaf (2020) بان ترجع الزيادة في تركيز الحيوانات المنوية جزئيًا إلى زيادة مسـتويات هرمون التسـتوسـتيرون و FSH في أنسـجة الخصـية ، حيث تكون هذه الهرمونات مسؤولة عن تكوين الحيوانات المنوية وتكوين الحيوانات المنوية في الأنابيب المنوية ، في حين أن التستوستيرون مسؤول عن وظيفة البربخ في نضوج الحيوانات المنوية ، و عليه فإن التستوستيرون له دور في تكوين الحيوانـات المنويـة و تطور الحيوانـات المنويـة من الطبقـة الجرثوميـة من الأنـابيـب المنويـة ، و ضروري أيضا في توليد وتمايز الخلايا المنوية (Guyton & Hall ., 2001) .

كما أظهرت نتائج الدراســـة الحالية في المجاميع الوقائية المجرعة بالمســـتخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء و المحقونة برابع كلوريد الكربون زيادة معنوية في تركيز النطاف ، كما اشـرنا سـابقا يمكن أن تولد الجذور الحرة الناتجة عن رابع كلوريد الكربون بيروكسـيدات دهنية عالية النشـاط عبر الارتباط بالأحماض الدهنية المتعددة غير المشـبعة (PUFA) لغشـاء الحيوانات المنوية وتغيير في تركيز الحيوانات المنوية والمستويات الهرمونية والنشـاط الأنزيمية و بما انه الحيوانات المنوية غنية بـــ (PUFA) بالتالي يمكن أن تكون شـديدة التأثر بالإجهاد التأكسـدي (El-Kashoury *et al* .,2010) ، تعد فاكهة التنين الحمراء غنية بمضـادات الأكسـدة مثل المركبات الفينولية و حامض الأسـكوربيك والبيتالين (Mihir *et al*., 2019) ، حيث يعد حامض الأســكوربيك أحد مضـــادات الأكســـدة القوية جدًا التي يمكن أن تزيل الجذور الحرة و بشكل فعال و تقليل انتاج ROS الزائد ، و عليه حماية تلف الخصية ، كما تشير الزيادة الحاصلة في عدد الحيوانات المنوية عند مسـتويات الجرعة المختلفة من مسـتخلص فاكهة التنين إلى أن مسـتويات مضـادات الأكسـدة قد تزداد مع زيادة جرعة المسـتخلص و عليه تسـاعد على حماية الخلايا الجرثومية في الخصـية و الخلايا المنوية الأخرى من الإجهاد التأكسدي (Lee *et al* ., 2004; Wulandari *et al* ., 2020) .

يؤدي مستخلص فاكهة التنين دورًا مهما في تكوين الستيرويد و عليه تكوين الحيوانات المنوية ومن المرجح أن يكون التأثير الستيرويدي لفاكهة التنين ناتجًا عن مركبات فيتوستيرول (Luo *et al* ., 2014) ، و قد تم الكشف عن أن ثمار فاكهة التنين تحتوي على بعض مشتقات فيتوستيرول مثل بيتوستيرول ، ستيغماستيرول ، كامبيسترول كذلك تم التعرف على الستيرولات كمواد خام جيدة لإنتاج هرمونات الستيرويد (Wang *et al* ., 2011) ، تظهر نتائج الدراسات السابقة أن مضادات الأكسدة في الجهاز التناسلي الذكري تقلل الإجهاد التأكسدي في الخصية وتزيد من نشاط خلايا لايدك مما يؤدي إلى زيادة إفراز هرمون التستوستيرون وتحسين عملية تكوين الحيوانات المنوية (Glade & Smith ., 2015) ، كما اكد Raharjo و جماعته (2017) ، بان مستخلص فاكهة التنين الحمراء يزيد من تركيز الحيوانات المنوية و حركتها ويقلل من كمية التشوهات للحيوانات المنوية ، و يعزى ذلك الى قابلية المستخلص على تثبيط الإجهاد التأكسدي في الدم وأنسجة الخصية بسبب احتوائه على مضادات الاكسدة مثل الفينولات والفلافونيدات والبوليفينول (Wu *et al* .,2006; Cantika *et al*., 2019)، كما تتميز فاكهة التنين الحمراء بكونها مصدر غني بالمركبات الفينولية المتعددة ذات النشاط فعال والمضاد للأكسدة وهذه المركبات هي احدى مضادات الاكسدة القوية و الفعالة في كسح الجذور الحرة ، (Mihir *et al*., 2019) ، كذلك تعد فاكهة التنين الحمراء غنية بالمركبات الفعالة الأخرى مثل الكاروتينات والفينولات وصبغة البيتالين و التي تؤدي دورًا مهماً في عملية تجديد الخلايا ويمكن أن تزيد من خصوبة الذكور (Hutama *et al*., 2016) .

جدول رقم (4-3) تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على مستوى معدل تركيز النطاف في ذكور الجرذان البيض المعاملة برابع كلوريد الكربون لمدة 30 يوماً.

المعايير Means ± S.E المجاميع	تركيز النطاف $1ml \times 10^6$
السيطرة السالبة (G1)	230.83 ± 0.60 C
رابع كلوريد الكربون السيطرة الموجبة 0.1 مل /100غم (G2)	70.16 ± 0.70 F
مستخلص الفاكهة 350 ملغم / كغم (G3)	302.00 ± 0.73 B
مستخلص الفاكهة 650 ملغم / كغم (G4)	342.00 ± 0.73 A
مستخلص الفاكهة 350غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل /100غم (G5)	133.00 ± 0.73 E
مستخلص الفاكهة 650 غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل /100غم (G6)	203.16 ± 0.94 D
L.S.D	2.1581

- **المعدل ± الخطأ القياسي n=6**
- **المتوسطات التي تحمل حروف غير متشابهة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى الدلالة (P<0.05).**

الدراسة النسجية: Histological Study

4-7: تأثير مجموعة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم على نسيج الخصية ومعدل أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية ومعدل أقطار كل من سليفات النطف والخلايا النطفية وأرومات النطف وخلايا سرتولي مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.

بينت نتائج الفحص المجهري في الدراسة الحالية للمقاطع النسجية لخصى ذكور الجرذان في السيطرة السالبة الصور (4-1) و (4-2) عدم وجود أي تغيرات نسيجية مرضية و يظهر النسيج طبيعي ووضوح مراحل عملية تكوين النطاف و كذلك الخلايا المكونة لها ، و ملاحظة النبيبات المنوية الممتلئة بالنطف في نسيج الخصية مع طبقة الخلايا الظهارية الجرثومية من سليفات النطف و خلايا النطف الأولية مع ارومات النطف ، كذلك خلايا لايدك و خلايا سرتولي و التجويف الوسطي مع ملاحظة التوزيع الطبيعي لطبقات الخلايا الظهارية الجرثومية بدايةً من الطبقات المستندة على الغشاء القاعدي و المتمثلة بطبقة الخلايا المولدة للنطفSpermatogonia الى بقية طبقات خلايا الإنطاف في النبيب الناقل للمني .

كما اظهرت نتائج الفحص المجهري في الدراسة الحالية للمقاطع النسجية لنسيج الخصية في ذكور الجرذان المحقونة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم من وزن الجسم مجموعة السيطرة الموجبة و لمدة يومان في الأسبوع على طول فترة التجربة الصورة (4-3) و (4-4) وجود مسافات بينية بين النبيبات المنوية وانخفاض في حجم طبقة الخلايا الظهارية الجرثومية، انعدام النطف، وقلة خلايا لايدك، وزيادة قطر التجويف الوسطي، و تنخر الخلايا المبطنة للنبيبات وانخفاض اقطار النبيبات المنوية وانسلاخ وتضرر طبقات الخلايا المكونة لخلايا النطف ، واحتقان في النسيج البيني ، وتنكس في الخلايا.

كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية للقياسات النسجية للخصية و الموضحة في الجداول (4-4) (4-5) حصول انخفاض معنوي($P<0.05$)في معدلات اقطار النبيبات الناقلة للمني (201.48±1.56) وفي معدل سمك الطبقة الجرثومية (45.30± 0.94) ومعدل اقطار سليفات النطف (5.24± 0.01) والخلايا النطفية الأولية (6.84± 0.01) ووارمات النطف (4.47± 0.01) وخلايا سرتولي (8.14± 0.01)

لمجموعة ذكور الجرذان المحقونة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم فقط و لمدة يومان في الأسبوع على طول مدة التجربة بالمقارنة مع مجموعة ذكور الجرذان للسيطرة السالبة(300.12±7.39) (90.63±2.18) (6.51±0.01) (8.19±0.02) (5.57± 0.01) (9.94±0.02)، على التوالي ، اما في معدل قطر تجويف النبيبات اوضحت نتائج هذه الدراسة وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) (120.84± 0.84) بالمقارنة مع مجموعة ذكور الجرذان للسيطرة السالبة (2.2 ±99.54) .

تتفق نتيجة دراستنا الحالية مع ما توصلت اليه كل من دراسة Khan & Ahmed (2009) و Yuce و جماعته (2013) و Adeleke وجماعته (2016) ، يؤدي الاجهاد التأكسدي الذي يسببه رابع كلوريد الكربون في الجرذان البيض الى التغيرات النسجية المرضية الموضحة في هذه الدراسة مثل الانخفاض الحاصل في اقطار النبيبات المنوية في الخصية ، وقلة في خلايا لايدك ، و انخفاض في الخلايا المولدة للحيوانات المنوية ، انعدام او قلة في النطاف ، زيادة في مؤشر موت الخلايا المبرمج و التنكس في خلايا الخصية ، إضافة الى بعض الاضرار النسجية المرضية في الخصية مثل النخر و التنكس وانخفاض في حجم طبقة الخلايا الظهارية الجرثومية، و تنخر الخلايا المبطنة للنبيبات، و انسلاخ وتضرر طبقات الخلايا المكونة لخلايا النطف واحتقان في النسيج البيني (Horn *et al* ., 2006 ; Manjrekar *et al* ., 2008 ; Khan & Ahmed ., 2009 ; Khan ., 2012) ، قد يعزى سبب ذلك الى الزيادة الحاصلة في مستوى بيروكسدة الدهون وانخفاض نشاط مضادات الأكسدة بعد إعطاء رابع كلوريد الكربون والذي يؤدي إلى تلف انسجة الخصية وزيادة في مؤشر موت الخلايا المبرمج في الخصية (Sonmez *et al* ., 2014 ; Mazani *et al* ., 2020) ، كما تتفق نتائج دراستنا الحالية مع Rahmouni و جماعته (2018) ، ان رابع كلوريد الكربون يسبب ضمور في الانابيب المنوية و انخفاض في اقطارها و أيضا يسبب في حدوث تغيرات في دورة تكوين الحيوانات المنوية مما تسبب في تغيير إنتاج الحيوانات المنوية ونضجها .

يعتمد التطور الكامل والناجح للخلايا الجنسية الذكرية على التنسيق الجيد للغدد الصماء في منطقة ما تحت المهاد والغدة النخامية والخصية (Guyton & Hall ., 2016) ، اذ يدعم هرمون التستوستيرون تكوين الحيوانات المنوية ويزيد من نضج الخلايا المنوية ، وقد يؤدي تسهيل تطور نطاف الحيوانات المنوية وإطلاقها من خلايا سيرتولي إلى زيادة قطر الأنابيب المنوية (McLachlan *et al*., 2002; Haywood *et al*.,2003) ، يحفز رابع كلوريد الكربون الإجهاد التأكسدي ويزيد الجذور الحرة في الخصية و كذلك

يسبب تدمير خلايا لايدك المسؤولة عن تخليق وإفراز هرمون التستوستيرون وتقليل من عددها (Cuningham & Klein., 2007 ; Jorsaraei *et al* .2010) ، و قد يكون انخفاض خلايا سيرتولي بسبب فعالية رابع كلوريد الكربون و التي تقلل من حجم الخصية ووزنها وتشوهات الخصية ، و تكوين الحيوانات المنوية ، فضلاً عن الضرر النسيجي في الخصية (Castilla-Cortzar *et al.*,2004) . وقد يعزى سبب هذه التأثيرات التنكسية المرضية في نسيج الخصية الى الاجهاد التأكسدي الذي يسببه رابع كلوريد الكربون والزيادة في الجذور الحرة (Jorsaraei *et al* ., 2010) ، و التي تؤدي الى انخفاض في هرمون التستيرون الذي يفرز من خلايا لايدك Leydig Cell، و بالتالي يؤدي الى قلة في اعداد هذه الخلايا وانخفاض في حجم طبقة الخلايا الظهارية الجرثومية، و تنخر الخلايا المبطنة للنبيبات، و انسلاخ وتضرر طبقات الخلايا المكونة لخلايا النطف واحتقان في نسيج البيني و هذه النتيجة متوافقة مع ما توصل اليه Khan (2012) ، كما تتوافق نتائجنا الحالية مع Mazani و جماعته (2020) ان رابع كلوريد الكربون يسبب تغيرات تنكسية في انسجة الخصية و البربخ من خلال انتاج الجذور الحرة التي بدورها تقلل من عدد الحيوانات المنوية ، وتقلل من مستويات إنزيمات مضادات الأكسدة وتؤدي إلى نخر و تلف في نسيج الخصية وموت الخلايا المبرمج للخلايا المنوية ويقلل من قطر الأنابيب المنوية (Sonmez *et al* ., 2014) ، كذلك كشفت الدراسات السابقة أن رابع كلوريد الكربون تسبب في تغيرات تنكسية في الخصيتين على شكل تشويه للأنابيب المنوية مع فجوة وتنكس الخلايا الجرثومية ، تموج في الغشاء القاعدي المحيط بالعديد من الأنابيب المنوية مع انفصال وفقدان في بعض المناطق ، كما لوحظ سماكة الغشاء القاعدي في بعض الأنابيب بالإضافة إلى ذلك ، لوحظت زيادة ملحوظة في كمية الألياف الكولاجينية في الغشاء القاعدي للأنابيب المنوية وحول الأوعية الدموية مقارنة بمجموعة الجرذان السيطرة (Yüce *et al* ., 2014 ; Sahreen *et al*., 2015 ; Türk *et al* .,2016) .كما يمكن تفسير التغيرات المرضية التي تظهر في الخصية بسبب إعطاء رابع كلوريد الكربون عبر التقارب الوفير لأنسجة الخصية مع رابع كلوريد الكربون، حيث ترتبط الجذور الحرة التي يتم تحريرها من قبله بالأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة في غشاء الخلية المنوية لتوليد جذور ألكوكسي وبيروكسي والتي بدورها تغير تركيز الحيوانات المنوية وتغير المستويات الهرمونية وتقلل نشاط الإنزيم وتحريض إصابة الخصية أو تنخرها (Ogeturk *et al*., 2005).

4-8: تأثير مجموعة المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350 ، 650 ملغم / كغم ومجموعة المستخلص المائي المعاملة برابع كلوريد الكربون على نسيج الخصية وقياس معدلات أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية ومعدل أقطار كل من سليفات النطف والخلايا النطفية وأرومات النطف وخلايا سرتولي مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.

اوضحت نتائج الفحص النسجي لمجموعتي الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء فقط بتركيز (350،650) ملغم / كغم لمدة (30) يوماً الصورة (4-5) و (4-6)، حيث يلاحظ فيها النسيج الطبيعي للخصية مع كثافة عالية للحيوانات المنوية في الأنابيب المنوية، ووفرة في خلايا لايدك في النسيج البيني، وقلة قطر تجويف النبيب، كذلك يلحظ فيها ازدياد في عدد طبقات الخلايا الجرثومية المكونة للنطف، كما بينت النتائج الحالية للفحص النسجي للمجاميع الوقائية التي تم تجريعها بمستخلص فاكهة التنين الحمراء بتركيز (350) ملغم / كغم مع رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100غم من وزن الجسم الصورة (4-7) تأثيرات جزئية للمستخلص ضد السمية التي سببها رابع كلوريد الكربون ، إذ يلحظ فيها طبقة الخلايا المكونة للنطف و انتظام بعض النبيبات و زيادة النطف فيها مع ملاحظة خلايا لايدك و سمك الطبقة الظهارية الجرثومية و انخفاض في قطر تجويف النبيب ، لكن هذه التأثيرات الناتجة عن رابع كلوريد الكربون تبدأ بالتحسن عند استخدام التركيز (650) ملغم / كغم من وزن الجسم الصورة (4-8) اذ نلاحظ عودة النسيج الى شكله الطبيعي تقريبا مع امتلاء التجاويف بالنطف و تحسن واضح للنبيبات المنوية و انخفاض في قطر التجويف الوسطي ، كذلك زيادة في حجم و اعداد خلايا لايدك وزيادة في عدد طبقات الخلايا الجرثومية والزيادة في فعاليتها .

كما بينت نتائج الدراسة الحالية للقياسات النسجية للخصية والموضحة في الجداول (4-4) و (4-5) لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء فقط بتركيز (350) ملغم / كغم لمدة (30) يوم عدم وجود فروق معنويه ($p<0.05$) في قياس معدلات كل من اقطار النبيبات المنوية (310.31±5.48) ومعدل سمك الطبقة الجرثومية (92.48 ±1.02) وحدوث انخفاض معنوي ($p<0.05$)

في معدل قطر التجويف (94.66±2.20) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (300.12±7.39) (90.63±2.18) (99.54± 2.25) على التوالي ، اما في التركيز (650) ملغم / كغم فأظهرت النتائج في الجدول (4-4) و (4-5) هنالك ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في قياس معدلات كل من اقطار النبيبات المنوية (326.55±2.82) ومعدل سمك الطبقة الجرثومية (107.14±2.11) وحدوث انخفاض معنوي ($p<0.05$) في معدل قطر التجويف (81.73±1.00) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (300.12±7.39) (90.63±2.18) (99.54± 2.25) على التوالي ، كما أوضحت النتائج الخاصة بقياسات معدلات اقطار الخلايا النطفية الجدول (4-4) (4-5) للتركيزين (350، 650) ملغم / كغم من المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في كل من مستويات معدل أقطار سليفات النطف (6.80±0.01) (7.74±0.009) والخلايا النطفية الأولية (8.50±0.009) (9.40±0.009) وأرومات النطف (6.05±0.03) (6.98±0.01) ومعدل اقطار خلايا سرتولي (10.35± 0.01)(11.25± 0.01) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (6.51±0.01) (8.19±0.02) (5.57± 0.01) (9.94±0.02) على التوالي .

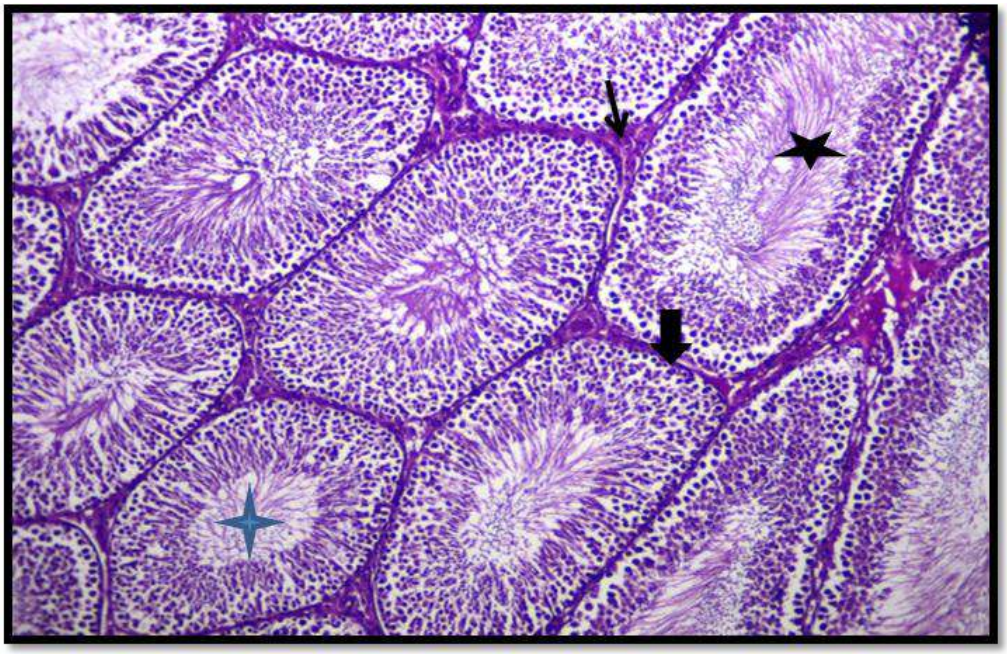
كما بينت نتائج الجدول (4-4) و(4-5) لمجاميع الجرذان الوقائية التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بالتركيزين (350،650) ملغم / كغم لمدة (30) يوم و المعاملة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 / 100 غم من وزن الجسم لمدة يومان في الأسبوع على طول فترة التجربة ، حصول ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في قياس معدلات كل من اقطار النبيبات المنوية (278.50 ±1.16) (292.90 ± 0.86) ومعدل سمك الطبقة الجرثومية (84.51 ±0.77)(86.76 ± 0.93) وحدوث انخفاض معنوي ($p<0.05$) في معدل قطر التجويف (104.91 ±0.99)(94.72 ± 1.21) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (201.48± 1.56) (45.30 ± 0.94) (120.84± 0.84) على التوالي ، كذلك حصول ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في كل من مستويات معدل أقطار سليفات النطف (6.25 ±0.01)(6.48 ± 0.01) و الخلايا النطفية الأولية (7.82 ±0.01)(8.18 ± 0.01) و أرومات النطف (5.53 ±0.01) (5.71 ± 0.01) ومعدل اقطار خلايا سرتولي (9.34 ±0.01)(9.84 ± 0.01) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (5.24± 0.01) (6.84± 0.01) (4.47± 0.01) (8.14± 0.01) على التوالي .

ان التجريع بمستخلص فاكهة التنين الحمراء اظهر أثراً ايجابياً على انسجة الخصية ومعدلات اقطارها في الجرذان البيض وهذه النتيجة تتفق مع دراسة Abdul Aziz & Noor (2010) اللذان أظهرا ان الفحص النسجي لخصية الجرذان البيض المعاملة بمستخلص فاكهة التنين أدى الى زيادة في معدل اقطار الأنابيب المنوية وكثافة عالية للحيوانات المنوية في الأنابيب المنوية ، كما تتفق دراستنا الحالية مع دراسة Cantika و جماعته (2019) الذي أشار الى ان اعطاء مستخلص فاكهة التنين الأحمر الى الجرذان البيض يؤدي إلى تحسن معنوي في عملية تكوين الحيوانات المنوية وزيادة معنوية في معدل خلايا النطاف (Ong ., 2011) ، كما ذكر Wulandari و جماعته (2020)، ان فاكهة التنين الحمراء تزيد وبشكل فعال من عدد وحجم خلايا سيرتولي Sertoli Cell وهذا يتبعه زيادة في إفراز السوائل للأنابيب المنوية، والتي لها دور مهم في توفير العناصر الغذائية والهرمونات في تنظيم نمو الخلايا الجرثومية وتمايزها وعملية تكوين الحيوانات المنوية (Mahriani ., 2008) .

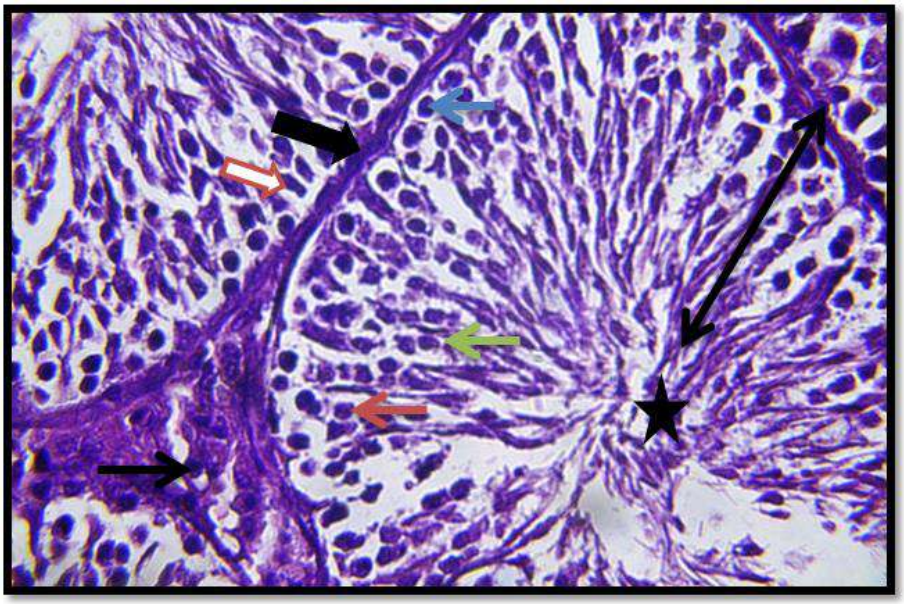
قد تعزى الزيادة الحاصلة في دراستنا الحالية في قياس معدلات كل من اقطار النبيبات المنوية ومعدل سمك الطبقة الجرثومية ومستويات معدل أقطار سليفات النطف والخلايا النطفية وأرومات النطف ومعدل اقطار خلايا سرتولي في النبيبات الناقلة للمني لمجاميع الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء فقط ، الى الزيادة الحاصلة في تركيز الاندروجين و الذي يزيد ايضاً من عدد الحيوانات المنوية و حيوتها و حركتها ، و كذلك للزيادة الحاصلة في تخليق الهرمونات مثل هرمون التستوستيرون الذي يلعب دورًا مهما في تكوين الحيوانات المنوية وهرمون المحفز للخلايا البينية ، والهرمون المحفز للجريبات FSH، والتي تعمل بألية تأزرية وتنسيق عالي في أتمام عملية الانقسام و التمايز و تطوير خلايا الانطاف cells Spermatogenic وبالتالي زيادة في معدل اقطار هذه النبيبات وأدامتها وبالتالي يمكن استخدام أعشاب فاكهة التنين كمعزز للنشاط الجنسي والخصوبة (Am *et al* ., 2011; Kanedi *et al* 2016) ، كما ان الزيادة في خلايا لايدك تؤدي الى الزيادة في هرمون التيستوستيرون وهو مهم لتطوير الخلايا المولدة للحيوانات المنوية بحيث تكون هناك علاقة كبيرة بين التستوستيرون وعدد خلايا لايدك في الخصية (I'tishom *et al* ., 2020) .

الزيادة الحاصلة في نتائج الدراسة الحالية للفحص النسجي للمجاميع الوقائية التي تم تجريعها بمستخلص فاكهة التنين الحمراء بتركيز (350،650) ملغم / كغم مع رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل/ 100غم من وزن الجسم، قد تعزى الى ان فاكهة التنين الحمراء غنية بوجود المكونات الفعالة مثل

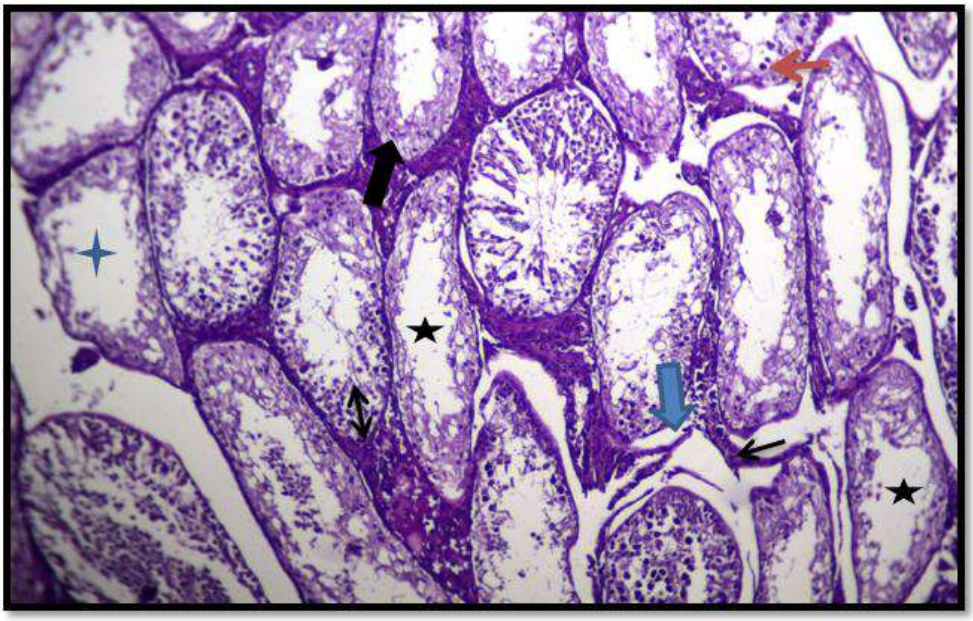
السابونيات Saponins و الستيرويدات Steroids و الفلافونيدات (Mihir *et al*., 2019 ; Cheok *et al*., 2020) ، و هذه المكونات الفعالة مفيدة جدا في علاج الضعف الجنسي من خلال زيادة مستويات الهرمونات الجنسية التستيرون و الـLH و FSH وهذه الزيادة تؤثر بشكل فعال على تحسين الخصوبة و الزيادة في فعالية عملية تكوين الانطاف ، بحيث تعمل هذه الهرمونات بتأزر عالي وتساهم في تطور وتمايز خلايا الانطاف مما يؤدي بالنتيجة الى أدامة النبيبات المنوية وزيادة معدلات أقطارها (Am *et al*., 2011) ، او قد يعزى ذلك لاحتواء فاكهة التنين الحمراء على نسب عالية جدا من مضادات الأكسدة بما في ذلك الكاروتينات والفينولات والبيتالين (عبد الشهيد ، 2020) ، اذ تلعب هذه المواد الفعالة الثلاثة دورًا مهما في عملية تجديد الخلايا وزيادة الخصوبة عند الذكور (Nurliyana *et al* ., 2010 ; Hutama *et al*., 2016) ، كما تحتوي فاكهة التنين الحمراء على المركبات الكيميائية الفعالة مثل الفينولات والفلافونيدات ، و كذلك الفيتامينات مثل فيتامين C وفيتامين E ذات التأثير القوي و الفعال في تثبيط تفاعلات تكوين الجذور الحرة التي يسببها رابع كلوريد الكربون ، لكونها مركبات فعالة لها القابلية على منح الهيدروجين لهذه الجذور، وتعمل كنظام كاسح لاصناف الاوكسجين التفاعلية ROS وتنشط تكوين الانزيمات المضادة للأكسدة كالكلوتاثيون (GSH) ، و تمنع عملية بيروكسيدة الدهون التي تسبب تلف الانسجة . (Hernawati *et al*.,2018;Novita *et al*.,2020)



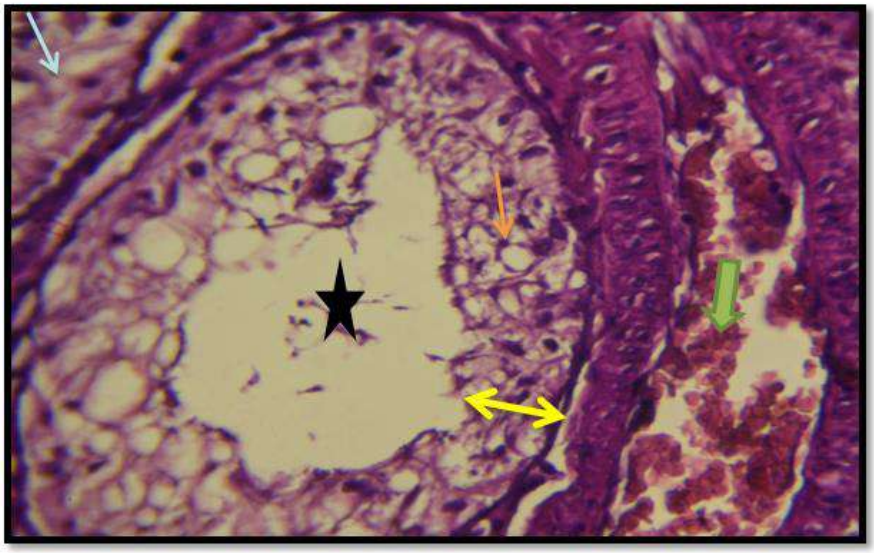
صورة رقم (4-1) مقطع عرضي من نسيج الخصية لمجموعة السيطرة يلاحظ فيه النسيج الطبيعي للخصية مع النبيبات المنوية (⬅) و ممتلئة بالنطف (★)مع خلايا لايدك (⬅) والتجويف الوسطي (✦) (H & E 100X).



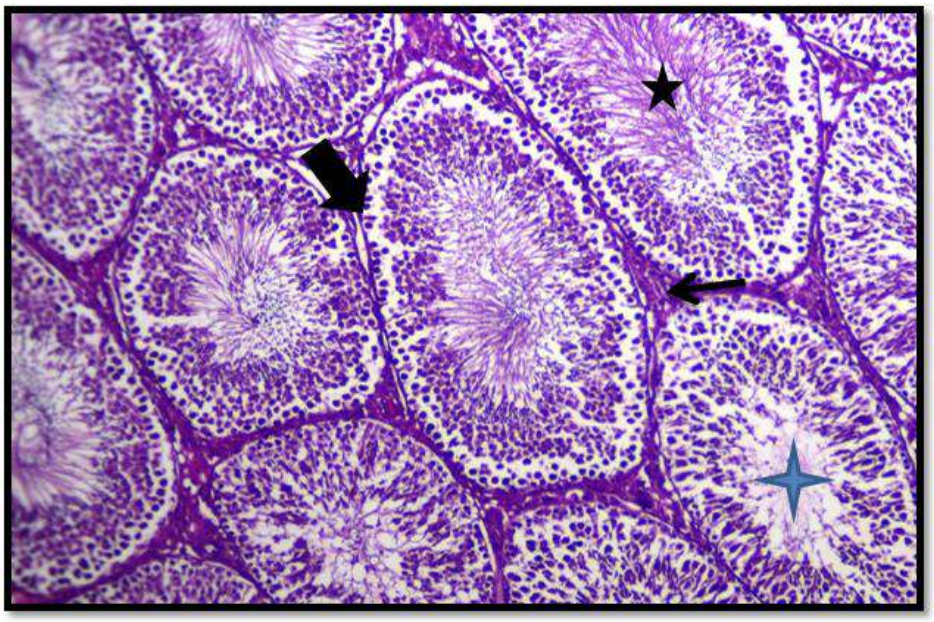
صورة (4-2) مقطع عرضي من نسيج الخصية لمجموعة السيطرة يلاحظ فيها النبيب المنوي (⬅) و طبقة الخلايا الظهارية الجرثومية (⬌) وسليفات النطف (⬅) وخلايا النطف الأولية (⬅) وأرومات النطف (⬅) وخلايا لايدك (⬅) والتجويف الوسطي مع النطف(★) و خلايا سرتولي (⇦) (H&E400X) .



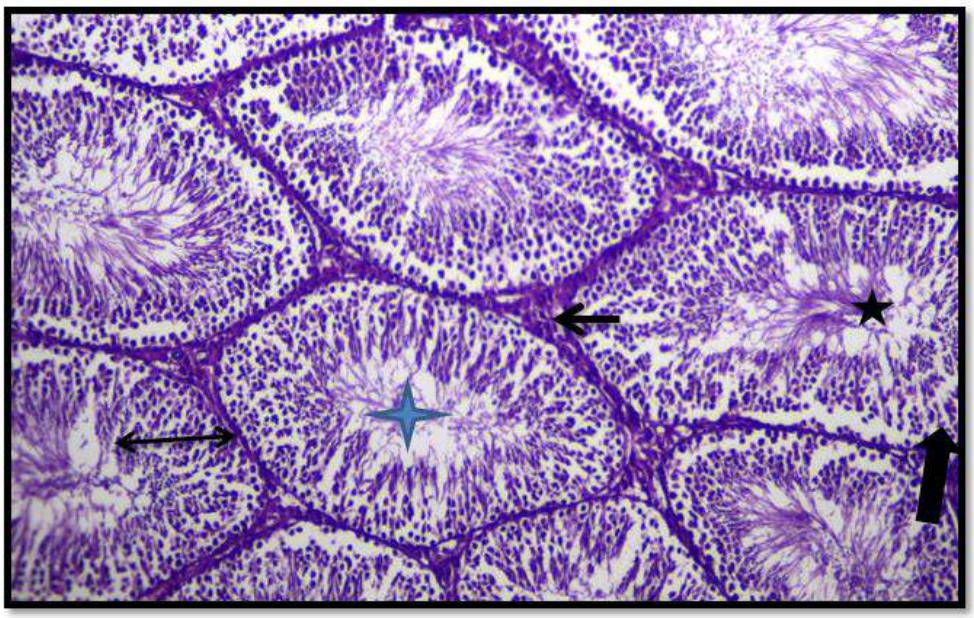
صورة (4-3) مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بمادة رابع كلوريد الكاربون (0.1 مل / 100 غم) من وزن الجسم يلاحظ فيها وجود مسافات بينية بين النبيبات المنوية (⬅) وانخفاض حجم طبقة الخلايا الظهارية الجرثومية(↔) و انعدام النطف (★) وقلة خلايا لايدك (➔) و زيادة قطر التجويف الوسطي (✦) و تنخر الخلايا المبطنة للنبيبات (➔) وانخفاض اقطار النبيبات المنوية (⬅)(H & E 100X) .



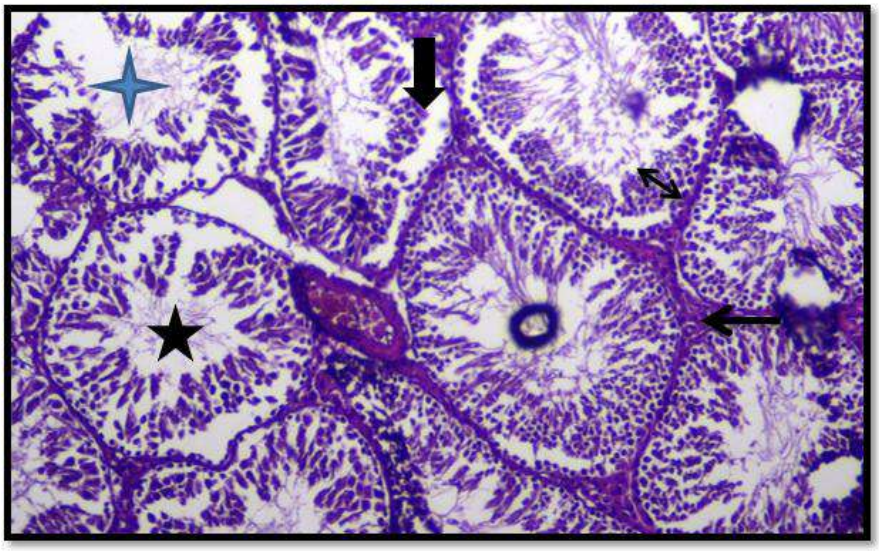
صورة (4-4) مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بمادة رابع كلوريد الكاربون (0.1 مل / 100غم) من وزن الجسم يظهر فيه انسلاخ وتضرر طبقات الخلايا المكونة لخلايا النطف وانخفاض حجم طبقة الخلايا الظهارية الجرثومية (↔) وخلو تجاويفها من النطف (★) واحتقان في نسيج البيني (⬅) وخلايا لايدك تظهر بأعداد قليلة جدا (➔) وتنكس في الخلايا(➔) (H & E 400X) .



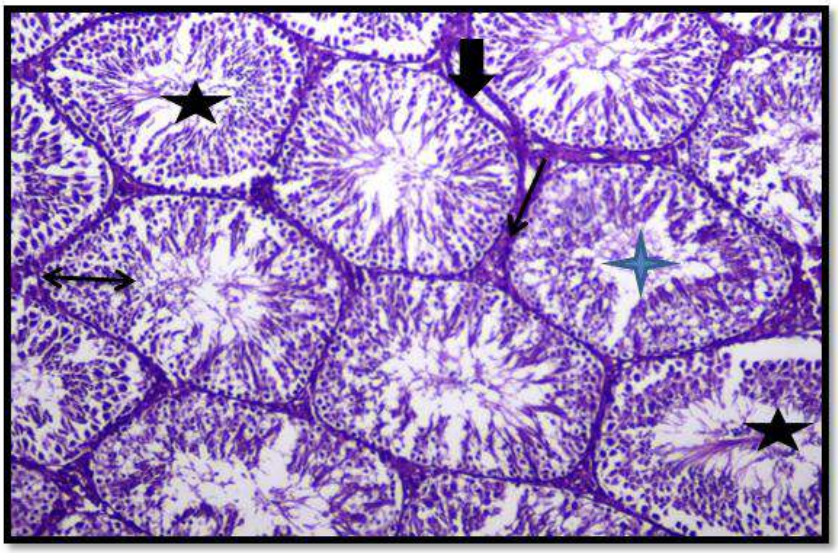
صورة (4-5) مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (350 ملغم / كغم) من وزن الجسم يلاحظ فيها النسيج الطبيعي للخصية مع النبيبات المنوية(⬅) و ممتلئة بالنطف (★) و وفرة خلايا لايدك في النسيج البيني (⟵) و انخفاض في قطر تجويف النبيب(✦)(H & E 100 X) .



صورة رقم (4-6) مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين بتركيز (650 ملغم / كغم) من وزن الجسم يظهر فيه تركيب الخصية الطبيعي مع النبيبات المنوية(⬅) وازدياد عدد النطف(★) و انخفاض في قطر التجويف (✦) مع وجود لخلايا لايدك في النسيج البيني (⟵) مع ازدياد في عدد طبقات الخلايا الجرثومية المكونة للنطف (⟷) (H & E 100 X).



صورة (4 -7) مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء (350 ملغم / كغم) مع رابع كلوريد الكاربون بتركيز (0.1 مل / 100غم) من وزن الجسم يلاحظ فيها طبقة الخلايا المكونة للنطف (⬅) انتظام بعض النبيبات و زيادة النطف فيها (★) مع ملاحظة خلايا لايدك (⟵) و سمك الطبقة الظهارية الجرثومية (⟷) و انخفاض في قطر تجويف النبيب(✦)(H & E 100 X) .



صورة (4 -8) مقطع عرضي من نسيج الخصية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (650 ملغم / كغم) مع رابع كلوريد الكاربون بتركيز (0.1 مل / 100 غم) من وزن الجسم يظهر فيه حصول تحسن واضح للنبيبات المنوية(⬅) و ازدياد عدد النطف (★) مع وجود خلايا لايدك (⟵) وانخفاض في قطر التجويف الوسطي (✦) و زيادة في عدد طبقات الخلايا الجرثومية المكونة للنطف (⟷)(H&E 100X).

جدول (4-4) تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على قياسات معدل أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرون لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم المعاملة برابع كلوريد الكربون.

المعايير / Means ± S.E / المجاميع	معدل قطر النبيب µ M	معدل قطر التجويف µ M	معدل سمك الطبقة الجرثومية µ M
السيطرة السالبة (G1)	300.12± 7.39 BC	99.54± 2.25 C	90.63± 2.18 BC
رابع كلوريد الكربون السيطرة الموجبة 0.1 مل /100غم (G2)	201.48 ± 1.56 E	120.84 ± 0.84 A	45.30 ± 0.94 E
مستخلص الفاكهة 350 ملغم / كغم (G3)	310.31±5.48 B	94.66±2.20 D	92.48± 1.02 B
مستخلص الفاكهة 650 ملغم / كغم (G4)	326.55 ± 2.82 A	81.73 ± 1.00 E	107.14 ± 2.11 A
مستخلص الفاكهة 350غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل /100غم (G5)	278.50 ± 1.16 D	104.91 ± 0.99 B	84.51 ± 0.77 D
مستخلص الفاكهة 650 غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل /100غم (G6)	292.90 ± 0.86 C	94.72 ± 1.21 D	86.76 ± 0.93 CD
L.S.D	11.419	4.3579	4.1215

- المعدل ± الخطأ القياسي n=6

- المتوسطات التي تحمل حروف غير متشابهة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى الدلالة (P<0.05).

جدول (4-5) تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على قياسات معدل أقطار كل من سليفات النطف والخلايا النطفية وأرومات النطف ومعدل اقطار خلايا سرتولي في النبيبات الناقلة للمني مقاسة بالمايكرون لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم المعاملة برابع كلوريد الكربون.

المعايير / Means ± S.E / المجاميع	معدل اقطار سليفات النطف µ M	معدل اقطار الخلايا النطفية الاولية µ M	معدل اقطار اورمات النطف µ M	معدل اقطار خلايا سيرتولي µ M
السيطرة السالبة (G1)	6.51± 0.01 C	8.19 ± 0.02 C	5.57 ± 0.01 C	9.94± 0.02 C
رابع كلوريد الكربون السيطرة الموجبة 0.1 مل /100غم (G2)	5.24 ± 0.01 E	6.84 ± 0.01 E	4.47 ± 0.01 E	8.14 ± 0.01 F
مستخلص الفاكهة 350 ملغم / كغم (G3)	6.80 ± 0.01 B	8.50±0.009 B	6.05 ± 0.03 B	10.35 ± 0.01 B
مستخلص الفاكهة 650 ملغم / كغم (G4)	7.74 ± 0.009 A	9.40±0.009 A	6.98 ± 0.01 A	11.25 ± 0.01 A
مستخلص الفاكهة 350غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل/100غم (G5)	6.25 ± 0.01 D	7.82 ±0.01 D	5.53 ± 0.01 D	9.34 ± 0.01 E
مستخلص الفاكهة 650 غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل/100غم (G6)	6.48 ± 0.01 C	8.18 ± 0.01 C	5.71 ± 0.01 C	9.84 ± 0.01 D
L.S.D	0.0423	0.0406	0.0562	0.0406

- المعدل ± الخطأ القياسي n=6

- المتوسطات التي تحمل حروف غير متشابهة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى الدلالة (P<0.05).

4-9: تـأثير مجموعـة رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم على نســيج البربخ وقياســـات معدلات اقطار البرابخ واقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاســـة بالمايكرون لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.

بينت نتائج الفحص المجهري في الدراسة الحالية للمقاطع النسجية لنسيج البربخ في ذكور الجرذان لمجموعة السيطرة السالبة الصورة (4-9)، إذ يلحظ فيه النسيج الطبيعي لقناة البربخ وامتلاء التجويف بالنطف، مع ووجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات ، كما اظهرت نتائج الفحص المجهري في الدراسة الحالية للمقاطع النسجية لنسيج البربخ في ذكور الجرذان المحقونة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم من وزن الجسم مجموعة السيطرة الموجبة و لمدة يومين في الأسبوع على طول مدة التجربة الصور (4-10) و (4-11) وجود مسافات بينية بين نبيبات البربخ ، وانخفاض في أقطار وسمك ظهارة قناة البربخ المبطنة له ، وخلو تجاويفها من النطف، وقلة قطر التجويف للنبيبات ، و ضرر نسجي متمثل بتحطم الخلايا الظهارية المبطنة للنبيب ، وتنكس لبعض الخلايا الجرثومية ، وقلة جود العضلات الملساء المحيطة بالنبيب .

كما اوضحت نتائج الدراسة الحالية للقياسات النسجية والموضحة في الجدول (4-6) لمجموعة ذكور الجرذان المحقونة برابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100 غم فقط مجموعة السيطرة الموجبة و لمدة يومان في الأسبوع على طول مدة التجربة حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في قياس معدلات اقطار البرابخ (0.53 ±171.91)، و معدل اقطار التجويف (0.65 ±125.09) و معدل ارتفاع الظهارة البربخية (0.21 ± 16.11)، بالمقارنة مع السيطرة السالبة (257.91±1.04) (221.64± 0.86) (20.07± 0.21) على التوالي .

اتفقت نتائج دراستنا الحالية مع دراسة Mazani و جماعته (2020) الذي أشار بان رابع كلوريد الكربون يسبب تغيرات مرضية تنكسية في انسجة الخصية و البربخ حيث يسبب انخفاض في معدلات مستويات اقطار البرابخ، واقطار التجويف و معدل ارتفاع الظهارة البربخية فضلاً عن التنكس في الخلايا الجرثومية، كما تتفق نتائجنا الحالية مع نتائج دراسة khan (2012) الذي قيم تأثير مستخلص *Launaea procumbens* ضد السمية التي يسببها رابع كلوريد الكاربون على نسيج الخصية و البربخ في الجرذان البيض ، اذ أظهر

الفحص النسجي أن رابع كلوريد الكربون أدى إلى تغيرات تنكسية في الأنابيب المنوية، وتقليل من قطر الأنابيب المنوية وسمك الظهارة الجرثومية المنوية وانخفاض في حجم طبقة الخلايا الظهارية الجرثومية، مع حدوث اضراراً هيكلية للظهارة البربخية وتقيلل من عدد الحيوانات المنوية في القنوات (Mazani *et al*., 2020) .

قد يعزى سبب قلة الأقطار الى تأثير رابع كلوريد الكربون السلبي على هرمون التستيرون كما اشرنا سابقا ، و الذي يؤثر على الغدة النخامية مما يؤدي إلى انخفاض في مستويات معدلات FSH و LH و هذا يؤدي إلى تثبيط التخليق الحيوي للستيرويد بواسطة خلايا لايدك مما يسبب في انخفاض هرمون التستوستيرون (Ismail & Al- nahri., 2009) ، و لان البربخ يعد من الأعضاء المعتمدة على الأندروجين و التي لها الدور الرئيس في التكاثر و تمايز الخلايا الظهارية البربخية التي تحتوي على مستقبلات خاصة وحساسة للأندروجين (Boukenaoui *et al*.,2017) ، وقد يعزى سبب حدوث هذه التغيرات المرضية لنسيج البربخ الى الزيادة الحاصلة في مستوى بيروكسدة الدهون وانخفاض نشاط مضادات الأكسدة بعد إعطاء رابع كلوريد الكربون والذي يؤدي إلى تلف نسيج الخصية و البربخ و كذلك زيادة في مؤشر موت الخلايا المبرمج (Sonmez *et al* ., 2014 ; Mazani *et al*., 2020) ، ومن الممكن أن يكون الانخفاض الحاصل في مستوى الظهارية البربخية بسبب قلة في فعاليات أنوية خلايا نسيج البربخ و التي تؤدي الى حدوث إنخفاض في الفعاليات الحيوية الايضية لهذه الخلايا ، إذ إن كلا من التمايز وأفراز السوائل في تجويف البربخ يقع تحت سيطرة الاندروجينات (Wijayarathna *et al* ., 2018) .

4-10: تأثير مجموعة المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز 350 ، 650 ملغم / كغم ومجموعة المستخلص المائي المعاملة برابع كلوريد الكربون على نسيج البربخ وقياسات معدلات اقطار البرابخ واقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم.

أظهرت نتائج الفحص المجهري للمقاطع النسجية في الصورة (4-12) و (4-13) لمجموعتي الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء فقط بتركيز (650،350) ملغم / كغم من وزن الجسم لمدة (30) يوم ، إذ يلحظ فيها النسيج الطبيعي للبربخ مع النبيبات البربخية، وامتلاء التجاويف بالنطف الناضجة ، مع وجود الاهداب الساكنة، مع وجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات .

كما بينت النتائج الحالية للفحص النسجي للمجاميع الوقائية التي تم تجريعها بمستخلص فاكهة التنين الحمراء بتركيز (350) ملغم / كغم مع رابع كلوريد الكربون بتركيز 0.1 مل / 100غم من وزن الجسم الصورة (4-14) تأثيرات جزئية للمستخلص ضد السمية التي سببها رابع كلوريد الكربون، إذ يلحظ فيها عدم وجود النطف في بعض تجاويفها، مع وجود الاهداب الساكنة، وجود مسافات بينية بين نبيبات البربخ ، وقلة في وجود العضلات الملساء المحيطة بالنبيب ، لكن هذه التأثيرات التي سببها رابع كلوريد الكربون تبدأ بالتحسن عند استخدام التركيز (650) ملغم / كغم من وزن الجسم الصورة (4-15)، إذ نلحظ عودة النسيج الى شكله الطبيعي تقريبا حيث اظهر المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء تأثيره الإيجابي على نسيج البربخ، فمن الملاحظ ازدياد اعداد النطف الناضجة في تجويف قناة البربخ اكثر من المعاملة السابقة مع الترتيب الطبيعي لخلايا ظهارة البربخ ، مع وجود الاهداب الساكنة و خلايا العضلات الملساء المحيطة بالنبيبات.

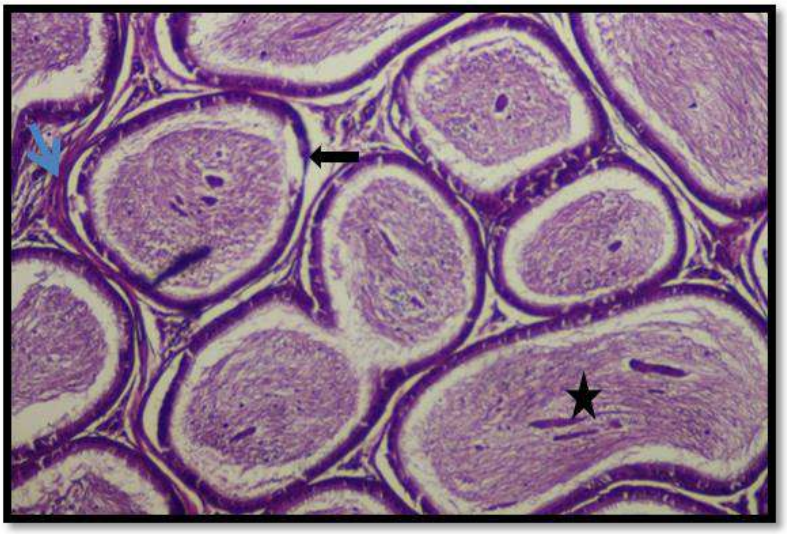
كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية للقياسات النسجية للبربخ و الموضحة في الجدول (4-6) لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء فقط بتركيز (350) ملغم / كغم من وزن الجسم لمدة (30) يوم، حصول ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في قياس معدل كل من اقطار البرابخ (262.21±1.16) و اقطار تجويفها (225.09±0.75)، عدم وجود فروق معنويه ($p>0.05$) في قياس معدل ارتفاع الظهارة البربخية (20.63± 0.10) ، بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة

(257.91±1.04) (221.64± 0.86) (20.07± 0.21) على التوالي ، اما في التركيز (650) ملغم / كغم أظهرت النتائج في الجدول (4-6)، هنالك ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في قياس معدل اقطار البرابخ (300.15±0.82) ، و اقطار تجويفها (237.40±0.51) ، و ارتفاع الظهارة البربخية (22.13±0.18) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (257.91±1.04) (221.64± 0.86) (20.07± 0.21) على التوالي.

كما اوضحت نتائج الجدول (4-6) حصول ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في قياسات معدل كل من اقطار البرابخ (240.50 ±1.02) (253.87 ± 0.54)، و اقطار تجويفها (215.08 ±0.57) (219.15 ± 0.53)، و ارتفاع الظهارة البربخية (18.05 ±0.31) (19.91 ± 0.18) على التوالي لمجموعتي الجرذان الوقائية، التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (350-650) ملغم / كغم لمدة (30) يوم و المحقونة برابع كلوريد الكربون لمدة يومان في الأسبوع على طول فترة التجربة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (171.91± 0.53) (125.09± 0.65) (16.11 ± 0.21) على التوالي .

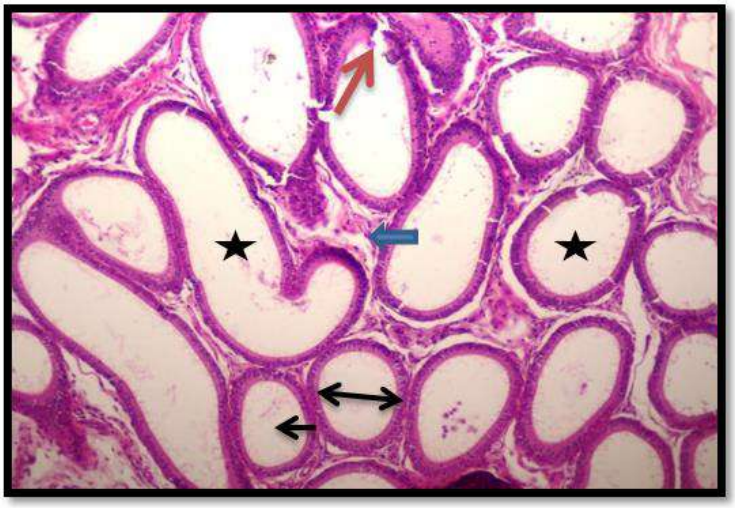
اظهر المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء تأثيره الإيجابي على نسيج البربخ، فقد تكون نتائج دراستنا الحالية دليلاً واضحاً على ان فاكهة التنين الحمراء تساهم في تحسين الخصوبة والقضاء على الضعف الجنسي، حيث تتفق هذه النتائج مع Kanedi و جماعته (2016) بان فاكهة التنين يمكن استخدامها كأعشاب معززة للنشاط الجنسي والخصوبة عند الذكور ، وقد يعزى سبب ذلك لارتفاع مستوى هرمون التستيرون نتيجة للتجريع بالمستخلص المائي للفاكهة، او قد يعزى الى الخصائص الاندروجينية لبعض المكونات الكيميائية للفاكهة ، ومن المعروف ان البربخ يعد من الاعضاء المعتمدة على الاندروجين، و يشير ارتفاع الظهارة البربخية الى زيادة النشاط الافرازي لهذه الخلايا تحت تأثير هرمون الشحمون الخصوي (Amini &Kamkar, 2005) ، وقد اكد ذلك كل من Neumman وجماعته (1976) و Am وجماعته (2011) في ان هرمون الشحمون الخصوي ضروري لدعم واسناد وتمايز الخلايا الظهارية لجميع مناطق البربخ، وهذا ما اوضحه Salisbury وجماعته (1978) و Khalaf (2020) بان اقطار نبيبات البرابخ قد ازدادت نتيجة لزيادة افراز خلايا النبيب التي تتأثر بزيادة مستوى هرمون التستيرون اما بخصوص ارتفاع الظهارة البربخية فقد يعزى سبب ذلك الى الهرمون نفسه بسبب زيادة اعداد خلايا لايدك.

أما التحسن الواضح لنسيخ البربخ في ذكور الجرذان في المجاميع الوقائية التي جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين مع رابع كلوريد الكربون ، فقد يعزى لاحتواء فاكهة التنين الحمراء على نسب عالية من مضادات الأكسدة ، بما في ذلك الكاروتينات والفينولات والبيتالين (عبد الشهيد ، 2020) ، إذ تؤدي هذه المواد الفعالة الثلاثة دورًا مهما في عملية تجديد الخلايا وزيادة الخصوبة عند الذكور والتي تعمل بتآزر مع النظام المضاد للأكسدة الموجود بشكل طبيعي في البربخ مما يؤدي الى تعزيز عملية تكوين النطف والحفاظ عليها (Nurliyana *et al* ., 2010 ; Hutama *et al*., 2016) ، وقد اكد ذلك (1989) Amman، إذ أوضح أن البربخ يقوم بافراز بعض المواد لوقاية النطف وانضاجها وزيادة كفاءتها للأخصاب وان كل هذه الوظائف تنظمها الاندروجينات ، و كما اشرنا سابقا بان فاكهة التنين الحمراء تؤدي دوراً مهماً و فعالاً في زيادة الهرمونات ومن ضمنها هرمون التستيرون (I'tishom *et al* ., 2020) ، تعمل هذه الهرمونات على مساعدة الأعضاء والأنسجة والخلايا على القيام بوظائفها بصورة طبيعية ، وربما يفسر هذا زيادة أعداد النطف في تجويف البربخ ، كما ذكر Hu وآخرون (2018) على أن البربخ له دور مهم في خزن في النطف الحية، و زيادة الخصوبة، حيث تكتسب الحيوانات المنوية قدرتها على الاخصاب و الحركة عندما تمر في قنوات البربخ، بحيث يوجد هناك ارتباط مباشر بين عدد الحيوانات المنوية البربخية ، ومدى تكوين الحيوانات المنوية ، والخصوبة ، و تعدّ معلمات الحيوانات المنوية مثل العدد والحركة والقدرة على البقاء هي المؤشرات الرئيسية لخصوبة الذكور ، إذ إن هذه هي العلامات الرئيسة في تكوين الحيوانات المنوية الخصية ونضج البربخ وقدرة إخصاب الحيوانات المنوية (Morakinyo *et al* ., 2008) .

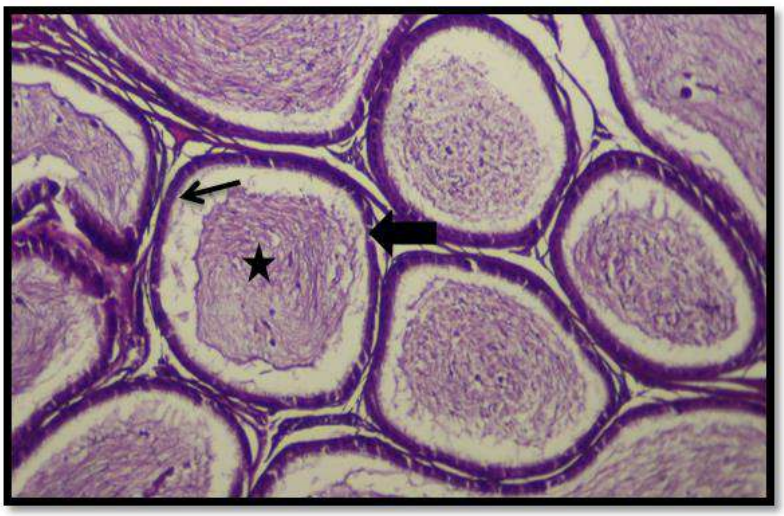


صورة (4-9) مقطع عرضي في قناة البربخ لمجموعة السيطرة يلاحظ فيه النسيج الطبيعي لقناة البربخ (⬅) وامتلاء التجويف بالنطف (★) ووجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات (←)(H & E 100X) .

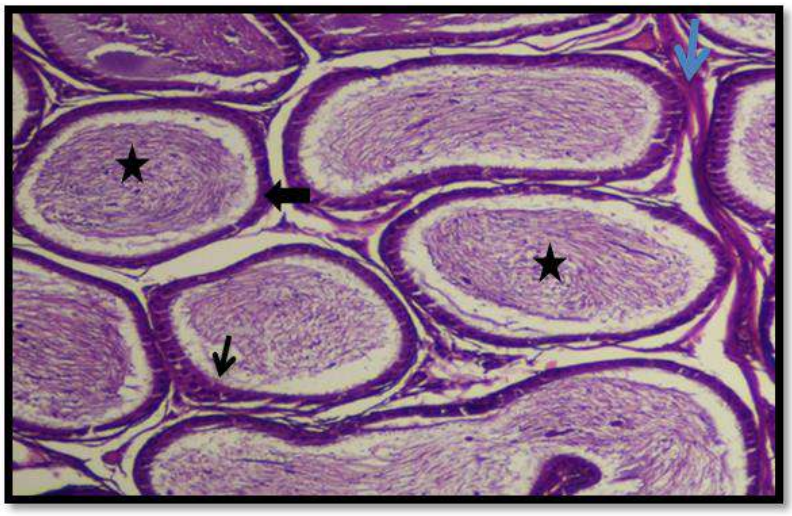
صورة (4-10) مقطع عرضي من نسيج البربخ في المجموعة المعاملة بمادة رابع كلوريد الكاربون بتركيز (0.1 مل / 100 غم) من وزن الجسم يظهر فيها عدم وجود النطف في تجويف النبيب (★) وقلة قطر التجويف للنبيبات (←) و تحطم الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات(←) وتنكس لبعض الخلايا الجرثومية (←) وقلة جود العضلات الملساء المحيطة بالنبيب(←) (H&E 100X).



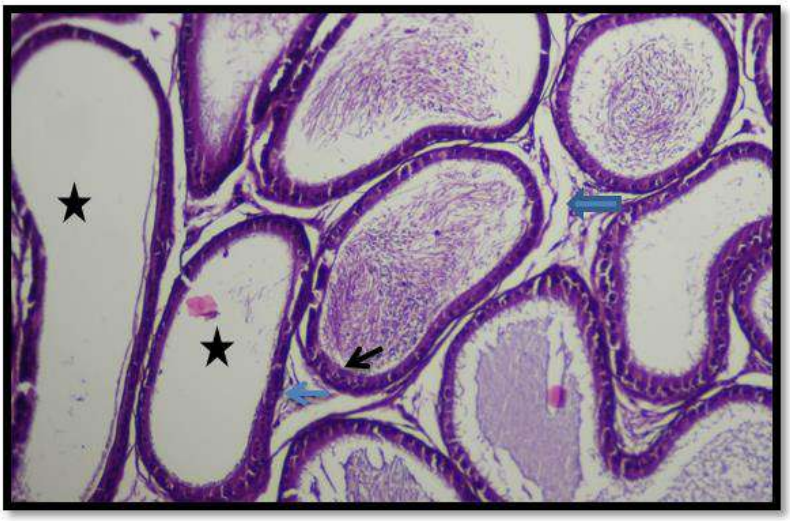
صورة (4-11) مقطع عرضي من نسيج البربخ في المجموعة المعاملة بمادة رابع كلوريد الكاربون بتركيز (0.1 مل / 100 غم) من وزن الجسم يظهر فيها وجود مسافات بينية بين نبيبات البربخ (⬅) قلة في أقطار وسمك ظهارة قناة البربخ المبطنة له (↔) وخلو تجاويفها من النطف(★) وقلة قطر التجويف للنبيبات (←) و ضرر نسجي متمثل بتحطم الخلايا الظهارية المبطنة للنبيب (←) (H&E 100X) .



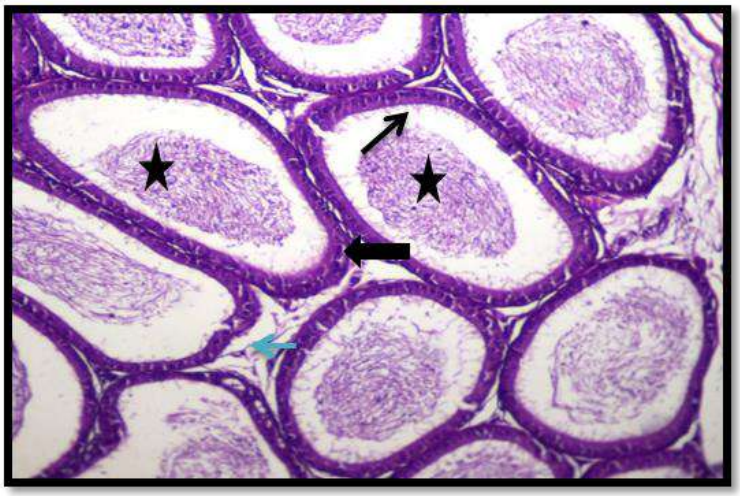
صورة (4 -12) مقطع عرضي لقناة البربخ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (350 ملغم / كغم) من وزن الجسم يلاحظ فيها النسيج الطبيعي للبربخ(⬅) وامتلاء التجاويف بالنطف الناضجة (★) مع وجود الاهداب الساكنة(←) (H & E 100 X).



صورة (4 -13) مقطع عرضي من نسيج قناة البربخ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (650 ملغم / كغم) من وزن الجسم يظهر فيه تركيب البربخ الطبيعي مع النبيبات البربخية (⬅) وازدياد عدد النطف في التجاويف البربخية (★) والاهداب الساكنة(⬅) ووجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات (←)(H & E 100 X)



صورة رقم (4 -14) مقطع عرضي من نسيج قناة البربخ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (350 ملغم / كغم) مع رابع كلوريد الكاربون بتركيز (0.1 مل / 100 غم) من وزن الجسم يلاحظ فيها عدم وجود النطف في بعض تجاويفها (★) مع وجود الاهداب الساكنة (←) وجود مسافات بينية بين نبيبات البربخ (⬅) وقلة وجود العضلات الملساء المحيطة بالنبيب (←)(H&E 100 X) .



صورة رقم (4 -15) مقطع عرضي لقناة البربخ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء بتركيز (650 ملغم / كغم) مع رابع كلوريد الكاربون بتركيز (0.1 مل / 100 غم) من وزن الجسم يظهر فيه النسيج اقرب للطبيعي للنبيبات البربخية (⬅) وازدياد اعداد النطف في تجويف قناة البربخ اكثر من المعاملة السابقة(★) مع وجود الاهداب الساكنة (⬅) و قلة وجود خلايا العضلات الملساء المحيطة بالنبيبات (⬅)(H & E 100 X).

جدول (4-6) تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء على قياسات مستوى معدل اقطار البرابخ واقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (30) يوم المعاملة برابع كلوريد الكربون.

المعايير / المجاميع Means ± S.E	معدل اقطار البرابخ µ M	معدل اقطار التجويف µ M	معدل ارتفاع الظهارة البربخية µ M
السيطرة السالبة (G1)	257.91 ± 1.04 C	221.64± 0.86 C	20.07 ± 0.21 BC
رابع كلوريد الكربون السيطرة الموجبة 0.1 مل /100غم (G2)	171.91 ± 0.53 F	125.09 ± 0.65 F	16.11 ± 0.21 E
مستخلص الفاكهة 350 ملغم / كغم (G3)	262.21 ± 1.16 B	225.09 ± 0.75 B	20.63 ± 0.10 B
مستخلص الفاكهة 650 ملغم / كغم (G4)	300.15 ± 0.82 A	237.40 ± 0.51 A	22.13 ± 0.18 A
مستخلص الفاكهة 350غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل /100غم (G5)	240.50 ± 1.02 E	215.08 ± 0.57 E	18.05 ± 0.31 D
مستخلص الفاكهة 650 غم / كغم مع رابع كلوريد الكربون 0.1 مل /100غم (G6)	253.87 ± 0.54 D	219.15 ± 0.53 D	19.91 ± 0.18 D
L.S.D	2.527	1.8793	0.598

- المعدل ± الخطأ القياسي n=6

- المتوسطات التي تحمل حروف غير متشابهة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى الدلالة (P<0.05).

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions

&

Recommendations

الاستنتاجات والتوصيات Conclusions & Recommendations

الاستنتاجات Conclusions:

في ضوء نتائج الدراسة الحالية نستنتج ما يأتي:

1. أدى التجريع الفموي بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء وخاصةً تركيز 650 ملغم / كغم الى زيادة في تركيز النطف في الخصية والبربخ، و زيادة مستوى بعض الهرمونات التكاثرية مثل هرمون التستوستيرون ، الهرمون المحفز للجريبات، والهرمون اللوتيني ، فضلاً عن الزيادة في فعالية مضادات الاكسدة مثل حصول الارتفاع المعنوي في مستوى الكلوتاثيون و انخفاض في مستويات المواد المؤكسدة مثل الانخفاض المعنوي للمالونداي الديهايد و التي تقلل من التغيرات النسجية و الفسلجية و الكيموحيوية على الخصى و البرابخ التي يسببها رابع كلوريد الكربون .
2. امكانية استخدام فاكهة التنين الحمراء في تحسين الخصوبة لدى الذكور.
3. رابع كلوريد الكربون مادة سامة لها تأثير سلبي على الجهاز التناسلي الذكري عبر حدوث انخفاض معنوي في مستويات مضادات الاكسدة (الكلوتاثيون)، كما لوحظ زيادة في اكسدة الدهون وزيادة الجهد التأكسدي المتمثل بالارتفاع المعنوي لمستوى المالونداي الديهايد ، و كذلك حدوث الانخفاض المعنوي في مستويات الهرمونات التكاثرية مثل التستيرون و الهرمون المحفز للجريبات و الهرمون اللوتيني ، و انخفاض معنوي في مستوى تركيز النطاف في الخصى و البرابخ .
4. حدوث تلف في انسجة الخصى والبرابخ مسبباً بذلك انخفاض معنوي في معدلات مستويات اقطار النبيبات الناقلة للمني، وأقطار البرابخ وتجاويفها وسمك الطبقة الظهارية، مما يؤدي إلى انخفاض أو انعدام خصوبة ذكور الجرذان المعاملة برابع كلوريد الكربون.

5.أدت المعاملة بالمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء قبل الحقن برابع كلوريد الكاربون في المجاميع الوقائية الى تحسين الاضطرابات الحاصلة في معظم قيم المتغيرات النسجية ، الفسلجية والكيموحيوية باتجاه القيم الطبيعية لمجموعة السيطرة السالبة أو قريبه منها مما يشير إلى الدور الفعال للمواد الكيميائية في المستخلص والذي يجعل إمكانية استخدامها كعلاج من التأثيرات الجانبية الناتجة عند التعرض الى رابع كلوريد الكربون أو الى المواد الكيميائية الأخرى التي تسبب العقم .

التوصيات Recommendations:

1. دراسة التأثير الوقائي و العلاجي لمستخلص فاكهة التنين الحمراء في الحيوانات المختبرية المستحث فيها السرطان .

2. دراسة تأثير المستخلص الكحولي لفاكهة التنين الحمراء في بعض معايير الكيموحيوية و الهرمونات لاناث و أجنة الجرذان البيض.

3. دراسة المركبات الفعالة في مستخلص فاكهة التنين الحمراء بعد عزلها للتقليل من الاثار الجانبية الناتجة من السمية المستحثة ببعض المواد الكيميائية.

4. اجراء دراسات نسجية لمعرفة تأثير المستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء في نسيج البنكرياس و الغدة الكظرية و بعض الغدد .

5. دراسة التأثير العلاجي لمستخلص فاكهة التنين الحمراء في ذكور الجرذان المستحث فيها مرض السكري .

المصادر

References

المصادر العربية

الجراح، اسراء عبد الحق حمودي عثمان (2005). دراسة كيموحيوية لمضادات الأكسدة في مرضى داء السكر. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

الزبيدي، زهير نجيب؛ هدى عبد الكريم بابان وفارس كاظم فليح. (1996) . دليل العلاج بالأعشاب الطبية العراقية. وزارة الصحة. منظمة الصحة العالمية. شركة آب للطباعة الفنية المحدودة.

عبد الشهيد، رواء حميد (2020). تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء polyrhizus Hylocereus على المعايير الكيموحيوية وانسجة الكبد والكلى في الجرذان البيض المعاملة بنترات الصوديوم. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كربلاء.

الغزالي، فضاء عبدالساده عذاب (2020). دراسة التأثير الوقائي للمستخلص المائي لبذور نبات المورينجا اوليفيرا *Oliefera Moringa* في مستوى بعض الهرمونات التكاثرية وبعض المعايير الفسلجية والنسجية لذكور الجرذ الابيض *norvegicus Rattus* المعاملة بكلوريد الكادميوم. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كربلاء.

موسى، محمد عثمان؛ محمد عبد المنعم العاني؛ نوفل عدنان صبري وعبد الكريم احمد العلواني. (2015). توزيع بعض النباتات الطبية في ثلاث مناطق في الصحراء الغربية في العراق. مجلة الانبار للعلوم الزراعية. 13 (1): (288-304).

الهادي، فارس ناجي عبود (1989). تأثير مضادات الاندروجين في خصوبة ذكور الفئران البيض. رسالة ماجستير، كلية العلوم – جامعة بغداد.

المصادر الأجنبية

Aati, H., El-Gamal, A., Shaheen, H., and Kayser, O. (2019). Traditional use of ethnomedicinal native plants in the Kingdom of Saudi Arabia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine., 15*(1): 2.

Abdel Moneim. A. E (2014) . Prevention of carbon tetrachloride (CCl4)-induced toxicity in testes of rats treated with Physalis peruviana L. fruit . *Toxicol Ind Health published online 21* : 1-10.

Abd-Elhakima.Y.M., Mervat H. Ghoneima , Lamiaa L.M. Ebraheimb , Tamer S.(2020). Taurine and hesperidin rescues carbon tetrachloride-triggered testicular and kidney damage in rats via modulating oxidative stress and inflammation. *Life Sciences 254* : 117782.

Abdel-Wahhab.M.A , Hassan.M.A , El-Nekeety.A, Abdel-Azeim.S , Hassan.N , Jaswir.I ,Salleh .H (2021). Zinc loaded whey protein nanoparticles mitigate the oxidative stress and modulate antioxidative gene expression in testicular tissues in rats. *Journal of Drug Delivery Science and Technology 61* :102322.

Abdou HS, Salah SH, Hoda FB, Abdel Rahim EA (2012). Effect of pomegranate pretreatment on genotoxicity and hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride (CCl4) in male rats. *J Med Plants Res., 6*:3370–3380.

Abdul Aziz , F.A and Noor, M.M ., (2010) . Ethanol extract of dragon fruit and its effects on sperm quality and histology of the testes in mice. *Biomedical Research* ., 21 (2): 126-130 .

Abdullahi, A. D., Mustapha, R. K., Yau, S. and Adam, M. S. (2018). Exploring the Nigerian Medicinal Plants with Anticancer Activities: A Pharmacological Review. *Modern Chemistry.*, 6: 35.

Abraham,P. And Wilfred,G. (2000). Lysosomal enzymes in the pathogenesis of carbon tetrachloride induced injury to the kidney and testis in the rat .*Indian J. Pharm., 32*: 250-251.

Abu, O., Aleogho, B. and Omoregie, F. (2019). Extract of Icacina trichanta Improves lipid Profile and CCl4-Induced Histological Changes in Wistar Rats. *Asian Journal of Research in Biochemistry.*, 1-11.

Adekomi, A. D., Adewale, O. B., Muhameed, O. A., Agbaje, A. M. and Oyesomi, T. O. (2013). Neuronal alterations in the prefrontal cortex of rats with carbon tetrachloride (CCl4) induced hepatic damage. *Journal of Clinical Pathology and Forensic Medicine.,* 4: 6-14.

Agarwal A, Virk G, Ong C, Plessis S. (2014). Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J Mens Health, 32*(1):1–17.

Ahmed, A.F.; Mahmoud,M.F.; Ouf,M.A. and El-Fathaah ,E.A. (2011).Aminoguanidine potentiates the hepatoprotective effect of silymarin in CCL4 treated rats. *Annals hepatology* .,10 (2):207-215.

Ahmed. M .A (2019) . Protective effect of aqueous extract of Alhagi maurorum in spermatogenesis and antioxidant status of adult rats exposed to carbon tetrachloride, *Iraqi Journal of Veterinary Sciences., Vol. 33*, No. 1, (1-7).

Aitken R, and Roman S. (2008). Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid Med Cell Longevity, 1*(1):15-24.

Aitken, R. J., De Iuliis, G. N. and Drevet, J. R. (2019). Role of oxidative stress in the etiology of male infertility and the potential therapeutic value of antioxidants. In Oxidants, *Antioxidants and Impact of the Oxidative Status in Male Reproduction*., (pp. 91-100): Elsevier.

Akdere, H., Yurut Caloglu, V., Tastekin, E., Caloglu, M., Turkkan, G., Mericliler, M., & Mehmet Burgazli, K. (2015). Acute histopathological

responses of testicular tissues after different fractionated abdominal irradiation in rats. *Postgraduate medicine*, *127*(1), 73-77.

Alhazza, I. M. Ibrahim, S. A. Bashandy, S. A and Alshehry, S. A. (2008). Protective effet of Vitamin B6 against Carbon tetrachloride Induced Hepatotoxicity in male rats: Effect on Total protein and Insulin hormone. *Saudi Journal of biological sciences 15* (3):75-83.

Al-Olayan EM, El-Khadragy MF, Metwally DM, Moneim AEA (2014) . Protective effects of pomegranate (Punica granatum) juice on testes against carbon tetrachloride intoxication in rats. BMC Complement. Altern. *Med. 14*, 164–172.

Al-Zamely OY, Al-Nimer MS, Al-Muslih RK.(2001). Detection the level of peroxynitrite and related antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction. *Nation J Chem .4*:625–37.

AM Ende, D. J. and AM Ende, M. T. (2019). Chemical engineering in the pharmaceutical industry: an introduction. Chemical Engineering in the Pharmaceutical Industry: Drug Product Design, *Development, and Modeling.*, 1-17.

AM, M., HA, D. S., & MY, K. (2011). Effects of Gelam Honey on Sperm Quality and Testis of Rat. *Sains Malaysiana*, *40*(11), 1243-1246.

Amini, A. and Kamkar, F. (2005). The effects of gossypol on spermatogenesis in NMRI mice. *Iranian J Sci and Technol Trans., 29*(1): 123-133.

Amman ,R.P.(1989). Structure and function of the normal testis and epididymus .*J. American College of Toxicology ., 8* : 322-327.

Amzar. N, and Iqbal. M. (2017) . The hepatoprotective effect of Clidemia hirta against carbon tetrachloride (CCl4)-induced oxidative stress and hepatic damage in mice, J. Environ. Pathol. *Toxicol. Oncol. 36* (4), 293-30.

Aquilano, K., Baldelli, S. and Ciriolo, M. R. (2014). Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in pharmacology*, *5*, 196.

Asmat, U., Abad, K. and Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—a concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal.*, *24*, 547-553.

Atip, L.; Natchai, P.; Thavatchai, P. and Charn, S. (2010). Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in erythrocytes of type 2 diabetic patients. *J. Med. Associ. Thailand*, 93-6.

Atwood, C. S., Huang, X., Moir, R. D., Tanzi, R. E. and Bush, A. I. (2018). Role of free radicals and metal ions in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *In Metal ions in biological systems* (pp. 309-364): Routledge.

Ayala, A., Muñoz, M. F. and Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.

Bahmanpour, S. ;Talaei, T. ;Vojdani, Z.; Panjehshahin, M.R.; Poostpasand . (2006). male rats. *Ind. J. Med. Sci.*, 31: 208-212.

Balash, K. J., Al-Omar, M. A., & Abdul latif, B. M. (1987). Effect of chlordane on testicular tissue of Swiss mice, Bull, Environ, Contam. *Toxical*., 39, 434-442.

Bancroft , J. D. and Steven , A. S. (2010) . Theory and practice of histologyical techniques . 2nd . *Churchill living stone , Edinburgh , London* : 233 – 250 **.**

Bansal, A.K. and Bilaspuri, G. S. (2011). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. Vet. Med. Int .,2011: 7.

Bansal, A.K.; and Bilaspuri, G.S. (2009). Antioxidant effect of vitamin E on motility, viability and lipid peroxidation of cattle spermatozoa under oxidative stress. *Anim. Sci. Papers & Rep*., 27 (1) :5-14.

Barbeau, G., (1993). The red pitaya, a new exotic fruit. WANATCA: *West Australian Nut and Tree Crops Association Yearbook 17*: 74-80.

Bartosikova, L., Necas, V., Suchy, R. and Franov, A. (2003b). Monitoring of antioxidative effect of morine alloxan-induced diabetes mellitus in the laboratory rat. *Acta. Vet. 72* : 191-200.

Bauche F, Fouchard M, Jgou B. (1994) . Antioxidant system in rat testicular cells. *J Reprod Toxicol, 349*: 392- 396.

Borreli. L. (2015) . Benefits Of Dragon Fruit: 6 Health Reasons To Eat More Of The Exotic Fruit. *Jul 3*, 12:00 .

Boukenaoui-Ferrouk, N., Moudilou, E., Amirat, Z., Exbrayat, J. M., & Khammar, F. (2017). Morphometric Study and Immunolocalization of Androgen Receptors in Epididymis During Postnatal Development in D. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(5).

Branchaud, B. P. (2018). Free radicals as a result of dioxygen metabolism. *In Metal ions in biological systems* (pp. 79-102): Routledge.

Cantika.Y , Fauziah.C , Setyaningsih.Y (2019) . Pengaruh pemberian ekstrak buah naga merah (*hylocereus polyrhizus*) terhadap gambaran spermatogenesis tikus putih (*rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi pakan tinggi lemak , jurnal profesi medika : *jurnal kedokteran dan kesehatan .,13*(2): 62-73.

Castilla-Cortazar I, Diez N, Garcia-Fernandez M, Puche JE, Diez-Caballero F, Quiroga J, Diaz-Sanchez M, Castilla A, Casares AD, Varela-Nieto I, Prieto J, Gonzalez-Baron S (2004). Hematotesticular barrier is altered from early stages of liver cirrhosis: effect of insulin-like growth factor 1. *World J Gastroenterol 10*:2529–2534.

Castilla-Cortázar, I., García, M. and Quiroga, J.(2000). Insulin-like growth

factor-I reverts testicular atrophy in rats with advanced cirrhosis. Hepatology., 31: 592-600 .

Chemes. H.E, Rawe. V.Y. (2010) . The making of abnormal spermatozoa: cellular and molecular mechanisms underlying pathological spermiogenesis, *Cell Tissue Res. 341*:349–357.

Chen, A.F. ; Chen, D.D. ; Daiber, A. (2012). Free radical biology of the cardiovascular system. *Clin Sci (Lond).,123*(2):73-91.

Chen, L., et al. (2018). The antioxidant procyanidin reduces reactive oxygen species signaling in macrophages and ameliorates experimental colitis in mice. *Frontiers in immunology., 8*, 1910.

Cheok, A., George, T., Rodriguez-Mateos, A., & Caton, P. W. (2020). The effects of betalain-rich cacti (dragon fruit and cactus pear) on endothelial and vascular function: a systematic review of animal and human studies. *Food & Function.*

Chinwe, I. I., Kingsley, U. I. And Blessing, E. I. (2019). Effects Of Some Calcium Channel Blockers Againsts Ccl4-Induced Nephrotoxicity In Albino Rats. *Pharmacology., 1*, 87-95.

Choo WS, Yong WK. (2011). Antioxidant properties of two species of Hylocereus fruits. *Advances in Applied Science Research. 2*(3):418- 25.

Choudhary R, Chawala VK, Soni ND, Kumar J, Vyas RK. (2010). Oxidative stress and role of antioxidants in male infertility. *Pak J Physiol, 6*:54-9

Claudya.T & Febrianti N.(2019). Protective Effect of Red Dragon Fruit (Hylocereus polyrhizus) Juice on Myocardium Structure Albino Rat Treated By Used Cooking Oil Indonesian. *Journal of Biology and Education. 2* (1): 40-44.

Cuningham, J. G. and Klein,B.G. (2007). Textbook of Veterinary Physiology. 4rd

edition. *Elsevier Saunders Company, USA,* PP:421-422.

Das, P.K.; Panda, P. ; Pani, S.R. and Sethi, R.(2009). Comparison between ethanolic extracts of the plant *Moringa pterygosperma*, against carbon tetrachloride induced hepatopathy. *T. Pharm. Res*., 2; 138-145.

Dharmendra , M.; Thomas, P. Asir.,D.(2010). Antioxidant and prooxidant nature of hydroxycinnamic acid derivatives ferulic and caffeic acids. *Food and Chemical Toxicology. 48.*3369-3373.

Dickinson, D.; Lu, C. and Forman,H. (2003). Glutathione synthesis. Oxygen Society Education Program. Society for Free Radical Biol. And Med 2003.

Dimitrov, K.; Metcheva,D. and Boyadzhiev,L. (2005). Integrated processes of extraction and liquid membrane isolation of atropine from Atropa belladonna roots. *Separation and Purification Technology. 46* (2), 41-45.

Duangtaweesub, P., A. Jangchud, and P. Dhamvithee. (2011). Quality index of dragon fruit (Hylocereus undatus (Haw.) Britt.&Rose) on consumers acceptance The 49th Kasertsart University Annual Conference, Bangkok, Thailand.

Dutta, S., Kumar ,A ., Dey , B., Kar. B., Guha , B ., Chaudhuri , T. (2018). Amelioration of CCl4 induced liver injury in swiss albino mice by antioxidant rich leaf extract of Croton bonplandianus Baill. *PloS one, 13,* e0196411.

Dwivedi, T., Kanta, C., Singh, L. R. and Prakash, I. (2019). A list of some important medicinal plants with their medicinal uses from Himalayan State Uttarakhand, India. *Journal of Medicinal Plants, 7*, 106-116**.**

El-Bahr, S. M. (2013). Biochemistry of free radicals and oxidative stress. *Science international, 1:* 111-117.

El-Faras. A.A, Sadek. I.A, Ali. Y.E, Khalil. M, Mussa. E.B. (2016) . Protective

effects of vitamin E on CCl4-induced testicular toxicity in male rats, *Phys. Int. 103* (2)157–168.

El-Kashoury AA, Salama AF, Selim AI, Mohamed RA (2010). Chronic exposure of dicofol promotes reproductive toxicity in male rats. *Life Sci. J. 7*, 5–19.

El-kholy, T. A., Hassanen, N. H. M., and Abbas, H. Y. (2013). Protection of the Mushroom (shiitake "Lentinus-edodes) against Carbon-Tetrachloride-Induced renal injury in rats. *Life Sci. J. 10*: 1701–1708.

El-Missiry, M. A., Amer, M. A., Hemieda, F. A., Othman, A. I., Sakr, D. A. and Abdulhadi, H. L. (2015). Cardioameliorative effect of punicalagin against streptozotocin-induced apoptosis, redox imbalance, metabolic changes and inflammation. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences, 2*, 247-260.

Elmore, S. A. (2006). Enhanced histopathology of the bone marrow. *Toxicologic pathology, 34*, 666-686.

Elsawy, H., Badr, G. M., Sedky, A., Abdallah, B. M., Alzahrani, A. M. and Abdel-Moneim, A. M. (2019). Rutin ameliorates carbon tetrachloride (CCl4)-induced hepatorenal toxicity and hypogonadism in male rats. *PeerJ, 7*, e7011.

Faroon, O. (2005). Toxicological profile for carbon tetrachloride: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Febrianti, N., Purbosari, P. P., Hertiani, T., & Moeljopawiro, S. (2018). Kandungan Asam Askorbat Pada Kulit Dan Daging Buah Naga Merah (Hylocereus Polyrhizus) Dengan Berbagai Metode Ekstraksi. *Biowallacea, 4*(1): 41-45.

Flohé, L. (2018). The Role of Glutathione in Biosynthetic Pathways and Regulation of the Eicosanoid Metabolism . CRC Press 12.

Gabal, A., Essawy, A., Abdel-Moneim, A., Hamed, S. and Elzergy, A. (2007). The protective effect of black seed (Nigella sativa) against carbon tetrachloride-induced chromosomal aberrations and ultrastructural changes of bone marrow cells. *Arab J Biotechnol, 10*, 275-288.

Gao, X. D.; Kostova, A. and Talaly,P. (2001). Powerful and prolonged protection of human retinal pigment epithelial cells, keratinocytes and mouse leukemia cells against oxidative damage: the indirect antioxidant effect of sulforaphane. Pro. *Natl. Acad. Sci.,USA; 98*(26): 15221-15226.

Garrett, R.H. and Grisham,C.M.(2010). Biochemistry.4th ed Brooks/Cole. USA.pp93.

Gaschler, M. M. and Stockwell, B. R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and biophysical research communications, 482*, 419-425.

Ge J, Han B, Hu H, Liu J, Liu Y.(2015). Epigallocatechin-3-O-gallate protects against hepatic damage and testicular toxicity in male mice exposed to di-(2-ethylhexyl) phthalate. *J. Med. Food 18*, 753–761.

Gebicka, L.; and Krych-Madej, J. (2019). The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress. *Journal of inorganic biochemistry, 197*, 110699.

Gerba, C. (2019). Environmental Toxicology. *In Environmental and Pollution Science* (pp. 511-540): Elsevier.

Gharagozloo P, Aitken R. (2012). The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Human Reproduction, 26*(7):1628-1640.

Glade MJ and Smith K. (2015). Oxidative Stress, Nutritional Antioxidants, and Testosterone Secretion in Men. *Ann NutrDisord&Ther.;2*(1): 1019.

Guyton , A.C , and Hall , J.E. (2016) . Text book of medical physiology 13 th ed . Saunders co. *Elsevier U.S.A.* 921-938.

Guyton AC, Hall. (2001). Textbook of medical Physiology. Edisi ke-9. Philadelphia Pennsylvania: *WB Saunders Company*; 2001.

Hafez, E. S. E. and Hafez, B. (2000). Reproduction in Farm Animals. 7th ed. Lippinocott. Williams and Wilkins Philadelphia, Baltimore, NewYork.

Haghi M.E., Dehghan G., Banihabib N., Zare S, Mikaili P and Panahi F. (2014) .Protective effects of Cornus mas fruit extract on carbon tetrachloride induced nephrotoxicity in rats. *Indian J Nephrol., Sep;24*(5):291-96.

Halliwell , B. (1994) . Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. *Lancet*. ;344:721-724.

Halliwell B and Gutteridge JMC .(2007). Free radicals in biology and medicine. Oxford: Oxford University Press.

Halliwell, B., &Gutteridge, J. M. (2015). Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA.

Hamid, A. K., Ahmed, M. A. and Tayawi, H. M. (2018). Silymarin effect as an antioxidant to improve damages induced by CCl4 on some characteristics of male rats reproductive system. *Tikrit Journal of Pure Science, 23*, 60-65.

Harahap, N. S., Sinaga, F. A., Nailuvar, R., & Amelia, R. (2020). Effect of Red-Fleshed Pitaya (Hylocereus Polyrhizus) to Increase Gluthatione Peroxidase Levels in Male Rats (Rattus Norvegicus): The Induced Oxidative Stress.

Harborne, J. B. (1984). Physiochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis, 2nd Ed. Chapman and Hall. *London, New York*. 288p.

Hassan, B. A. R. (2012). Medicinal Plants (Importance and Uses), Pharmaceut Anal. Acta, 3, e139.

Haywood, M.; Spaliviero, J.; Jimemez, M.; King, N.J.; Handelsman, D.J. and

Allan, C.M. (2003). Sertoli and germ cell development in hypogonadal (hpg) mice expressing transgenic follicle-stimulating hormone alone or in combination with testosterone. *Endocrinology*., 144: 509–517.

He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T. and Ma, X. (2017). Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *44*, 532-553.

Helfenstein, F.; Losdat,S.; Møller, P.A.; Blount, D.J. and Richner, H.(2010). Sperm of colourful males are better protected against oxidative stress. *Ecology Letters*., 13: 213–222.

Hernawati, S. , Shintawatin, R., & Priyandoko, D. (2018). The role of red dragon fruit peel (Hylocereus polyrhizus) to improvement blood lipid levels of hyperlipidaemia male mice IOP Conf. In Series: Journal of Physics: Conf. *Series* (Vol. 1013, p. 012167).

Heryani, R. (2016). Effect of red dragon fruit extract on blood lipid profile of hyperlipidemic rats. Journal of Applied Science, 10 (1), 9-17.

Hickox, W.H. and Denton, J.E. (2000). Public Health Goals for chemicals in Drinking Water: Carbon Tetrachloride. *California Public Health Goal*. 2-32.

Hoesla C. E., Saadb F., Po¨ppela M., Altweina J. E. (2005). Reversible, Non-Barrier Male Contraception: Status and Prospects. *European Urology* 48: 712–723.

Horn MM, Ramos AR, Winkelmann L, Matte US, Goldani HA, Silveira TR (2006). Seminiferous epithelium of rats with food restriction and carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Intl Brazilian J Urol*, *32*(1):94–99.

HSDB. (2009). Hazardous Substances Data Bank. National Library of Medicine. http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB and search on CAS number. Last accessed: 8/20/09.

Hsieh,Y.Y.;Chang ,C.C. and Lin ,C.S. (2006). Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility . *Int. J. Biol. Sci.; 2*:23-29.

Hu, J., Merriner, D. J., O'connor, A. E., Houston, B. J., Furic, L., Hedger, M. P., & O'bryan, M. K. (2018). Epididymal cysteine-rich secretory proteins are required for epididymal sperm maturation and optimal sperm function. *MHR: Basic science of reproductive medicine*, *24*(3), 111-122.

Huang, D.; Ou, D. and Prior,D. (2005). The chemistry behind antioxidant assays. J. Agric Food Chem.;53: 1841-1856.

Hussein.A.M.R (2019) . The Possible Protective Effect Of Captopril And Nigella Sativa And Their Combination Aganist Carbon Tetrachloride Induced Testicular Toxicity In Rats . *Ass. Univ. Bull. Environ. Res 22* (1) . 47-67 .

Hutama.D.W , Sutyarso, Busman.H , Rahmanisa.S. (2016) . Pengaruh Protektif dan Kuratif Pemberian Suplemen Jus Buah Naga Putih (Hylocereus undatus) terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih (Rattus norvegicus) Dewasa Galur Sprague dawley yang Diinduksi Siproteron Asetat. *Journal agromedicine unila. 3*(1):19-25.

I'tishom . R . Wulandari . E . Sudjarwo . S .A (2020) . Hylocereus polyrhizus Peel Extract Increase Testosteron Levels of Balb/C Mice (Mus musculus) Exposed Lead Acetate , 1(1); 1-6.

Ibrahim, S. , Mohamed, G. , Khedr, A. , Zayed, M. , & El-Kholy, A. (2018). Genus Hylocereus: Beneficial phytochemicals, nutritional importance, and biological relevance - A review. *Journal of Food Biochemistry*, *42*(2), e12491.

Ignat I, Volf I, Popa VI. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. F*ood chemistry. 126*(4):1821-35.

Ismail, H. and Al-nahari, H.(2009). Therapeutic and protctive role of Panax ginseng on pituitary and testicular axis in male rats treated with carbon tetrachloride .*Ale. J. Agric. Res.*,54(1):1-12.

Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z. and Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. Journal of Herbmed Pharmacology, 7.

Jantrachu, A. (2013). Dragon fruit. Ratchaburi Provincial Agricultural Extension Office, Ratchaburi, Thailand.

Jia X, Han C, and Chen J .(2002). Effect of tea on preneoplastic lesions and cell cycle regulators in rat liver. Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention, 11:1663–1667.

Jorsaraei, A.G.S., Firoozjaee, A., Pasha, Y.Y., Marzony, T.E. and Sarabi, E. M.(2010). Histopathological Effects of single dose treatment of diazinon on testes structure in rat. *Yakhteh Med. J., 12* (1):39-42.

Kabel, A. M. (2014). Free radicals and antioxidants: role of enzymes and nutrition. *World Journal of Nutrition and Health, 2*, 35-38.

Kagan, V. E. (2018). Lipid peroxidation in biomembranes: CRC press.

Kaloyanova, F. and Ivanova –Chemishansk, L.(1989). Dose effect relationship for some of specific effects of dithiocarbamates Research Institute of Hygiene and Occupational Health –Sofia, Bulgaria .*J. Hyg. Epidemiol. Miceoboil. Immunol.*,33(1):11-7.

Kanedi,M. Nurjanah,S.S .Wahidah.L.K (2016). Testicular Dysfunction in Male Rats Reversed by Ethanolic Extract of Pitaya Fruit Journal of Diseases and Medicinal Plants , 2(4): 51-55 .

Kanner J, Harel S, Granit R. (2001). Betalains a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food chemistry. 49*(11):5178-85.

Karadag A, Ozcelik B, Saner S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food analytical methods. 2*(1):41-60.

Katarzyna , T., Agnieszka, S., Anna,W.(2011) . Voltammetric method using a lead film electrode for the determination of caffeic acid in a plant material. *Food Chemistry.125*.1498-1503.

Kaushal, J.; Mehandia, S.; Singh, G.; Raina, A.; & Arya, S. (2018). Catalase enzyme: Application in bioremediation and food industry. *Biocatalysis and agricultural biotechnology, 16*, 192-199.

Kedari TS, Khan AA.(2014). Guyabano (Annona muricata): A review of its traditional uses phytochemistry and pharmacology. *American Journal of Research Communication. 2*(10):247-22.

Kellogg, W. W. (2019). Climate change and society: consequences of increasing atmospheric carbon dioxide: Routledge.

Khalaf.T. K. (2020). The effects of Carbon Tetrachloride (CCL4) and Nigella Sativa (NS) extract on reproductive organs of males albino mice . *journal of wasit for science and medicine.2*(9):1-14 .

Khan M.R., Khan G.N. and Ahmed D. (2011). Evaluation of antioxidant and fertility effects of Digera muricata in male rats. *Afr J Pharm Pharmacol., 5*(6):688–99.

Khan MR and Younus T .(2011) . Prevention of CCl(4)- induced oxidative damage in adrenal gland by Digera muricata extract in rat. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences 24*: 469–473

Khan MR, Ahmed D (2009). Protective effects of Digera muricata (L.) Mart. on testis against oxidative stress of carbon tetrachloride in rat. *Food Chem Toxicol 47*:1393–1399.

Khan R.A. (2012). Protective effects of Launaea procumbens on rat testis damage by CCl4. *Lipids Health Dis. 11*, 103–110 .

Khan, M. R., Rizvi, W., Khan, G. N., Khan, R. A. and Shaheen, S. (2009). Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats: Protective role of Digera muricata. *Journal of ethnopharmacology, 122*, 91-99.

Kim H, Choi HK, Moon JY, Kim YS, Mosaddik A, Cho SK. (2011). Comparative antioxidant and antiproliferative activities of red and white pitayas and their correlation with flavonoid and polyphenol content. *Journal of food science. 76*(1):C38-C45.

Knapen,M.F.(2000). The glutathione/glutathione–related enzyme system in reproduction. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*; 91:127-9.

Knol, B. W. (1991). Stress and the endocrine hypothalamus pituitary testis system: *A review.13*(2) :104-114.

Ko, E. Y., Sabanegh Jr, E. S. and Agarwal, A. (2014). Male infertility testing: reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertility and sterility*, 102, 1518-1527.

Kosasa T.S. (1981). Measurement of Human Luteinizing Hormone. *Journal of Reproductive Medicine, 26*, 201-6

Kumar A. (2012) A review on hepatoprotective herbal drugs. *Int J Res Pharm Chem. 2*(1): 96-102.

Kumar, S. (2011). Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System. *Advances in Applied Science Research, 2* (1) pp:129- 135.

La Maestra S, De Flora S, Micale RT. (2015). Effect of cigarette smoke on DNA damage, oxidative stress, and morphological alterations in mouse testis and spermatozoa. *Int. J. Hyg. Environ. Health 218*, 117–122.

Lakshmi, B. V. S; Sudhakar, M. and Aparna, M. (2014). Protective effect of black grapes on cadmium induced hepatotoxicity in rats. *Wor. J. pharm. Sc. Issn (online)*: 2321-3086.

Lanzafame , F.M ; Vignera , S.L ; Vicari , E. and Calogero , A .E. (2009) . Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male . *J. infertility, 19*(5): 638-659.

Le Bellec F, Vaillant F, Imbert E.(2006). Pitahaya (Hylocereus spp.): a new fruit crop, a market with a future. Fruits , 61(4):237-50.

Lee, K. J.,Woo , E ., Chio,C.Y., Shin , D , W,. Jeong , H,G. (2004). Protective effect of acteoside on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Life Sciences, 74, 1051-1064.

Lianiwati, B. (2011). Provision of Dragon Fruit Extract Red (Hylocereus polyrhizus) Lowering Isoprostane F2 levels in Male White Rat (Albino rat) Over Given Activities. Thesis. Denpasar: Biomedical Sciences Study Program Postgraduate Program at Udayana University.

Liaotrakoon W. (2013). Characterization of dragon fruit (Hylocereus spp.) components with valorization potential: Ghent University.

Liguori, I., Russo, G ., Curcio , F., Bulli , G,. Abete , B . (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging, 13*, 757.

Litescu SC, Eremia SA, Diaconu M, Tache A, Radu G-L. (2011). Biosensors applications on assessment of reactive oxygen species and antioxidants. Environmental Biosensors: InTech.

Liu, Y., Dettin, L.E., Folmer, J., Zirkin, B.R. and Papadopoulos, V.(2007).

Abnormal morphology of spermatozoa in cytochrome P450 17alpha-hydroxylase/17, 20-lyase (CYP17) deficient mice, J Androl., 28:453–460.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, *4*, 118.

Lubis N, Agustiono J, Ismail D. (2020). Effect of red dragon fruit peels (Hylocereus polyrhizus) as a natural dye and preservatives on chicken nuggets. *International Journal of Research and Review. 2020; 7*(3): 168-174.

Luo H., Cai Y., Peng Z., Liu T. and Yang S., (2014). Chemical composition and in vitro evaluation of the cytotoxic and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide extracts of pitaya (dragon fruit) peel. *Chemistry Central Journal; 8*: 1.

Lushchak, V. (2015). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stresses and their classifications. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 11-18.

Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, *224*, 164-175.

Mahattanatawee K, Manthey JA, Luzio G, Talcott ST, Goodner K, Baldwin EA. (2006). Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-93 grown tropical fruits. *Journal of agricultural and food chemistry. 54*(19):7355-63. 21.

Mahdi, M. (2016). Biosynthesis of Gold nanoparticles using Dragon fruit and study their biochemical properties. A Thesis submitted to The College of Science , Mustansiriyah University.

Mahdi,Ch. , Hendrawan, V. , Viestaria,Kh. (2019). The Effect of Red Pitaya Peel (Hylocereus polyrhizus Extract) on Malondialdehida Levels and

Histopathology Profle in Diazinon Induced Rat (Rattus norvegicus). *Indones. J. Cancer Chemoprevent*., 10(2), 88-93 21.

Mahriani, (2008). Kajian ekspresi protein bax pada gangguan spermatogenesis pasca pemaparan 2,5 hexanadione pada tikus putih (Rattus novergicus). *Jurnal Biologi 7*, 1-5.

Manibusan, M. K., Odin, M. and Eastmond, D. A. (2007). Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review. *Journal of Environmental Science and Health Part C, 25*, 185-209.

Manjrekar, A. P., Jisha, V., Bag, P. P. , Adhikary, B., Pai, M. M., Hegde, A. and Nandini, M.(2008). Effect of Phyllanthusniruri Linn. treatment on liver, kidney and testes in CCl4 induced hepatotoxic rats. *Indian J. Exp. Biol., 46*:514-520.

Marin, D. and Garcia,P.(2008). New Research on Antioxidants. NOVA Biomedical Books,*New York USA* .: P.300 .

Martini, R. (2000). Fundamentals of anatomy and physiology .Prentice Hall, Inc.Perrson company.

Mayo Clinic Medical Information.(2005). Drugs and supplements. Vitamin E., http://www.mayoclinic.com/health/vitamine/NS_patientvitamin-e.

Mazani.M , Banaei.S , Rezagholizadeh.L. (2020). Feverfew attenuates carbon tetrachloride-induced testicular damage in rats. *Journal of Herbmed Pharmacology 9*(1): 42-47.

McLachlan, R. I.;O'Donnell, L. and Meachem, S. J. (2002). The hormonal regulation of spermatogenesis in primates and man : Insights for the development of the male contraceptive. *J. Androl. 23*:149–162.

Megli, F. M. and Sabatini, K. (2004). Mitochondrial phospholipid bilayer structure is ruined after liver oxidative injury in vivo. *FEBS letters, 573*, 68-72.

Mihir Y P, Sachinkumar S, Tribhuvan S, Ishimo S, Nirali P. (2019). Antioxidant and Hepatoprotective Potential of Dragon Fruit Extract in 003 Opposition to Acetaminophen-Induce Liver Smash Up in Rats. *Adv Res Gastroentero Hepatol.; 12*(5): 555846. DOI: 10.19080/ARGH.2019.12.555846 .

Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D. (2005). Meta-analysis: high-dosage Vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann. Intern. Med*; 142: 37-46 .

Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M. and Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. Advances in medical sciences, 63, 68-78.

Misro MM, Choudhury L, Upreti K, Gautam D, Chaki SP, Mahajan A S, Babbar R. (2004). Use of hydrogen peroxide to assess the sperm susceptibility to oxidative stress in subjects presenting a normal semen profile. *Inter J Androl, 27*:82-87.

Mochizuki, M., Shimizu,S ., Urasoko, Y ., Umeshita, K., Kamata,T ., Kitazawa , T ., Nakamura , D ., Nishihata , Y., Ohishi, T., Edamoto , H. (2009). Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in pregnant and lactating rats. The Journal of toxicological sciences, 34, 175-181.

Mohd, M.H., (2010). Diversity of Fusarium semitectum (berkeley and ravenel) associated with red-fleshed dragon fruit (Hylocereus polyrhizus [weber] britton and rose) in Malaysia, Universiti Sains Malaysia.

Momeni HR, Oryan S, Eskandari N (2012). Effect of vitamin E on sperm number and testis histopathology of sodium arsenite-treated rats. *Reprod. Biol. 12*, 171–181.

Morakinyo A. O, Adeniyi O. S and Arikawe A. P. (2008) . Effects of Zingiber Officinale on Reproductive Functions in the Male Rat. *African Journal of*

Biomedical Research, 11: 329–334.

Naidu AK. (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery , An overview. Nutr. J.; 2: 1-10 .

Nanda, B. (2019). Role Of Free Radicals In Physiology And Pathology.

Nankaya, Jedidah; Nathan, Gichuki; Catherine, Lukhoba and Henrik Balslev. (2020). "Medicinal Plants of the Maasai of Kenya: A Review." *Plants 9*(1):44.

Naveed, M., Majeed, F., Taleb, A., Zubair, H. M., Shumzaid, M., Farooq, M. A., Baig, M. M. F. A., Abbas, M., Saeed, M., and Changxing, L. (2020). A Review of Medicinal Plants in Cardiovascular Disorders: Benefits and Risks. *The American Journal of Chinese Medicine, 48*(02), 259–286.

Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A. and Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. European journal of medicinal chemistry.

Neumman ,F.;Diallo , F.A.;Hasan ,S.H.;Hchenck ,B.and Traore ,I. (1976) .The influence of pharmaceutical compounds on male fertility .*Androl.J., 8*(3) : 203 – 235

Niki, E. (2014). Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1840, 809-817.

Nimse, S. B. and Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Rsc Advances, 5*, 27986-28006.

Nissanka, N. and Moraes, C. T. (2018). Mitochondrial DNA damage and reactive oxygen species in neurodegenerative disease. *FEBS letters, 592*, 728-742.

NLM (National Library of Medicine). (2003) Carbon tetrachloride. Hazardous Substances Data Bank (HSDB). National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, Bethesda, MD.

Noureen F., Khan M.R., Shah N.A., Khan R.A., Naz K. and Sattar S. (2017) .

Pistacia chinensis: Strong antioxidant and potent testicular toxicity amelioration agent. Asian Pacific J. *Trop Med., 10* (4): 380–89.

Nouri.M, Ghasemzadeh.A, Farzadi.L, Shahnazi, V.and Novin.M.G.(2008). VitaminsC,Eand lipid peroxidation levels in sperm and seminal plasma of asthenoteratozoospermic and normozoo-spermic men. *Iran. J. Reprod. Med.; 6*.(1):1.

Novita S., Nurhayati S. and Suprayitno. (2020). Potential of the red dragon fruit (Hylocereus polyrhizus) as an antioxidant in strenuous exercise. *Biotechnology, 19*: 18-22.

Nugroho CA.(2007) .Pengaruh minuman beralkohol terhadap jumlah lapisan sel spermatogenik dan berat vesikula seminalis mencit. *Widya Warta Jurnal Ilmiah Universitas Katolik Widya Mandala Madiun. 2007*; 33(1).

Nurliyana R, Syed Zahir I, Mustapha, Aisyah MR, Kamarul Rahim K. (2010). Antioxidant study of pulps and peels of dragon fruits: a comparative study. *International Food Research Journal. 17*(1):367-75.

Nurul, S. R. and Asmah,R. (2012).“Evaluation of antioxidant properties in fresh and pickled papaya,” *International Food Research Journal, vol. 19*, no. 3, pp. 1117–1124, 2012.

Ogeturk M., Kus I., Colakoglu N., Zararsiz I., Ilhan N. and Sarsilmaz M. (2005): Caffeic induced nephrotoxicity and protective effect of betaine in SpragueDawley rats. *Urology, 62*:353–356.

Ojo.O Adeleke, Busola Ojo.A , *et al* (2016). Protective Influence of Ficus asperifolia Miq Leaf Extract on Carbon tetrachloride (CCL4)-Induced Testicular Toxicity in rat’s Testes, *Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 6* (06), pp. 037-041.

Okolo . K.O, Siminialayi .I.M , Orisakwe.O.E. (2016) . Protective Effects of

Pleurotus tuber-regium on Carbon Tetrachloride Induced Testicular Injury in Sprague Dawley Rats , *Frontiers in Pharmacology ,7*(480); 1-6.

Okoro, I. O., Kadiri, H. E. and Inegbedion, A. (2019). Ameliorative effects of Allium cepa extract on carbon tetrachloride neurotoxicity in rat. Thai Journal of Pharmaceutical Sciences, 43.

Ong BP. (2011). Benefits of Dragon Fruit [tesis]. Malaysia: Tunku Abdul Rahman College.

Oroian, M. and Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, *74*, 10-36.

Ortiz-Hernández & Carrillo-Salazar (2012). Pitahaya (Hylocereus spp.) *Comunicata Scientiae 3*(4): 220-237.

Othman MS, Nada A, Zaki HS, Moneim AEA. (2014). Effect of Physalis peruviana L. on cadmium-induced testicular toxicity in rats. *Biol. Trace Elem. Res. 159*, 278–287.

Pan, B., Li, H., Lang, D. and Xing, B. (2019). Environmentally persistent free radicals: Occurrence, formation mechanisms and implications. Environmental Pollution.

Patel,N.K.; Kumar,S. and Kumar,A. (2015). Effect of FYM on the uptake of cadmium by Amaranth(Amaranthus viridis L.). *SDRP Journal of Earth Science & Environmental Studies,1*(1):1-5.

Paustenbach DJ, Christian JE, Carlson GP, et al. (1986) . The effect of an 11.5-hr/day exposure schedule on the distribution and toxicity of inhaled carbon tetrachloride in the rat. *Fundamental and Applied Toxicology 6*: 472–483.

Pham-Huy, L. A., He, H. and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS, 4*, 89.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B. and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry, 30*, 11-26.

Pineda, M. H. and Dooley , M. P. (2003). McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction . 5 th ed. Lowa State Press. *A Blackwell Publishing Company* . pp.;239-256.

Pirinççioğlu M., Kızıl G., Kızıl M., Özdemir G., Zeki Kanay Z., and Ketani M.A. (2012) . Protective effect of Öküzgözü (Vitis vinifera L. cv.) grape juice against carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *Food Funct., 3*, 668-73.

Pisoschi, A. M. and Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry, 97*, 55-74.

Poprac, P., Jomova, K., Simunkova, M., Kollar, V., Rhodes, C. J. and Valko, M. (2017). Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends in pharmacological sciences, 38*, 592-607.

Provincial, F. (2010). Guidelines for canadian drinking water quality: guideline technical document–carbon tetrachloride. ISBN.

Qin, D.M., Hu, L.B ., Zhang, Y., Kang., Y ., Han, C., Dang,T., Jiang, Y.B. (2019). Studies on the protective effect of total flavonoids from Cichorium glandulosum roots against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 18*, 311

Rabiei. S, Rezaei. M, Abasian. Z, Khezri. M, Nikoo. M Rafieian-Kopaei. M., *et al*. (2019) .The protective effect of Liza klunzingeri protein hydrolysate on carbon tetrachloride-induced oxidative stress and toxicity in male rats, Iran. *J. Basic Med. Sci. 22* (10) 1203–1210.

Rahal, A., Singh, V ., Yadav,B., Tiwari , R ., Chakraborty, S., Dhama,K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. BioMed research international,.

Raharjo.R, Sudjarwo.S.A , I'tishom.R (2017) . Effects Of Red Dragon Fruit (Hylocereus Polyrhizus) Skin Extract On Lead Acetate Toxicity In The Morphology Of Balb/C Mice (Mus Musculus) Spermatozoa . *Folia Medica Indonesiana , 53* (4) : 237-241.

Rahmouni F., Saoudi M., Amri N., ElFeki A., Rebai T. and Badraoui R. (2018). Protective effect of Teucrium polium on carbon tetrachloride induced genotoxicity and oxidative stress in rats. Arch Physiol Biochem., Feb;124(1):1-9.

Rahmouni, F., Daoud, S. and Rebai, T. (2019). Teucrium polium attenuates carbon tetrachloride-induced toxicity in the male reproductive system of rats. *Andrologia, 51,* e13182.

Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan,T., Palaniswami, R., Gnanadhas , E.N., Lakshminarasaiah, U., Gopas, J., Nishigaki ,I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica chimica acta, 436*, 332-347.

Rajesh, M.G. and Latha, M.S.(2004). Protective activity of *Glycyrrhiza glabra* Linn. on carbon tetrachloride-induced peroxidative damage. *Indian J. pharmacol.,* 36 (5) : 284-287.

Ranawat, P., & Bansal, M. P. (2009). Delineating the molecular mechanism behind regulation of spermatogenesis by selenium: Involvement of mitogen activated protein kinase; JNK. Am. J. Biomed. Sci, 1(3), 226-241.

Reddy, D., Reddy, G. and Mandal, P. (2018). Application of Natural Antioxidants in Meat and Meat Products-A Review. Food Nutr J: FDNJ-173. DOI, 10, 2575-7091.

Ribas, V., García-Ruiz, C. and Fernández-Checa, J. C. (2014). Glutathione and mitochondria. Frontiers in pharmacology, 5, 151.

Romero, G J, Waing, D KG, Valenteno, Mary, . (2017). phytochemical screening and bioassayof the anti bacterial activity of Hylocereus undatus and Hylocereus polyrhizus fruit peel. IJBPAS :6(6).

Rong-zhen Z, and Dao-wei Z (2013). Oxidative stress and role of natural plant derived antioxidants in animal reproduction. *Journal of Inyegrative Agriculture 12*, 1826-1838

Ross, S. and C. D. Davis, (2011). MicroRNA, nutrition, and cancer prevention, Advances in Nutrition: *An International Review Journal, vol. 2*, no. 6, pp. 472–485.

Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra W. Selenium.(1973). biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* (80). 179:588–90.

Roy, A., Jauhari, N. and Bharadvaja, N. (2018). Medicinal Plants as a Potential Source of Chemopreventive Agents. In Anticancer Plants: *Natural Products and Biotechnological Implements* (pp. 109-139): Springer.

Ruan, X., Sun, Y ., Du,W ., Tang , Y., Liu,Q ., Zhang., Z ., Doherty, W., Frost, R., Qian,G ., Tsang,D . (2019). Formation, characteristics, and applications of environmentally persistent free radicals in biochars: A review. Bioresource technology.

Sabbe, S., W. Verbeke, and P.V. Damme, (2009). onfirmation disconfirmation of consumers' expectations about fresh and processed tropical fruit products. *International Journal of Food Science and Technology 44*: 539-551

Sahreen S., Khan M.R., Khan R.A. and Alkreathy H.M. (2015): Protective effects of Carissa opaca fruits against CCl4-induced oxidative kidney lipid

peroxidation and trauma in rat. *Food Nutr Res., Sep 7*;59:28438.

Saleh, R.A. and Agarwal, A.(2002). Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J. Androl* .,23:737–752.

Salisbury,G.W.;Van Demark,N.L.and Lodge,J.R.(1978). Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle.2nd .,Freeman and Company ,San Francisco .798.

Samanta. B. S. Nandi. D.(2017) .Toxicokinetics of carbontetrachloride (CCl4) exposure on hepatorenal system, Euro. *J. Biomed. Pharmace. Sci 4* (1)520–525.

Santos. A.M, Ferraz. M.R, Teixeira. C.V, Sampaio. F.J, da Fonte R.C. (2004). Effects of undernutrition on serum and testicular testosterone levels and sexual function in adult rats, Horm. *Metab. Res. 36* (1): 27–33.

Sanzgiri, U. Srivatsan, V. Muralidhara, S. Dallas, C. and Bruckner, J. (1997). Uptake, distribution, and elimination of carbon tetrachloride in rat tissues following inhalation and ingestion exposures. Toxicol. Appl. *Pharmacol. 143*(1):120- 9.

SAS. (2012). Statistical Analysis System, User,s Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Institute Incorporated Cary. N.C. USA.

Sato, T. , Onse,Y. ,Nagse, H. &Kito H.(1990). Mechanism of anti – mutagenicity of aquatic plant extracts against (benzo(a)yrene) in the Salmonella assay .J. Mut. *Res.241*:283-290.

Satyam SM, Bairy LK, Pirasanthan R, Vaishnav RL. (2013). Grape seed extract and zinc containing nutritional food supplement decreases the oxidative stress induced by carbon tetrachloride in rats. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 5*, 626–631.

Schieber, M., &Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and

oxidative stress. *Current biology*, *24*(10), R453-R462.

Sekhon, L.H. ;Gupta S.; Kim.Y. and Agarwa, A.(2010). Female Infertility and Antioxidants Current Women's Health Reviews.; 6:2.

Sergent, O., Morel, I. and Cillard, J. (2018). Involvement of metal ions in lipid peroxidation: biological implications. *In Metal ions in biological systems* (pp. 251-287): Routledge.

Sewerynek , J. ; Wiktorska, J. ;Nowak , D,and Lewinski, M.(2000). Methimazole Protection against oxidative stress induced by hyperthyroidism In graves disease. *Endo . Regul .; 34*:83-9.

Shah N.A. and Khan M.R. (2017) . Increase of glutathione, testosterone and antioxidant effects of Jurenia dolomiaea on CCl4 induced testicular toxicity in rat. *BMC Complement Altern Med., Apr 8*;17(1):206.

Shakya, A. K. (2016). Medicinal plants: future source of new drugs. *International Journal of Herbal Medicine*, *4*, 59-64.

Sheweita SA, Mashaly S, Newairy AA.(2016). Changes in oxidative stress and antioxidant enzyme activities in streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats: Role of Alhagi maurorum Extracts. *Oxid Med Cell Longevity*.;1:1-8.

Shih, C. Wu. Y.; and lin, W. (2002) . Antihyperglycaemic and antioxidant properties of anoectochilus formosanus in diabetic rats. J. *clin and Experimental pharmacol and Physiol 29*: 68 –688.

Shukla, V.N. and Khanuja, S.P.S. (2004). Chemical, Pharmacological and botanical studies on Pedalium murex. J Med Aromatic Plant Sci., 26: 64- 96. Yurtsever, M. and Sengil, I. A. (2009) Biosorption of Pb (II) ions by modified quebracho tannin resin. J. *Hazard. Mater., 163*, 58-64.

Siew, Y.-Y., Yew,H ., Neo , S ., Seow , V ., Lew , S ., Lim , S ., Seetoh ,W ., Ali , A., Tan, C ., Koh, H . (2019). Evaluation of anti-proliferative activity of

medicinal plants used in Asian Traditional Medicine to treat cancer. *Journal of ethnopharmacology.*

Simoni, M., Gromoll, J., & Nieschlag, E. (1997). The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology . *Endocrine reviews*, *18*(6), 739-773.

Sisein, E. A. (2014). Biochemistry of free radicals and antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences*, *2*, 110-118.

Soliman AM, Fahmy SR (2011). Protective and curative effects of the 15 KD isolated protein from the Peganum harmala L. seeds against carbon tetrachloride induced oxidative stress in brain, testes and erythrocytes of rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci 15*:888–899.

Sonmez.M ,Türk.G , Çeribas.S ¸ Çiftçi. M , Yüce. A, Güvenç. M. (2014). Quercetin attenuates carbon tetrachloride-induced testicular damage in rats, Andrologia 46 (8): 848–858.

Sugiyanta, Dewi, O. and Azham, P. (2013) . Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Wistar (Rattus norvegicus) Jantan yang Diinduksi Metanol, Fakultas Kedokteran , Universitas Jember.

Sujatha, K., et al. (2019). Hepatoprotective Activity of the Biherbal Extract in Carbon Tetrachloride Induced Hepatoxicity—A Study (CCl4) of Histopathological Image Analysis. Intelligent Systems, Technologies and Applications: *Proceedings of ISTA*, 910, 269.

Suleman, M., Khan, A., Baqi, A., Kakar, M. S. and Ayub, M. (2019). Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body. *Pure and Applied Biology (PAB)*, *8*, 380-388.

Suvarna, K. S., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2013). Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques .7th ed. Elsevier Health Sciences.

Suzuki K.(2009). Anti-oxidants for therapeutic use: why are only a few drugs in clinical use Advanced drug delivery reviews. 61(4):287-9.

Sytar, O.; Hemmerich, I.; Zivcak, M.; Rauh, C. and Brestic, M. (2018). Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. *Saudi Journal of Biological Sciences, 25*, 631-641.

Szymonik-Lesiuk. S, Czechowska. Stryjecka-Zimmer G.M, Slomka.M., Madro.A, Celinski K. (2003) . Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication, J. *Hepatobiliary Pancreat. Surg. 10* (4)309–315.

Tesoriere L, Allegra M, Gentile C, Livrea M. (2009). Betacyanins as phenol antioxidants. Chemistry and mechanistic aspects of the lipoperoxyl radicalscavenging activity in solution and liposomes. *Free radical research. 43*(8):706-17 .

ThaiSME. 2013. Dragon fruit production, Vol. 2013**.**

Tietz, N. W. (1995). Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders Co.

Tijani1, A. S.; Ukwenya, V. O.; Sodunke, G. A. and Fakunle, J. B.(2010) . Acute administration of co-artesiane® induces oxidative stress in the testes of adult male Wistar rats *Biosci. Res. Commun*., 22(5):259-265.

Tohda A, Matsumiya K, Tadokoro Y, Yomogida K, Miyagawa Y, Dohmae K, Okuyama A, Nishimune Y (2001). Testosterone suppresses spermatogenesis in juvenile spermatogonial depletion (JSD) mice. Biol. Reprod. 65, 532–537.

Tonny C. Maigoda, Darwis, Ahmad Rizal, Emy Yuliantini, Kamsiah, Meriwati Mahyuddin, Elly Wahyuni, Rachmawati, Kosma Heryati, Yuliana Lubis, PS. Kurniawati, Mariati, Serilaila, Epti Yorita, Sri Sumiati,

Pauzan Efendi, Septiyanti, Sahidan, Agus Widada, Yusmidiarti, Sri Mulyati, Haidina Ali and Jubaidi, (2017). Red dragon fruit powder as a basic ingredient for functional foods rich in bioactive compounds, nutritional substances and antioxidants. Pak. *J. Nutr., 16*: 714-718.

Türk G., Çeribaşı S., Sönmez M., Çiftçi M., Yüce A., Güvenç M., Kaya Ş.Ö., Çay M. and Aksakal M. (2016): Ameliorating effect of pomegranate juice consumption on carbon tetrachloride-induced sperm damages, lipid peroxidation, and testicular apoptosis. *Toxicol Ind Health, Jan;32*(1):126-37.

Turk.G, Ceribas .S, Ciftci.M , Yüce A., Güvenç M., Kaya Ş.Ö., Çay M. and Aksakal M. (2014) . Ameliorating effect of pomegranate juice consumption on carbon tetrachloride-induced sperm damages, lipid peroxidation, and testicular apoptosis, Toxicology and Industrial Health 29 ; 1-12.

Turner TT, Lysiak J (2008). Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. *J Androl 29*:488–498.

Ursini, F.; Heim,S.;Kiess,M.et al. (1999). Dual function of the selenoprotein GSH-PX during sperm maturation.; 27(285): 1393- 97.

Valko, M., Jomova, K., Rhodes, C. J., Kuča, K. and Musilek, K. (2016). Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. Archives of toxicology, 90, 1-37.

Van der Paal, J., Neyts, E. C., Verlackt, C. C. and Bogaerts, A. (2016). Effect of lipid peroxidation on membrane permeability of cancer and normal cells subjected to oxidative stress. Chemical science, 7, 489-498.

Venkatachalam, D., Thavamani, B. S., Muddukrishniah, K. and Vijayan, S. (2018). In vivo Hepatoprotective and Antioxidant Activity of Enicostemma littorale against Ccl4 Induced Liver Damage in Rats. *Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences,* 1-8.

Vincent, L., Leedy, D., Masri, S. C. and Cheng, R. K. (2019). Cardiovascular Disease and Cancer: Is There Increasing Overlap Current oncology reports, 21, 47.

Volpe, C. M. O., Villar-Delfino, P. H., dos Anjos, P. M. F. and Nogueira-Machado, J. A. (2018). Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell death & disease*, 9, 119.

Wang F. Q., Yao K and Wei D. Z., (2011). From Soybean Phytosterols to Steroid Hormones, Soybean and Health, Prof. *Hany El-Shemy* (Ed.), ISBN: 978-953-307-535-8.

Weismann, D. ; Hartvigsen, K. ; Lauer, N. ; et al.(2011). Complement factor H binds malondialdehyde epitopes and protects from oxidative stress. *Nature. .5;478*(7367):76-81.

Wijayarathna, R., de Kretser, D. M., Meinhardt, A., Middendorff, R., Ludlow, H., Groome, N. P., & Hedger, M. P. (2018). Activin over-expression in the testis of mice lacking the inhibin α-subunit gene is associated with androgen deficiency and regression of the male reproductive tract. *Molecular and cellular endocrinology*, *470*, 188-198.

Wu L, Hsu HW, Chen YC, Chiu CC, Lin YI, Ho JA (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry 95*, 319–327.

Wu, D. , Cederbaum, A. (2009). Oxidative stress and alcoholic liver disease. Semin Liver Dis., 29, 141–154. [CrossRef] [PubMed]

Wulandari.E , I'tishom.R , Sudjarwo.S.A. (2020) . Therapy Effect Of Red Dragon Fruit (Hylocereus Polyrhizus) Peel Extract To Increase The Number Of Sertoli Cells On Balb/C Mice (Mus Musculus) Exposed To Lead Acetate. Fol Med Indones, Vol. 56 No. 2 June 2020 : 108-113.

Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J. & Li, H. B. (2017).

Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International journal of molecular sciences, 18*(1), 96.

Yan, Z. , Zhong, Y. , Duan, Y. , Chen, Q. , & Li, F. (2020). Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. Animal Nutrition.

Ying-min, G.; Jing-shun, L.I. and Shu-hua, Z.(2004). Effect of carbon tetracholoride on male mice liver and testes enzyme. *Chin. J. of Public Health* .

Yoshida ,Y.; Itoh, N.; Hayakawa, M.; Piga, R.; Cynshi, O.; Jishage, K. and Niki, E. (**2005).** Lipid peroxidation induced by carbon tetrachloride and its inhibition by antioxidant as evaluated by an oxidative stress marker, HODE. *Toxicol. and Appl. Pharmacol*., 208 (1):87-97.

Yousef MI, Abdallah GA, Kamel KI. (2003) . Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. J Anim Reprod Sci, 76: 99-111.

Yuce. A ., Türk, G ., Çeribaşi, S., Sönmez , M ., Çiftçi .M ., Güvenç, M . (2013). Effects of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) bark oil on testicular antioxidant values, apoptotic germ cell and sperm quality. *Andrologia 45*:248–255.

Yuce. A., G Türk, S Çeribaşı, M Güvenç, M Çiftçi, M Sönmez, Ş Özer Kaya, M Çay, M Aksakal . (2014). Effectiveness of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) bark oil in the prevention of carbon tetrachloride-induced damages on the male reproductive system. *Andrologia, 46*, 263-272.

Zaib, S. and Khan, M. R. (2014). Protective effect of Cucurbita pepo fruit peel against CCl4 induced neurotoxicity in rat. Pak J Pharma Sci, 27, 1967-1973.

Zee, F., C.-R. Yen, and M. Nishina, (2004). Pitaya (dragon fruit, strawberry pear). Fruits and Nuts 9: 1-3.

Zhang, Q., Xu, F., Li, Y., Zheng, M., Xi, X. and Han, C. (2018). Silybum marianum seeds oil attenuates CCl4-induced hepatic fibrosis via regulation of inflammatory response and oxidative stress. Current Nutrition & Food Science, 14, 197-203.

Abstract

The current study aimed to investigate the effect of the aqueous extract of red dragon fruit *Hylocereus polyrhizus* on histological changes in testes and epididymis and some physiological blood parameters in white male rats *Rattus Norvegicus* Treatment with carbon tetrachloride.

The current study was conducted in the animal house of the College of Pharmacy / University of Karbala for the period from November of the year 2020 until January of the year 2021, 36 adult male white rats were used, with average weights ranging (250-310) gm and ages between (11- 13) Approximately a week, the rats were randomly distributed to six groups (6 animals in each group). The first group G1 was the negative control group, which was dosed orally and daily with physiological solution (NaCl 0.09%) for 30 days, and the second group G2 was injected subperitoneally With carbon tetrachloride at a concentration of 0.1 ml / 100 gm of body weight for two days a week for the duration of the experiment, the third group G3 and the fourth G4 were dosed orally with aqueous extract of red dragon fruit at a concentration of 350 and 650 (mg/kg) respectively daily for 30 days, as for the fifth group G5 and sixth G6, they were administered orally with aqueous extract of red dragon fruit at a concentration of 350 and 650 (mg/kg), respectively, then injected under the peritoneal membrane with carbon tetrachloride at a concentration of 0.1 ml / 100 g of body weight after an hour. from dosing.

Blood samples were collected in the six groups after one month of dosing and injection to measure the following parameters:

Malonadialdehyde (MDA), glutathione (GSH), testosterone (T), luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), sperm concentration, as well

as test for epididymal tissue samples for the purpose. Studying the histological changes on it by measuring the average diameters of the seminiferous tubules and their cavities, spermatogonial cells, primary spermatogonia, blastoblasts, Sertoli cells, average thickness of the germ layer of seminiferous tubules, measuring the average diameters of each of the epididymis and its cavities and the rate of height of the epididymis The results of our current study showed functionally and histologically to:

The injection of carbon tetrachloride at a concentration of 0.1 ml / 100 g of body weight (positive control) led to a significant decrease ($P<0.05$) in the level of GSH, and the level of hormones including (T), (LH), and (FSH) hormones, as well as In the sperm concentration with a significant increase ($P<0.05$) for (MDA) in comparison with the negative control group.

Histological changes in the testis tissue were also represented by the presence of a significant decrease ($P < 0.05$) in the average thickness of the germ layer and the average diameter of each of the seminiferous tubules, progenitor cells, primary spermatogonia, spermatoblasts and Sertoli cells, and a significant increase ($P < 0.05$). In the average diameter of the lumen of the seminiferous tubules compared with the negative control group, as well as the occurrence of sloughing and damage to the layers of cells that make up sperm, necrosis and degeneration of cells lining the seminiferous tubules and lack of sperm, as for the epididymis tissue, a significant decrease ($P<0.05$) was observed in The average diameter of each of the epididymis and its cavities, the rate of the height of the epididymal epithelium, as well as the destruction of the epithelial cells lining the tube, the degeneration of some cells, and the absence of their cavities of sperm, with clear spaces between the epididymal tubes and the lack of smooth muscle surrounding

the tube.

Oral dosing with aqueous extract of red dragon fruit at a concentration of 350, 650 (mg/kg) only led to a significant increase ($P<0.05$) in the mean concentration of (GSH) and the level of hormones that include (T), (LH), (FSH) hormones. As well as in the concentration of sperm and a significant decrease ($P<0.05$) in the mean concentration of (MDA) compared with the negative control group, while it did not cause histological changes in the testes and epididymis tissues of rats that were dosed with the extract with both concentrations compared with the control group.

The results of the current study also showed in the protective groups treated with aqueous extract of red dragon fruit at a concentration of 350, 650 (mg/kg) with carbon tetrachloride, a significant increase ($P<0.05$) in both (GSH) and the level of hormones that include (T), (LH), (FSH) hormone as well as in the concentration of sperm with a significant decrease ($P<0.05$) in the concentration of (MDA) compared to the carbon tetrachloride group.

The results of the histological examination of the testicular tissues also showed a significant increase ($P < 0.05$) in the average levels of the diameters of the seminiferous tubules, the average thickness of the germ layer, the average diameters of spermatozoa, primary spermatozoa, spermatoblasts and Sertoli cells, and a significant decrease ($P < 0.05$) in the average diameter of the lumen. The seminiferous tubule compared with the carbon tetrachloride group, and a clear improvement was closer to normal for the seminiferous tubules with the presence of Leydek cells. As for the epididymis tissue, a significant increase ($P<0.05$) was observed in the mean diameters of each of the epididymis and its cavities and the rate of height of the epididymal epithelium, and an improvement Clear in the

epididymis tissue, the tissue appeared close to normal for the epididymal tubules, and the number of sperm increased in the lumen of the epididymal canal, with the presence of static cilia and smooth muscle cells surrounding the tubules.

We conclude from this study the effectiveness of the aqueous extract of red dragon fruit in inhibiting the activity of free radicals and neutralizing the oxidative stress induced by carbon tetrachloride in testis and epididymis tissues and some functional parameters in white male rats.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
University of Kerbala
College of Education for Pure Sciences
Department of Biology

Physiological and histological study of the protective role of aqueous extract of red dragon fruit in testes and epididymis of white male rats treated with carbon tetrachloride

By
Alaa Karim Hadi Al-Hasnawi
B. Sc. Biology / 2012

A Thesis submitted to the College of Education Pure Science of Kerbala University as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Biology – Zoology

Supervised By
Prof. Dr.
Ashwaq Kadhim Obaid

Dhul Qi'dah/1442 AH. **June / 2021 AD.**