جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسة نسجية وكيميائية مناعية وفسلجية لتقييم دور المستخلص المائي والنانوي لجذور نبات الماكا في تحسين كفاءة الجهاز التناسلي في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون

رسالة مقدمة

الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة/جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

كتبت بواسطة

مريم أحمد علي أحمد الرشدي

بإشراف

أ.د. اشواق كاظم عبيد الطائي

1446 هـ **2025 م**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿وَيَسْئَلُونَكَ عَنِ الرُّوحِ ۖ قُلِ الرُّوحُ مِنْ أَمْرِ
رَبِّي وَمَا أُوتِيتُم مِّنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا﴾

صدق اللَّهُ الْعَلِيُّ العَظِيم

(سورة الإسراء-الاية 85)

إقـــــــرار المشرف على الرسالة

أشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة: **(دراسة نسجية وكيميائية مناعية وفسلجية لتقييم دور المستخلص المائي والنانوي لجذور نبات الماكا في تحسين كفاءة الجهاز التناسلي في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون)** قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان

التوقيع:

الاسم : أ.د.اشواق كاظم عبيد

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ: 7 / 1 / 2025

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى التوصية أعلاه من قبل الأستاذ المشرف، أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الاسم: د. علاء حسين مهدي الصافي

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ: 7 / 1 / 2025

إقـــــرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة **(دراسة نسجية وكيميائية مناعية وفسلجية لتقييم دور المستخلص المائي والنانوي لجذور نبات الماكا في تحسين كفاءة الجهاز التناسلي في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون)** تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:
الاسم: د.مسلم مالك الاسدي
المرتبة العلمية: استاذ
مكان العمل: جامعة كربلاء -كلية العلوم الإسلامية
التاريخ: 17 / 1 / 2025

﴿إقـــــــرار المقوم العلمي الأول﴾

اشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة نسجية وكيميائية مناعية وفسلجية لتقييم دور المستخلص المائي والنانوي لجذور نبات الماكا في تحسين كفاءة الجهاز التناسلي في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون) **في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم - علوم الحياة / جامعة كربلاء التي قدمتها الطالبة (مريم أحمد علي أحمد) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.**

التوقيع:

الاسم: د. بشرى عباس بعيوي

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة الكوفة / كلية التربية للبنات

التاريخ: / / 2025

﴿إقـــــرار المقوم العلمي الثاني﴾

اشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة نسجية وكيميائية مناعية وفسلجية لتقييم دور المستخلص المائي والنانوي لجذور نبات الماكا في تحسين كفاءة الجهاز التناسلي في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون) **في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم - علوم الحياة / جامعة كربلاء التي قدمتها الطالبة (مريم أحمد علي أحمد) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .**

التوقيع:

الاسم: د. بتول عباس حسين

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 7 / 1 / 2025

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين ادناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة بـ (دراسة نسجية وكيميائية مناعية وفسلجية لتقييم دور المستخلص المائي والنانوي لجذور نبات الماكا في تحسين كفاءة الجهاز التناسلي في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون) في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة / جامعة كربلاء التي قدمتها الطالبة (مريم أحمد علي أحمد) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير، وبعد اجراء المناقشة العلنية وجد انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير امتياز.

رئيس لجنة المناقشة

التوقيع:

الاسم: أ. د. رشا عبد الأمير عواد

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2025 / 1 / 7

عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم: أ. د. هناء عناية ماهود

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة القادسية / كلية التربية

التاريخ: 2025 / 1 / 7

عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم: أ.م.د. محمد وسام حيدر المحنا

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2025 / 1 / 7

عضواً ومشرفاً

التوقيع:

الاسم: أ. د. أشواق كاظم عبيد

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2025 / 1 / 7

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع:

الاسم: د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 29 / 1 / 2025

الإهداء

إلى روح أمي الغالية

التي رحلت عني جسداً ولكنها لم ترحل أبداً عن قلبي وذاكرتي، إلى من علمتني الصبر والقوة والحب.

إلى من كانت نوراً يضيء دربي وأملاً يعزز إرادتي، إلى تلك التي كانت دائماً موجودة بروحها وحنانها في كل خطوة خطوتها أمي الحبيبة.

أنتِ السبب في كل نجاح أحققه، وكل إنجاز أبلغه، أسأل الله أن يجعل هذا العمل في ميزان حسناتك.

إلى أبي العزيز الذي كان لي دائماً السند والداعم الأول، الذي علمني معنى الإصرار والعمل الجاد، والذي لم يبخل عليّ بحبه وتوجيهاته الحكيمة.

إلى إخوتي الأحباء الذين كانوا لي مصدر قوة ودعم دائم، الذين لم يترددوا في تقديم المساعدة والنصيحة، والذين كانوا دائماً يشجعونني على تحقيق الأفضل.

إلى زوجي العزيز رفيق دربي وشريك حياتي، الذي كان لي العون والسند في كل لحظة، الذي قدم لي الدعم والتشجيع بصبر ومحبة، والذي تحمل معي كل التحديات والصعاب، أهديكم هذا العمل بتقدير وامتنان راجياً أن يكون ثمرة تعبكم وفخراً لكم.

مريـــــــم

الشكر والتقدير

الحمد لله الذي بفضله ومنَّته تتحقق النجاحات، وبسبب إرادته الكريمة، تمكنت من إتمام هذا البحث وإكمال رسالة الماجستير بفضل الله أولاً ثم بفضل جهود عائلتي

يسرني أن اتقدم ببالغ شكري وتقديري إلى رئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة لأتاحتها الفرصة لإكمال دراستي وإتماما لنعم الباري عَلَيَّ واحسانه إليَّ ووصولا الى نهاية دراستي هذه آن أتقّدم بوافر التقدير والشكر والإحرام إلى آستاذتي الفاضلة الأستاذة الدكتورة أشواق كاظم عبيد الطائي ،لاقتراحها موضوع الرسالة ولآشرافها ومتابعتها العلمية الدؤوبة ورعايتها الكريمة لي طيلة مدة البحث، فشكرًا على دعمها المستمر ودعائي لها بدوام التوفيق.

يسرني أن اتقدّم بوافر الشكر وعظيم التقدير إلى الآستاذة الدكتورة رشا عبد الأمير جواد، والأستاذ المساعد الدكتور علاء حسين الصافي ، الدكتورة ايسر عاشور خلف ، الدكتور حيدر الكرعاوي ، آساتذتي في قسم علوم الحياة لمساعدتي و لما قدموه لي ولجميع الباحثين من النصح والتوجيه و الإرشاد المتواصل طيلة مدة البحث راجياً من المولى عزوجل أن يوفقهم ويحفظهم لما فيه الخير .

أَتقدّم بالشكر إلى كلية الصيدلة جامعة كربلاء لموافقتها على انجاز جزء من العمل في مختبراتها واخص بالذكر الدكتور مازن حامد الربيعي لما قدمه من العون والمساعدة.

وكما أرغب في تقديم فائق الامتنان والشكر لزوجي وأهلي الأعزاء، فهم كانوا الدعامة القوية التي ساهمت في كل خطوة من خطوات هذا المشوار العلمي. بداية من الدعم المعنوي الذي لم ينقطع، وصولاً إلى الدعم المادي الذي لا يُقدر بثمن. كانوا دائماً إلى جانبي، يشجعوني ويدعموني في اللحظات الصعبة والسهلة على حد سواء.

كذلك لا يمكنني إلا أن أشير إلى أصدقائي الأوفياء الذين كانوا شركاء في هذه الرحلة العلمية. بفضل تشجيعهم المستمر والمحادثات الملهمة والنقاشات البناءة، ساهموا في تطوير أفكاري وإثراء رؤيتي البحثية فشكراً جزيلاً لكم جميعاً على الوقوف بجانبي ودعمي طوال هذه الرحلة العلمية، إن هذه الرسالة ليست مجرد إتماماً لمتطلبات الدراسة، بل هي ثمرة الجهود المشتركة والتعاون القيم الذي لا يُنسى.

أتمنى من الله أن يجعل هذا العمل في ميزان حسنات الجميع، وأن يجزيكم عني خير الجزاء على كل ما قدمتموه من دعم ومحبة.

ختاماً، أنا ممتنة لكم من أعماق قلبي وأتمنى لكم السعادة والنجاح في كل ما تقومون به،بكل حب وامتنان.

مريـــــــم

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى معرفة تأثير المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* على التغيرات النسجية في الخصى والبرابخ والبروستاتا وبعض معايير الدم الكيموحيوية في ذكور الجرذان البيض المعاملة بمادة عقار الآوكسي ميثلون (OX) Oxymetholone.

بيّنت الدراسة الحالية المحتوى الكيميائي للمستخلص المائي لجذور نبات الماكا إذ شخصت المركبات بتقنية Gas Chromatography Mass Spectrometry(GC-MS) وقد تبين وجود عشرة مركبات كيميائية هي Dodecane، cyclohexasiloxane -dodecamethyl، Diethyl phthalate، Cedrandiol، pathalic acid، butyl tetradecyl ester، Methyl palmitate، Methyl linoleate، Oleic acid, methyl ester، palmitic acid، methyl ester وهذه المركبات لها دور مهم وفعال في العلاجات الطبية.

أجريت الدراسة الحالية في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء لمدة (55) يوماً من شهر كانون الأول لسنة (2023) إلى النصف من شهر شباط لسنة(2024), تم استخدام (42) ذكراً من الجرذان البيض البالغة بمعدل اوزان (250-350) غم واعمارها (12-14) أسبوعاً، وزعت الجرذان عشوائياً على ست مجاميع بواقع سبعة حيوانات لكل مجموعة عدت المجموعة الأولى (G1) مجموعة السيطرة السالبة والتي تم إعطائها الماء فموياً ولمدة 55 يوماً، وجرعت المجموعة الثانية(G2) بعقار الاوكسي ميثلون وبتركيز (5) ملغم/كغم من وزن الجسم طوال مدة التجربة وعدت مجموعة السيطرة الموجبة ، و جرعت المجموعة الثالثة (G3) فموياً بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز(200) ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي يوميا ولمدة ()55 يوما ، جرعت المجموعة الرابعة (G4) فمويا بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم/كغم من وزن الجسم ، المجموعة الخامسة جرعت فمويا بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز(200ملغم /كغم) والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز(5) ملغم /كغم على التوالي ، اما المجموعة السادسة (G6) فجرعت فمويا بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز(100)ملغم /كغم من وزن الجسم والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز(5)ملغم /كغم بعد اربع ساعات من التجريع بعقار الأوكسي ميثلون .

جمعت عينات الدم للمجاميع أعلاه بعد مرور (55)يوما من التجريع ، وتم آخذ المقاطع النسجية للخصى والبربخ والبروستات لغرض دراسة التغيرات النسجية عليها والتي تشمل: قياس معدل أقطار كل من النبيبات الناقلة للمني وتجاويفها ،ومعدل سمك الطبقة الجرثومية للنبيبات المنوية ،وقياس معدل أقطار كل من البرابخ وتجاويفها، ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية ،وقد تم الحصول على مصل الدم لغرض قياس المعايير الكيموحيوية الآتية :مؤشرات الاجهاد التأكسدي المالون ثنائي الالديهايد Malondialdehyde (MDA)

،والكلوتاثيون Glutathione (GSH) وسوبر اوكسيد بيروكسيد الفائق Superoxide (SOD) dismutase ، و قياس مستوى هرمون الشحمون الخصوي Testosterone (T) ، والهرمون المحفز للخلايا البينية Luteinizing hprmone (LH) ،والهرمون المحفز للجريبات Follicle (FSH) stimulating hormone , وكذلك عمل تقنية Immunohistochemistry لكل من نسيج الخصى والبربخ و تم قياس تركيز النطف في ذيل البربخ .

أدى التجريع بعقار الأوكسي ميثلون يومياً ولمدة(55) يوماً الى حدوث تغيرات نسجية في الخصى متمثلة بتنكس الطبقة الجرثومية وتفكك خلاياها مع انفصال الطبقة الجرثومية عن الغشاء القاعدي في أغلب النبيبات مع وجود مسافات بينية بين النبيبات المنوية ، وكانت النطف قليلة أومعدومة في تجاويف النبيبات مع اختزال النسيج البيني وتفككه وكذلك قلة خلايا لا يدك وانخفاض حجم الطبقة الجرثومية مع تنكس الخلايا، لوحظ وجود انخفاضاً معنوياً ($p<0.05$) في معدل سمك الطبقة الجرثومية ،ومعدل اقطار كل من :النبيبات الناقلة للمني ، و قطر تجويف النبيبات الناقلة للمني مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة ، آما بالنسبة للتغيرات النسجية الخاصة بالبربخ لوحظ قلة او عدم وجود النطف في تجويف النبيبات و ضرر نسجي بتحطم الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات والظهارة مختزلة و قلة وجود العضلات الملساء المحيطة بالنبيبات مع حدوث انخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في معدل آقطار كل من البرابخ وتجاويفها ،ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية اما بالنسبة للتغيرات النسجية الخاصة بالبروستات فلوحظ تفكك النسيج الغدي للاسناخ والنسيج الضام المفكك وتفكك خلايا النسيج الغدي وقلة الافرازات الغدية للأسناخ مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1) لوحظ حصول انخفاضاً معنوياً ($P\leq0.05$) في تركيز كل من ال(SOD ,GSH) ومستوى الهرمونات التي تشمل هرمون(T,LH,FSH) وكذلك في معدل تركيز النطاف مع وجود ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في تركيز MDA بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1).

لم يظهر التجريع الفموي بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز(200) ملغم/ كغم من وزن الجسم في المجموعة الثالثة (G3) أي تغيرات نسجيه لأنسجة الخصية والبربخ والبروستات وعدم وجود فروق معنوية ($p\geq0.05$) لمعدل اقطار كل من الخصية والبربخ في المجموعة الثالثة (G3) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) , كما لوحظ حصول ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$)في معدل كل من اقطار النبيبات المنوية الناقلة للمني وقطر التجويف وسمك الطبقة الجرثومية لنسيج الخصية للمجموعة الثالثة (G3) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) , وأيضا حصول ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في تركيز ال(GSH, SOD) ومستوى الهرمونات التي تشمل هرمون (LH,FSH،T) وكذلك في تركيز النطاف مع وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$)في تركيز MDA بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) .

وأما التجريع الفموي بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز(100ملغم/كغم) من وزن الجسم لم يسبب أي بتغييرات نسجيه لأنسجة الخصية والبربخ والبروستات ، وعدم وجود فروق معنوية لمعدل اقطار كل من الخصية وكما لوحظ حصول ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$)في معدل قطر البربخ وعدم حصول فروق معنوية في معدل كل من قطر تجويف البربخ ومعدل سمك الطبقة الجرثومية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1), كما لوحظ حصول ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى GSH , و عدم حصول فروق معنوية في مستوى ال (MDA، SOD) وكذلك في مستوى هرمون ال(LH,FSH ,T) وكذلك في تركيز النطاف بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1).

كما بينت نتائج الفحص النسجي لنسيج الخصية في المجاميع الوقائية (G5،G6) المعاملة بالمستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز(200-100ملغم/كغم) والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز(5ملغم/كغم) لوحظ فيها طبقات الخلايا المكونة للنطف بالإضافة الى انتظام النبيبات المنوية و وجود النطف في بعضها مع وجود خلايا لايدك في النسيج البيني وزيادة في سمك الطبقة الظهارية الجرثومية المكونة للنطف وكذلك انخفاض في قطر التجويف الوسطي ويلاحظ فيها الخلايا المولدة للحيوانات المنوية داخل النبيبات المنوية وسليفات النطف اذ ظهر النسيج اقرب لمجموعة السيطرة السالبة (G1) , أما معدل الأقطار لنسيج الخصية فقد لوحظ وجود ارتفاعاً معنوياً ($P\leq0.05$) لمعدل اقطار كل من النبيب المنوي الناقل وقطر التجويف وسمك الطبقة الجرثومية مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2).أما فيما يخص نسيج البربخ تمثلت التغيرات النسجية في المجاميع الوقائية يلاحظ فيها تركيب البربخ الطبيعي مع النبيبات البربخيه المنتظمة وأيضا امتلاء التجاويف بالنطف الناضجة وقلة وجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات وجود مسافات بينية بين نبيبات البربخ مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) .أما معدل الأقطار لنسيج البربخ في المجاميع الوقائية (G5, G6) فقد لوحظ وجود ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) لمعدل أقطار كل من البرابخ وقطر التجويف وارتفاع الطبقة الظهارة البربخية مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) .

اما التغيرات النسجية لنسيج البروستات في المجاميع الوقائية يلاحظ فيها النسيج الضام منتظم ومتماسك وتكون الافرازات بشكل طبيعي بين الاسناخ وتظهر الاسناخ والنسيج الغدي طبيعي.

كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية في المجاميع الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز (100,200ملغم/كغم) مع عقار الاوكسي ميثلون حدوث ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى ال GSHومستوى الSOD ومستوى كل من هرمون ال (T,FSH ,LH) وكذلك تركيز النطف وانخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى MDA مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2).

وعززت الدراسة النسجية المناعية نتائج الدراسة واظهرت تلون الأنسجة باللون البني دلالة على وجود السيتوكينات المناعية المتمثلة لعامل تنخر الورمي نوع الفا (TNF_ά) Tumar necrosis factor.

نستنتج من الدراسة الحالية مدى فعالية المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم /كغم الذي كان له الدور الأقوى في كبح نشاط الجذور الحرة وتقليل الاجهاد التأكسدي المستحث بعقار (Oxymetholone) في نسيج الخصية والبربخ والبروستاتا وبعض المعايير الوظيفية في ذكور الجرذان البيض.

قائمة المحتويات

ت	الموضوع	رقم الصفحة
	الخلاصة	I
	قائمة المحتويات	V
	قائمة الجداول	X
	قائمة الاشكال	XI
	قائمة الصور	XII
	قائمة المختصرات	xv
	الفصل الأول المقدمة (Introduction)	3-1
.1.1	المقدمة	1
.2.1	الهدف من الدراسة	3
	الفصل الثاني استعراض المراجع(Literature Review)	21-4
.1.2	النباتات الطبية	4
2.1.2	النبات المستخدم في الدراسة: نبات الماكا *Lepidium meyenii* (L.M)	5
3.1.2	التصنيف العلمي لنبات الماكا Classification Scientific of the *Lepidium meyenii* plant	5
4.1.2	الوصف وموطن نبات الماكا Morphology	6
5.1.2	المكونات الفعالة لنبات الماكا	7
6.1.2	الأهمية الطبية لنبات الماكا *Lepidium meyenii*	8
.2.2	عقار الاوكسي ميثلون Oxymetholone	9
1.2.2	الوصف العام لمنشط عقار الاوكسي ميثلون	9
2.2.2	الصفات الكيميائية	10
3.2.2	الاستخدام الطبي للعقار Oxymetholone	11
1.3.2.2	معالجة فقر الدم	11
.2.3.2.2	معالجة الهزال العضلي	11
.3.3.2.2	معالجة ضعف النمو في الأطفال	11
4.3.2.2	معالجة غشاء القلب	11
4.2.2	الآثار الجانبية المرتبطة بالعقار للأوكسي ميثلون	12

.3.2	عامل التنخر الورمي (TNF-α) Tumor necrosis factor-alpha	12
4.2	الجهاز التناسلي للجرذان Reproductive System of Male Rat	13
.1.4.2	الخصى Testis	13
.1.1.4.2	التركيب النسيجي للخصية	14
1.2.4.2	خلايا سرتولي Sertoli cell	15
2.2.4.2	الخلايا المنشأة للنطف Spermatogonia	16
2.4.2	البربخ Epididymis	17
3.4.2	البروستات prostate	18
5.2	تكوين النطف	18
6.2	معايير النطف	20
1.6.2	تركيز النطف Sperm concentration	20
7.2	الهرمونات الجنسية الذكرية	21
1.7.2	هرمون التستوستيرون	21
2.7.2	الهرمون اللوتني – LH وهرمون المحفز للحويصلات -FSH	21
	الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل Materials and Methods	49-22
.1.3	المواد والأجهزة المستخدمة	22
.1.1.3	المواد الكيميائية المستخدمة	22
.2.1.3	الأدوات المستخدمة	23
.3.1.3	الأجهزة المستخدمة	24
.2.3	طرائق العمل Methods	24
.1.2.3	حيوانات التجربة	24
.2.2.3	جمع النبات المستخدم collection of plants used	25
3.2.3	تحضير المستخلص المائي لنبات الماكا	25
4.2.3	حساب جرعة عقار الأوكسي ميثلون	25
5.2.3	فصل وتشخيص المركبات الكيميائية بتقنية GC-Mass	26
3.2.6	تحضير المركبات النانوية:	27
. 1.6.2.3	تحضير المركب النانوي من طبقات أوكسيد الزنك (Zinc oxide) مع نبات الماكا:	27
. 2.6.2.3	التقنيات المستخدمة في توصيف جسيمات أوكسيد الزنك النانوية:	29

.1.2.6.2.3	تقنيات المجاهر الالكترونية Electron microscope technique	29
.2.2.6.2.3	تقنيات التحليلية البصرية	29
7.2. 3	تصميم التجربة :Experimental Group	30
8.2.3	جمع عينات الدم :Blood sample collection	33
.9.2.3	جمع عينات الانسجة: Collection of tissue samples	33
.10.2.3	تحضيرات المقاطع النسجية :Histological preprations	33
1.10.2.3	الأنكاز	34
.2.10.2.3	الترويق	34
3.10.2.3	التشريب	34
.4.10.2.3	الطمر	34
5.10.2.3	التشذيب والتقطيع	34
.6.10.2.3	التصبيغ	35
1.6.10.2.3	صبغة الهيماتوكسلين هارس: Harris, Hematoxylin stain	35
.2.6.10.2.3	صبغة الايوسين الكحولي Eosin stain	35
.7.10.2.3	التحميل	36
8.10.2.3	الفحص والتصوير المجهري	36
11.2.3	القياسات النسجية	37
.1.11.2.3	الخصية Testes حساب معدل قطر النبيبات الناقلة للمني وتجاويفها وخلايا الانطاف:	37
.2.11.2.3	البربخ Epididymis حساب معدل قطر النبيبات الناقلة للمني وتجاويفها وخلايا الانطاف	37
12.2.3	قياس بعض المعايير الكيموحيوية	37
.1.12.2.3	قياس مضادات الاكسدة والمؤكسدات Antioxidation and Oxidation	37
.1.1.12.2.3	تقدير مستوى بيروكسيد الدهن في مصل الدم (المالون داي الديهايد) MDA Determination of lipid peroxidation in blood (Malondialdehyde)	37
.2.1.12.2.3	قياس مستوى تركيز الكلوتاثيون (GSH) في مصل الدم	39
.3.1.12.2.3	تقدير مستوى انزيم سوبر اوكساید دسيميوتيز (SOD)	40
.2.12.2.3	الفحوصات الهرمونية :Measurements of hormones	42
.1.2.12.2.3	قياس مستوى تركيز هرمون الشحمون الخصوي Estumation of Testosterone hormone level:	42

.2.2.12.2.3	قياس مستوى الهرمون المحفز للجريبات Estimation of Follicles Stimulating hormone level	43
.3.2.12.2.3	قياس مستوى الهرمون المحفز للخلايا البينية (الهرمون اللوتيني Luteinizing Hormone) Estimation of inter Cellular Stimulating Hormone level	44
.13.2.3	دراسة معايير النطف Sperms Parameters Study	44
1.13.2.3	تركيز النطف في البربخ: Sperms Concentration in Epididymis:	44
.14.2.3	طريقة تصبيغ: (IHC) immunohistochemical histological section	45
.1 .14.2.3 .1	تحضير المقاطع النسجية المناعية الكيميائية (IHC)	46
.15.2.3	التحليل الاحصائي	49
	الفصل الرابع/ النتائج والمناقشة	116-50
.1.4	الكشف عن المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*	50
1..1.4	الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة للمستخلص الكحولي لجذور نبات الماكا	50
.2.1.4	نتائج تشخيص المستخلص النانوي لأوكسيد الزنك من المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*	52
.1.2.1.4	المجهر الالكتروني الماسح (SEM)Scanning Electron Microscope	52
.2.2.1.4	مجهر تحليل القوة الذرية Atomic force microscope of Zno (AFM)	54
.3.2.1.4	التحليل لحيود الاشعة السينية X- ray diffraction analysis (XRD)	55
.4.2.1.4	تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء (FT-IR) Fourier transform infrared spectrometer	56
.3.1.4	التأثير المضاد لجسيمات أوكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي لجذور نبات الماكا (*Lepidium meyenii*) على تحلل الدم	57
.4.1.4	نشاط مضادات الاكسدة لمادة نبات الماكا *Lepidium meyenii* (إزالة الجذور الحرة 1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH))	58
.2.4	الدراسة النسجية Histological Study	60
1.2.4	التغيرات النسجية والقياسات النسجية للخصية	60
1.1.2.4	تأثير المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم / كغم على نسيج الخصية ومعدل اقطار النبيبات الناقلة للمني واقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان ولمدة (55)يوماً مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1)	60

.2.1.2.4	تأثير مجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*بتركيز (200) ملغم /كغم ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون على نسيج الخصية وقياس معدلات أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (55) يوماً.	64
.3.1.2.4	تأثير مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز (100)ملغم/كغم ومجموعة المستخلص النانوي المعاملة بالأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم على نسيج الخصية وقياس معدلات أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان ولمدة (55)يوماً.	68
.2.2.4	التغيرات النسجية و القياسات النسجية في البرابخ Histological Changes in Epididymis	72
.1.2.2.4	تأثير مجموعة عقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم/كغم على نسيج البربخ ومعدل أقطار البرابخ وأقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان ولمدة (55) يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) .	72
.2.2.2.4	تأثير مجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز(200) ملغم/كغم ومجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون على نسيج البربخ ومعدل أقطار البرابخ وأقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان ولمدة (55) يوماً.	75
.3.2.2.4	تأثير مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100)ملغم /كغم ومجموعة المستخلص النانوي بتركيز(100) ملغم /كغم والمعاملة بعقار الأوكسي ميثلون يتركيز (5) ملغم /كغم من وزن الجسم على نسيج البربخ ومعدل أقطار البرابخ واقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان ولمدة (55) يوماً	77
.3.2.4	التغيرات النسجية لنسيج البروستات	81
.1.3.2.4	تاثير مجموعة عقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم/كغم على نسيج البروستات لذكور الجرذان ولمدة (55) يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .	81
.2.3.2.4	تأثير مجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز (200) ملغم/كغم ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون على نسيج البروستات لذكور الجرذان ولمدة (55) يوماً.	82
.3.3.2.4	تأثير مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم/كغم ومجموعة المستخلص النانوي المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون على نسيج البروستات لذكور الجرذان ولمدة (55) يوماً.	85

.3.4	النتائج المناعية النسجية	87
.1.3.4	نتائج Tumar necrosis factor- alpha (TNF- α) في الخصية	87
.2.3.4	نتائج عامل نخر الورم نوع الفا Tumer necrosis factor alpha_ في البربخ	94
. 4.4	الدراسة الفسلجية او الوظيفية	102
1.4.4	تأثير المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* عقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم\كغم على معدل مضادات الاكسدة الكلوتاثيون (GSH) وبيروكسيد (SOD) والمواد المؤكسدة المالونديهايد (MDA)في مصل الدم لذكور الجرذان البيض ولمدة (55)يوماً.	102
.2.4.4	تأثير المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا Lepidium meyenii على الجرذان المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم \كغم على معدل مستوى هرمون الشحمون الخصوي (T) والهرمون المحفز للجريبات (FSH) والهرمون اللوتيني (LH) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض	107
.3.4.4	تأثير مجموعة المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا على الجرذان المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون على مستوى معدل تركيز النطف في ذكور الجرذان البيض لمدة (55) يوماً	112
	الاستنتاجات والتوصيات	
	الاستنتاجات	117
	التوصيات	118
	المصادر	
	المصادر العربية	119
	المصادر الأجنبية	119
	الخلاصة باللغة الإنكليزية	I

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجداول	رقم الصفحة
1-2	**الخصائص الفيزيائية والكيميائية لعقار الاوكسي ميثلون**	10
1-3	**المواد الكيميائية المستخدمة حسب اسم الشركة والمنشأ**	22
2-3	**الأدوات المستخدمة حسب اسم الشركة والمنشأ.**	23
3-3	**يوضح الأجهزة المستخدمة حسب المنشأ والشركة المصنعة**	24
4-3	**مكونات صبغة الهيماتوكسلين**	35
5-3	**مكونات صبغة الايوسين**	36

6-3	كواشف قياس مستوى تركيز الكلوتاثيون (GSH) في مصل الدم	39
1-4	المركبات التي تم فصلها من المستخلص المائي لنبات الماكا Lepidium meyenii (الجذر)بتقنية GC-Mass	51
2-4	يبين التاثير المضاد لجسيمات أوكسيد الزنك النانوي لمستخلص جذور نبات الماكا Lepidium meyenii على تحلل الدم	58
3-4	يبين التاثير المضاد لجسيمات أوكسيد الزنك النانوي لمستخلص جذور نبات الماكا Lepidium meyenii على إزالة الجذور الحرة	59
4-4	تاثير المستخلص المائي لجذور نبات الماكا Lepidium meyeniiعلى قياسات معدل اقطار النبيبات الناقلة للمني واقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان لمدة (55) يوماً والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون .	71
5-4	تاثير المستخلص المائي لجذور نبات الماكا على قياسات مستوى معدل اقطار البرابخ واقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (55) يوماً المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون.	80
6-4	تأثير المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا Lepidium meyenii على مستوى المالونداياليديهايد (MDA) والكلوتاثيون (GSH) والسوبراوكسيد (SOD) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون.	104
7-4	تأثير المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا Lepidium meyenii على مستوى هرمون الشحمون الخصوي (T) والهرمون المحفز للجريبات (FSH) والهرمون اللوتيني (LH) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون.	109
8-4	تاثير المستخلص المائي والنانوي لجذور نبات الماكا Lepidium meyenii على مستوى معدل تركيز النطاف في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم\كغم من وزن الجسم لمدة (55)يوما.	113

قائمة الاشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
1-2	التركيب الكيميائي للأوكسي ميثلون	10
1-3	يوضح تحضير المركب النانوي من الماكا بإضافة أوكسيد الزنك بطريقة التبادل الايوني	28
2-3	يمثل مخطط تصميم التجربة	32
1-4	يوضح تحليل (XRD)لمركب أوكسيد الزنك النانوي ويبين التركيب والحجم	53
2-4	التحليل الطيفي بواسطة الاشعة تحت الحمراء **Fourier transform infrared** لجسيمات أوكسيد الزنك النانوي التي حضرت بواسطة أوكسيد الزنك والمستخرجة من المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*.	55

قائمة الصور

رقم الصورة	عنوان الصورة	رقم الصفحة
1-2	جذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*	7
2-3	صورة لجهاز كروماتوغرافيا الغاز -مطياف الكتلة	27
1-3	عقار الاوكسي ميثلون	25
1-4	صورة بواسطة المجهر الالكتروني الماسح (**SEM**) لجسيمات أوكسيد الزنك النانوي المستخرجة من المستخلص المائي لجذور نبات الماكا ((***Lepidium meyenii***)) عند حدود 200 نانومتر.	51
2-4	صورة بواسطة المجهر الالكتروني الماسح (**SEM**) لجسيمات أوكسيد الزنك النانوية من المستخلص المائي لجذور نبات الماكا ((***Lepidium meyenii***)) عند حدود 500 نانومتر.	58
3-4	تحليل **AFM** لجسيمات أوكسيد الزنك النانوية **ZnO NPs** المصنعة من جذور نبات الماكا **Lepidium meyenii**	59
4-4	مقطع نسيجي مستعرض في خصية جرذ من مجموعة السيطرة	63
5-4	مقطع نسيجي مستعرض في خصية جرذ في المجموعة المعاملة بالاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم/كغم من وزن الجسم	63
6-4	مقطع نسيجي مستعرض في خصية جرذ في المجموعة المعاملة بالاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم/كغم من وزن الجسم	64

7-4	مقطع نسيجي مستعرض في خصية جرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي بتركيز (200) ملغم /كغم من وزن الجسم	67
8-4	مقطع نسيجي مستعرض في خصى جرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الماكا بتركيز (200) ملغم /كغم مع الاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم /كغم من وزن الجسم	67
9-4	مقطع نسيجي مستعرض في خصى جرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا بتركيز (100)ملغم /كغم من وزن الجسم	70
10-4	مقطع نسيجي مستعرض في خصى جرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا بتركيز (100) ملغم/كغم مع الاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم /كغم من وزن الجسم	70
11-4	مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ من مجموعة السيطرة	73
12-4	مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ في المجموعة المعاملة بالاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم من وزن الجسم	74
13-4	مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ في المجموعة المعاملة بالاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم /كغم من وزن الجسم	74
14-4	مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الماكا بتركيز (200) ملغم /كغم من وزن الجسم	76
15-4	مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الماكا بتركيز (200) ملغم /كغم مع الاوكسي ميثلون بتركيز(5)ملغم /كغم من وزن الجسم	**77**
16-4	مقطع نسجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا بتركيز(100) ملغم /كغم من وزن الجسم	79
17-4	مقطع نسجي مستعرض في قناة البربخ الجرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا بتركيز (100)ملغم /كغم مع الاوكسي ميثلون بتركيز(5) ملغم /كغم من وزن الجسم	79
18-4	مقطع نسيجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة السيطرة	81
19-4	مقطع نسيجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة العقار الاوكسي ميثلون بتركيز(5) ملغم /كغم	82
20-4	مقطع نسيجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز(200) ملغم /كغم من وزن الجسم	84
21-4	مقطع نسيجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز (200) ملغم كغم /مع العقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم / كغم من وزن الجسم	84

22-4	مقطع نسيجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100)ملغم /كغم من وزن الجسم	86
23-4	مقطع نسيجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم /كغم مع عقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم/ كغم من وزن الجسم	87
24-4	مقطع نسيجي مستعرض في الخصية ذكور الجرذان البيض لمجموعة السيطرة	89
25-4	مقطع نسيجي مستعرض في الخصية في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم من وزن الجسم	89
26-4	مقطع نسيجي مستعرض في الخصية في ذكور الجرذان البيض المعاملة بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز (200)ملغم / كغم من وزن الجسم	90
27-4	مقطع مستعرض في الخصية لذكور الجرذان البيض المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا أظهر المناطق البنية اللون في السيتوبلازم لخلايا الخلايا المنوية وفي خلايا لايدك ال (**score++**) IHC) (X 100)	91
28-4	مقطع مستعرض في الخصية ذكور الجرذان البيض للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون	93
29-4	مقطع مستعرض في الخصية لذكور الجرذان البيض للمجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون	94
30-4	مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض للمجموعة السيطرة السالبة	96
31-4	مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون	96
32-4	مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا	98
33-4	مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون	99
34-4	مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض للمجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا	101
35-4	مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض للمجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون	102

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح
AAS	Anabolic androgenic steroid
ABP	Androgen -binding -protein
AFM	Atomic force microscope of Zno
BTB	Blood testes barrier
DPPH	1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
D.P.X	Destrin Plasticizer Xylen
DTNB	Dithio-bis 2- nitrobenzoic acid
ELISA	Enzyme Link Immunosorbent Assay
EDTA	Ethylene diamine tetra acetic acid
FSH	Follicles stimulating hormone
FT-IR	Fourier transform infrared spectrometer
GC-MS	Gas Chromatography Maas Spectrometry
GSH	Glutathione
HandE	Hematoxylene and Eosin
HPGA	Hypothalamic pituitary gonadal axis
IHC	immunohistochemical histological section
L.S.D	Least Significant Deference
L.M	*Lepidium meyenii*
LH	Luteinizing hormone
MDA	Malondialdyhde
OX	Oxymetholone
ROS	Reactive Oxygen Species
SEM	Scanning Electron Microscope
SE	Standard Error
SOD	Superoxide dismutase
T	Testosterone
TBA	Thiobarbituriacid
TCA	Trichloro Acetic acid

XRD	X- ray diffraction analysis

الفصل الأول

المقـــــدمة

Introduction

1-المقدمة Introduction

يعتمد الطب التقليدي بشكل جوهري على المعرفة والمعتقدات الصحية حول الأعشاب والعلاجات الروحية والتمارين الرياضية بالترتيب للحفاظ على الصحة وعلاج الأمراض أو الوقاية منها وقد تم استخدام النباتات تاريخيا من قبل المجتمعات التي لا تستطيع الوصول إلى علاجات الطب الحديث الا نادرا. وعادة ما تكون هذه المجتمعات من السكان الضعفاء اقتصاديا في المناطق المعزولة كما هو الحال في القرى والمقاطعات والمدن الكبيرة والمراكز الحضارية، لذلك استخدام النباتات والطب التقليدي أمراً مهماً لهؤلاء السكان للحفاظ على حياة هؤلاء الافراد وضمان الرعاية الصحية الأساسية (Agraw *et al*.,2020).

تمتلك النباتات الطبية الصالحة للأكل والأغذية المشتقة منها لها عناصر غذائية وفوائد علاجية بسبب تكوين المركبات النشطة بيولوجيا وهي المسؤولة عن الأنشطة الدوائية والقيمة الغذائية لها، تشمل: القلويدات، والمركبات الفينولية (الاحماض الفينولية، الفلافونويد ،القشور ،العفص ،التيربنويد والفايتولكسين) ،تظهر هذه المركبات مجموعة واسعة من الأنشطة البيولوجية والتي تشمل مضادات الأكسدة المضادة و للالتهابات، ومضادات الميكروبات ،الخلايا السامة ،والأنشطة المناعية (Carvalho *et al*.,2020).

لقد تم العثور على نبات الماكا *Lepidium meyenii* في جبال الأنديز منطقة بيرو وتم تداوله على شكل كبسولات أو مسحوق في جميع أنحاء العالم، وذلك بسبب إمكاناته الطبية والغذائية (zhou *et al*.,2018) وهذا يشمل قدرته على تحسين الحيوانات المنوية في خصوبة الاناث و الذكور(Abarik *et al*.,2020) و الأداء الجنسي (Cicero *et al*., 2001) ، والتعلم والذاكرة و للحد من خطر الإصابة بهشاشة العظام وتوفير الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية وكذلك مضاد للتعب ومضادات الاكسدة والأنشطة المناعية ، ومن المؤكد ان هذه الأنشطة الدوائية هي المتعلقة بالمكونات الكيميائية لنبات الماكا ولذلك يمكن اعتبار هذا النبات من المواد الغذائية التي تشمل النباتات والمنتجات الغذائية القادرة على توفير العلاج او الوقاية من الامراض. Wu *et al*., 2019)

تعد الستيرويدات الاندروجينية الابتنائية Anabolic androgenic steroid (AAS) من اهم تلك المركبات التي تستعمل لعلاج بعض الحالات المرضية في المجال الطبي وتستخدم بطريقة غير مشروعة من قبل الشباب الرياضيين وغير الرياضيين الذين يتعاطون هذا المنشط لزيادة كتلة عضلاتهم وتحسين أدائهم الوظيفي (Vieira *et al*.,2008) وتعرف بكونها مشتقات تركيبية من الهرمون الجنسي الذكري (التستوستيرون)، وتكون بهيئة جزيئات صغيرة يمكنها الانتشار بسهولة في أنسجة الجسم المختلفة (Jassim

et al .,2015). وتمتلك الستيرويدات الاندروجينية الابتنائية تأثيرين رئيسين: الأول التأثير الابتنائي أو بناء العضلات وهو زيادة في تخليق البروتين مما يؤدي إلى نمو العضلات وزيادة في حجمها، والتأثير الثاني هو تأثير اندر وجيني أو منشط للذكورة يتضمن انتاج النطف وخشونة الصوت وظهور الشعر بكثرة، على الرغم من أن الصناعات الدوائية له أساسا تمتلك تأثيرات ابتنائية واندروجينية منخفضة تدعى الستيرويدات الابتنائية غير أن كلا التأثيرين لا يمكن فصلهما عن بعض (pope *et al*.,2013)

يعد عقار الاوكسي ميثلون من الستيرويدات الابتناثية الاصطناعية الذي يرتبط هيكليا بهرمون التستوستيرون الذكري. ويستخدم أوكسي ميثلون و الاندروجينات الاصطناعية الأخرى لعلاج مجموعة متنوعة من الحالات، بما في ذلك قصور الغدد التناسلية وتأخر البلوغ، تستخدم الاندروجينات أيضا لعلاج سرطان الثدي وتعزيز التوازن الإيجابي في النيتروجين بعد الإصابة أو الجراحة وتحفيز انتاج خلايا الدم الحمر لذلك يستهلك الرياضيون كميات كبيرة من الاندروجينات في محاولة تحسين الأداء الرياضي (NTP, 1999).

تعد الدقائق النانوية Nanoparticles(NP) بأنها دقائق منفردة صغيرة جدا من بعض المواد التي يمكن انتاجها صناعيا بحيث تكون ابعادها بين(100-1) نانومتر, ولصغر حجمها بالمقارنة مع بعض المواد التي تزيد أبعادها عن 100 نانومتر و بمساحة سطحية كبيرة بالنسبة إلى حجمها، تظهر درجات مختلفة من التأثيرات الحيوية والتفاعلات الكيمياوية وصفات شديدة التمييز التي تتواجد مجتمعة في المواد الأخرى، وبسبب صغر حجمها يمكن أن تدخل بسهولة الى داخل خلايا الكائنات الحيةً لخصائصها الفريدة تستخدم بشكل متزايد (Chen *et al*., 2006). في تطبيقات مختلفة مثل الأدوية و الهندسة الحيوية والصناعات المختلفة (Abhilash, 2010).

لوحظ زيادة استخدامها في الآونة الأخيرة فهي تدخل بكل جوانب الحياة بما في ذلك إيصال الادوية للعضو المنشود فضلا عن استخدامها في العلاج الجيني والذي يعد من اهم العلاجات الحالية عن طريق إيصال المادة الى الهدف بصورة مباشرة تدخل بعمليات الاخصاب وصناعات المنظفات وجميع الصناعات الحيوية (umezawa *et al*.,2012).

تعرف دقائق أوكسيد الزنك النانوي بانها مركبات لاعضوية وهي على شكل مسحوق أبيض تقريبا غير ذائب في الماء، وان لهذه الدقائق أهمية كبيرة في تطبيقات مختلفة منها ما يستخدم في الطب كمضاد بكتيري ومضاد لفطريات ومستحضرات التجميل والتشخيص الطبي اعداد المستحضرات المضادة أشعة الشمس وتوصيل الدواء إلى الأعضاء المستهدفة (Mirzaei and Darr udic, 2017)

2.1 الهدف من الدراسة Aim of this study

تهدف الدراسة الحالية إلى اختبار فاعلية المستخلص المائي و النانوي لعشبة جذور نبات الماكا(*Lepidium meyenii*)كمادة وقائية لتقليل الاثار السمية لعقار الأوكسي ميثلون على أنسجة الخصية والبربخ والبروستات في ذكور الجرذان البيض ودراسة بعض التغيرات النسيجية والوظيفية وتشمل محاور الدراسة الحالية:

أولا: محور الدراسة النسجية ،يشمل :

- دراسة التغيرات النسجية للخصية Testesوالبربخ Epididymis والبروستات prostateفي ذكور الجرذان المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون.
- معرفة التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لعشبة جذور الماكا على التغيرات المستحثة عن طريق قياس معدل كل من أقطار النبيبات الناقلة للمني وقطر التجويف ومعدل سمك الطبقة الظهارية للنبيبات المنوية، ، ومعدل اقطار البربخ ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية ومعدل قطر التجويف.
- دراسة نسجية مناعية لتاثير جسيمات أوكسيد الزنك في أعضاء الخصية والبربخ لحيوانات التجربة بعد معالجتها بجسيمات الزنك النانوي ومستخلص جذور نبات الماكا.

ثانيا: محور الدراسة الفسلجية ، يشمل:

- تقدير مستوى كل من تركيز المواد المؤكسدة Malondialdehyde(MDA)، المواد المضادة للأكسدة الكلوتاثيون (GSH) ، سوبر أوكسيد الفائق(SOD) Superoxide dismutase في مصل الدم.
- 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 في ذيل البربخ.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

2. استعراض المراجع :

1.2.النباتات الطبية :Medical plants

استخدمت النباتات الطبية للمعالجة التقليدية للأمراض التي تصيب البشر في أجزاء مختلفة من العالم منذ الألاف السنين إذ توارثت المجتمعات البشرية في استخدام النباتات للسيطرة على الأمراض أو الوقاية منها على مدى قرون عديدة، كما تعد الأعشاب الطبية مصدراً غذائياً من جهة ودوائياً ضد الأمراض المختلفة من جهة أخرى ،وذلك لما تحتويه بعض أجزائها النباتية من مركبات كيميائية لها أهمية كبرى لتأثيرها الوظيفي ونشاطها العلاجي للإنسان والحيوان..(*Hussein* and EL *Anassary* ,2019).

إن استخدام المواد النباتية، بما في ذلك المنتجات العشبية أو الصحية الطبيعية ذات الفوائد الصحية يتزايد في البلدان المتقدمة، وهذا يؤدي إلى تقليل مخاطر السمية للمركبات الدوائية وغيرها من التأثيرات على صحة الإنسان، على الرغم من الصورة الآمنة للعلاجات العشبية ، إذ تم استخدام الأدوية العشبية منذ فترة طويلة قبل وجود الطب الحديث. ووضعت منظمة الصحة العالمية سياسة بشأن الطب التقليدي في عام (1991) ، (Martins, 2013).

يعد التنوع في النباتات الطبية امراً جيدًا في توفير التنوع في دواء الإنسان نتيجة لاختلاف التركيب الكيميائي لكل نبات على الرغم من قلتها بالوقت الحاضر وعدم الاهتمام بها وانقراض أنواع عديدة منها الا أن المتوفر حاليا يسد الحاجة إذا ما استغلت بشكل جيد (موسى واخرون ,2015).إذ ترجع الخصائص الوقائية للأعشاب المختلفة الى أنشطتها المضادة للأكسدة، ومضادات فرط كولسترول الدم (*Naveed et al*.,2020).وتحتوي النباتات الطبية على مجموعة متنوعة من المكونات الكيميائية مثل الفينولات، و الفلافونات ، و الكلايكوسيدات و الكاريتينويدات ،والتربينات، والاحماض العضوية ، والزانثينات .وتستخدم كمواد منكهة وحافظة للأغذية فضلا عن ذلك أهميتها كمصدر للتغذية (Hassan and Kumar, 2012).

إن من اشهر النباتات الطبية هو نبات الماكا(Maca) *Lepidium meyenii* إذ تشتهر أنواعه بأنشطتها المضادة للأكسدة، وذلك لأنها تحتوي على مركبات بيولوجية نشطة تشمل المستقلبات الثانوية مثل القلويدات، الستيرول، الفينولات، الجلوكوز ينات، الالكاميدات، الاحماض الدهنية (Carvalho *et al*.,2023)،ولعلاج مجموعة متنوعة من الأمراض منها يقلل التوتر والتعب وزيادة تعزيز الخصوبة للإنسان ومضادة للأورام وحماية الأعصاب ، تحسين وظائف الذاكرة والجهاز المناعي وغيرها (Zhu *et al*.,2020).

2.1.2. النبات المستخدم في الدراسة: نبات الماكا (L.M) *Lepidium meyenii*

الاسم العلمي: ***Lepidium meyenii***

الاسم الشائع: Maca

الاسم العربي: نبات الماكا

3.1.2. التصنيف العلمي لنبات الماكا Classification Scientific of the Lepidium meyenii plant

صُنف النبات بالاعتماد على (Lee *et al* ,2011)

Kingdom: plantae **مملكة النبات**

Class: Tracheophytes

Class: Angiosperms

Class: Eudicots

Class: Rosids

Order: Brassicales

Family: Brassicaceae

Genus: *Lepidium*

Species: *Lepidium meyenii*

4.1.2. الوصف وموطن نبات الماكا

الماكا هو محصول ثنائي الحول ينتمي إلى عائلة.Brassicaceae يزرع بشكل رئيس في جبال الأنديز في بيرو على ارتفاع (3500- 4450) متر ، حيث تمت زراعته من قبل السكان المحليين منذ أكثر من (1300- 2000) سنة (Gonzales et *al.* ,2009)

يمكن أن يصل محيط جذر الماكا إلى (20) سم تقريبًا، بينما يمكن أن يصل ارتفاع النبات إلى (10-20) سم، وهناك تنوع وراثي كبير في مورفولوجيا جذور الماكا. ويتميز هذا التنوع بأوزان مختلفة (1-5 كغم)، وأشكال متنوعة (كروية، بيضاوية، كروية بيضاوية، مغزلية الشكل)، وتنوع ألوان جذر الماكا (الأبيض، الكريمي، الأصفر، البرتقالي، الأحمر، الكلارينت والأرجواني) (Lin *et al.*, 2018)، الأوراق بيضاوية. جذورها مثل اللفت المستديرة الصغيرة. إنه صالح للأكل، وهو كذلك غذاء طبيعي نقي، غني بالمواد الغذائية، يحتوي على "الجينسينغ الأمريكي الجنوبي". والأكثر شيوعا هو الجذر الأصفر، وشكله وطعمه أفضل. الماكا غنية بالعناصر الغذائية عالية الوحدة، والتي تغذي جسم الإنسان. (Brand *et al.*,2004) أنه مناسب للنمو في الأراضي ذات الارتفاعات العالية وعند درجة الحرارة المنخفضة والنهارية العالية تربة طينية رملية حمضية قليلا ومشمسة. يقع في جبال الأنديز في أمريكا الجنوبية، ويزرع في البيرو والوسط والجنوب. في منطقة يونان وشين جيانغ في الصين، هناك أنواع من الأراضي ذات المساحة الكبيرة المناسبة لها يمكن أن تكون الماكا باللون الأبيض والأصفر والأرجواني والأسود. كلما كان اللون أكثر قتامة. كانت الجودة أفضل، وزادت المادة الفعالة، الماكا و أرجواني نادر نسبيًا. أما الأسود فهو نادر وغالي الثمن ، وهو أفضل ما في سلالة الماكا (Hoey *et al*,2007) ، الجزء الصالح للأكل من الماكا هو الفلقة السفلية والجذر الصنبوري الرئيس، المعروف عادة باسم تحت الفلقة أو الجذر، ويطلق عليه الجذر لتجنب أي لبس. ولا تزال أوراق وساق وأزهار الماكا (تسمى الأجزاء الهوائية) كمصدر محتمل للخضروات الصالحة للأكل غير مستغلة بشكل كافٍ (Jin *et al.*, 2018) ويحتاج نموه وتطوره إلى بيئة أكثر رطوبة، إذ أن معدل هطول الأمطار السنوي (800~ 1000) ملم، والرطوبة النسبية(60 - 80%) فإن ذلك سوف يؤثر على النمو وتطوير ه ، مما يؤثر في النهاية على الإنتاج. ولكن يمكن أن يؤدي الماء كثيرا بسهولة إلى حدوث أمراض تعفن الجذور، فإن نبات الماكا

يتطلب تربة رملية حمضية قليلاً. (Kubota *et al*.,2011)

صورة (2-1) جذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*

5.1.2. المكونات الفعالة لنبات الماكا

يعرف نبات الماكا بانه نبات طبي، فضلاً عن آثاره الطبية فهو يحتوي على كميات عالية من البروتين والكربوهيدرات والألياف والدهون والفيتامينات والمعادن ذات القيمة الغذائية الكبيرة مثل البوتاسيوم 20.5 والحديد والمنغنيز 2.8والنحاس 7.6 والزنك 13.8والصوديوم 18.7وتحتوي مكوناته على حوالي (13-16%)من البروتين وهي غنية بالبروتين. الأحماض الأمينية الأساسية. تحتوي الأصناف الطازجة على(80%)ماء وكميات عالية من الحديد والكالسيوم 0.20 لكل 100 غرام مادة جافة. (Jagdale *et al*.,2021) تم العثور على العديد من المركبات الثانوية، بما في ذلك الماكاين والماكاميد، في جذر الماكا. إذ تعد من المكونات النشطة بيولوجيًا في الماكا و تشارك في تحسين الوظيفة الجنسية (Zhang *et al*.,2016a) .في عينة الماكا المجففة، يتراوح الماكاين من (0.09- 0.45) بالمائة والماكاميد من(0.06 - 0.52)بالمائة (Wang and Zhu,2019). وتتكون قيمته الغذائية من الكربوهيدرات (55-60%) والألياف الغذائية (8.5%) والدهون (1.2%). ، وفضلا عن الأحماض الدهنية والمركبات الثانوية ذات الأهمية الدوائية والغذائية مثل الماكاين والماكاميدات والمكاريدين والقلويدات التي لا توجد إلا في هذا النبات (Gonzales .2012) تعد الأوراق أيضًا

مصدرًا للألياف الغذائية والمعادن والفيتامينات والأحماض الأمينية الأساسية (Jin *et al*., 2018) ويعتقد أن المكونات الغذائية البسيطة للماكا تشارك إلى حد كبير في الفوائد البيولوجية المختلفة. هناك مجموعة متنوعة من المركبات ذات الأهمية الدوائية والغذائية في جذور وأوراق الماكا تشمل السكريات غير النشوية، والبوليفينول (على سبيل المثال، الفلافونوليجنان)، والمالاميدا، والماكينات، والماكاميدات، والجلوكوزينولات، والماكا هيدانتوينات، (Zhou *et al*.,2018)

6.1.2. الأهمية الطبية لنبات الماكا *Lepidium meyenii*

تم استخدام جذور الماكا لعدة قرون من قبل السكان الأصليين بسبب قيمتها الغذائية والتنشيطية (Dini *et al*., 1994)في الآونة الأخيرة، اكتسب جذر الماكا الاهتمام لخصائصه كمنشط جنسي ومثير للشهوة الجنسية محسن الخصوبة، مما أعطى الماكا شهرة دولية. أظهرت هذه المكونات بمفردها أو مجتمعة في الماكا مجموعة من الأنشطة الحيوية في الأنظمة النموذجية، بما في ذلك تعزيز الصحة الإنجابية، والحماية العصبية، ومضادات الأكسدة، ومضادات التعب، ومضادات السرطان، وحماية الكبد، وتمنع هشاشة العظام، ومضادات خلل الذاكرة، وزيادة المناعة (Beharry *et al*., 2018)، علاج العقم وتحسين الخصوبة وزيادة عدد الحيوانات المنوية وتحسين كميتها ونوعيتها مكافحة الإجهاد(Quandt *et al* .,2016) (Del Prete *et al* .,2018)، الوقاية من هشاشة العظام (Kang C *et al* ., 2016) تحسين الذاكرة (Rubio *et al* .,2011) ، التنظيم الهرموني ،(Gonzales *et al*.,2013) ويستخدم في علاج الروماتيزم (Onaolapo .,2018) ، كما ان المستخلص مفيد في حماية الجلد من الأشعة فوق البنفسجية (Zhang *et al* .,2016) أظهرت دراسة أجريت على جذور نبات الماكا أن له تأثيراً واضحاً في علاج فقر الدم وسرطان الدم وحماية الكبد ومكافحة السرطان (Korkmaz,2018).

تحتوي جذور الماكا على العديد من المركبات الثانوية ذات الأهمية بما في ذلك الجلوكوزينات، واسترات الأحماض الدهنية، والفيتوستيرول، والقلويدات والألكاميدات (الماكاميدات)، (Gonalzes *et al*.,2017)

و تتمتع بخصائص غذائية ومنشطة ومعززة للخصوبة عند الذكور والإناث، ولها تأثير على الاختلالات الجنسية، وتضخم البروستاتا، (Gonzales et al.,2012)، وله خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للأورام، لذلك تعد طعامًا رائعًا يعمل على تحسين صحة الأشخاص الذين يتناولونها

. (Chen,2021)

2.2.عقار الاوكسي ميثلون Oxymetholone

1.2.2 .الوصف العام لمنشط عقار الاوكسي ميثلون

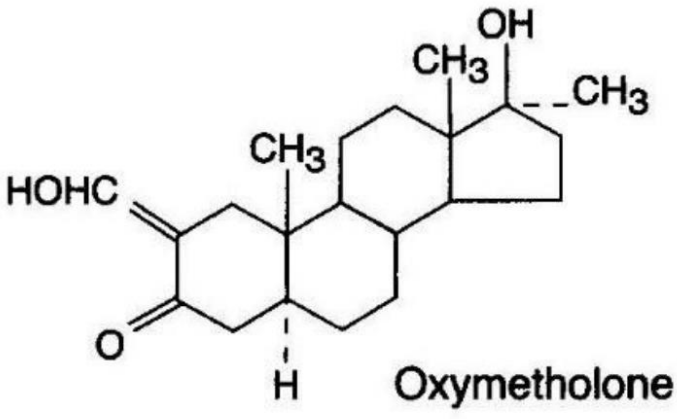
أوكسي ميثلون (OXM) هو ستيرويد منشط الذكورة الابتنائية ά_alkylated 17 ومشتق من هرمون التستوستيرون ، و يظهر اوكسي ميثلون نشاطا ابتنائياً اعلى ونشاطًا اندروجينيا أقل مقارنة بمشتقات التستوستيرون الأخرى، يمكن لهذا الدواء تحفيز خلايا نخاع العظم، وزيادة خلايا الدم في الأوعية الدموية المحيطية، وحالياً تمت الموافقة على اوكسي ميثولون من قبل إدارة الغذاء والدواء الامريكية (FDA) لعلاج فقر الدم الناجم عن انخفاض انتاج الخلايا الحمر، فضلاً عن ذلك . فقر الدم اللاتنسجي المكتسب أو الخلقي، والتليف النقوي وفقر الدم الناقص التنسج الناتج عن تناول الأدوية المضادة للسرطان السامة النقوية غالبا ما يستجيبون لهذا الدواء (Pavlatos *et al*.,2001). يستخدم هذا الدواء حالياً لعلاج الهزال المرتبط بمرض الايدز أوكسي ميثلون يعزز إنتاج الاريثروبويتين في المرضى الذين يعانون من فقر الدم بسبب فشل نخاع العظم وغالبا ما يحفز تكون كريات الحمر في فقر الدم بسبب نقص إنتاج الخلايا الحمراء. (Hengee *et* .(*al*.,2003

الاسم الكيميائي: 17- β -hydroxy-2-(hydroxy methylene) -

methyl-5α-androstan-3-one

الصيغة الجزيئية

C21H32O3



(1-2)شكل التركيب الكيميائي للأوكسي ميثلون (Wilson ,1998)

2.2.2. الصفات الكيميائية:

أوكسي ميثلون هو من الستيرويد الابتنائية الاصطناعية الذي يرتبط هيكليا إلى هرمون التستوستيرون الذكري ،يوجد في درجة حرارة الغرفة كبلورات بيضاء إلى كريمية قابل للذوبان في الإيثانول والدوكسين والأثير وقابل للذوبان في الكلوروفورم وحساس للضوء (Akron, 2009).

جدول (2-1) :الخصائص الفيزيائية والكيميائية لعقار الاوكسي ميثلون

الوزن الجزيئي	a332.5
نقطة انصهار	180 -178درجة مئوية
الذوبان في الماء	5.21Mg\l
ضغط البخار	$5.1\times^{11-}$10mmhg
ثابت التفكك	4.5C

3.2.2 . الاستخدام الطبي للعقار Oxymetholone

1.3.2.2. معالجة فقر الدم:

لعقار الاوكسي ميثلون تأثير كبير في علاج وتقليل فقر الدم، فهو يعمل على زيادة الهيموغلوبين في الدم إلى ~ 12 غم، ويزيد في عدد الخلايا الشبكية، والتحسين في أعداد الخلايا العدلة والصفائح الدموية، وقد ثبت بعد العلاج به بأنه يزيد في خلايا نخاع العظم ويستمر حتى الى (5) سنوات بعد توقف العلاج (1969, Sanchez *et al*.).

يتم إعطاء أوكسي ميثلون للأطفال والبالغين بجرعات تتراوح من (1-5)ملغم/ كغم من وزن الجسم بشكل يومي لعلاج فقر الدم الناجم عن نقص إنتاج خلايا الدم الحمر(palvatos *et al*.,2001).

2.3.2.2.معالجة الهزال العضلي :

على الرغم من استخدام المنشطات الستيرويدية الابتنائية لسنوات في معالجة حالات الهزال مثل الهزال الناتج من المتلازمة الكلوية، مرض الكبد المزمن والسرطان فقد تم استخدام اوكسي ميثلون في معالجة اضطراب الهزال الناتج من فيروس نقص المناعة البشرية إذ يعطى العقار لوحده أو بالاشتراك مع عقار

كيتوتيفين الهيستامين)، بينما يوصى به بجرعة (100) ملغم مرتين يوميا كجرعة فعالة لمعالجة فيروس نقص المناعة البشرية (HIV) (Hengee *et al*.,2003).

3.3.2.2 .معالجة ضعف النمو في الأطفال:

أوكسي ميثلون تأثير كبير في نمو الجسم في الأطفال قليلي الوزن و الذين يعانون من العمى بسبب ضعف الجسم فهو يستخدم لتعزيز زيادة الوزن ومواجهة الضعف والهزال الناتج عن الأمراض المزمنة، مثل العدوى المتقدمة بفيروس نقص المناعة البشرية، وبعد الإصابات الخطيرة أو الحروق أو الصدمات أو الجراحة . (Keele and worley,1967)

4.3.2.2 .معالجة غشاء القلب :

أوضحت دراسة أجريت لمعرفة تأثير الستيرويدات الابتنائية على عضلة القلب أن إعطاء جرعة صغيرة من أوكسي ميثلون قد يكون له آثاراً مفيدة على عضلة القلب التالفة، فضلاً عن إمكانية الآوكسي ميثلون على معالجة نقص مضاد الثرومبين في جسم المرضى (Shibuya *et al*.,1988) .

4.2.2 .الآثار الجانبية المرتبطة بالعقار للآوكسي ميثلون:

سجلت حالات قليلة الإصابة بمرض اليرقان الركودي cholestasis jaundiceللمرضى التي تم معالجتهم بعقار الاوكسي ميثلون، إذ أن أهم التأثيرات الجانبية للعقار أوكسي ميثلون هي تسمم الكبد hepatotoxicity. (Wood P *et al*. , 1994) كذلك peliosis hepaticهي آفة كيسية غير عادية من الكبد وهي من الأثار الجانبية النادرة المرتبطة مع استخدام الاوكسي ميثلون كما يسبب حدوث أوراماً في الكبد ظهور حالات سرطان الكبد وسرطان القناة الصفراوية ampullary carcinoma في المرضى الذين يخضعون لعلاج اوكسي ميثلون(Socas *et al* .,2005)ان معظم المنشطات الابتنائية بما في ذلك الأوكسي ميثلون تسبب في زيادة انتاج عامل البلازموجين في البلازما مما يؤدي نشاط (Walker *et al*.,1975) fibrinolytic(، كذلك قد تم ملاحظة ارتفاع نسبة الدهون في الدم hyperlipidemia (5 لتر) لمدة أسبوعين للمرضى الذين يتلقون علاج اوكسي ميثلون (Reeves RD *et al*.,1976).

وقد تم ربط المنشطات الاندروجينية الابتنائية مجموعة واسعة من الأثار الضارة غير المرغوب فيها يمكن أن تتراوح هذه الأثار من جانبية جسدية مثل حب الشباب والتثدي في الذكور إلى حالات خطيرة وتهدد الحياة مثل أمراض القلب والأوعية الدموية، وسرطان الكبد، وإن معظم هذه الاثار قابلة للعكس عند الانسحاب (Rogol *et al* ., 1992).

3.2. عامل التنخر الورمي Tumor necrosis factor- alpha (TNF-α)

يعد عامل التنخر الورمي -TNF بروتين ذو وزن جزيئي عالي أي ما يقارب (17) كيلو دالتون، فهو مكون من(157) حامضاً امينياً كما يعد واحداً من أهم السيتوكينات الالتهابية وقد حدد لأول مرة كعامل مضاد للاورام اذ يسبب تنخر للورم ، ويمثل وسيطاً مركزياً للالتهابات المزمنة التي تتطور إلى الأورام الخبيثة (Tan et al.,2019) وقد اثبتت الدراسات دور هذا العامل الفعال في تنشيط موت الخلايا المبرمج ، و يعزز فعالية الجهاز المناعي، وهو ذو أهمية للحفاظ على الخلية ،و ينظم عملية التمثيل الغذائي ، فقد يكون له دوراً وقائياً في دفاع المضيف، أو قد يكون ضاراً للخلايا ، وقد يختلف مستوى هذا العامل بالاعتماد على سبب الإصابة (Zhao *et al*.,2020) ، وتم تصنيع هذا العامل بشكل أساس بواسطة خلايا الدم البيض الوحيدة والخلايا البلعمية ، و يصنع بواسطة الخلايا اللمفاوية و بواسطة خلايا العضلات الملساء والبطانية والاورومات الليفية Fibroblasts (Cai *et al*.,2020) ، ويصنع في خلايا عضلة القلب والانسجة الدهنية، وتشترك خلايا الدماغ في تصنيعه كما هو الحال في الخلايا الدبقية الصغيرة والخلايا النجمية، ونتيجة لما يمتلكه هذا العامل من خصائص مسببة للالتهابات فقد عد هذا العامل مشاركاً في أمراض المناعة الذاتية وأمراض التهاب الأمعاء، وارتبط مع الاضطرابات الأيضية مثل السمنة، ودنف السرطان Cancer cachexia (فقدان وزن الجسم) ،والاضطرابات النفسية والعصبية كفقدان الشهية العصبي Anorexia nervosa،و مرض الزهايمر والاكتئاب (patsalos *et al*.,2020).

يمكن التعبير عن عامل التنخر الورمي -TNF بواسطة جين يسمى TNFA (Mercogliano *et al*.,2021 إذ يحتوي جين TNFAعلى مواقع ربط للعديد من عوامل الاستنساخ فيؤدي الى مرونة عالية في الاستجابة للعديد من المحفزات المختلفة (Rolski and lyszczuk,2020)، ويظهر عامل التنخر الورمي الفا بشكلين: الشكل الأول قابل للذوبان soluble form ،والشكل الثاني هو عبر الغشاء الخلوي (Jang *et al* .,2021) ، قد يرتبط عامل التنخر الورمي الفا بمستقبلات خاصه به وهي (TNF Receptor 1 TNFER1) والمستقبل الثاني (TNFAR2)TNF Receptor 2 ، ويتم التعبير الجيني عن المستقبل الأول في جميع الأنسجة اذ يعد هذا المستقبل هو المستقبل الرئيس للإشارات ، في حين يتم التعبير عن المستقبل الثاني في الخلايا المناعية ليسهل الاستجابات الحيوية المحددة (Mortaz *et al* .,2021).

4.2 .الجهاز التناسلي للجرذان Reproductive System of Male Rat

يتألف الجهاز التناسلي في ذكور اللبائن ومن ضمنها الجرذان من زوج من الغدد التناسلية هما الخصيتان، الخصية وهي من الغدد المختلطة الافراز Mixed Gland ،وتتصف هاتان الغدتان بقيامهما بوظيفتين أساسيتين الأولى إنتاج النطف من النبيبات الناقلة للمني Seminiferous tubules وفي هذه الحالة تعد الخصيه غده خارجية الإفراز Exocrine gland، أما وظيفتها الثانية تتضمن انتاج الهرمونات الستيرويدية من الخلايا البينية للخصية التي تعرف باسم خلايا لا يدك Leydig cell والتي تقع بين النبيبات ناقلة المني وتقوم هذه الخلايا وبتأثير السيطرة الهرمونية القادمة من الغدة النخامية Pituitary gland بإفراز الأندروجين والذي يكون اساس ومهم في الذكور ويطلق عليه هرمون الشحمون الخصوي وفي هذه الحالة هذه تعد الخصيه غده صميه داخلية الإفراز Endocrine gland **(**Mescher,2021) .

1.4.2. الخصى Testis

زوج من الغدد الذكرية بيضوية صغيرة، تقع الخصى في جدار البطني الظهري وتنزل كلاهما ضمن تجويف يشبه الكيس يدعى كيس الصفن Scrotum، الخصى تعد غدد مختلطة، فكلاهما يمتلك وظيفة الافراز الخارجي Exocrineوالافراز الداخلي Endocrineالافراز الخارجي طبيعي للخصى إذ تنتج الامشاج الجنسية Sperms عن طريق النبيبات Tubulesوالقنوات ducts، أما الافراز الداخلي تتضمن افراز الهرمون الذكري الشحمون الخصوي (Wise,2008).

يغطي الخصية من الخارج إلى الداخل ثلاث غلالات هي: الغلالة الغمدية vaginalis Tunica التي هي عبارة عن كيس مصلي يتكون من نسيج طلائي حرشفي بسيط يستقر الى الغشاء القاعدي ، وتحاط الخصية بمحفظة من نسيج ضام كثيف تعرف بالغلالة البيضاء Tunica albugineaوتكون سميكة وتقع على الجانب الظهري من الخصية ، وتمتد الى داخل حشوة الخصية وتقسمها إلى حواجز غير متكاملة حوالي(300-200) فصيص مخروطي الشكل تدعى بالفصيصات الخصوية lobules Testicular كل فصيص يحتوي (3-1) نبيبات منوية Seminiferous tubulesتكون نحيفة ويصل طولها (1 مل) تنتج فيها الحيوانات المنوية، وتحاط النبيبات المنوية بنسيج ضام مفكك غني بالأوعية الدموية اللمفية والأعصاب ويحتوي على خلايا تدعى بالخلايا البينية Intersilial cells أو خلايا لايدك Leydig cellsتظهر بشكل عناقيد داخلية الافراز تفرز هرمون الشحمون الخصوي ، وكل نبيب منوي Seminiferous tubeيمتلك تجويف ضيق مبطن بظهارة جرثومية سميكة **(**Eroschenko,2008)، وتتألف الظهارة من عدّة طبقات من الخلايا الجرثومية germ cellsخلال سلسلة من العمليات الانقسامية تصبح فيها الحيوانات المنوية ناضجة، ويمتد من الغشاء القاعدي

الى تجويف النبيب المنوي عدد من الخلايا هرمية الشكل بيضوية النواة تدعى بخلايا سرتولي Sertoli cell و الأجزاء القاعدية من خلايا سرتولي تمتلك العديد من البروزات المتفرعة ترتبط بأحكام مع خلايا سرتولي المجاورة لتشكل حاجز الخصوبة الدموية blood testes barrier (BTB)وتعمل خلايا سرتولي على الدعم ، والحماية ،والتغذية للخلايا المولدة للحيوانات المنوية ، وتفرز خلايا سرتولي البروتين المرتبط بالأندروجين Androgen -binding-protein (ABP) الذي يحافظ على تركيز هرمون الشحمون الخصوي في النبيبات المنوية والأخير يحافظ على عملية نشأة النطفة والبروتين المرتبط بالأندروجين يقع تحت سيطرة الهرمون المحفز للجريبات FSHوكذلك تفرز هرمون الانهبين Inhibin الذي يمنع تكوين الهرمون المحفز لإفراز الجريب FSHمن الفص الامامي للغدة النخامية ، أما الغلالة الوعائية Tunica Vascularتمثل الطبقة الوعائية التي تبطن فصيصات الخصية، وترتبط النبيبات المنوية من الفصيصات المتجاورة مع بعضها لتشكل شبكة من النبيبات تدعى الشبكة الخصوية وتنشأ من الشبكة الخصوية (18-12) قناة صادرة تدخل إلى رأس البربخ (Kumar,2013).

1.1.4.2. التركيب النسيجي للخصية

يتألف متن الخصية من جزأين رئيسين هما:

أولا- النبيبات ناقلة المني Seminiferous tubules

ثانيا- النسيج البيني Interstitial tissue

أولا / النبيبات ناقلة المني

هي قنوات منوية دقيقة التواءاتها كثيرة تقع بين الفصوص يصل عددها الى (840) نبيباً ويبلغ طولها من (30-70)سنتمتر و قطرها (0.2) ملم ،ويفقد كل نبيب التواءه في قمة الفصيص ويصبح بشكل نبيب مستقيم Straight tubule ،تندثر هذه النبيبات في النسيج الضام الأساس أو السدى Stroma الذي يكون غني بالأوعية الدموية والأعصاب ويكون النبيب ناقل المني أما متفمم مع نبيب مجاور أو ذا نهاية مسدودة وتفتح نهاية كل نبيب من الأنابيب الجامعة مع بعضها في الشبكة الخصوية Rete testis التي تقع قريباً من رأس البربخ (Arthur et al.,1996)، ويبطن النبيب المنوي بالنسيج الظهاري المنوي Seminiferous epithelium أو يدعى بالظهارة الجرثومية Germinal epithelium والذي هو عبارة عن نسيج ظهاري مطبق مكوناً من خلايا ظهارية مكعبة أو عمودية واطئة ويستقر هذا النسيج على صفيحة قاعدية رقيقة تغطى من الخارج بغلاف من نسيج ليفي يطلق عليه النسيج المحدد والذي يضم الكثير من خلايا النسيج الضام والألياف وبعض الألياف العضلية الملساء إذ يعتقد ان تقلص الخلايا العضلية الملساء ممكن أن يؤدي إلى تغيير قطر

النبيبات الملتوية مما يساعد في حركة النطف على طول النبيب المنوي(Kalthoff,1996)، وتحتل النبيبات المنوية حوالي (75%)من حجم الخصية وتبطن هذه النبيبات داخلياً بظهارة مطبقة تتألف من نوعين من الخلايا هما :-

١- خلايا سرتولي Sertoli cells

٢- خلايا المنشئة للنطف Spermatogenic cells (Dekretser,2002).

1.2.4.2.خلايا سرتولي Sertoli cell

تدعى بالخلايا الداعمة أو الساندة Supporting cells ،وهي خلايا كبيرة طويلة هرمية الى عمودية شكلها غير منتظم وتوجد على طول النبيب المنوي بين الخلايا الجنسية المولدة وتستقر قاعدتها العريضة وتستند على الغشاء القاعدي بشكل عمودي وتكون حافتها القمعية مفتوحة عند تجويف النبيب الناقل للمني (pineda and Dooly,2003). تحتوي الخلية على نواة بيضوية تكون على مسافة قليلة فوق قاعدة الخلية كما أن لها نوية أو اكثر كبيرة وواضحة تقع باتجاه قاعدة النواة ، يشتمل السايتوبلازم على شبكة بلازمية داخلية ملساء وخشنة والمايتوكوندريا والعديد من القطيرات الدهنية وجهاز كولجي والكلايكوجين ، يحتوي السايتوبلازم في خلايا سرتولي في الإنسان على بلورات Crystalloidsغير معروفة الوظيفة ، وتشتمل الحافات الجانبية للخلية على نبيبات دقيقة وخيوط متوسطة يعتقد أنها من الممكن أن تسهم في تحرك الخلايا من المنطقة القاعدية إلى المنطقة المجاورة لتجويف النبيب الناقل للمني، إن جدرانها الجانبية تتحد فيما بينها بروابط محكمة وظيفتها منع مرور الجزيئات الكبيرة من الفسحة البينية الى داخل النبيبات الناقلة للمني ، وتقوم خلايا سرتولي بوظائف متعددة تسهم في تنظيم عملية تكوين النطف Spermatogenesisوتطورها واستمرارها عن طريق تجهيز النطف المتكونة بالمغذيات اللازمة والاسناد والحماية والتهام النطف المتحللة المريضة ، تسمح بمرور بعض المواد الضرورية لتكوين النطفة عن طريق تكوين مركب خاص يقوم بتنظيم افراز هرمون التستستيرون وإعادة بعض المواد الضارة التي تعيق تطور النطف وبذلك تعد الحاجز الدموي الخصوي الذي يمنع تكوين اجسام مضادة للخلايا النطفية الجديدة (Johnston *et al*.,2004) ،و تفرز خلايا سرتولي البروتين الذي يربط الاندروجين Androgen-binding -protein (ABP)تحت سيطرة هرمون التستوستيرون و FSHوالذي يشارك في تنظيم عملية تكوين النطف عن طريق نقل وتركيز الاندروجينات الذكرية حول الخلايا الجرثومية وتركيز التستوستيرون في النبيب المنوي (Chaudhary *et al*.,2004).

2.2.4.2 .الخلايا المنشأة للنطف Spermatogonia

هي طبقة ظهارية تؤلف الجزء الأكبر من النسيج الظهاري المنوي وتترتب الخلايا بشكل صفوف متعددة (4-8) من خلايا المبطنة للنبيب الناقل للمني ويتم ترتيبها على شكل طبقات مركزية وبأعمار مختلفة تبدأ من المنطقة القاعدية للأنبوب وصولا إلى تجويفه، وعند تكاثرها ونموها وتخصصها تندفع نحو التجويف وتتحول إلى النطاف لتنفصل عن النسيج الظهاري وتصبح حرة في التجويف وتشتمل نواع الخلايا المنشأة للنطف ابتداء من الغشاء القاعدي للنبيب وإلى الداخلي مايلي (Hussien *et al*.,1997):-

1-سليفات النطف Spermatogonia

2-الخلايا النطفية الابتدائية Primary Spermatocytes

3-الخلايا النطفية الثانوية Secondary Spermatocyte

4-الطلائع النطفية Spermatids

5-الخلايا النطفية غير الناضجة Immature Spermatozoa

6-الخلايا النطفية الناضجة Mature Spermatozoa

ثانيا: النسيج البيني Interstitial tissue:

هو نسيج يقع داخل فصيصات الخصية وبين النبيبات الناقلة للمني ويتكون من أنسجة خام رخوة غنية بالأوعية الدموية واللمفاوية والأعصاب والخلايا الصماء والتي تسمى خلايا لا يدك وهي خلايا كبيرة مستديرة أو متعددة الأضلاع، ويوجد إما بشكل فردي أو في مجموعات في النسيج الخلالي بين النبيبات الناقلة للمني، لذلك يطلق عليه أيضًا الخلايا الخلالية أو البينية Interstitial حيث أن نواتها بيضاوية أو كروية حاوية على حبيبات صبغينيه ونوية واحدة كما أن احتواء الخلية على نواتين هي حالة شائعة ، أما الهيولي فيحتوي على الشبكة الأندوبلازمية الملساء التي تقوم بتصنيع الهرمونات Steroid hormone .(Hooker,1970)

2.4.2. البربخ Epididymis:

البربخ عبارة عن أنبوب طويل كثير الالتواء يبلغ طوله (7) امتار، مبطن بخلايا عمودية وطبقة كاذبة مهدبة ترتكز على غشاء قاعدي يتكون من نسيج ضام رخو غني بالأوعية الدموية و الالياف العضلية الملساء ، ويقع البربخ مع الخصية داخل تجويف الصفن ويتصل بحافة الخصية من الخلف عن طريق نسيج رابط مؤلف من قنيات صادرة ضيقة تنتقل بواسطتها الحيوانات المنوية من الخصية إلى الوعاء الناقل (Atalar,2023) ، يتألف البربخ من ثلاث مناطق أولها منطقة رأس البربخ Caput وتمثل نهايته الأمامية

المتضخمة القريبة من الخصية ويتصل رأس البربخ بالخصية بالقنيات الصادرةEfferent ductules يتراوح عددها من 13-23 قنية ملتفة حلزونية وتحاط بنسيج ضام ويبلغ طول كل قنية 6-8 سنتيمتر ذات قطر 0.05 مليميتر ، وتكون هذه القنيات ذات تجويف متموج غير منتظم ومنفصلة ولها سطح أملس منتظم وتبطن هذه القنيات بظهارة بسيطة تتكون من خلايا عمودية مهدبة وبعض الخلايا الافرازية المكعبة غير المهدبة التي ترتكز على الغشاء القاعدي وتتبادل مجاميع من الخلايا العمودية الطويلة مع مجاميع أخرى من الخلايا القصيرة وتحتوي هذه الخلايا على اهداب وظيفتها هي نقل الحيوانات المنوية عبر القنيات (Cooper,2012)، وتصبح بطانتها عمودية فقط في نهاية القنيات الصادرة وتلتوي القنيات على بعضها البعض لتكون رأس البربخ Caput ثم تتحد مع بعضها لتشكل قناة كبيرة تسمى قناة البربخ Ductus Epididymidis والتي تمتد من رأس البربخ الى جسم البربخ Corpora وهي منطقة وسطية ضيقة تنتهي بمنطقة ذيل البربخ Cauda وتقع الى الأسفل وتتصل مع الأسهر وتحدث في منطقة الرأس والجسم عملية نضج الحيوانات المنوية أما ذيل البربخ فهي المنطقة الرئيسة لاكتساب النطف القدرة على الحركة والأخصاب ، تمثل عملية خزن النطف الحية وحفظها من أهم وظائف البربخ إذ تحتوي على بعض المواد الغذائية اللازمة لنشاطها (Sullivan *et al*.,2019).

3.4.2 . البروستات prostate: -

غدة البروستات هي عضو كثيف يتألف من طبقات عدة متحدة المركز حول الاحليل البولي أسفل المثانة البولية تتكون طبقاته من قنوات متفرعة تبطن بنسيج ظهاري عمودي مطبق كاذب وذات أرضية من الألياف العضلية، وتحاط الغدة بمحفظة من نسيج ضام ليفي كثيف. وظيفة غدة البروستات خزن وإفراز السائل المنوي اثناء عملية القذف، يحتوي السائل البروستاتي حليبي الشكل على تراكيز عالية من الفركتوز والزنك Zn، حامض الفوسفاتيز، وحامض الاسكوربيك، والاسبرين و fibrinogenase التي تفرزها الظهارة الغدية والخلايا الحشوية للغدة ، يعتمد تركيب ووظيفة الغدة على مستوى تراكيز الهرمون الشحمون الخصوي (Siegel *et al*.,2016;Hassan *et al*.,2013).

5.2.تكوين النطف :Spermatogenesis

تحدث تكوين النطف داخل الجدار المبطن للنبيبات ناقلة المني seminiferous tubulesاذ توجد خلايا جرثومية germs cellsتسمى سليفات النطف spermatogonia تشكل معظم الخلايا المبطنة لجدار النبيبات الناقلة المني وهي المسؤولة عن تكوين النطف اذ تمر بسلسلة من الانقسامات الخلوية والتغيرات التطورية والشكلية بداية من أماكن تواجدها على محيط النبيب ناقل المني ومتقدمة باتجاه تجويف

النبيب إلى أن تتكون النطفة spermatozoaوهذا ما يعرف بنشأة النطف أو تكوينها spermatogenesis (Griswold,2015) .

فضلاً عن هذه الخلايا يوجد نوعان من الخلايا الجسمية المساعدة خلايا سرتولي Sertoli cellsالتي تربط وتحيط بالسليفات داخل النبيبات المنوية، وخلايا لا يدك Leydig cellsالتي تقع بين النبيبات ناقلة المني ومسؤولة عن إنتاج الهرمونات الجنسية الذكرية كهرمون الشحمون الخصوي Testosterone ، اما خلايا سرتولي فهي خلايا كبيرة تستقر على غشاء قاعدي وترتبط مع بعضها البعض بروابط محكمة تكون بذلك الحاجز الدموي الخصوي blood testes barrierالذي يمنع من دخول المواد السامة والغريبة إلى داخل تجويف النبيبات كذلك يمنع النطف والتي لازالت في طور التكوين من الانتشار الى الدم وهذا الحاجز لا يتطور ويقوم بوظيفته إلا عند البلوغ ،و هذه الخلايا هي المسؤولة عن إفراز سائل يحتوي على مواد مغذية وبروتينات وانزيمات وايونات جميعها ضرورية لتغذية وتطور الحيوانات المنوية ويساعد على دفع النطف باتجاه البربخ ،و تقوم خلايا سرتولي بإفراز بروتين يدعى رابط الهرمونات الذكرية Androgen -binding protein (ABP) الذي يعمل على ربط وزيادة تركيز هرمون Testosteroneالضروري لتطور الحيوانات المنوية ،

و تفرز البروتين المثبط Inhibinالذي يؤثر على الغدة النخامية ويثبط هرمون المحفز لإفراز للجريب FSH الذي يعمل على نضج النطف (Dong *et al*.,2016; Oliveira *et al*.,2011; Walker,2011)

تبدأ دورة تكوين النطف بانقسامات اعتيادية للسليفات spermatogonia قبل البلوغ ليزداد عددها ويكون كافياً لإنتاج النطف طوال العمر، وتبقى هذه الخلايا مرتبطة مع بعضها البعض بجسور أو زوائد بروتولازمية كما أنها تحاط وترتبط بخلايا سرتولي وعند البلوغ ونتيجة للتحفيز الهرموني تنقسم هذه الخلايا انقساماً اعتيادياً لتكُون خلايا نطفية أولية primary spermatocyteوجميع الخلايا لحد هذه المرحلة كاملة المجموعة الكرموسومية (2n) ،تنقسم هذه الخلايا انقساماً اختزالياً أولاً meiosis I إذ يختزل عدد الكروموسومات إلى النصف (1n)وتسمى الخلايا الناتجة بالخلايا النطفية الثانوية secondary spermatocytesتمر كل خلية منها بالانقسام الاختزالي الثاني meiosis II لتنتج أربع خلايا تمتلك نصف العدد الكرموسومي (1n) تسمى ارو مات النطف (طلائع النطف المبكرة) early spermatidsوهي خلايا كروية صغيرة لايكتمل الانقسام السايتوبلازمي cytokinesisوتبقى متصلة مع بعضها (yanagimachi,2017).

تصبح النطف ناضجة عند مرورها بسلسلة من التغيرات بواسطة عملية التشكل والنضج والتي تسمى بحؤول النطف spermiogenesis ،إذ تنفصل عن بعضها ويتم التخلص من السايتوبلازم الزائد تدريجياً

وتتركز المادة الكروماتينية في الرأس headوتحاط بغشاء ويتطاول الراس تدريجياً ويحاط الجزء الامامي بتركيب قمعي يسمى بالجسم القمي acrosomeينتج من تمايز جهاز كولجي ويحتوي على إنزيمات تساعد على اختراق آغشية البيضة، أما القطعة الوسطى middle piece للنطف تتكون من مايتوكوندريا مرتبة بشكل حلزوني تقوم بإنتاج الطاقة اللازمة للحركة ، والجزء الأخير هو الذنب tailيتألف من سوط يحتوي على خيوط تنزلق على بعضها لأحداث الحركة وبذلك يكّون حيواناً منوياً ناضجاً spermatozoaوينطلق باتجاه تجويف النبيب المنوي (Dias *et al*.,2016).

تستغرق عملية تكوين النطفة spermatogenesisوما يرافقها من انقسامات متعاقبة وتغيرات شكلية (68-74) يوماً في الإنسان، وفي الفئران (34-35) يوماً وفي الجرذان البيض (48-52) يوماً (Durairajanayagam *et al*.,2015)، ومن الجدير بالذكر ان النطف تكتسب القدرة على الحركة بعد مرورها في نبيبات البربخ والذي يفرز سائل ضروري لنضج النطف (Ganong,2003).

إن اِفرازات البربخ تكون غنية بالبوتاسيوم والكليسريل فسفوريل كولين (Glyceryl phosphoryl choline) والتي تعد مصدر الطاقة الكامنة للنطف (kumar *et al*.,2016)،أما افرازات الحويصلات المنوية فأنها غنية بسكر الفركتوز وحامض الستريك Citric acid وذلك لتامين الطاقة اللازمة لحركة النطف وان نضج النطف يحصل عادة عندما تصبح النطف قادرة على الحركة والإخصاب (Owen and Katz,2005).

مشكلة الخصوبة تعد من أهم المشاكل الصحية الرئيسة في جميع آنحاء العالم وتؤثر على حوالي (15%)من الأزواج ،وفي سنة 2010 وجد نحو (48.5) مليون زوج في جميع أنحاء العالم يعانون من العقم ، مقابل (42) مليون في سنة 1990 ، ويعزى(50-40 %) منها إلى أسباب تتعلق بالذكور (Stuppia *et al*.,2015) Anderson *et al* .,2009; وتسمى حالة قلة النطف Oligozoospermiaعندما يكون تركيز النطف في السائل المنوي 30 مليون خلية \سم 3 وتِكّون دليلاً واضحاً على العقم، أما اختفاء النطف بالكامل من السائل المنوي فتسمى هذه الحالة اللانطفية Azoospermioaالعقم الغير مفسر unexplained infertility (Kobayashi *et al*.,2017).

6.2. معايير النطف:

1.6.2. تركيز النطف Sperm concentration

تركيز النطف أو العدد الكلي لها يشير إلى سلامة وظيفة الخصية فاذا كان عدد تلك النطف قليلا بحيث يكون ضمن الحد الأدنى من تركيز النطف (15) مليون /مل ، وإن كان شكل وحركة النطف طبيعية فان الخصوبة طبيعية، بينما اذا كان عددها كبيراً ِالا اَن حركتها وشكلها غير طبيعي فان الشخص قد يكون عقيماً ، وهذا ما يفسر استخدام هذا المصطلح بدلاً من كثافة النطف (WHO,2010)وإن فقدان النطف او عددهاأقل من العدد الطبيعي، قد يعزى إلى وجود خلل في الناقل المنوي ، أو بسبب المخدرات ،أو نقص النضج ، او اضطرابات الغدة النخامية ، أو اضطرابات الكروموسومات ، والإشعاع والتلوث ،والاضطراب الهرموني والانسداد البرابخ او الحبل المنوي والفشل الكلوي وغيرها من الأسباب الوراثية السرطانات ،ضغط الدم ،السمنة الادوية المنشطة مثلاً (Mundt and shnahn,2011)،و تصل النطف إلى الجزء العلوي من قناة الرحم خلال ساعة من عملية القذف وعلى الرغم من أن عدداً كبيراً يصل منها الى البويضة إلا أن حيوان منوي واحد فقط هو الذي يقوم بإخصاب البويضة، ومما تجدر الإشارة اليه أن عدد النطف أثناء عملية الأخصاب يصل الى (250) مليون، اما الذي يصل الى تجويف الرحم فيكون حوالي مائة الف ،بينما حوالي (50) حيواناً منوياً أو أقل يصل إلى نهاية قناة البيض (خليل،2013).

7.2.الهرمونات الجنسية الذكرية Male Sex Hormones: -

1.7.2.هرمون التستوستيرون Testosterone hormones

إن هرمون التستوستيرون هو الهرمون الرئيس المسؤول عن تكوين النطف Spermatogenesis ونضوجها (Yu *et al*.,2018) ،وتشير دراسة أن الزيادة في مستويات هرموني المحفز للجريب واللوتيني و مع انخفاض في هرمون التستو ستيرون إلى عدم وجود خلل في الغدة النخامية Pituitary gland ،ويحدث انخفاض في هرمون التستوستيرون مما يسبب اختلال في عمل الخصية ،في حين إذا كان هناك انخفاضاً في الهرمون المحفز للجريب والهرمون اللوتيني مع انخفاض في مستويات هرمون التستو ستيرون يشير إلى وجود مشكلة في الغدة النخامية والغدة تحت المهاد، وفي حالة زيادة مستويات هرمون التستوستيرون والهرمون المحفز للجريب والهرمون اللوتيني (Ariadni *et al*.,2008).

2.7.2 .الهرمون اللوتني Luteinizing hormone (LH) وهرمون المحفز للحويصلات Follicle- Stimulating hormone (FSH)

الهرمون اللوتيني (LH) والهرمون المحفز للحويصلات (FSH)كلاهما عبارة عن كلايكوبروتين Glycoproteinوزنهما الجزيئي (30.000) دالتون يفرز من الخلايا المحفزة للغدد التناسلية Gonadotropic cellsفي الفص الامامي للغدة النخامية Anterior pituitary glandبتأثير من الهرمون المحرر للغدد التناسلية (GnRH)من تحت المهاد Hypothalamus،و يؤثر كل منهما على الانسجة المستهدفة في الخصية ، ويحفز هرمون اللوتيني LHالخلايا البينية في الخصية على إفراز هرمون التستوستيرون ،في حين الهرمون المحفز للحويصلات FSHيحث خلايا سيرتولي Sertoli cellsعلى النمو ودعم عملية تكوين النطف في النبيبات ناقلة المني ،ويحفز خلايا سرتولي على انتاج Inhibin خلال الية التغذية الاسترجاعية السالبة Negative feed back mechanism(NFM)،و يعمل كل من الهرمونين المحفز للجريب واللوتيني على زيادة هرمون التستوستيرون (John and Linda,2013).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3. مواد وطرق العمل Material and methods

1.3 . المواد والأجهزة المستخدمة

1.1.3. المواد الكيميائية المستخدمة

جدول (3-1) المواد الكيميائية المستخدمة حسب اسم الشركة والمنشأ

ت	المواد Materials	المنشأ Origin	الشركة COMPANY
1	اوكسيد الزئبق الاحمر Mercuric Oxide	Switzerl	Fluka, AG, Buch,
2	إيثانول مطلق تركيز 99 % absolute Ethanol	France	CARLO ERBA
3	حامض الخليك الثلجي Glacial Acetic acid	England	BDH, Chem, Ltd, Pool
4	حامض الخليك ثلاثي الكلور TCA	England	BDH
5	حامض ثايوباربيتيورك TBA	England	BDH
6	الاوكسي ميثلون Oxymethelone	Germany	Eagle pharma
7	زايلين Xylene	Spain	Scharlau
8	شب البوتاسيوم والألمنيوم Aluminum-Potassium Alum	England	BDH, Chem, Ltd, Pool
9	شمع البارافين Paraffin	Spain	Scharlau
10	الكلوتاثيون GSH Kit	France	Biome Rieux
11	عدة فحص المالون ثنائي الألدهايد MDA Kit	Germany	Spectrum
12	عدة فحص أنزيم السوبر اوكسايد دسيموتيز SOD Kit	France	Biome Rieux
13	عدة فحص هرمون FSH FSH ELIZA Kit	U.S. A	Monobind inc.
14	فحص هرمون ICSH ICSH ELIZA Kit	U.S. A	Monobind inc.
15	عدة فحص هرمون T Testosterone ELIZA Kit	U.S. A	Monobind inc.
16	فورمالين Formalin	Iraq	Iraq co.
17	كحول ايثانول صناعي 96 % Ethanol	Spain	Scharlau

18	Chloroform كلوروفورم	England	BDH, Chem, Ltd, Pool
19	مادة (D.P.X)	India	Himedia lab.pvt.ltd
20	محلول الملح الفسيولوجي(0.9 %) Normal saline	Iraq	Pioneer
21	ملون الأيوسين Eosin stain	England	BDH Chem. Ltd Pool
22	ملون النجروسين Negrosin stain	Switzerland	Fluka , AG , Buchs
23	ملون الهيماتوكسلينHematoxylin	England	BDH Chem. Ltd Pool
24	أوكسيد الزنك Zinc oxide (ZnO)	England	BDH Chem. Ltd Pool

2.1.3.الأدوات المستخدمة:

جدول (3-2): الأدوات المستخدمة حسب اسم الشركة والمنشأ.

ت	الأدوات Tools	المنشأ Origin	الشركة Company
1	أداة تجريع device Ingestion	USA	Oxford
2	أدوات بلاستكية مختلفة الاحجام	Denmark	Nunclon
3	أنابيب اختبار خالية من المادة المانعة للتخثر Gel test tube	Jordan	Gold star
4	جار تصبيغ زجاجي Gar Staining	Germany	Harshman
5	حامل شرائح	China	
6	زجاجيات مختلفة الاحجام Pyrex	England	Volac
7	شاش طبي	Turkey	Kardelen Hidrophile
8	شرائح زجاجية وأغطيتها Slides and cover	China	China MHEC
9	عدة تشريح Dissecting	Pakistane	S.I.E.
10	قطن طبي Medical cotton	Turkey	Papatya
11	ماصة Micropipette	Germany	ALBET
12	محاقن طبية Disposable Syringe	S.A.R.	Medical ject-
13	ورق ترشيح	Belgium	Zelpa

3.1.3.الأجهزة المستخدمة:

الجدول (3-3): يوضح الأجهزة المستخدمة حسب المنشأ والشركة المصنعة

ت	الأجهزة Devices	المنشأ Origin	الشركة Company
1	ثلاجة	France	Concord
2	جهاز الطرد المركزي	Germany	Hermile Lab
3	حمام مائي water bath	USA	Chicago Surgical & Electrical USA co
4	خلاط كهربائي blender	Japan	Sanyo
5	صفيحة الساخنة Warming plate	India	Lassco
6	فرن كهربائي Electric oven	Germany	Xmta
7	كاميرا مجهريةDigital Cameral Eyepiece (DCE-PW1)	JAPAN	Canon
8	مجهر ضوئي Microscope	Germany	Human scop
9	المشراح الدوار rotatory microtome	Italy	Histo-Line Lab. Mod. MRS 3500
10	المطياف الضوئي Spectrophotometer	England	Biotech Engeneering
11	ميزان الكتروني	Germany	AG GOTTNGEN Sartorius
12	جهاز GC-Mass	Agilent Technologies	Germany

3. 2. طرائق العمل Methods

3. 2. 1. حيوانات التجربة Experimental Animals

استخدمت في هذه الدراسة (42) ذكراً من الجرذان البيض البالغة التي تراوحت أوزانها (250-350) غم وأعمارها بين (12- 14) أسبوع تقريبا تم تربيتها في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء ، للمدة من بداية شهر كانون الأول سنة (2023) ولغاية نهاية شهر شباط سنة (2024)،ووضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية خاصة مغطاة بأغطية معدنية فرشت أرضيتها بنشارة الخشب الناعمة وتمت العناية بنظافة الأقفاص وتبديل الأرضية باستمرار وتعقيمها بالمطهرات و العناية المستمرة بنظافة قناني الإرواء وغرفة الإيواء ،و خضعت جميع حيوانات التجربة لظروف مختبرية ملائمة كدرجة الحرارة المناسبة (25)درجة مئوية ومدة الإضاءة(12) ساعة ضوء و (12) ساعة ظلام زودت الحيوانات بالماء والعليقة القياسية بصورة حرة Ad libitum طوال مدة البحث ، وتركت الحيوانات لمدة أسبوعين للتكيف مع الظروف قبل اجراء التجربة وللتأكد من خلوها من الأمراض.

2.2.3. جمع النبات المستخدم collection of plants used

جمع النبات المستخدم في البحث (نبات الماكا) من منطقة بيرو عن طريق مكتب في بغداد، وتم احضارها إلى جامعة كربلاء كلية التربية للعلوم الصرفة قسم علوم الحياة تم تصنيفها من قبل التدريسية أ.د. نيبال امطير طراد اختصاص تصنيف النبات.

3.2.3. تحضير المستخلص المائي لنبات الماكا

حضر المستخلص المائي البارد لجذور نبات الماكا بالاعتماد على طريقة Bishayeeوجماعته (1995) أضيفت (50)غم من مسحوق جذور نبات الماكا المجفف والمطحون إلى(250) مليلتر من الماء المقطر وترك الخليط في حاضنة هزازة لمدة (24)ساعة في درجة حرارة(37)درجة مئوية، ومن ثم رشح المحلول باستخدام عدّة طبقات من الشاش الطبي وبعدها استخدام جهاز الطرد المركزي عند(3000) دورة لمدة (10)دقائق للتأكد من إزالة بقايا النبات الغير مطحونة ،ومن ثم صب السائل في أطباق زجاجية معقمة للسماح لها بالجفاف عند (25)درجة مئوية ،وجمع المستخلص الجاف عن طريق قشطة بأداة معقمة والاحتفاظ به في مكان جاف وبارد حتى استخدامه في التجربة .وتم تحضير الجرع بالتراكيز المطلوبة في التجربة (200) ملغم\كغم واعتماداً على وزن الحيوانات ثم تم تجريع فمويا باستخدام أداة التجريع Gavage (Susanto *et al.*,2022).

4.2.3.حساب جرعة عقار الاوكسي ميثلون

تم الحصول على عقار الاوكسي ميثلون من الصيدليات على شكل (حبوب) بتركيز 50 ملغم/كغم وهي الجرعة المستخدمة للإنسان. تم تحضير جرعة الدواء المطلوبة في الدراسة الحالية بتركيز 5 ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً لمدة (55) يوماً، وتم إعطاء جرعات للحيوانات. عن طريق الفم بهذه الجرعة (Zahmatkesh *et al.*,2015)

صورة (3-1) عقار الاوكسي ميثلون

5.2.3.فصل وتشخيص المركبات الكيميائية بتقنية GC-Mass

باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز -مطياف كتلة GC-Chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) تم فصل وتشخيص المركبات الفعالة من مستخلص نبات الماكا. اذ حلل المستخلص الإيثانولي لنبات الماكا (الجذر) بواسطة جهاز GC-MC ويرتبط جهاز كروماتوغرافيا بجهاز الطيف الكتلي الموضح في صورة (3-1) ووفقا للظروف الاتية:

1.عمود الفصل الشعري Capillary column نوع Eliter-1 Fused Silicaوالذي سجل آبعاده (30m lengthx250Mm inner diameter x0.25 Mm film thick ness) والمكون من (100%) Dimethyl polysiloxane والذي يعمل ككاشف لقنص الالكترون.

2.استخدم غاز الهيليوم (99.99%) كغاز ناقل بسرعة جريان ثابتة 1مل \دقيقة.

3.حقق الجهاز بما يقارب (2) مايكرولتر من المستخلص الإيثانول وبنسبة انقسام (1:10).

4.برمجة درجة حرارة الى (250) درجة مئوية للحاقن. و (300) درجة مئوية للمصدر الايوني.

5.تم برمجة درجة حرارة الفرن على(60)درجة مئوية لمدة (3) دقائق، بزيادة تصل إلى (7)درجة مئوية لكل دقيقة إلى أن تصل إلى(180) درجة مئوية لكل دقيقة حتى تصل إلى (280) درجة مئوية لمدة (3) دقائق لحين النهاية.

6.نفذ طيف الكتلة بفولتية (70) بفاصل زمني للفحص مقداره (0.5)ثانية ومعدل انشطار (40 - 450) دالتون.

7.الضغط داخل الجهاز: (11.933)psi

8.الوقت المحتسب لبدء تشغيل الجهاز وانتهاءه للعينة هو(32)دقيقة.

استعمال برنامج Turbo Massبنسخته (5.2.0) المثبت على الجهاز لحساب ناتج الطيف الكتلي لكل مركب مقدار نسبي لمتوسط مساحة قمته peak Areaعلى إجمالي المساحات Total areaكل هذه المعلومات تبرمج بشكل مباشر على الجهاز للعينة النباتية قيد الدراسة.

صورة (3-2) :صورة لجهاز كروماتوغرافيا الغاز -مطياف الكتلة

6.2.3. تحضير المركبات النانوية:

1.6.2.3. تحضير المركب النانوي من طبقات أوكسيد الزنك (Zinc oxide) مع نبات الماكا:

اَتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Bashi وجماعته(2013) مع بعض التحوير في تحضير المركب النانوي الهجين , شكل (3-1) وذلك بإضافة (1) غرام من الماكا الى محلول أوكسيد الزنك الناتج من إذابة (1)غم من أوكسيد الزنك في (50) مل من الماء المقطر المزال منه الايونات وحرك المزيج بواسطة المحرك المغناطيسي Magnetic stirrerبدرجة حرارة الغرفة لمدة (24) ساعة ثم وضع المزيج في الحاضنة الهزازة Shaker incubatorعند درجة حرارة(40)درجة مئوية لمدة (18) ساعة .يتغير لون المحلول من الأصفر الشاحب إلى الأصفر المحمر ،وفصل الراسب بوساطة جهاز الطرد المركزي بسرعة (3000) دورة لمدة (20) دقيقة ومن ثم غسل بالماء المقطر المزال منه الأيونات عدة مرات وبعدها جفف الراسب بالفرن الكهربائي عند درجة حرارة(50) درجة مئوية ومن ثم طحنه بالهاون الخزفي جيدا للحصول على مسحوق ناعم وحفظ في الثلاجة لحين استخدامه في التجربة.

الشكل (3-1): يوضح تحضير المركب النانوي من الماكا بإضافة أوكسيد الزنك بطريقة التبادل الايوني (Bashi *et al*.,2013)

2.6.2.3. التقنيات المستخدمة في توصيف جسيمات أوكسيد الزنك النانوية:

لتحديد الخصائص السطحية والتركيب والنقاء واستقراريه جسيمات أوكسيد الزنك النانوية يستخدم العديد من التقنيات التحليلية لتوصيف ZnO-NPs

1.2.6.2.3. تقنيات المجاهر الالكترونية Electron microscope technique

تستخدم هذه التقنيات لدراسة الخصائص السطحية والشكلية والحجمية للجسيمات النانوية وتشمل

أ. مجهر القوة الذرية Atomic force microscope (AFM)

هو أداة تحليله مميزة لها القدرة على تحديد الهياكل السطحية ذات الدقة المكانية العالية يتم استخدام هذه التقنية عند قياس العينات ذات الأسطح المسطحة ذريا للحصول على صور ذات مقياس ذري **(Venkateshaiah.,2020).**

ب. المجهر الالكتروني الماسح Scanning electron microscope (SEM)

يستخدم في التصوير السطحي له القدرة على تحليل آجسام الجسيمات المختلفة وتوزيع الحجم والأشكال النانوية والتشكل السطحي للجسيمات المكونة على المقياس الجزيئي والنانوي كما أنها توفر معلومات عن نقاء ودرجة تجمع أو تكتل الجسيمات (Zhang *et al*.,2016b).

2.2.6.2.3.تقنيات التحليلية البصرية

أ. تقنية مطياف الاشعة التحت الحمراء Fourier transform infrared technique (FTIR)

يستخدم للتعرف على المجاميع الوظيفية الفعالة للجزيئات العضوية في مستخلص الكائنات الحية والمسؤولة عن اختزال الزنك إلى أوكسيد الزنك النانوي وهذا الجهاز يتحسس شدة الامتصاص والطول الموجي الذي يحصل للجزيئة ثم تظهر حزم تمثل هذه الامتصاصية والتي يمكن معرفة مواصفاتها من العدد الموجي (4000-10) سم $^{1-}$ (Zhang *et al*.,2016b)

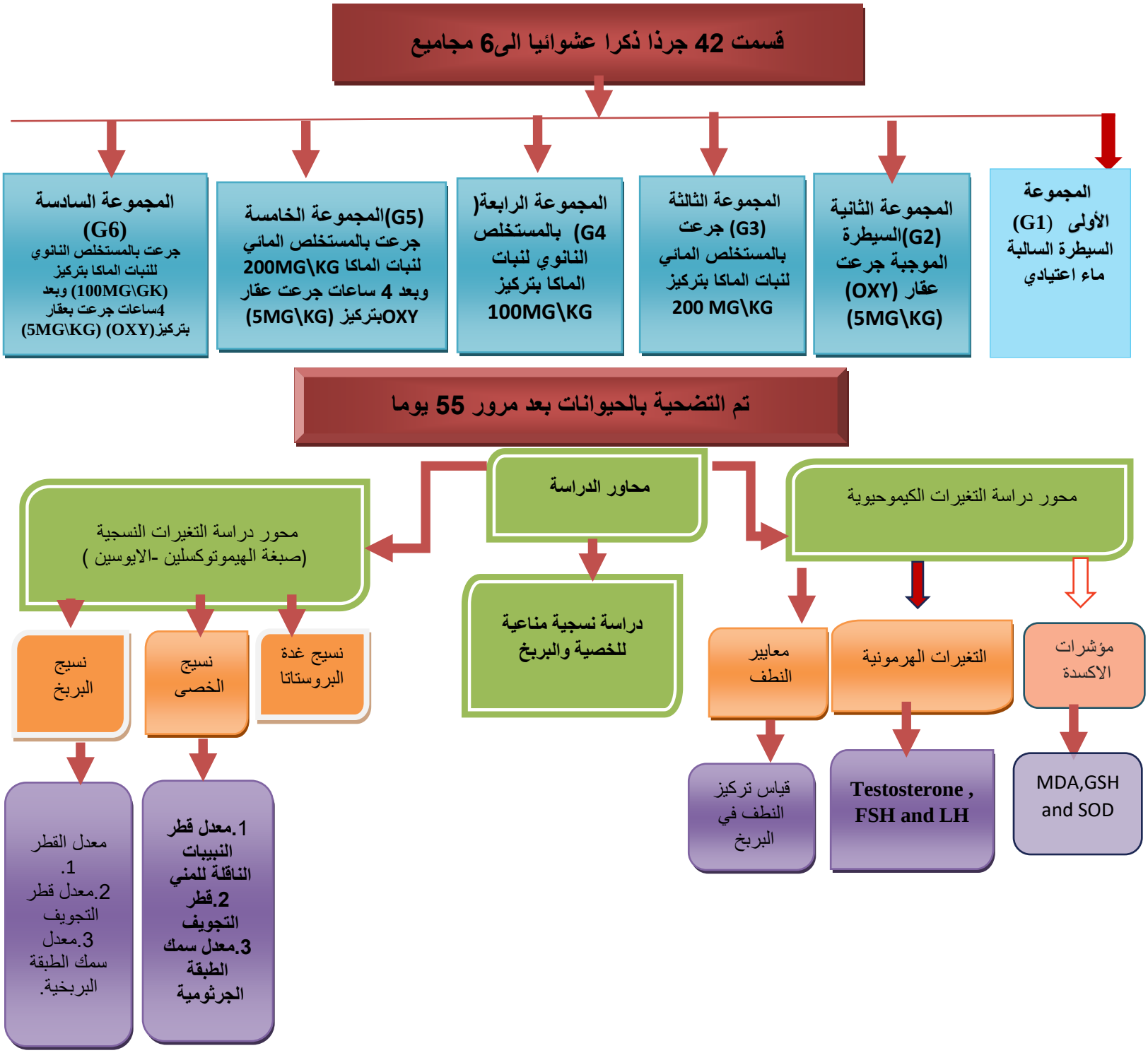
ب. تقنية الحيود للأشعة السينية x-ray diffraction techniques (XRD)

يستخدم جهاز حيود الأشعة السينية في تحديد حجم الدقيقة النانوية فضلاًعن تحديد تركيبهما (Zhang et al.,2016b)

7.2. 3 .تصميم التجربة :Experimental Group

قسمت (42) من الحيوانات التجريبية عشوائيا إلى ستة مجاميع وبواقع 7 حيوانات لكل مجموعة وكالتالي شكل (3-3):

- مجموعة السيطرة السالبة (G1) :تم تجريع الحيوانات بمحلول الماء الاعتيادي يوميا ولمدة (55) يوماً.
- مجموعة السيطرة الموجبة (G2): حيوانات جرعت فمويا بعقار الأوكسي ميثلون وبتركيز (5) ملغم\كغم من وزن الجسم يوميا لمدة (55) يوماً.
- المجموعة الثالثة (G3): حيوانات جرعت فمويا بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا وبتركيز (200) ملغم\كغم من وزن الجسم ولمدة (55) يوماً.
- المجموعة الرابعة (G4): حيوانات جرعت فمويا بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا وبتركيز (100) ملغم\كغم من وزن الجسم ولمدة (55) يوماً.
- المجموعة الخامسة (G5): تضمنت حيوانات جرعت فمويا بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا وبتركيز (200) ملغم \كغم من وزن الجسم قبل أربع ساعات من تجريع الفموي بعقار الاوكسي ميثلون وبتركيز (5) ملغم\كغم من وزن الجسم يوميا لمدة (55) يوماً.
- المجموعة السادسة (G6): تضمنت حيوانات جرعت فمويا بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا وبتركيز (100) ملغم \كغم من وزن الجسم قبل أربع ساعات من التجريع الفموي بعقار الاوكسي ميثلون وبتركيز (5) ملغم \كغم من وزن الجسم يوميا لمدة (55) يوماً.



الشكل (3-1): يمثل مخطط تصميم التجربة

8.2.3.جمع عينات الدم :Blood sample collection

خدرت الحيوانات باستعمال قطعة من القطن حاوية على كمية من الكلوروفورم وضعت في علبة شفافة محكمة الغلق ثم حمل الحيوان ووضع بسرعة داخلها واعيد احكام الغطاء وبعد التأكد من تخديره تم إخراجه وسحب الدم من القلب مباشرة عن طريق طعنة القلب Heart Punctureباستعمال محقنة طبية معقمة نبيذة سعة 5 مل للحصول على اكبر كمية من الدم ووضعت عينات الدم مباشرة في أنابيب اختبار معقمة خالية من المادة المانعة للتخثر Gel tube، ثم نقلت الأنابيب إلى جهاز الطرد المركزي Centrifugeبسرعة 3000 دورة\دقيقة لمدة 15 دقيقة لغرض الحصول على المصل والذي ينقل إلى انابيب بلاستيكية صغيرة Eppendorf tube نظيفة وجافة معلمة ويتم حفظ الأمصال في الثلاجة Refrigeratorبدرجة حرارة -20 درجة مئوية لحين اجراء الفحوصات الكيمو حيوية عليها والتي تشمل معايير قياس تركيز المالون ثنائي الديهايد Malondialdehyde(MDA), قياس تركيز الكلوتاثيون Glutathione (GSH)وأنزيم السوبر ديسموتيز(SOD) Superoxide dismutase وقياس هرمون الشحمون الخصوي Testosterone (T),قياس هرمون اللوتيني Luteinizing Hormone (LH),قياس هرمون المحفز للجريبات FSH Follicle stimulating hormone.

9.2.3 . جمع عينات الانسجة: Collection of tissue samples

بعد الانتهاء من عملية سحب الدم تم تشريح الحيوانات بشكل مباشر عن طريق فتح التجويف البطني بواسطة مشرط ومقص حاد من الأسفل بعدها تم استئصال الأعضاء الخاضعة للدراسة (الخصى والبرابخ وغدة البروستاتا)،ثم غسلت بالماء لإزالة الدم الموجود عليها بعده تم وضعها على ورق ترشيح لغرض تجفيفها ثم قطعت هذه الأعضاء الى قطع صغيرة بشكل عرضي وطولي لكي يتم حفظها بسهولة وضمان وصول المادة الحافظة اليها, تم حفظ هذه العينات في الفورمالين بتركيز 10% ولمدة 48 ساعة في عبوات بلاستيكية نظيفة ومعلمة وتم غلقها بأحكام لحين اجراء التقطيع النسجي عليها.

10.2.3. تحضيرات المقاطع النسجية :Histological preprations

تم اخراج العينات المحفوظة في الفورمالين بتركيز 10%وغسلها بالماء الجاري وبعدها أجريت عليها سلسلة من العمليات اعتمادا على الطريقة (Suvarna *et al* . ,2013) ، وكما في الخطوات الآتية:

1.10.2.3.الانكاز Dehydration

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

2.10.2.3. الترويق Clearing

تم ترويق العينات بوضعها بمحلول الزايلين Xyleneمرتين ولمدة (5) دقائق لكل مرة لإزالة محلول الانكاز وجعل العينة أكثر شفافية.

3.10.2.3. التشريب: Infiltration

بعد الانتهاء من عملية الترويق تم نقل النماذج الى قناني زجاجية حاوية على خليط من شمع البرافين paraffin waxالمنصهر والمرشح (درجة انصهاره 57-60) درجة مئوية والزايلين بنسبة 1:1 لمدة نصف ساعة داخل فرن كهربائي درجة حرارته 57درجة مئوية وذلك لإبقاء الشمع منصهرا ولضمان تمام عملية التشريب الكامل للنماذج بالشمع، بعدها نقلت الى قناني أخرى حاوية على شمع البرافين المنصهر داخل الفرن أيضا لمدة ساعة واحدة بعد ذلك نقلت مرة أخرى إلى قناني أخرى حاوية على شمع البرافين لمدة ساعة واحدة أيضا.

4.10.2.3. 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 إلى مقاطع نسجيه.

5.10.2.3. التشذيب والتقطيع:Trimming and Sectioning

شذبت قوالب الشمع الحاوية على العينات بواسطة مشرط حاد، بعدها تم تثبيتها في جهاز المشراح اليدوي الدوار Rotary Microtomeلتقطيع النماذج وقطعت بسمك 5 مايكروميتر، ثم حملت أشرطة المقاطع على شرائح زجاجية Slideنظيفة 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 plateلكي تجف بدرجة حرارة (37)درجة مئوية لمدة ساعة واحدة ثم تركت بدرجة حرارة المختبر (24) ساعة.

6.10.2.3. التصبيغ :Staining

1.6.10.2.3.صبغة الهيماتوكسلين هارس: Harris, Hematoxylin stain

إن صبغة الهيماتو كسلين هارس من الصبغات القاعدية التي تستعمل بصورة عامة تلوين النواة بلون ازرق غامق dark blue,مكونات الصبغة هي:

جدول (3-4): مكونات صبغة الهيماتوكسلين

ت	المادة	الكمية
1	مسحوق الهيماتوكسلين	2.5غم
2	كحول اثيلي مطلق	25 مل
3	شب البوتاسيوم $AIK(SO_4)_2.12H_2O$ او شب الامونيا $NH_4AL(SO_4)_2.12H_2O$	50 غم
4	ماء مقطر دافئ	500 مل
5	أوكسيد الزئبقيك الأحمر Red mercuric oxide	1.25 غم
6	حامض الخليك الثلجي acetic acid Glacial	20 مل

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

اذيب الهيماتوكسلين في الكحول المطلق بعدها اضيف الى الشب المذاب بالماء المقطر الدافئء ووضع المزيج على النار حتى درجة الغليان ثم اضيف إلية أوكسيد الزئبقيك الأحمر، ثم برد المزيج مباشرة بوضع الدورق الذي يحوي المزيج بالماء البارد واضيف اليه حامض الخليك الثلجي ورشح الخليط قبل الاستعمال لتصبح الصبغة جاهزة للاستخدام.

2.6.10.2.3.صبغة الايوسين الكحولي Eosin stain

حضرت الملون حسب الطريقة التالية واعتمادا على (Suvarna *et al.*,2013):

جدول (3-5): مكونات صبغة الايوسين

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

أذيب الايوسين في الكحول بشكل جيد ثم اضيف اليه حامض الخليك الثلجي ورشح بورق الترشيح قبل الاستعمال في اليوم التالي لونت الشرائح باستعمال ملون الهيماتوكسلين -الايوسين وكما يلي:

1-أزيل الشمع من الشرائح الزجاجية باستعمال الزايلين على مرحلتين ولمدة 5 دقائق لكل مرحلة ثم مررت بسلسلة تنازلية من الكحول الاثيلي ابتداء من (100%,100%,90%,80%,70%) ولمدة ثلاث دقائق لكل تركيز.

2-وضعت الشرائح في ملون الهيماتوكسلين هارس لمدة (4-5) دقائق.

3-غسلت الشرائح الزجاجية بالماء الجاري لمدة (5) دقائق.

4-لونت الشرائح بملون الايوسين الكحولي لمدة سبع دقائق.

5-ثم غسلت الشرائح الزجاجية بالماء المقطر لمدة دقيقتين.

6-بعدها نقلت الشرائح الزجاجية إلى سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي بتركيز (70%,80%,90%,100%,100%) لمدة دقيقتين لكل تركيز ماعدا التركيز الأخير وضعت فيه لمدة خمس دقائق، ثم روقت بالزايلين وعلى مرحلتين في كل مرحلة 5 دقائق.

7.10.2.3. التحميل Mounting

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

8.10.2.3.الفحص والتصوير المجهري Microscopic examination and photomicrography

تم اجراء الفحص المجهري للشرائح الزجاجية لتحديد التغيرات الحاصلة في المقاطع النسجية المدروسة بواسطة استخدام المجهر الضوئي Light microscopeوبقوى تكبير مختلفة, كذلك تم تصوير الشرائح الزجاجية بواسطة المجهر الضوئي نوع MEIJI light microscopeوالمزود بكاميرا رقمية نوع canonذات دقة عالية وموصلة إلى جهاز الحاسوب وأخذت مواقع مناسبة منها وبقوى (10X).

11.2.3. القياسات النسيجية Histological morphoatry

1.11.2.3.الخصية Testes حساب معدل قطر النبيبات الناقلة للمني وتجاويفها وخلايا الانطاف :

Account of diameter of seminiferous tubule and spermatogenic cells

تم استخدام المقياس العيني الدقيق Ocular micrometer في قياس النبيبات الناقلة للمني واقطار خلايا الانطاف بعد ما تم معايرته بالمقياس الدقيق المسرحي stage micrometer(الهادي ،1989) وتحت قوة 20X إذ تم حساب معدل اقطار (10)نبيبات منوية والتي تكون منتظمة الشكل اما دائرية أو قريبة من الدائرية في كل مقطع ثم حساب المعدل العام لاستخراج معدل قطر النبيب ناقل للمني , كذلك تم قياس سمك الطبقة الجرثومية عن طريق قياس السمك في الغشاء القاعدي إلى الفراغ للنبيب ناقل للمني بواقع (10)قراءات لكل حيوان ،بعدها استخراج المعدل العام (Akdere *et al*.,2015).

2.11.2.3.البربخ Epididymis حساب معدل قطر النبيبات الناقلة للمني وتجاويفها وخلايا الانطاف

تم استخدام المقياس العيني الدقيق تحت قوة 20X في قياس اقطار نبيبات البرابخ للحيوانات، بحيث تم قياس اقطار النبيبات وتجويفها ذات الشكل الدائري أو القريبة من الدائرية 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).

12.2.3. المعايير الكيمو حيوية :Biochemical parameters

1.12.2.3. قياس مضادات الاكسدة والمؤكسدات Antioxidation and Oxidation

1.1.12.2.3. تقدير مستوى بيروكسيد الدهن في مصل الدم (المالون داي الديهايد) MDA

Determination of lipid peroxidation in blood (Malondialdehyde)

المبدأ الأساسي Basic principle

يقدر مستوى المالونداياالديهايد (MDA)في مصل الدم اعتماداً على طريقة (Guidet and Shah 1989,)، إذ تقيس الطريقة المالونداياالديهايد وهو من أهم نواتج بيروكسيد الدهون في مصل الدم، المبدأ الأساسي لهذه الطريقة هو تفاعل جزيئة واحدة من المالون الديهايد وجزيئتين من حامض الثايوباربيوتيك Thiobarbituriacid (TBA)وناتج هذا التفاعل يكون ملونا باللون الأحمر ويجب أن يتم التفاعل في وسط حامضي بعدها تقاس شدة الامتصاصية لناتج التفاعل بواسطة جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية Spectrophotometerعند 532 نانومتر.

تحظير مخزون الكواشف Preparation of Reagent (TCA-TBA-HCL)

تحضر بإذابة (15%) حجم لكل وزن من حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro Acetic Acid (TCA) مع 0.375% حجم لكل وزن من حامض الثايوباربيوترك (TBA)مع N (0.25)من حامض الهيدروكلوريك بالطريقة الأتية:

1.محلول حامض الثايو باربيوترك :TBA-Solutionالذي 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 الاستخدام.

2.محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro Acetic Acid(TCA-Solution): يتم تحضير هذا المحلول بتركيزين، التركيز الأول (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) مايكروليتر 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 الأنابيب في حمام مائي لمدة (15) دقيقة.

2.بردت العينات واضيف لها (1) مللتر من محلول (TBA) بتركيز (70%) ويترك المزيج عند درجة حرارة (37) درجة مئوية 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:

$$\text{Serum MDA} = \frac{\text{Absorbances}}{D \times \epsilon} \times \text{D.F}$$

الحسابات

Serum MDA=تركيز المالونداياالديهايد=(0.0624) مل /نانو مل

Absorbance=هو مقدار الامتصاصية.

D=عرض الخلية ويعد مقدار ثابت (1) سم.

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

F. D=معامل التخفيف ويقدرب (5.15)

2.1.12.2.3. قياس مستوى تركيز الكلوتاثيون (GSH) في مصل الدم

يقاس انخفاض الكلوتاثيون بوساطة كاشف ايلمان Ellman's reagent والذي هو عبارة عن ثنائي حامض النايتروبنزويك **DTNB** (5,5- Dithio- bis-(-2 nitrobenzoic acid)]

كما في التفاعل التالي: تبعا لطريقة (Rotruck *et al*.,1973)

$$GSSG+LOH+H_2O \longrightarrow 2GSH + LOOH$$

المحاليل المستعملة:

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

2.المحلول B:(0.1 M $NaH_2 PO_4$): يذاب (107.12) غم من NaH_2PO_4 في لتر من الماء.

3.ازيد الصوديوم Sodium azide(10 ملم): يذاب (0.06501) غم من NaN_3 في (100) مللتر من الماء المقطر.

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

5. Tert-butyl hydroperoxide(2.5 مم).

6.مختزل الجلوتاثيون2 ملم: يتم تحضيره عبر اذابة (0.0614) غم من GSH في الحجم النهائي من (100) مللتر من محلول (0.4) EDTA M.

7.نترات الصوديوم المقطر (0.1%) Sodium nitrate .

8.كاشف DTNB(19.8) ملغم في (100) مل (0.1%) نترات الصوديوم Sodium nitrate(0.1%).

9.0.4 NaH_2PO_4: يذاب (5.68) غم من NaH_2PO_4 في(100) مل من الماء.

جدول (3-6) كواشف قياس مستوى تركيز الكلوتاثيون (GSH) في مصل الدم

Test	STD	Blank	Reagents الكواشف
400مل	400مل	400 مل	Sodium Phosphate كاشف
100 مل	100مل	100مل	Sodium azide ازيد الصوديوم
200مل	200مل	.....	Reduced glutathione مختزل الجلوتاثيون
200ML	250مل	450مل	D.W. ماء مقطر
50مل	.....	.....	Sample العينة
200 مل	200مل	200مل	Butylhydroperoxide-Tert
			تم خلطها بواسطة دوامة vortexثم حضنت لمدة3 دقائق عند درجة (37) درجة مئوية، فيما بعد تم إيقاف التفاعل بإضافة (0.5)مل من(10%)(TCA)ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي (3000)دورة\المدة (15)دقيقة ،ثم ازيل (2) مل من الطافي في أنبوب نظيف
3مل	3مل	3 مل	NaH_2PO_4
1مل	1مل	1مل	DTNB

ثم قرأ بوساطة جهاز الاليزا Elizaعند الطول الموجي412 نانومتر.

الحسابات:

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

فعالية الجلوتاثيون بيروكسيديز (مايكرومول للجلوتاثيون المستخدم/ دقيقة **نسبة الجلوتاثيون في محلول STD** **نسبة الجلوتاثيون في التجربة** **D . F X**

$$\text{Se-GPX activity (umol of GSH utilized/min)} = \frac{\text{Conc.of GSH inSTD conc. of GSHin test}}{\text{Time (3 min)}} * \text{D.F}$$

اذ ان D.f محلول التخفيف dilution factor

3.1.12.2.3. تقدير مستوى انزيم سوبر اوكساید دسيميوتيز superoxide dismutase Activity (SOD)

أ- المبدأ: تم قياس فعالية سوبر أوكسيديز ديسميوتيز في المصل باستخدام الطريقة المحورة التفاعل الكيميائي - ضوئي (NBT) Nitroblue tetrazolium (NBT) باستخدام السيانيد الصوديوم

بوصفه متبطاً للبيروكسيديز (Durak *et al*., 1996).

ب- المحاليل الكيميائية :

1-محلول فوسفات المنظم (50)و(7.8) m يحتوي على (0.1) و triton X-100 (A.025%)وتحضر كالآتي:

a-محلول A: فوسفات الهيدروجين ثنائية البوتاسيوم K2HPO4, هذه المحاليل جهزت بإذابة (8.709) غم من : K2HPO4 في (250) ماء منزوع الايونات واكمال الحجم إلى(1) لتر .

b-محلول B : فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (50mM) : وتحضر من أذابه(6.805) غم KH2 Po4 في(250) ماء منزوع الايونات وثم يكمل الحجم إلى (1) لتر ، ثم خلط (800) مل من محلول A مع (200)مل من محلول B مع ضبط الحموضة عند(7.8) ph .

2- Triton (v/w%1) يذاب في ماء منزوع الأيونات

3-Nitroblue tetrazolium-2HCL(1.73nM) وجهزت بإذابة (0.0141)غم من NBT-2HCL في (10)مل من الماء منزوع الأيونات .

4-محلول المثيونين L-Methionine solution (0.2M)وحضر بإذابة (0.3)غم من L-Methionine solution في (10)مل من الماء منزوع الأيونات.

5- محلول سيانيد الصوديوم Sodium cyanide solution (2mM) وحضر من إذابة 0.0011غم من سيانيد الصوديوم في(10) مل من الماء منزوع الأيونات.

6- محلول رايبوفلافين Riboflavin solution (117mM) وحضر من إذابة (0.0011)غم من رايبوفلافين في (25)مل من الماء منزوع الأيونات.

7- خليط التفاعل Reacting mixture solution وتم تحضير من مزج (117)مل من محلول فوسفات المنظم و(0.75)مل من Triton و(1) مل من NBT-2HCLو(1.25)مل من محلول المثيونين.

ج طريقة العمل:

1-تم تجهيز ثلاثة من الأنابيب على النحو الآتي:

Reagent	Blank	Control	Sample
خليط تفاعل			3ml
سيانيد الصوديوم			0.04ml
العينة			0.15ml
محلول العمل			0.52ml
مزحت جيداً ثم اضيف لها			
رايبوفلافين	0.038ml	0.038ml	0.038ml

2- مزجت جميع الانابيب ، وقرأت امتصاصية العينة والسيطرة عند طول موجي (nm560) باستخدام جهاز spectrophotometer .

3-عرضت كل الأنابيب عدا Blank إلى مصدر ضوئي محكم لمدة عشر دقائق.

4- بعدة نهاية مدة الإضاءة تم قراءة الامتصاصية عند طول موجي (nm560) .

د- الحسابات :

تم حساب تركيز الإنزيم وفق المعادلات الآتية:

Inhibition %=ICI-ITI/ICI X 100

inhibition Activity of SOD enzyme (U/ml) inhibition % of sample/0.5 of the from the standard curve, 37%.

/C/: absorbance of control after illumination - absorbance of control before illumination.

T/: absorbance of sample after illumination- absorbance of sample before illumination

2.12.2.3. الفحوصات الهرمونية :Measurements of hormones

تم تقدير مستويات الهرمونات في مصل الدم باستخدام طريقة التقدير المناعي الممتص المرتبط انزيميا Enzyme -Linked Immunosorbent Assay(Eliza) وكانت القراءة الامتصاصية على الطول الموجي 450 نانومتر، حيث تم قياس تراكيز الهرمونات :(هرمون الشحمون الخصوي T-الهرمون المحفز للجريبات FSH_الهرمون اللوتيني LH) في مصل الدم باستخدام عدة قياس (KIT) بواسطة جهاز Eliza reader المصنع من شركة Monobind-Inc ذات المنشأ الأمريكي، تمت الفحوصات الهرمونية في مؤسسة الفاضل في بابل.

1.2.12.2.3. قياس مستوى تركيز هرمون الشحمون الخصوي Estumation of Testosterone hormone level:

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

1.تم تثبيت العدد المناسب من الحفر Wellsفوق الحامل او المسند الخاص بها الذي تم تجهيزه مع طقم الهرمون.

2.اخذ احجام متساوية من مصل الدم والمادة القياسية Standardبمقدار (20) مل والتي ثم وضعها في الحفر المهيأة لها.

3.أضافة (50) مل من كاشف Testosterone-Hrpلكل حفرة.

4.اضافة (50) مل من الكاشف مضاد هرمون الشحمون الخصوي والمستخلص من الجرذان Rat antiserone Reagent لكل حفرة.

5. مزج المحتويات الحفر مزجا جيدا ولمدة (20-30) ثانية وتم وضعها في الحاضنة لمدة (60) دقيقة بدرجة حرارة (37) درجة مئوية.

6.غسل الحفر مع محتوياتها بواسطة الماء المقطر ويكون الغسل برفق وعلى نحو متقطع لخمس مرات ويتجنب استعمال ماء الحنفية في الغسل.

7.يتم إضافة كاشف TMB(Tetramethylbenzidine)لكل حفرة وبمقدار (100) مايكرولتر.

8.حضن الحفر مع محتوياتها لمدة (20) دقيقة بدرجة حرارة الغرفة والتي تتراوح ما بين (18-25) درجة مئوية في الظلام.

9.يضاف محلول الوقف للتفاعل stop solutionحامض HCLذو عيارية (1), Nوبمقدار 50 مل لكل حفرة مع مزجه بهدوء ولمدة (15-20)ثانية ليوقف التفاعل .

10.قرأت الامتصاصية باستخدام جهاز (Elisa Reader) لمحتويات كل حفرة عند الطول الموجي(450) نانومتر.

2.2.12.2.3. قياس مستوى الهرمون المحفز للجريبات Estimation of Follicles Stimulating hormone level

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

1.تم تثبيت العدد المناسب من الحفر wellsفوق الحامل أو المسند الخاص بها الذي تم تجهيزه مع طقم الهرمون.

2.يؤخذ مقدار (50 مل) بشكل متساوي لكل من المصل ومواد السيطرة والمادة القياسية Standard, بعد ذلك وضعت في الحفر المهيأة لهذا الغرض.

3.اضافة (100مل) من الكاشف الانزيم الرابط Enzyme conjugateولكل حفرة.

4.خلطت محتويات الحفرة ومزجت بشكل دقيق ولمدة (20-30)ثانية، بعدها حضنت الصفيحة ولمدة (60) دقيقة بدرجة حرارة الغرفه (18-25).

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

6.يضاف بعدها 100مل من المادة العاملة(TMB) لكل حفرة، بعد ذلك تم مزجها ولمدة (10) ثانية وحضنت الصفيحة بمحتوياتها لمدة (15) دقيقة وعند درجة حرارة الغرفة في مكان مظلم.

7.اضافة المحلول الموقف Stop solution (N1(HCL) بمقدار (50) مل لكل حفرة, ثم بعدها يتم مزج المحتويات بدقة لمدة 15(15-20) ثانية.

8.بعدها تم قراءة الامتصاصية لكل حفرة عند الطول الموجي(450) نانومتر بواسطة استخدام جهاز ELISA reader

3.2.12.2.3. قياس مستوى الهرمون المحفز للخلايا البينية (الهرمون اللوتيني Luteinizing Hormone) Estimation of inter Cellular Stimulating Hormone level

تم قياس الهرمون باتباع الخطوات الأتية وفقاً لطريقة **(**Kosasa,1981**).**

1.تم تثبيت العدد المناسب من الحفر Wells فوق الحامل أو المسند الخاص بها الذي تم تجهيزه مع طقم الهرمون.

2.يؤخذ مقدار 50 مل بشكل متساوي لكل من المصل ومواد السيطرة والمادة القياسيةStandard وتوضع في الحفر المهيأة لهذا الغرض.

3.اضافة 100 مل من كاشف الانزيم الرابط Enzyme conjugateلكل حفرة.

4.خلطت محتويات الحفرة ومزجت بشكل دقيق ولمدة(20-30) ثانية بعدها حضنت الصفيحة ولمدة (60)دقيقة بدرجة حرارة الغرفة (18-25).

5.بعد الحضن تم سكب الخليط من الحفر ومن ثم غسلت الصفيحة بالماء المقطر ولخمس مرات بعدها تم وضع الحفر بالمقلوب على ورق نشاف لكي يتم التخلص من قطيرات الماء الزائدة في مكان مظلم.

6.يضاف بعدها (100)مل من المادة المعاملة TMBلكل حفرة، بعد ذلك تم مزجها برفق ولمدة (10) ثانية وحضنت الصفيحة بمحتوياتها لمدة (15) دقيقة وعند درجة حرارة الغرفة في مكان مظلم.

7.اضافة المحلول الموقف Stop solution(HCL) N1بمقدار (50) مل ثم بعدها يتم مزج المحتويات بدقة لمدة 15(15-20) ثانية.

8.بعدها تم قراءة الامتصاصية لكل حفرة عند الطول الموجي 450 نانومتر بواسطة استخدام جهاز ELISA reader.

13.2.3. دراسة معايير النطف Sperms Parameters Study

1.13.2.3.تركيز النطف في البربخ: Sperms Concentration in Epididymis:

بعد استئصال البربخ الايسر مباشرة من الحيوان تم تقطيعه بواسطة مشرط حاد لكي نستخرج النطف الموجودة فيه في (1)مل من المحلول الفسيولوجي normal salineالسكري وبتركيز 5%انتاج الشركة المصرية (ADWIC)،بعدها تم تدفئة المزيج في الحاضنة وبدرجة حرارة (37)درجة مئوية بعد ذلك تم احذ قطره من المزيج بوساطة ماصة باستور والتي وضعت على شريحة زجاجية نظيفة ومعقمة خاصة بالعد Improved Hemocytometerبعد ما تم تدفئتها داخل الحاضنة ،ثم تم وضع غطاء الشريحة الزجاجية Cover slide عليها وفحصها تحت المجهر ضوئي نوع Olympus بقوة تكبير (X40), 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 وبعدها سجلت القراءات وضرب الناتج في 10المعرفة تركيز النطف في (1 مل)من البربخ.

14.2.3. طريقة تصبيغ: immunohistochemical histological section (IHC)

Protocol Immunohistochemical staining

طريقة التصبيغ المناعي المستخدمة في الدراسة الحالية كانت على ثلاث مراحل من نظام تحديد البوليمر (Bocker and Buchwalow,2010) وتتضمن الخطوات الآتية:

1.قطع (5)ما يكرون من الأنسجة المثبتة بالفور مالين والمطمورة بالشمع ووضعها على سلايد.

2.ازالة الشمع ويمكن تنفيذ ذلك عن طريق حضن المقاطع النسيجية في الفرن بدرجة حرارة(60) درجة مئوية لمدة ساعة متبوعا بتراكيز من الزايلين متغيرة لمدة 5 دقائق لكل تركيز ثم يعاد تجفيف المقاطع عن طريق استخدام سلسلة متناقصة من كحول الايثانول (50% و70% و100%) وأيضا لمدة 5 دقائق لكل تركيز.

3.تخضع المقاطع النسيجية للتقنية Heat epitope retrievalباستخدام محلول استرجاع مناسب ويحفظ بدرجة حرارة (95) درجة مئوية لمدة (30)دقيقة في حمام مائي.

4.الغسل ب3 متغيرات من محلول بفر لغسل(IHC)كل (5) دقائق.

5.وضع السلايد في Polydetector peroxidase blocker لمدة(5)دقائق .

6.الغسل بمتغيرين من محلول بفر لغسل(IHC)لكل (5)دقائق.

7.تغطى الانسجة ب Primary Antibody(P53) ويحضن لمدة(45)دقيقة.

8.الغسل بمتغيرين من محلول بفر لغسل (IHC)لكل (5) دقائق.

9.يغطى النسيج ب Polydetector HRP labelويحضن لمدة (5) دقائق.

10.الغسل بمتغيرين من محلول بفر لغسل IHCلكل)5 دقائق.

11.يغطى النسيج ب Polydetector HRP label ويحضن لمدة(5)دقائق.

12.الغسل بمتغيرين من محلول بفر لغسل (IHC)لكل 5 دقائق.

13.تحضير DABعن طريق إضافة قطرة من Polydetector DAB Chromogenلكل مول من Polydetector DAB bufferوتخلط جيدا.

14.يغطى النسيج بمحلول محضر من DAB substrate Chromogenويحضن لمدة(10)دقائق.

15.الغسل بثلاث متغيرات من محلول بفر لغسل (IHC) لكل (5) دقائق.

16. التصبيغ ب Mayers hematoxylinلمدة دقيقتان ومن ثم يجفف.

17.تغطية السلايد.

14.2.3. 1. تحضير المقاطع النسجية المناعية الكيميائية (IHC):

Preparation of immunohistochemical histological section (IHC)

1.تثبيت الانسجة: Tissue fixation

معظم البروتينات المثبتة كيميائيا اما تتشابك مع البروتينات أو تقلل من قابلية ذوبان البروتين، والتي يمكن أن تحجب المستضدات المستهدفة اثناء عملية التثبيت. لذلك، يجب تحسين طريقة التثبيت بشكل صحيح بناء المستضد المستهدف والمراد تصبيغه.

المثبت الأكثر شيوعا هو الفورمالديهايد (الفور مالين) على الرغم من آن الفورمالديهايد هو المثبت الأكثر استخداما, يمكن أيضا استخدام العديد من المثبتات الأخرى (مثل الاسيتون والميثانول). بشكل عام يعتمد استخدام هذه المثبتات البديلة على كيفية تفاعل المستضدات المستهدفة مع التثبيت في المقام الأول (Ramos-Vara,2011).

2.طمر الانسجة: Tissue embedding

عادة ما يتم طمر عينات الانسجة المثبتة بالفور مالين في شمع البارافين للحفاظ على شكلها الطبيعي وبنية الانسجة اثناء التخزين طويل الاجل ولتسهيل التقطيع قبل عملية(IHC).

يمكن تغليف العينات التي تكون حساسة للغاية للتثبيت الكيميائي أو المذيبات المستخدمة لإزالة البارافين في مادة دمج مبردة ثم تجميدها في النيتروجين السائل،ويتم التقطيع إلى شرائح رقيقة من عينات الأنسجة المجمدة على ناظم البرد Cryostatمشراح التجميد Freezing microtome, ثم نقلها إلى شرائح ومن ثم تجفيفها للحفاظ على شكلها يشار إلى هذه المقاطع باسم التجميد Frozenاو المقاطع المجمدة Cryosections **(Ramos-Vara,2011)**.

3.التقطيع والتركيب: Sectioning and mounting

شمع البارافين هو أكثر وسائط الطمر شيوعاً للتطبيقات النسجية الروتينية، وتنتج مقاطع المثبتة في الفور مالين المطمورة في شمع البارافين نتائج مرضية للكشف عن معظم مستضدات الانسجة باستخدام تقنيات استرجاع المستضد القياسية. ومع ذلك، يتم تدمير بعض المستضدات اثناء التثبيت الروتيني والطمر في شمع البارافين وفي هذه الحالة، يصبح تقطيع الأنسجة المجمدة هو الطريقة المفضلة وتشمل عيوب التقسيم المجمد، على سبيل المثال لا الحصر، هذه القيود:

أ. سوء التشكل Poor morphology

ب. دقة منخفضة عند التكبيرات العالية.

ج. احتياجات التخزين الخاصة.

عادة ما يتم قطع الانسجة المطمورة في شمع البرافين إلى أقسام رقيقة (4 -5) ميكروميتر مع جهاز المشراح (Microtome)،ويتم بعد ذلك تثبيت هذه المقاطع على شرائح زجاجية مطلية بمادة لاصقة منديل يضاف هذا اللاصق عادة عن طريق شرائح زجاجية ومعالجة السطح باستخدام 3_امينوبروبيل ترايثوكسيسيلان 3(APTS) -aminopropyltriethoxysline أو بولي -ال -ليسين poly-L-lysine،كلاهما يترك مجموعات أمينية على سطح الزجاج الذي تلتصق به الأنسجة ،وبعد التركيب تجفف المقاطع في فرن أو المايكرويف استعدادا لإزالة البارافين.

يتم قطع المقاطع المجمدة باستخدام ناظم البرد pre-cooled cryostat المبرد مسبقاً ويتم تثبيتها على شرائح زجاجية مغلفة باللاصق ،و يتم تجفيف هذه الأقسام طوال الليل في درجة حرارة الغرفة ويتم تثبيتها لاحقاً عن طريق الغمر في اسيتون مبرد مسبقا (-20) درجة مئوية آو بارافورمالدهيد Paraformaldehyde ،آو فورمالديهايد /فورمالين في درجة حرارة الغرفة .يتم تجاوز خطوة التجفيف أحياناً اعتماداً على المستضدات المستهدفة والأنسجة المستخدمة .

إزالة البارافين الموجود في المقاطع المطمورة في شمع البرافين تماما قبل التصبيغ (IHC) (إذا لم يكتمل نزع البارافين فسيتم حجب المستضدات المستهدفة ولن تتمكن الاجسام المضادة من التفاعل معها) البارفين كاره للماء ويطرد المحاليل المائية التي تحتوي على كواشف تصبيغ IHCيستخدم الزايلين Xylene(المذيب العضوي قابل للاشتعال والسام والمتطاير) بشكل تقليدي لإزالة البارافين المقاطع.

يولد تثبيت الفورمالديهايد جسور الميثلين التي تشابك بروتينات في عينات الأنسجة. يمكن أن تخفي هذه الجسور إمكانية الوصول الى المستضد آو Epitopeوتمنع أو تثبط ارتباط الجسم المضاد،و نتيجة لذلك تتطلب المقاطع النسجية معالجة مصممة لكشف أو استرداد Epitopeالمستضد قبل التصبيغ وهذا ما يسمى Epitope آو استرجاع المستضد (Ramos-Vara,2011).

4.استرجاع المستضد: Antigen retrieval

أ. يتم اجراء استرجاع Epitope المستضد عن طريق تسخين أو غلي المقاطع منزوعة البارافين في محاليل منظمة مختلفة عند قيم (Ph)مختلفة وهو ما يسمى استرجاع Epitopeالناتجة عن الحرارة.

ب. يمكن أيضاً استرجاع المستضدات عن طريق هضم مقاطع الانسجة باستخدام انزيم محلل للبروتين مثل الببسين آو التربسين Trypsinآو البروتيناز ك Proteinase. Kمن الضروري أيضا الإشارة إلى أنه على الرغم من أن إزالة البارافين الشامل مطلوب دائما قبل التصبيغ ب (IHC) الا أن استرجاع المستضد او Epitopeغير مطلوب. (Ramos-Vara,2011)

5.تعطيل آو حجز المواقع غير المخصصة : Blocking nonspecific sites

على الرغم من أن الاجسام المضادة تظهر شغفاً تفضيلياً وتقارباً مع Epitopeمعينة.فقد ترتبط الأجسام المضادة ارتباط (جزئي او ضعيف) بشكل غير متخصص بمواقع البروتينات غير المستضدية التي تحاكي مواقع الارتباط الصحيحة على المستضد المستهدف .في سياق اكتشاف المستضد بوساطة الجسم المضاد يتسبب الارتباط غير المحدد في تصبيغ الخلفية وعليه يمكن أن يغطي على تحديد المستضد المستهدف.لتقليل تصبيغ الخلفية في (IHC)قبل التلوين،و يتم تحضين العينات في محلول منظم مؤقت يحجب المواقع غير المحددة التي قد ترتبط بها الأجسام المضادة الأولية أو الثانوية ،وتشمل محاليل منظمة الحجب الشائعة نسبة مئوية من المصل الطبيعي ،والحليب الجاف الخالي من الدسم والبومين مصل البقر والجيلاتين وواحد أو آكثر من المواد الخافضة للتوتر السطحي اللطيفة للمساعدة في التبليل (Ramos-Vara,2011).

6.الكشف المناعي Immunodetection

يعد اكتشاف المستضد المستهدف باستخدام الأجسام المضادة عملية متعددة الخطوات تتطلب التحسين على كل مستوى لتضخيم اكتشاف الإشارة.

يتم تخفيف كل من الأجسام المضادة الأولية والثانوية في محلول منظم للمساعدة في استقرار الجسم المضاد ،وتعزيز انتشاره المنتظم الكامل في العينة وتثبيط الارتباط غير متخصص .بينما قد تعمل مادة مخففة واحدة مع جسم مضاد واحد , قد لاتعمل المادة المخففة نفسها مع جسم مضاد آخرمما يدل على الحاجة الى تحسين كل منها.

يعد شطف العينة بين تطبيقات الجسم المضاد أمراً بالغ الأهمية لإزالة الأجسام المضادة غير المرتبطة وأيضا لإزالة الأجسام المضادة التي ترتبط ارتباطاً ضعيفاً بمواقع غير متخصص.

تم فصل طرق الكشف عن المستضد بوساطة الجسم المضاد إلى طرق مباشرة وغير مباشرة .تستخدم كلتا الطريقتين الأجسام المضادة لاكتشاف المستضد المستهدف ولكن اختيار افضل طريقة للاستخدام يعتمد على مستوى التعبير عن مولد الضد المستهدف وإمكانية الوصول إليه، ونوع القراءة المطلوبة ,تستخدم معظم الطرق غير المباشرة الفة الارتباط المتاصلة في الستربتافيدين Streptavidin والبروتينات ذات الصلة للبيوتيم Biotinلاكتشاف الجسم المضاد المعالج بالبيوتين المرتبط بالمستضد المستهدف .يتم بعد ذلك توطين الجسم المضاد المرتبط بمولد الضد عن طريق إضافة اتحاد Streptavidinالمترافق بالأنزيم والذي يولد إشارة مضخمة عند إضافة مواد مناسبة،ويتم الكشف عن مستضدات الهدف, IHCمباشرة عبر وسائل الكروموجينيك Chromogenicآو الفلورسنت Fluorescent, ونوع القراءة يعتمد على التصميم التجريبي يعتمد الاكتشاف الكروموجيني على الاجسام المضادة المرتبطة بالأنزيمات، وتكون الانزيمات المستخدمة هي Horseradish peroxidase (HRP)او Alkaline phosphatase (AP) التي ترتبط بالأجسام المضادة الأولية والثانوية،و عندما يتم تحضينها باستخدام مواد أولية مناسبة يؤدي نشاط الانزيم إلى ترسيب رواسب ملونة غير قابلة للذوبان في موقع توطين المستضد (Ramos-Vara,2011).

ختم العينة المصبغة: Sealing the stained sample

بعد اكتمال كل التصبيغ، يجب حفظ العينة لأغراض الأرشفة ولمنع اذابة المنتج الانزيمي آو التبييض الضوئي بالفلور،و تختم العينة بتركيب غطاء مع تركيب مناسب يثبت مقاطع الأنسجة والتصبيغ، ويجب أيضاً تضمين كاشف مضاد للتلاشي (تضائل) إذا تم استخدام كشف الفلورسنت وذلك لإطالة اثارة التألق يمكن بعد اغلاق الغطاء باستخدام طلاء اظافر شفاف أو مادة مانعة للتسرب تجارية (Ramos-Vara,2011).

15.2.3. التحليل الاحصائي

تم تحليل النتائج احصائياً باستخدام (SPSS) (Social package statistical system)،واختبرت الفروقات بين المعدلات باستخدام أقل فرق معنوي (L.S.D) Least significant differenceعند مستوى معنوي ($p\leq0.01$,$p\leq0.05$)(Almundarij et al.,2020)،اذ حللت النتائج احصائياً بواسطة تحليل التباين احادي الاتجاه (Anova one-Way) ،وتم التعبير عن جميع البيانات على أنها متوسط ± الخطأ القياسي (SE±Mean) (Kirkpatrick,2015).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Result and Discussion

4.النتائج والمناقشة Results and Discussion

1.4. الكشف عن المستخلص الكحولي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*

1.1.4. الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة للمستخلص الكحولي لجذور نبات الماكا

Detection of the effective chemical compound of the alcoholic extract of the *Lepidium meyenii* plant

وجد أن المستخلص الكحولي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* يتكون من عدة مركبات كيميائية وذلك باستخدام جهاز GC- MS للكشف عن المركبات الفعالة وهذه المركبات هي Dodecane Phthalic , Cedrandiol Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-Diethyl Phthalate , ,Methyl ,Methyl palmitate , Nonadecane ,acid, butyl tetradecyl ester linoleate Oleic acid, methyl ester Palmitic acid, methyl esterوالتي لها دور مهم وفعال في العلاجات الطبية.

إذ تم الحصول على المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لنبات جذور الماكا باستخدام تقنية التحليل اللوني لغاز مطياف الكتلة وتركيب ووزن كل مركب عضوي داخل العينة إذ يوضح الجدول (4-1) أهم التراكيب الكيميائية والصيغ الجزيئية وزمن الاحتجاز المتواجدة في مستخلص عينة الجذر لنبات الماكا المستخلص العضوي (مذيب الماء) ،وتم الحصول على عشر مركبات التي تتباين في نسبها وزمن احتجازها.

الجدول (4-1): المركبات التي تم فصلها من المستخلص المائي لنبات الماكا *Lepidium meyenii* (الجذر)بتقنية GC-Mass

No	اسم المركب الناتج	الصيغة الجزيئية	زمن الاحتجاز (الدقيقة) (R.Time)	Peak area
1	**Dodecane**	$C_{12}H_{26}O$	12.114	0.85
2	**Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-**	$C_{12}H_{36}O_6S_{I6}$	15.424	0.73
3	**Diethyl Phthalate**	$C_{12}H_{14}O_4$	19.684	62.28
4	**Cedrandiol**	$C_{15}H_{26}O$	21.469	0.75
5	**Phthalic acid, butyl tetradecyl ester**	$C_{26}H_{42}O_4$	24.655	2.09
6	**Phthalic acid, butyl tetradecyl ester**	$C_{26}H_{42}O_4$	25.895	2.33
7	**Methyl palmitate**	$C_{16}H_{32}O_2$	26.05	7.90
8	**Methyl linoleate**	$C_{19}H_{32}O_2$	28.608	9.44
9	**Oleic acid, methyl ester**	$C_{19}H_{36}O_2$	28.743	12.33
10	**Palmitic acid, methyl ester**	$C_{17}H_{34}O_2$	29.19	1.30

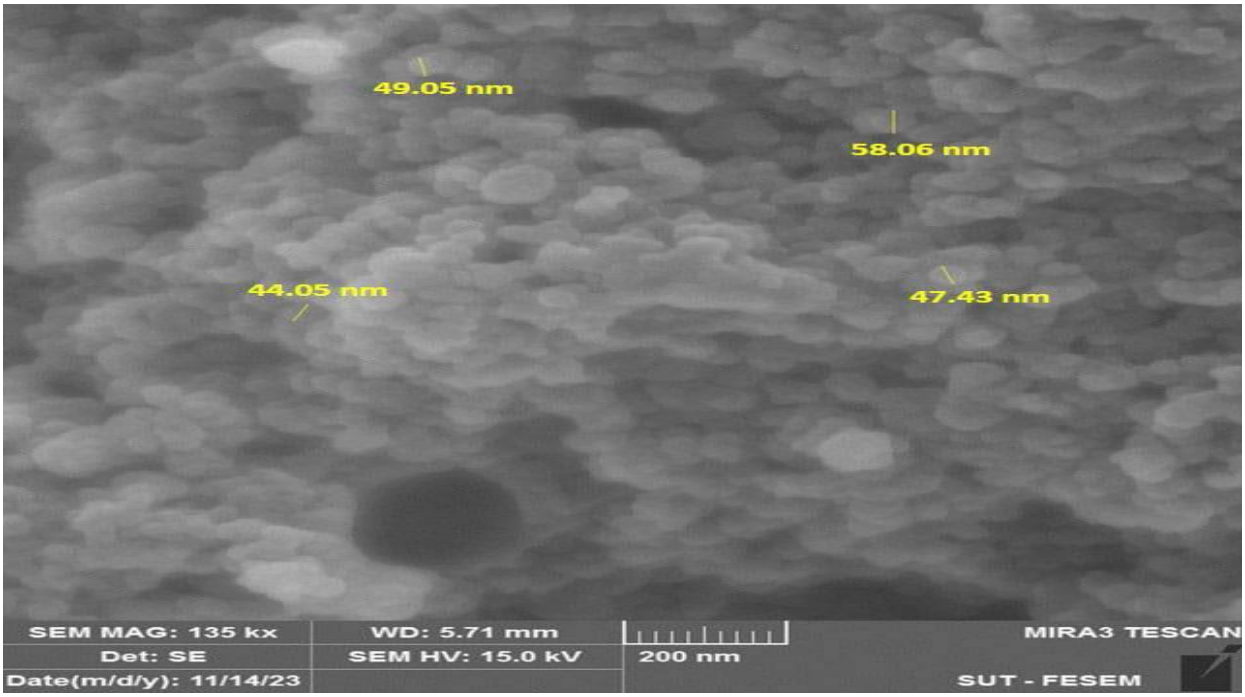
2.1.4. نتائج تشخيص المستخلص النانوي لاوكسيد الزنك من المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*

1.2.1.4.المجهر الالكتروني الماسح Scanning Electron Microscope (SEM)

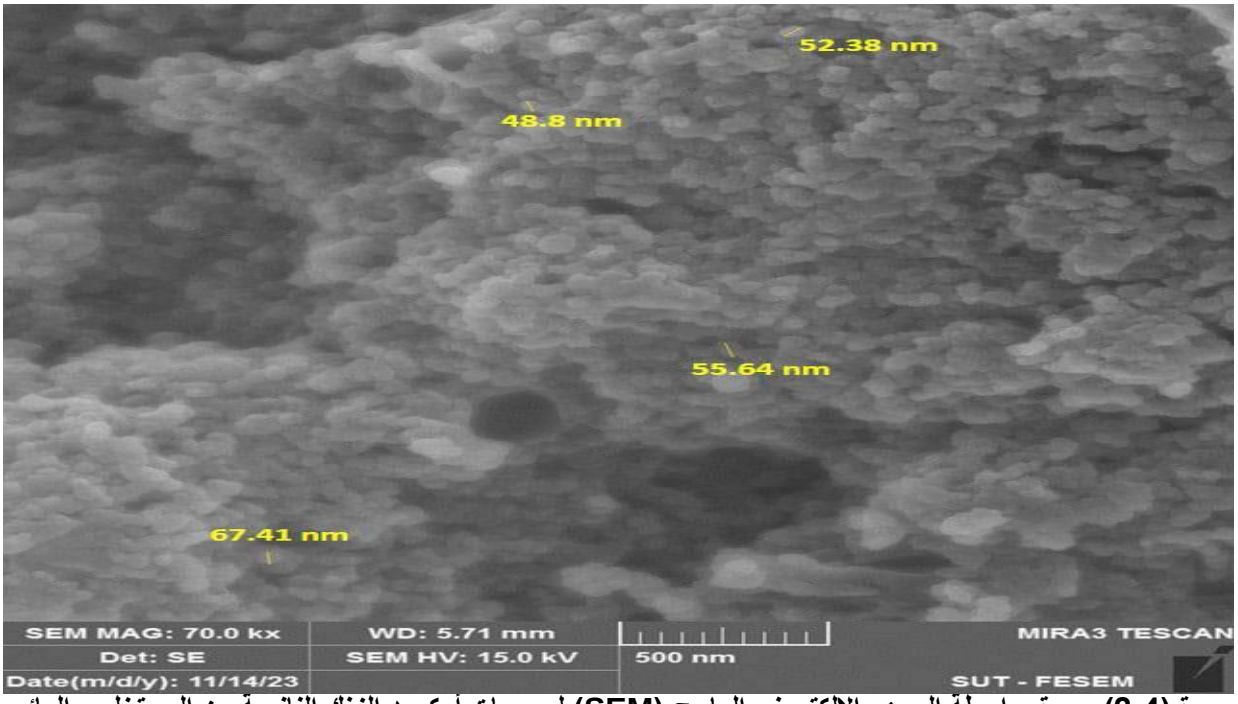
أظهرت نتائج الدراسة الحالية والتي آوضحتها الصور المأخوذة بواسطة المجهر الالكتروني الماسح أن أحجام جسيمات المستخلص النانوي المتكون من جذور نبات الماكا وأوكسيد الزنك تراوحت بين (44.05-58.06)، و متوسط حجم الجسيمات النانوية (49.64) وكانت أشكال تلك الجسيمات كروية بصورة مفردة آو لصورة متجمعة كما موضح في صورة (4-1) (4-2).

تم استخدم تحليل (SEM) للتحقق من حجم وشكل الجسيمات النانوية التي تم تصنيعها للجسيمات في هذه الدراسة إذ يعد التوليف الأخضر محب للبيئة أن الجسيمات النانوية المحضرة من أوكسيد الزنك من مستخلص نبات الماكا *(Lepidium meyenii)* لها شكل كروي و توزيع الجسيمات لها متجانس وبين أنه لها حجم أقل من (100) نانومتر، وقد تراوحت آحجامها من (44.05-58.06 نانومتر) ،وإن استخدام اسيتات الزنك في هذه العملية فأنها اثناء نموها بطيئة وذات هياكل كروية تكون صغيرة الحجم وتكون بهذه المواصفات الجسيمات النانوية مرغوبة آكثر من أشكال الجسيمات النانوية.

إذ اتفق نتائج دراستنا الحالية مع نتائج دراسة الباحث Majid(2023) عند تحضيره لأوكسيد الزنك (Zno) النانوية بواسطة مستخلص جذر نبات الماكا *(Lepidium meyenii)* ،و تميزت بأشكالها الكروية وذات اقطار وأحجام أقل من (100) نانومتر؛ وهذا يعزى إلى قدرة مستخلص نبات الماكا *(Lepidium meyenii* الى تصنيع التخليق الحيوي للجسيمات النانوية لأوكسيد الزنك.



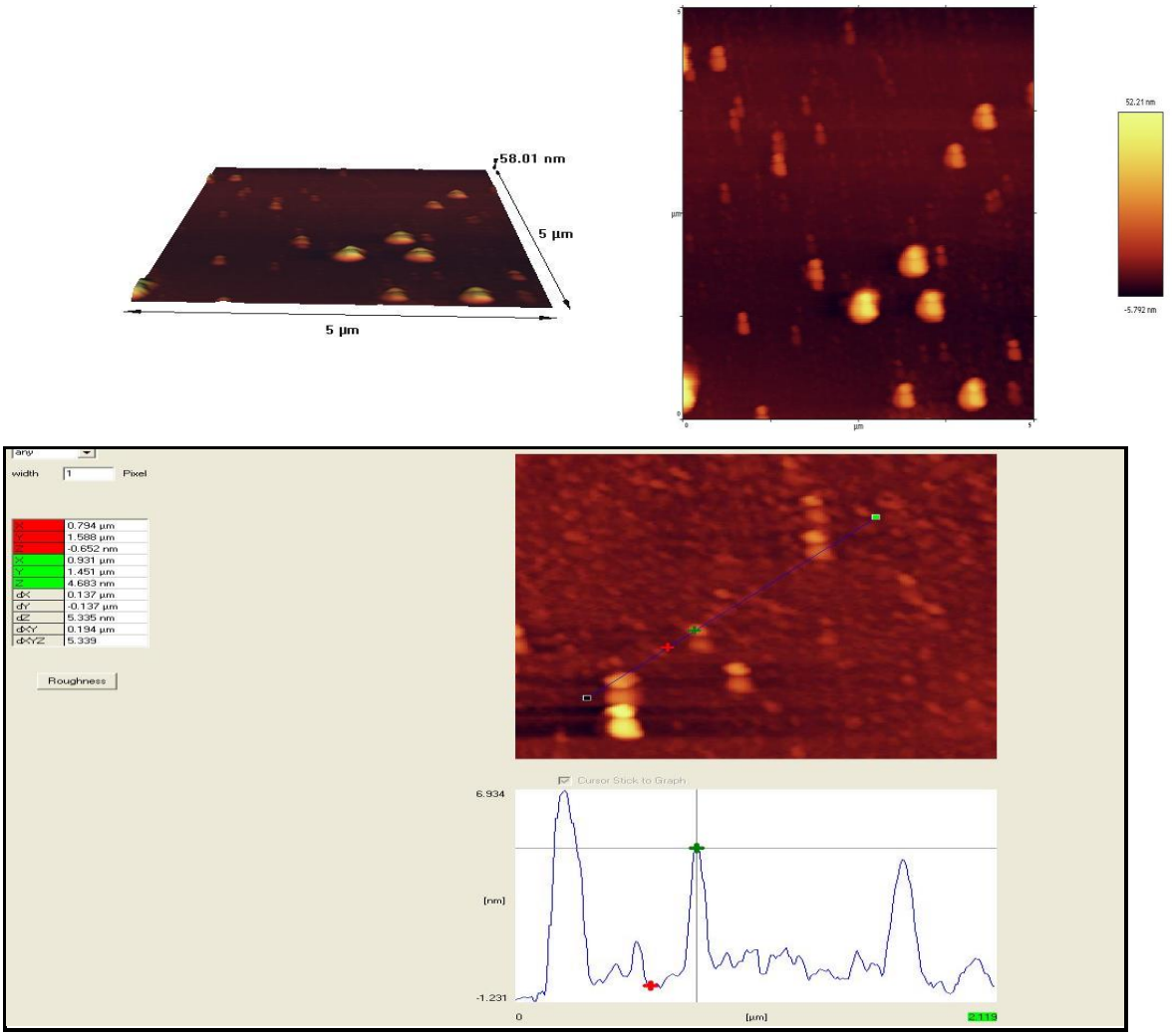
صورة **(4-1) صورة بواسطة المجهر الالكتروني الماسح (SEM) لجسيمات أوكسيد الزنك النانوي المستخرجة من المستخلص المائي لجذور نبات** الماكا *(Lepidium meyenii)* **عند حدود (200) نانومتر.**



صورة (4-2)صورة بواسطة المجهر الالكتروني الماسح (SEM) لجسيمات أوكسيد الزنك النانوية من المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *(Lepidium meyenii)* **عند حدود (500) نانومتر.**

2.2.1.4. مجهر تحليل القوة الذرية Atomic force microscope of Zno (AFM)

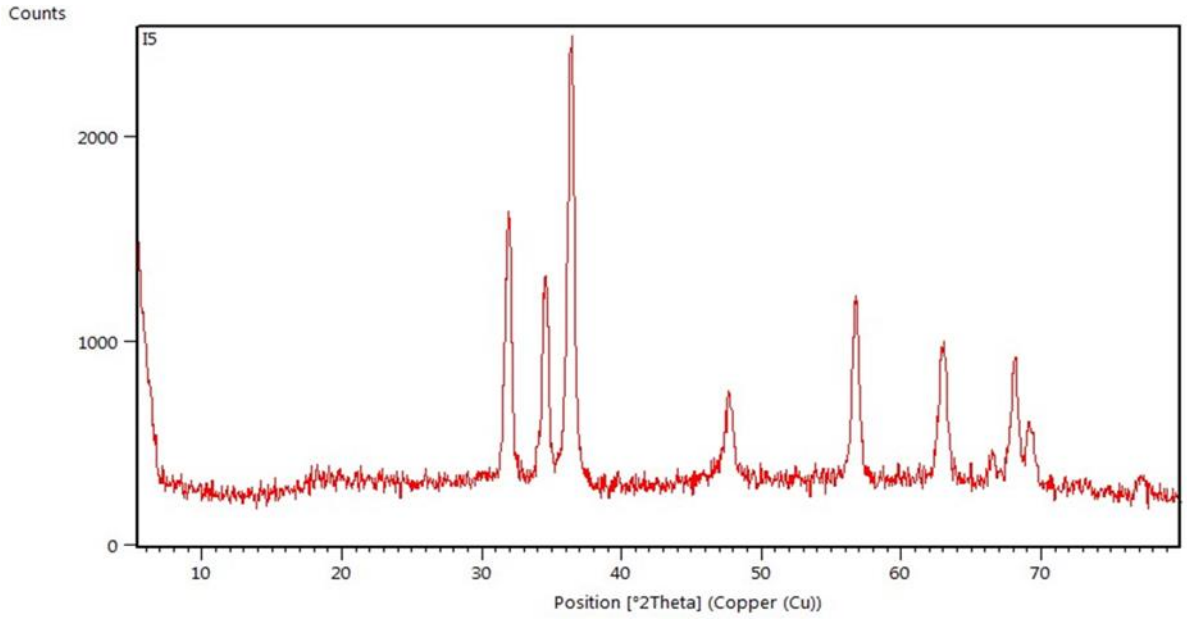
بيّنت النتائج الحالية لعملية الكشف عن طبيعة سطح الدقائق النانوية المصنعة إذ أظهرت نعومة سطح الجسيمات النانوية فضلاً عن شكل وحجم الدقائق المصنعة ومدى تكتلها كما في الصورة (4-3), وأظهرت نتائج التحليل بواسطة (AFM) أن حجم الجسيمات النانوية تتراوح بين (1- 52.21) نانومتر ، و ان معدل حجم الجزيئات النانوية بلغ (5.335) نانوميتر.



صورة (4-3) تحليل AFMلجسيمات أوكسيد الزنك النانوية ZnO NPs المصنعة من جذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*

3.2.1.4.التحليل لحيود الاشعة السينية X- ray diffraction analysis (XRD)

إن دراسة حيود الآشعة السينية (XRD) تؤكد على بنية وهيكلية السداسية للجسيمات النانوية لأوكسيد الزنك وان تشكيل الذروة الضيقة بزاوية Bragg تشير إلى الطبيعة الكروية لجزيئات أوكسيد الزنك النانوية إذ يحدث الاستقرار للجسيمات النانوية بواسطة بعض عوامل التغطية والتي تؤكدها القمم الحادة وقد تم ملاحظة النمط لحيود الاشعة السينية لجذور نبات الماكا *(Lepidium meyenii)* ولم يلاحظ أي مرحلة أخرى كما مبين في الشكل (4-1).



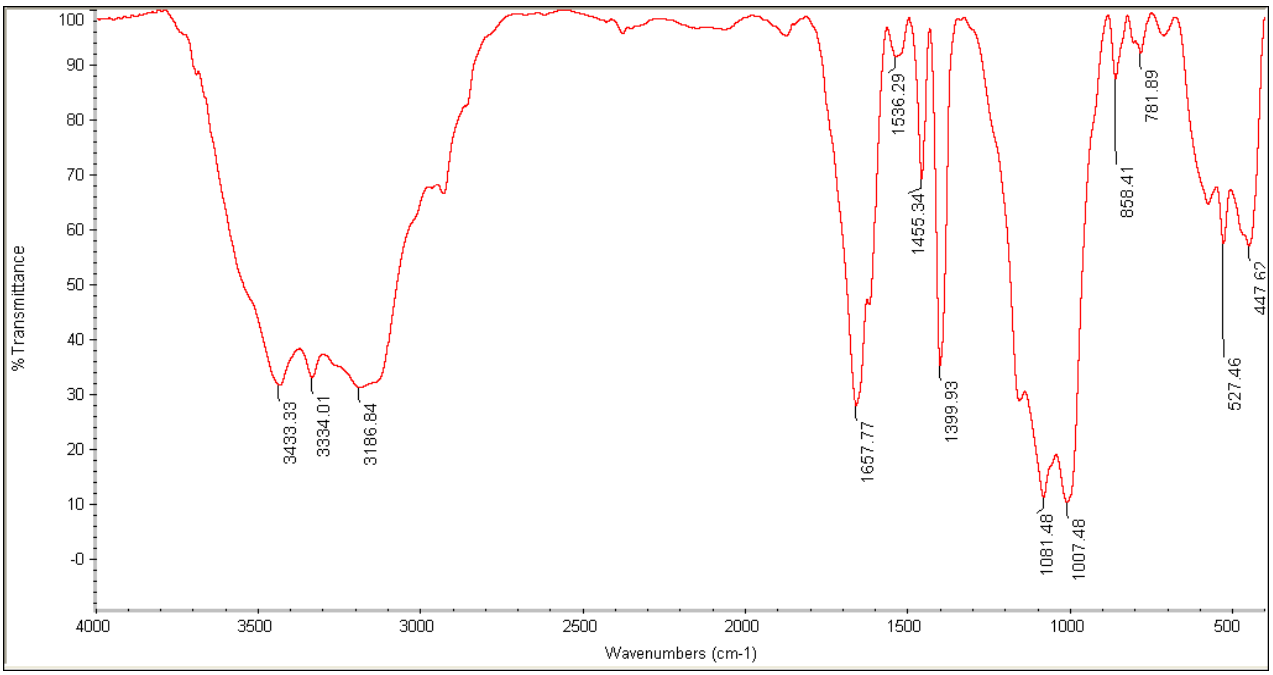
شكل (4-1) يوضح تحليل حيود الاشعة السينية XRDلمركب أوكسيد الزنك النانوي ويبين التركيب والحجم

تظهر جسيمات أوكسيد الزنك النانوية تشتتًا متجانسًا وتوجد في حالة جسيمية وفقًا لنتائج تحليل حيود الاشعة السينية ، يُظهر طيف حيود الأشعة السينية لجسيمات أوكسيد الزنك النانوية قمم حيودعند2θ = (32.23, 34.77 ،35.14, 36.57, 47.72, 56.87, 63.22, 66.62, 68.16, 69.37) التي تتوافق مع مؤشرات ميلر (002،100, 101, 102, 110, 103, 200, 112, 201) على التوالي، وتشير هذه القمم إلى البنية البلورية السداسية (الورتزيت) لأوكسيد الزنك, مما يُظهر اتجاهًا تفضيليًا على طول المستوى (101). تم تحديد معلمات الشبكة المحسوبة، المشار إليها بـ ("a" و"c"), لتكون A 3.201 و A 5.540 على التوالي بما يتفق مع (Pudukudy *et al*.,2015).

4.2.1.4.تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared (FT-IR) spectrometer

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ظهور العديد من المنحنيات والتي تدل على وجود أواصر بين المستخلص الكحولي لجذور نبات الماكا *(Lepidium meyenii)* وجسيمات أوكسيد الزنك. فقد اثبت التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء وجود نطاقات امتصاص عند المدى يقع بين (3433.33-447.62 سم$^{-1}$) تشير النطاقات الاهتزازية الممتدة عند (447.62 cm^{-1}) إلى المركبات المسؤولة عن حدوثها وأبرزها مجاميع البولي فينول والفلافونات والأحماض الدهنية وبذلك يمكن اعتبارها المسؤولة عن تغطية الفعالة وتثبيت جزيئات النانو (Zno NPs) .كما في الشكل (4-2).

يوضح الشكل (4-4) أطياف الاشعة تحت الحمراء لجسيمات الزنك النانوية التي تم تصنيعها بواسطة مستخلص جذر نبات الماكا *(Lepidium meyenii)* فالتفسير لنطاق الاشعة تحت الحمراء تكون على شكل علاقة بين نطاقات الامتصاص (مجموعات الاهتزازات) مع المركبات الكيميائية الموجودة في العينة وعلى امتداد هذه المسارات نستطيع التعرف على المجاميع الفعالة في مستخلص جذور الماكا *(Lepidium meyenii* والتي تستخدم كعامل للتغطية والتفاعل لتحضير الجسيمات النانوية (Zno)إذ يشير تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء الى وجود عشرة قمم، وقد يعزى نطاق التمدد عند 3496سم الى مجموعة الهيدروكسيل OH (Dhabian *et al*.,2012,) , ان وجود الذروة عند حزمة الامتصاص عند التردد (3496)سم و (2923)سم و (1609) سم وهذا يعزى الى تمدد أواصر(C=O) في البولي فينول عند (1725)سم. الشريط عند (901) سم يعطي امتداد (C=N) للبروتين اميد الأول(Majid,2023) ،ومن ثم بوساطة تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء يمكن ملاحظة أن مستخلص جذر الماكا *(Lepidium meyenii)* غني بالمجموعات الكيميائية المختلفة مثل البولي فينول والفلافونات والاحماض الدهنية. فان الفينول و قد يعمل كعامل للاختزال بينما مجموعة الاميد amideالموجودة في البروتين مسؤولة عن تثبيت Zno NPs.



الشكل (4-2) التحليل الطيفي بواسطة الاشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared لجسيمات أوكسيد الزنك النانوي التي حضرت بواسطة أوكسيد الزنك والمستخرجة من المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*.

3.1.4. التأثير المضاد لجسيمات أوكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *(Lepidium meyenii)* على تحلل الدم

Anti -Particle effect nanoparticle on Of Lepidium meyenii zinc oxide hemolysis

تم اختبار جسيمات الزنك النانوية المصنفة لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* ضد تحلل الدم في الإنسان للتراكيز (1 - 0.5 - 0.25 - 0.12)مايكروغرام/مل, وقد أظهرت النتائج ان المستخلص النانوي (ZnNPs)ولم يكن له أي تأثير على تحلل الدم في جميع التراكيز المدروسة مقارنة بعنصر التحكم (100%) triton المستخدم في الدراسة عند التركيز (1) مايكرو غرام/مل ،و لوحظت أن نسبة انحلال الدم البالغة (2.9073) وهو ضمن الحد المسموح به, كما موضح في الجدول (4-2).

جدول (4-2) يبين التاثير المضاد المستخلص النانوي لنبات الماكا *Lepidium meyenii* على تحلل الدم

Hemolysis		
Concentration (mg/ml)	**Test result**	**Hemolysis %**
1	0.5317	0
0.5	0.4988	0
0.25	0.407	0
0.12	0.3626	0
POSITIVE	2.9073	100
NEGATIVE	0.326	0

يتّبين بواسطة النتائج الدراسة الحالية لمصادر إنحلال الدم لجسيمات أوكسيد الزنك النانوية انه اظهر فاعلية انحلال ضئيلة على كريات الدم الحمر البشرية مقارنة بالسيطرة المصنعة من نبات جذور الماكا *Lepidium meyenii* ،و أن المستخلص النانوي لنبات الماكا له خصائص واعدة في التطبيقات العلاجية النانوية الأخرى وهذا ما يتفق مع النتائج التي حصل عليها (Majad,2023).

4.1.4. نشاط مضادات الأكسدة لمادة نبات الماكا *Lepidium meyenii* (إزالة الجذور الحرة 1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)):

Radical scavenging assay DPPH Antioxidant activity

تم اختبار جسيمات أوكسيد الزنك النانوية ضد التفاعلية التأكسدية، وآظهرت فعالية تثبيطيه للجذور الحرة بجميع التراكيز المدروسة وظهرت زيادة في التثبيط مع زيادة التركيز كما في الجدول (4-3).

جدول (4-3) يبين التاثير المضاد المستخلص النانوي لنبات الماكا *Lepidium meyenii* على إزالة الجذور الحرة

Anti-oxidant			
Sample name	**Concentration**	**Absorbency**	**Scavenging%**
1	0.12mg/ml	0.5937	51.120
2	0.25 mg/ml	0.5535	54.429
3	0.5 mg/ml	0.5123	57.822
4	1 mg/ml	0.4982	58.982
	Control	**1.2146**	

تم استخدام اختبار1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) التقدير قدرة المستخلص النباتي لنانوي على كسح الجذور الحرة لمضادات الاكسدة في المختبر ويعمل هذا الجذر الحر المعروف الأكثر ثباتا على تقليل قبول الهيدروجين (H) او الالكترون من المتبرعين،و قد تم تقييم قدرة تخفيض DPPH لمضاد الاكسدة (NP ZnO) عن طريق رؤية تغير اللون من البني الغامق إلى البني الفاتح بعد إضافة اسيتات الزنك الى DPPH زاد نشاط الكسح DPPH للجسيمات النانونية وذلك من خلال زيادة تركيزها الذي ظهر في خلال النسبة المئوية المرفقة لتثبيط DPPH والتي زادت مع زيادة تركيز المستخلص النانوي (NPs) وأن النسبة المئوية للتثبيط كانت (58 % و 57 % و 54 % و 51 %) في خليط DPPH مع ZnO بتركيز(1 - 0.5 - 0.25 - 0.12) مايكروغرام على التوالي(Kanipandian *et al*.,2014) . يستخدم أوكسيد الزنك على نطاق واسع بسبب خصائصه الفريدة في التحفيز الالكتروني والضوئي الكهربائي، اذ يحتوي اوكسيد الزنك ZnO على هيكل متجانس ومساحة سطحية عالية وتوافق حيوي ممتاز لذا تم اختياره ZnOفي الدراسة الحالية مع ذلك من الواجب مواجهة المشكلة التي يجب حلها قبل التطبيق في الطب الحيوي وهي السمية المحتملة لجسيمات الزنك ZnO هذا يتفق مع(Gurunathan *et al*., 2012) وقد تفسر الآليات المتنوعة المشاركة في التفاعلات الجذرية المضادة للأكسدة الاختلاف في إمكانات الكسح للمركبات و لا تقتصر آليات مضادات الأكسدة على التخلص من الجذور الحرة فحسب بل أيضاًعن طريق تثبيط إنتاج الجذور الحرة .

2.4. الدراسة النسجية Histological Study

1.2.4. التغيرات النسجية والقياسات النسجية للخصية

1.1.2.4. تأثير المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم/ كغم على نسيج الخصية ومعدل أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان ولمدة 55 يوماً .

أظهرالفحص النسيجي للخصية في مجموعة السيطرة ذكور الجرذان كما في الصورة (4-4) تركيبه النسجي الطبيعي المتكون من النبيبات المنوية وتجاويفها ممتلئة بالنطف مع وجود خلايا لايدك في النسيج البيني وطبقة الخلايا الظهارية الجرثومية وسليفات النطف.

في حين بيّنت نتائج الفحص النسجي في الدراسة الحالية لنسيج الخصية في ذكور الجرذان المجرعة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز(5)ملغم / كغم من وزن الجسم ولمدة (55) يوماً على طول مدة التجربة وكما في الصور (4-5) و (4-6) ، ولوحظ فيها انخفاض في حجم الطبقة الجرثومية وتفكك خلاياها وتنكسها مع انفصال الطبقة الجرثومية عن الغشاء القاعدي في أغلب النبيبات وجود مسافات بينية بين النبيبات المنوية، النطف قليلة أو معدومة في تجاويف النبيبات مع اختزال النسيج البيني وتفككه وقلة خلايا لا يدك .

كذلك لاحظنا من نتائج الدراسة الحالية قياسات معدل أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان لمدة (55)يوماً والمعاملة بعقار الأوكسي ميثلون (5) ملغم /كغم والموضحة في الجدول (4-4) ، ولوحظ انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في معدلات اقطار النبيبات المنوية الناقلة للمني (157.58±1.96) وكذلك معدل قطر التجويف (88.01±0.42) وفي سمك الطبقة الجرثومية (.1.55 ±50.01) بالمقارنة مع مجموعة ذكور الجرذان للسيطرة السالبة (294.18±0.55) ,(132.66±0.39), (96.70±0.58)على التوالي .

تتفق نتيجة دراستنا الحالية مثل حصول الانخفاض في معدل أقطار النبيبات المنوية في الخصية وانخفاض في معدل قطر التجويف ومعدل سمك الطبقة الجرثومية فضلاًعن بعض الاضرار النسجية في الخصية مثل تنكس الطبقة الجرثومية مع تفكك خلاياها و النطف تكون قليلة أو معدومة في تجاويف النبيبات و اختزال النسيج البيني مع ما توصل إليه كل من (Wang *et al*.,2021; Akbari *et al*.,2020 Russo *et al*., 2018;Najafi أن الإجهاد التأكسدي الناجم عن أوكسي ميثلون أدى إلى زيادة إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS) Reactive oxygen species ، وتعمل أنواع الاوكسجين التفاعلية الى تلف أغشية الخلايا النطف وبذلك زيادة نفاذيتها و يسبب خلل في عملية تكوين الحيوانات

المنوية (Kumar *et et al*.,2017 Ahmed,2015)

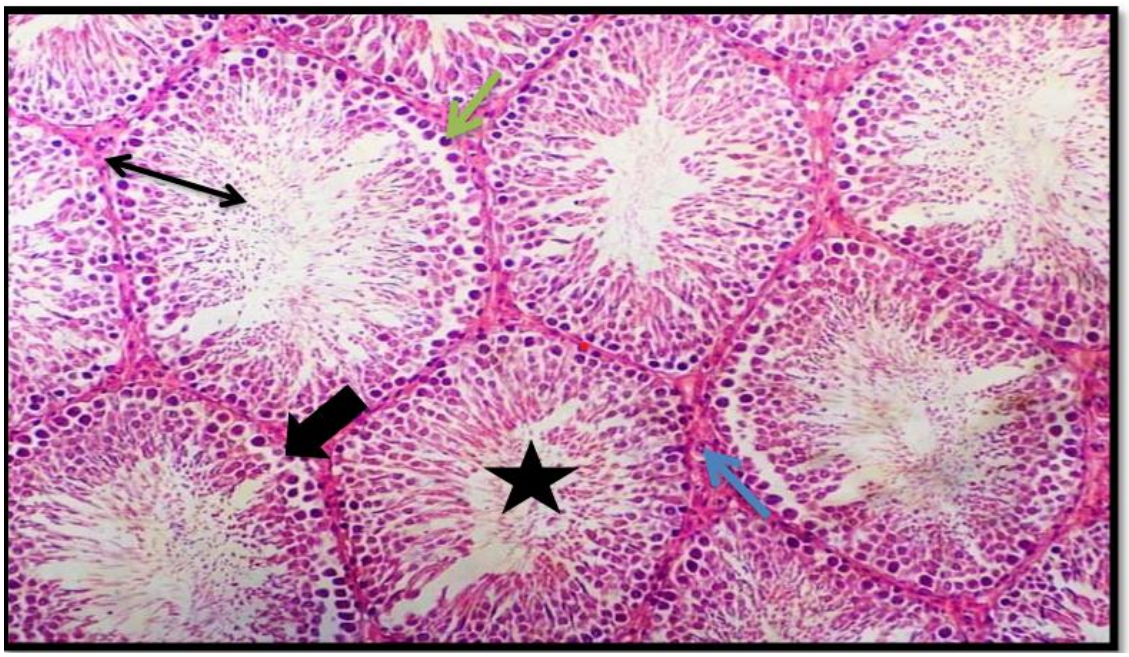
وجد Wang و جماعته (2021) أن الأوكسي ميثلون يزيد من أنواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) زيادة مستوى أكسيد النيتريك في المصل وانخفاض وظيفة أنسجة الخصية عن طريق تقليل نشاط نظام مضادات الأكسدة الخارجية و تقليل نشاط (GPx و CAT و SOD) مما يؤدي الى موت الخلايا المبرمج في الخلايا المكونة للحيوانات المنوية وخلايا النسيج الخصوي عن طريق إتلاف الأغشية ، وبذلك تقليل سمك الظهارة الجرثومية وزيادة الخلايا التنكسية وقلة معايير الحيوانات المنوية (Eskandarion *et al*., 2019).

كما ثبت أن ROS تلحق الضرر بالحمض النووي داخل الخلايا للحيوانات المنوية وتسبب أيضًا موت الحيوانات المنوية (Zhu *et al*., 2019) وموت الخلايا(Russo *et al*., 2018) .

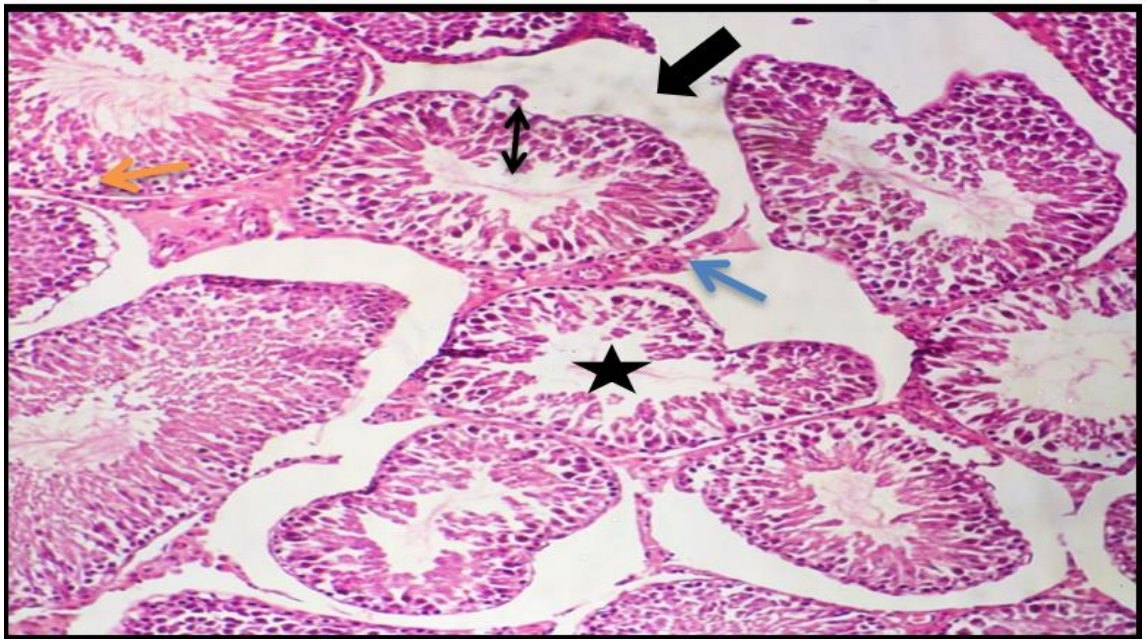
بيّن (El Shafai) وجماعته (2011) أن التعرض للأوكسي ميثلون يؤدي الى التغير في نسبة الخلايا العضلية وألياف الكولاجين، مما قد يعيق إطلاق الحيوانات المنوية بشكل سليم في التجويف، وانخفاض غير الطبيعي في مستوى هرمون التستوستيرون قد أدى الى انخفاض الانقسام الخلوي الى اختزال في معدل اقطار النبيبات المنوية وسمك الطبقة الجرثومية المبطنة لها إذ ترتبط التغيرات التنكسية في الخصية وضمور خلايا لايدك وصغر تجويف النبيبات الى اضطراب في انتاج هرمون التستوستيرون له دور في ربط الخلايا الجرثومية في النبيبات المنوية وعدم تفكك النسيج وكذلك اضطراب في LH,FSH قد يؤدي الى حدوث هذا التغييرات للنبيبات المنوية ،نقص خلايا لايدك يمكن ان يثبط عملية تكوين النطف لان هذه الخلايا هي تدعم تكوين الحيوانات المنوية في النبيبات المنوية ،تاثير العقار بشكل مباشر على عمل الغدد الصم في منطقة ماتحت المهاد والغدة النخامية والخصية وتاثير على خلايا سيرتولي اختزال وظيفتها البلعمية مما يؤدي الى امراض نسيج الخصية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. الذي بين آلية التغذية الراجعة السلبية للأوكسي ميثلون على محور الغدد التناسلية تحت المهاد، إذ تؤدي إلى انخفاض في الهرمونات المطلقة للغدد التناسلية وعيوب في عملية تكوين الحيوانات المنوية، مع انخفاض عدد الحيوانات المنوية الناضجة، فضلاًعن ذلك كانت الخلايا المنوية موجودة في تجويف الأنابيب؛ وقد يكون ذلك بسبب تدمير العمليات الخلوية لخلايا سيرتولي الموجودة بين الخلايا الجرثومية مما يؤدي إلى ضرر الخلايا المنوية في تجويف الأنابيب المنوية (Latif abd,2021).

اتفقت نتائج دراستنا الحالية مع نتائج كل من Kahal وجماعته (2018) Barone وجماعته (2017)(EL Osta and Morad ,2016) حيث أظهرت الدراسات النسيجية للخصيتين ضعف تكوين الحيوانات المنوية مع عدم وجود الحيوانات المنوية المتقدمة وانخفاض عدد الحيوانات المنوية بسبب استخدام

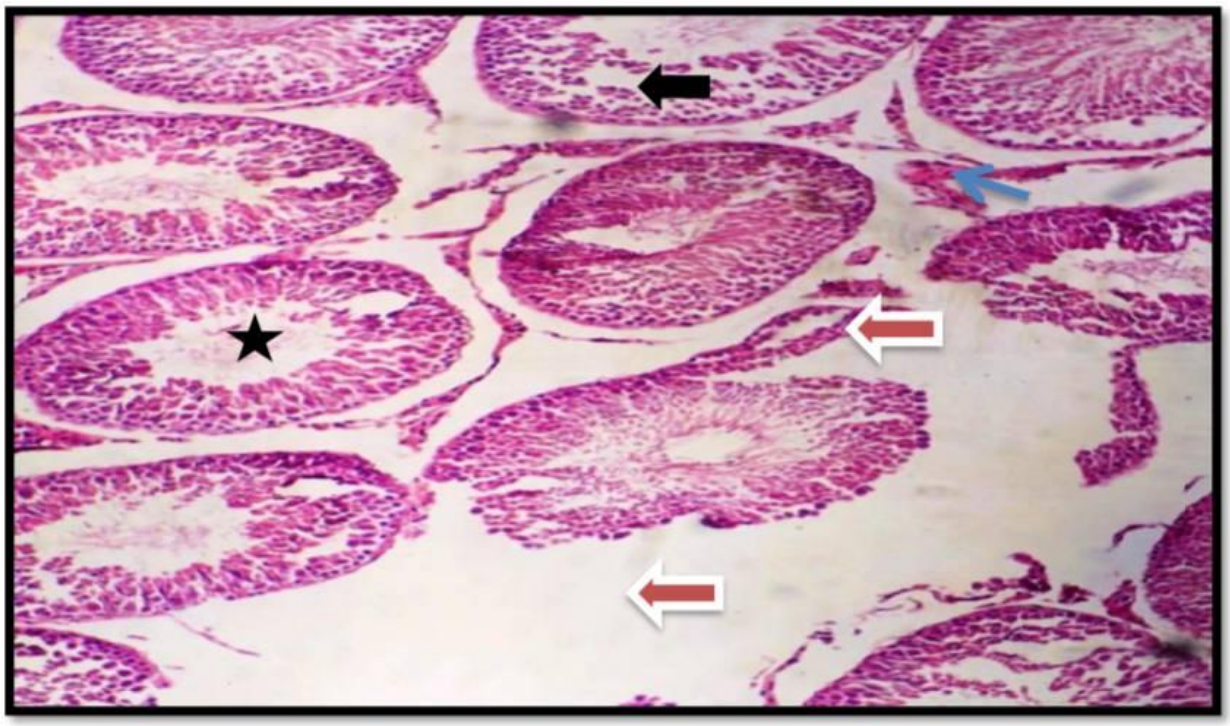
AAS(anabolic androgenic steroids) ولوحظ وجود ضعف في الحاجز الدموي للخصية في الجرذان , مما قد يؤدي دورًا في إحداث تغيير في تكوين الحيوانات المنوية ، وفي عدد وقطر وسمك الأنابيب المنوية في الجرذان البيضاء بعد إعطاء AAS فضلا عن أن موت الخلايا المبرمج الذي دورًا مهمًا في تنظيم مجموعات الخلايا الجرثومية في الخصيتين البالغتين إذ يضعف عملية انقسام سليفات النطف والخلايا النطفية مؤديا الى اضعاف نوعية النطف واعدادها وحركتها وفق الدراسات السابقة ،و وجد أن زيادة كبيرة في معدل موت الخلايا المبرمج للخلايا المنوية بعد تناول الاوكسي ميثلون (García and Elosta and Morad,2016 ; Valverde,2016).



صورة (4- 4) مقطع نسجي مستعرض في خصية جرذ من مجموعة السيطرة لوحظ فيه نسيج طبيعي للخصية مع النبيبات المنوية (⬅) وتجاويفها ممتلئة بالنطف (★) مع خلايا لايدك في النسيج البيني(←)وطبقة الخلايا الظهارية الجرثومية (↔) وسليفات النطف (←) (ملون H & E وقوة تكبير 100x).



صورة (4- 5) مقطع نسجي مستعرض في خصية جرذ في المجموعة المعاملة بالأوكسي ميثلون بتركيز5 ملغم/كغم من وزن الجسم لوحظ فيها وجود مسافات بينية بين النبيبات المنوية (⬅) والنطف قليلة او معدومة في تجاويف النبيبات (★) مع اختزال النسيج البيني وتفككه وقلة خلايا لايدك(←) وانخفاض حجم طبقة الخلايا الظهارية الجرثومية (↔) مع تنكس الخلايا(←) (ملون H&E وقوة تكبير100X).



صورة (4- 6) مقطع نسجي مستعرض في خصية جرذ في المجموعة المعاملة بالاوكسي ميثلون بتركيز5 ملغم/كغم **من وزن الجسم تظهر مجموعة من التغيرات النسجية تنكس الطبقة الجرثومية وتفكك خلاياها(⬅) انفصال الطبقة الجرثومية عن الغشاء القاعدي في أغلب النبيبات وجود مسافات بينية بين النبيبات المنوية (⬅) والنطف قليلة او معدومة في تجاويف النبيبات (★) مع اختزال النسيج البيني وتفككه وقلة خلايا لايدك (⬅) (ملون H & E وقوة تكبير. 100X)**

2.1.2.4. تأثير مجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز 200 ملغم /كغم ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون على نسيج الخصية وقياس معدلات اقطار النبيبات الناقلة للمني واقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة 55 يوم.

أوضحت نتائج الفحص النسيجي لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا فقط بتركيز 200 ملغم /كغم لمدة (55) يوماً الصورة (4-7) إذ لوحظ عدم وجود أي ضرر في تركيب الخصية مع وجود النبيبات المنوية والتجاويف ممتلئة بالنطف مع خلايا لأيدك في النسيج البيني غير المفكك وطبقة الخلايا الظهارية الجرثومية وسليفات النطف، و وجد أنه نسيج طبيعي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

بيّنت النتائج الحالية للفحص النسجي لمجموعة الوقائية التي تم تجريعها بمستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز(200) ملغم/كغم مع عقار الاوكسي ميثلون بتركيز(5) ملغم / كغم من وزن الجسم الصورة (4-8) ،اذ لوحظ فيها طبقات الخلايا المكونة للنطف وانتظام النبيبات المنوية ووجود النطف في بعضها مع

وجود خلايا لا يدك في النسيج البيني وزيادة في سمك الطبقة الظهارية الجرثومية المكونة للنطف وانخفاض في قطر التجويف النبيب الوسطي مقارنة مع مجموعة السيطرة.

كما بينت نتائج الدراسة الحالية للقياسات النسجية للخصية والموضحة في الجدول (4-4) لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* فقط بتركيز (200) ملغم / كغم لمدة (55)يوم (G3)عدم وجود فروق معنوية ($p\geq0.05$) في قياس معدلات كل من اقطار النبيبات المنوية (292.88±0.43) ومعدل قطر التجويف (132.18±0.49) ومعدل سمك الطبقة الجرثومية (96.31±0.44) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة(G1) (294.18±0.55) (132.66±0.39)(96.70±0.58) ،بينما لوحظ وجود ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في قياس معدلات كل من اقطار النبيبات المنوية(292.88±0.43) وقطر التجويف (132.18±0.49) وسمك الطبقة الجرثومية (96.31±0.44) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) (157.58±1.96) (88.01±0.42) .(

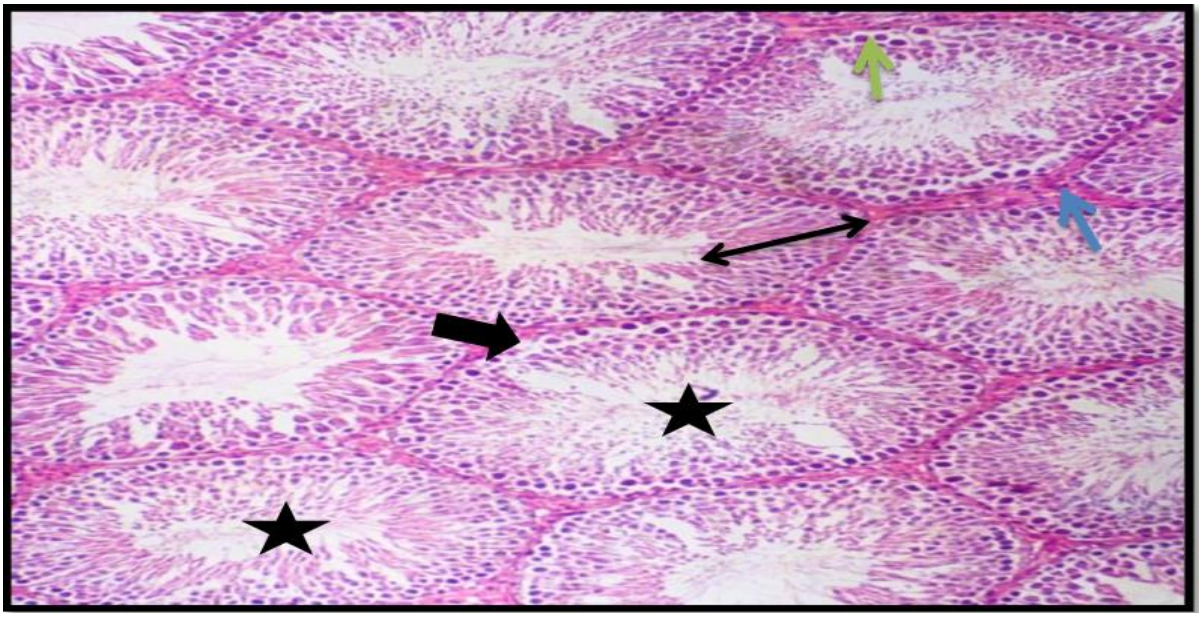
بينما مجموعة الوقائية التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز 200 ملغم / كغم والمعاملة بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم / كغم وزن الجسم لمدة (55) يوماً (G5)حصول ارتفاع معنوي($p\leq0.05$) في قياس معدلات كل من أقطار النبيبات المنوية (294.15±1.18) ,قطر التجويف (132.55±0.60), وسمك الطبقة الجرثومية (94.85 ±0.75) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2)(88.01±0.42) (157.58±1.96) (50.01± 1.55) على التوالي بينما لا يوجد فرق معنوي($P\geq0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1).

اتفقت هذه النتيجة مع دراسة Ana and Jordi (2020) البيض اللذان أظهرتا أن الفحص النسجي لخصية الجرذان البيض المعاملة بمستخلص نبات الماكا أدى الى زيادة في معدل اقطار الانابيب المنوية وكثافة عالية للحيوانات المنوية في الانابيب المنوية و إن التجريع بمستخلص نبات الماكا أظهر أثرا ايجابيا على انسجة الخصية ومعدلات اقطارها في الجرذان ، كما تتفق دراستنا الحالية مع دراسة Dzhakovaوجماعته (2023) الذي أشار إلى أن إعطاء المستخلص المائي لنبات الماكا الى الجرذان البيض يؤدي الى تحسن عملية تكوين الحيوانات المنوية عند المستويات الفسيولوجية الطبيعية، و يعزز جودة الحيوانات المنوية وتركيزها و نوعيتها عند اضطراب تكوين الحيوانات المنوية، وإن لم تتضرر الخصيتين بشكل كامل ولم تفقد الحيوانات المنوية وظيفتها تماماً، كما ذكر Zhou وجماعته (2023) ان نبات الماكا *Lepidium meyenii* له دور فعال في زيادة انتاج الحيوانات المنوية وتعالج نسيج الخصية ويشجع شفاء خلايا الظهارة المنوية ويوقف نمو الخلايا اللحمية ويرفع مستويات هرمون التستوستيرون في الدم بشكل كبير.

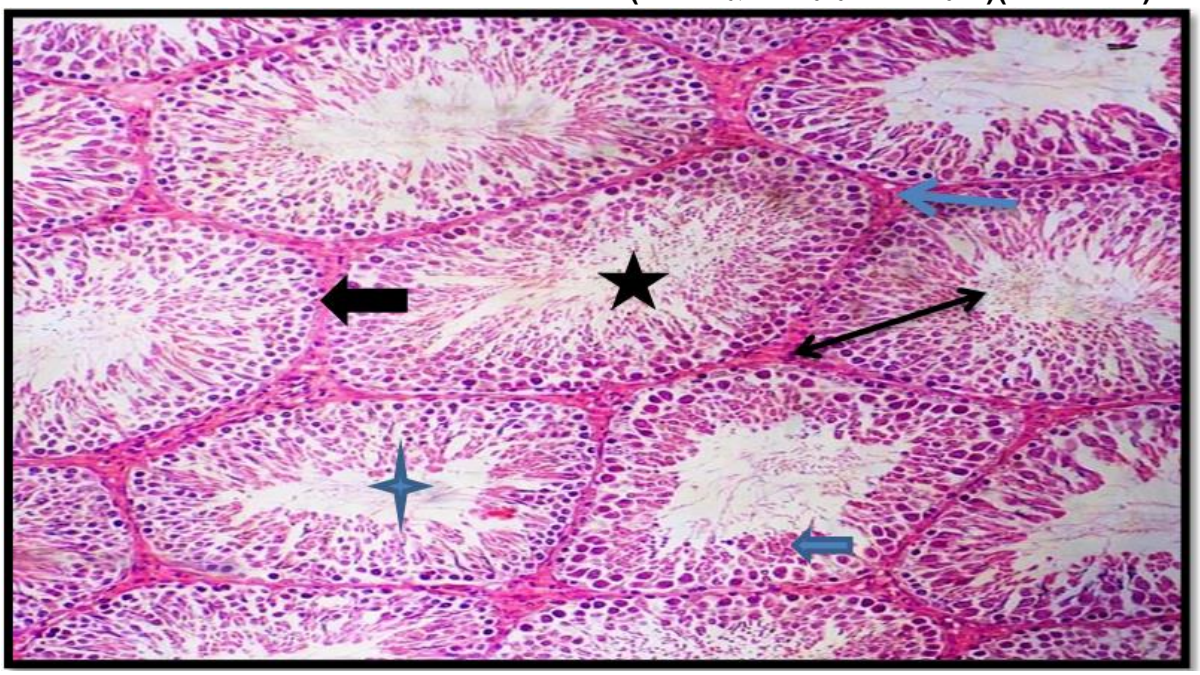
فضلا عن تقويةHPGA axis (Hypothalamic pituitary gonada) ، وموازنة وتحسين نظام مضادات الأكسدة الخارجية للحيوانات المنوية، وحماية خلايا سيرتولي وخلايا لايدك وسلامة الحيوانات المنوية من موت الخلايا المبرمج والنخر،و يمكن استخدام الماكا أو المركبات الفعالة النقية لهذا النبات في صناعة الأدوية لعلاج الرجال المصابين بالعقم, وخاصة أولئك الذين يتعين عليهم تناول المنشطات الابتنائية (Wang *et al*.,2021) .

تشتهر أنواع الماكا بخصائصها المضادة للأكسدة بسبب وجود مركبات نشطة بيولوجيًا، بما في ذلك الفلافونيدات ،القلويدات والستيرتولات والفينولات ونانيت الجلوكوز والألاميدات والأحماض الدهنية. تم استخدام هذه المركبات لعلاج مشاكل الخصوبة وأيضا يحتوي جذر الماكا على العديد من المستقلبات الثانوية، والتي تشمل الماكاين Macaine والماكاميد maca amide هما مركبان حيويان موجودان في الماكا يساهمان في تعزيز الخصوبة الجنسية.(Jin *et al* .,2018)

و تحتوي جذور الماكا على المركبات الكيميائية الفعالة مثل الفينولات والفلافونيدات وبعض المركبات المهمة ذات التأثير القوي والفعال كما تعمل على تثبيط تفاعلات تكوين الجذور الحرة التي يسببها الاوكسي ميثلون لكونها مركبات فعالة لها القابلية على منح الهيدروجين لهذه الجذور , وتعمل كنظام كاسح لأصناف الاوكسجين التفاعلية وتنشيط تكوين الانزيمات المضادة للأكسدة كالكلوتاثيون وتمنع عملية بيروكسيده الدهون التي تسبب تلف الأنسجة (Hernawati *et al*.,2018;Novita *et al*.,2020).



صورة (4-7) مقطع نسجي مستعرض في خصية جرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الماكا بتركيز 200 ملغم /كغم من وزن الجسم يظهر فيها النسيج طبيعي للخصية مع النبيبات المنوية ( )وتجاويفها ممتلئة بالنطف ( )مع خلايا لايدك في النسيج البيني ( )وطبقة الخلايا الظهارية الجرثومية ( ) وسليفات النطف ( )(ملونH&E وقوة التكبير X100).



صورة (4-8) مقطع نسجي مستعرض في خصى جرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الماكا بتركيز 200 ملغم /كغم مع الاوكسي ميثلون بتركيز 5ملغم /كغم من وزن الجسم لوحظ فيها طبقات الخلايا المكونة للنطف ( )انتظام النبيبات المنوية وجود النطف في بعضها ( )مع وجود خلايا لايدك في النسيج البيني ( )وزيادة في سمك الطبقة الظهارية الجرثومية المكونة للنطف ( ) وانخفاض في قطر التجويف الوسطي ( ) (ملون H&Eوقوة التكبير100X).

3.1.2.4. تاثير مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز 100 ملغم/كغم ومجموعة المستخلص النانوي المعاملة بالأوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم /كغم على نسيج الخصية وقياس معدلات أقطار النبيبات الناقلة للمني وأقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان ولمدة(55) يوماً.

أوضحت نتائج الفحص النسجي لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا فقط بتركيز (100) ملغم /كغم لمدة (55) يوما لوحظ فيها تركيب الخصية الطبيعي مع النبيبات المنوية والتجاويف ممتلئة بالنطف ووجود خلايا لايدك في النسيج البيني غير المفكك كما في الصورة (4-9) ،وكان النسيج طبيعي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ،و بيّنت نتائج الفحص النسجي للمجموعة التي جرعت بالمستخلص النانوي بتركيز (100) ملغم/ كغم مع الاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم /كغم من وزن الجسم يظهر فيها حصول تطور الخلايا المولدة للحيوانات المنوية داخل النبيبات المنوية وتجاويفها ممتلئة بالنطف مع وجود خلايا لايدك في النسيج البيني وزيادة في عدد طبقات الخلايا الظهارية الجرثومية المكونة للنطف وسليفات النطف كما في الصورة (4-10).

بيّنت نتائج الدراسة الحالية للقياسات النسجية للخصية والموضحة في الجدول (4-4) للمجموعة التي جرعت بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا فقط بتركيز (100) ملغم / كغم لمدة (55) يوماً عدم وجود فروق معنوية ($p\geq0.05$) في قياس معدلات كل من اقطار النبيبات المنوية (293.76±0.62) ومعدل قطر التجويف (132.35±0.47) ومعدل سمك الطبقة الجرثومية (96.83±0.31) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (294.18±0.55) (132.66±0.39)(96.70±0.58) على التوالي.

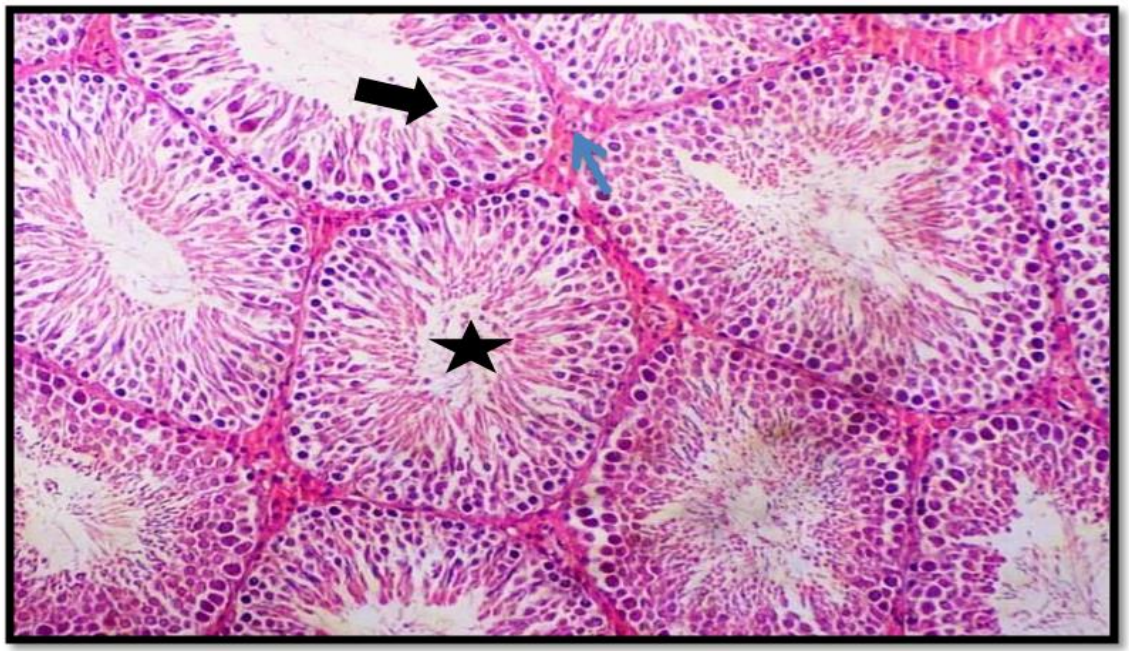
بينما مجموعة الوقائية (G6)التي جرعت بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم / كغم والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم / كغم وزن الجسم لمدة 55 يوم حصول ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في قياس معدلات كل أقطار النبيبات المنوية (294.33±0.66) ,قطر التجويف (132.35±0.47) وسمك الطبقة الجرثومية (95.03±0.75) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2)(88.01±0.42) (157.58±1.96) (50.01± 1.55) على التوالي بينما لا يوجد فرق معنوي ($P\geq0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة.

أظهرت النتائج الحالية أن إعطاء الأوكسي ميثلون تسبب في انخفاض في الوزن النسبي للخصية وحجمها وسمك الظهارة المنوية وزيادة قطر تجويف النبيب الناقل للمني ، وبسبب ضمور الأنابيب المنوية وزيادة الأنسجة الخلالية للنبيبات فإن كل هذه المعايير هي مؤشرات مهمة للسمية التناسلية في الحيوانات الذكور، وعلى النقيض من ذلك تظهر نتيجة دراستنا أن مستخلص جذور الماكا *Lepidium meyenii*

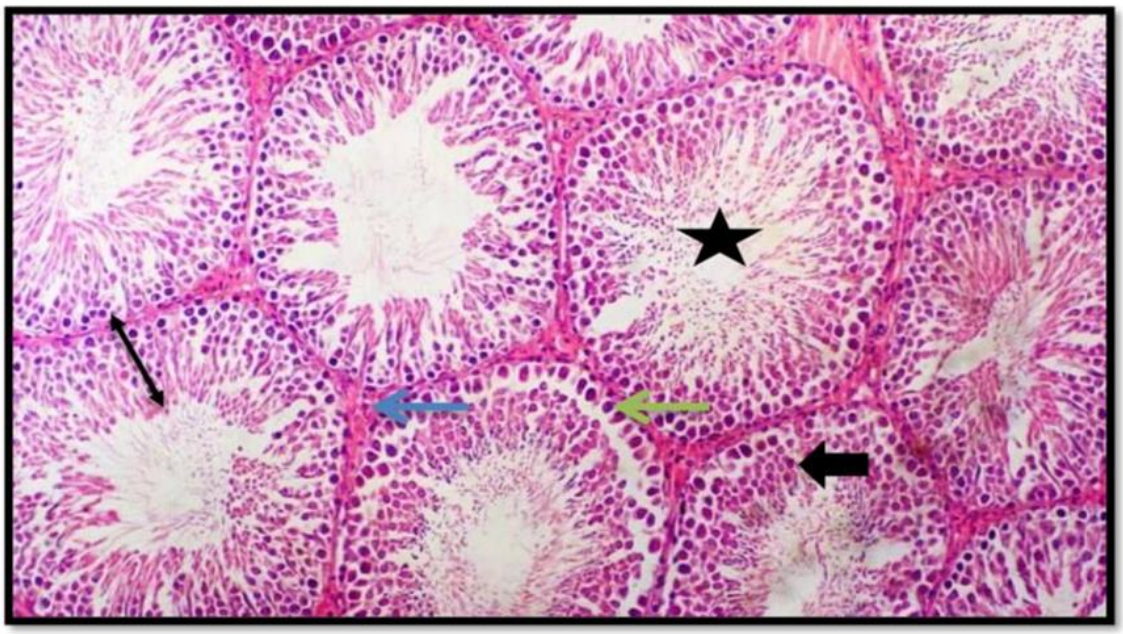
يمكن أن يحمي السائل المنوي ويمنع تدمير الظهارة ويقلل في النهاية من حجم الأنسجة الخلالية ،و يزيد هرمون FSH من تكاثر خلايا سيرتولي مما يزيد في النهاية من حماية السلالة المنوية ويوفر لها العناصر الغذائية التي تحتاجها. فضلاًعن ذلك تطلق خلايا سيرتولي الماء في الأنابيب المنوية وتسبب تراكم المواد السامة من حول السلالة المنوية، وتتداخل مع الحفاظ على حجم ووزن الخصيتين (Bhushan *et al.*, 2016). تساعد خلايا سيرتولي على تكاثر السلالة المنوية مما يزيد من سمك الأنابيب وأقطارها يقلل في النهاية من حجم الأنسجة الخلالية عن طريق زيادة حجم الأنابيب وسمكها، وهو مؤشر على نشاط الخصية و بسبب زيادة مستويات هرمون التستوستيرون في نسيج الخصية والذي يرجع الى الاندروجين Akbari) Bazm *et al*.,2019 ; Rigi Manesh *et al*., 2017)

تحتوي الماكا على مواد مثل الماكاميدات والجلوكوسينولات التي يمكن تكسيرها إلى إيزوثيوسيانات بواسطة الميروزيناز تسمح هذه المكونات للماكا بالتخلص بنجاح من الجذور الحرة وحماية الخلايا من الاجهاد التأكسدي و عن طريق هذه الخاصية للماكا كانت نتائجنا متفقه مع (Tafuri *etal*.,2019;Zhang *etal*.,2016 b), مما يدل على أن أنسجة الخصية تم إصلاحها وعادت إلى وضعها الطبيعي عند تناول حيوانات التجربة الماكا قبل إعطاء أوكسي ميثولون , إذ تعمل الماكا على التخلص من الجذور الحرة .

إن المنتجات الطبيعية التي تحتوي على مضادات الأكسدة لديها القدرة على حماية الخصية من الأضرار التأكسدية وبيروكسيدة الدهون والضعف في مضادات الأكسدة عند التعرض إلى المواد الكيميائية ومنها عقار الاوكسي ميثلون (Satyam *et al* .,2013 ; Al-Olayan *et al* ., 2014; Ge *et al* ., 2015) .



صورة (4-9) مقطع نسجي مستعرض في خصى جرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا بتركيز 100 ملغم /كغم من وزن الجسم يظهر فيه تركيب الخصية الطبيعي مع النبيبات المنوية (⬅) والتجاويف ممتلئة بالنطف (★)ووجود خلايا لايدك في النسيج البيني غير المفكك (⟵)(ملون H&E وقوة التكبير100X).



صورة(4-10) مقطع نسجي مستعرض في خصى جرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا بتركيز 100 ملغم/كغم مع الاوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم /كغم من وزن الجسم يظهر فية الخلايا المولدة للحيوانات المنوية داخل النبيبات المنوية (⬅) وتجاويفها ممتلئة بالنطف (★) مع وجود خلايا لايدك في النسيج البيني(⟵) وزيادة عدد طبقات الخلايا الظهارية الجرثومية المكونة للنطف (↔) وسليفات النطف (⟵)(H&Eملون وقوة التكبير X 100).

جدول (4-4)تاثير المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* على قياسات معدل أقطار النبيبات الناقلة للمني واقطار تجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان لمدة (55) يوماً والمعاملة بعقار الأوكسي ميثلون .

المعايير / Means±S.E / المجاميع	معدل قطر النبيب µ M	معدل قطر التجويف µ M	معدل سمك الطبقة الجرثومية µ M
السيطرة السالبة (G1)	294.18±0.55 A	132.66±0.39 A	96.70±0.58 A
عقار الاوكسي ميثلون بتركيز5 ملغم /كغم (G2)	157.58±1.96 B	88.01±0.42 B	50.01±1.55 B
المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*بتركيز 200 ملغم/ كغم (G3)	292.88±0.43 A	132.18±0.49 A	96.31±0.44 A
المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز 100 ملغم/كغم (G4)	293.76±0.62 A	132.35±0.47 A	96.83±0.31 A
المستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز 200ملغم /كغم +عقار الاوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم / كغم (G5)	294.15±1.18 A	132.55±0.60 A	94.85±0.75 A
المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز 100 ملغم \كغم + عقار الاوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم \كغم (G6)	294.33±0.66 A	132.35±0.47 A	95.03±0.75 A
LSD	3.028	1.3837	2.4193
P(VALUE)	0.05	0.05	0.05

الخطأ القياسي ± المعدل N=7

***الحروف المختلفة عموديا تدل على وجود فروق معنوية (p≤0.05).**

*** والحروف المتشابهه عموديا تدل على عدم وجود فروق معنوية (P≥0.05).**

2.2.4. التغيرات النسجية و القياسات النسجية في البربخ Histological Changes in Epididymis

1.2.2.4. تاثير مجموعة عقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم/كغم على نسيج البربخ ومعدل أقطار البرابخ وأقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان ولمدة (55)يوماً .

أظهرت نتائج الفحص النسجي في الدراسة الحالية للبربخ في ذكور الجرذان لمجموعة السيطرة السالبة كما في الصورة (4-11) تركيبه النسجي الطبيعي لقناة البربخ إذ تظهر النبيبات البربخية متماسكة و امتلاء تجاويفها بالنطف مع وجود العضلات الملساء حول النبيبات ومبطنة بخلايا ظهارية عمودية مطبقة كاذبة مع وجود الأهداب الساكنة، اما نتائج الفحص النسيجي لقناة البربخ في ذكور الجرذان في الصورة (4-12) (4-13)المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز(5) ملغم / كغممن وزن الجسم ولمدة(55) يوماً فكانت هناك تغيرات نسجية كبيرة مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة تمثلت بوجود مسافات بينية بين نبيبات البربخ والنطف قليلة أو عدم وجود النطف في تجويف النبيبات و وجود ضرر نسجي بتحطم الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات والظهارة مختزلة و قلة وجود العضلات الملساء المحيطة بالنبيبات.

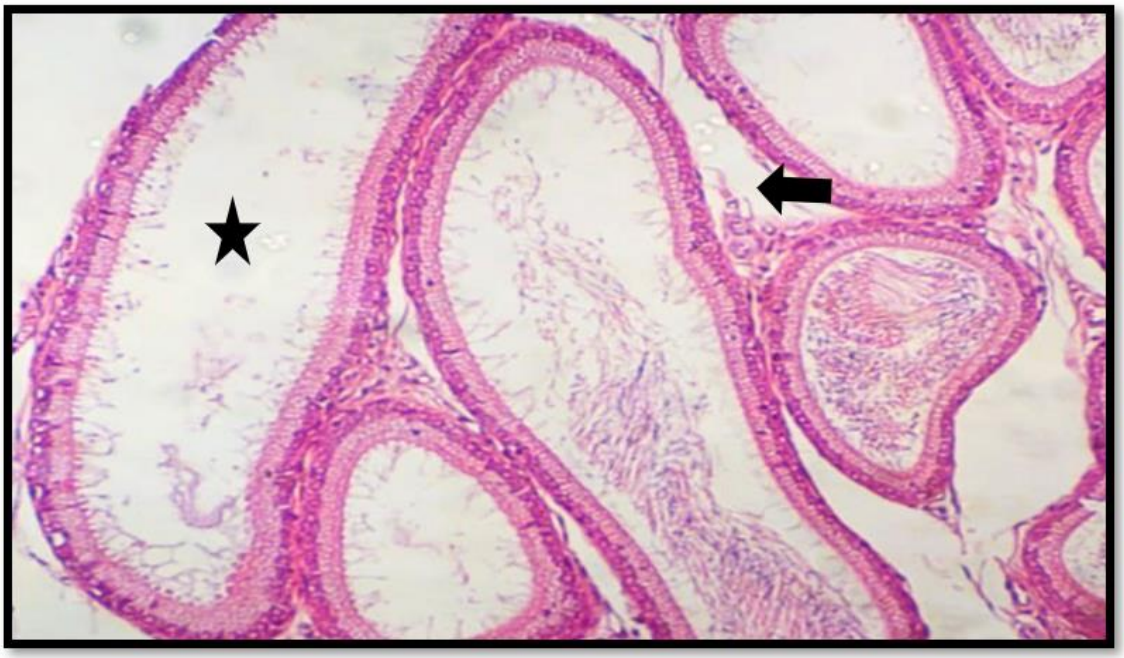
بيّنت نتائج القياسات النسجية لمجموعة ذكور الجرذان المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم/كغم من وزن الجسم لمجموعة السيطرة الموجبة ولمدة (55) يوماً حسب جدول رقم (4-5) حصول انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في كل من قياس معدلات اقطار البرابخ (0.46 ±132.20)،ومعدل اقطار التجويف (0.63±82.35) ،ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (0.29±13.88) مايكرومتر بالمقارنة بمعدل قطر كل من البرابخ (0.96±252.70) ومعدل اقطار التجويف (0.78±224.28) ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (0.46±19.33)لمجموعة السيطرة السالبة(G1).

أوضحت إحدى الدراسات الحديثة التي أجريت على الحيوانات أن الأوكسي ميثلون يثبط نشاط إنزيمات مضادات الأكسدة الذاتية في الحيوانات المنوية عن طريق زيادة أنواع الأوكسجين التفاعلية ويزيد من موت الخلايا المبرمج (Chen *et al*., 2020) ، سبب الاوكسي ميثلون موت الخلايا المبرمج لخلايا الخصية وانخفاض عدد الحيوانات المنوية في البربخ (Wang *et al*.,2021) وهذا ما يتفق مع دراستنا الحالية.

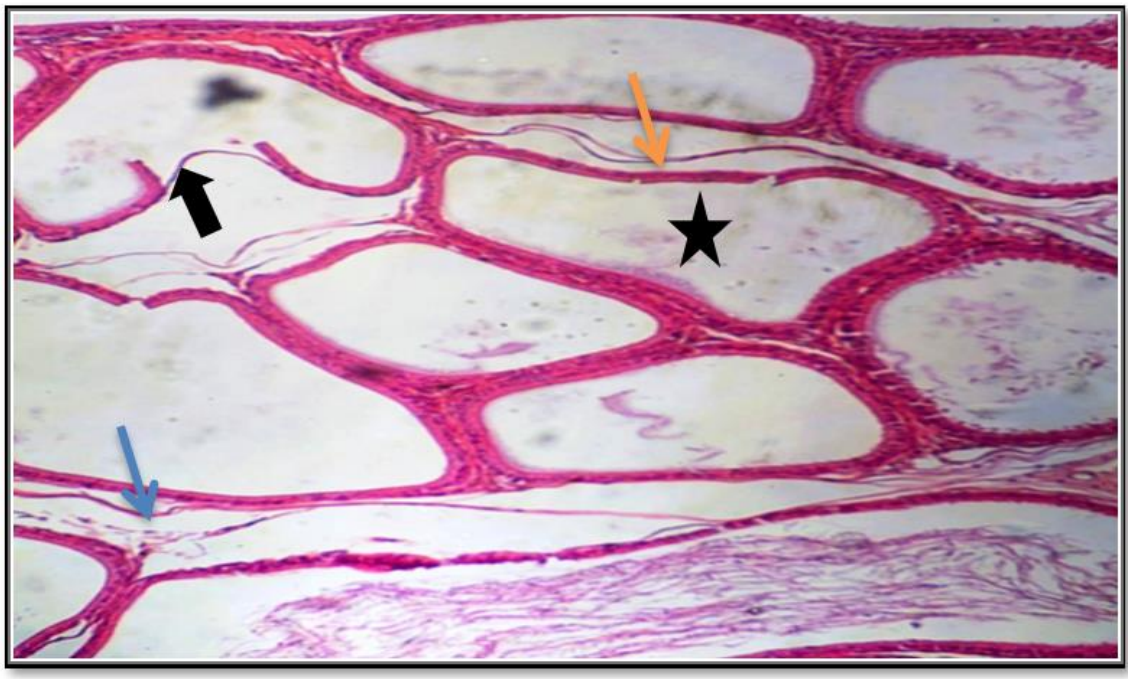
أظهر إن انخفاض معدل ارتفاع الظهارة البربخية مع وجود عدد قليل من الحيوانات المنوية في تجويفها، و كان هذا متوافقًا مع wang وجماعته (2021) الذين اقترحوا أن آلية التغذية الراجعة السلبية للأوكسي ميثلون على المحور التناسلي تحت المهادي تؤدي إلى انخفاض في هرمونات إطلاق الغدد التناسلية وعيوب في عملية

تكوين الحيوانات المنوية، مع انخفاض عدد الحيوانات المنوية الناضجة؛ وقد يعزى قلة الأقطار الى تأثير الأوكسي ميثلون السلبي على هرمون التستوسيترون و الذي يؤثر على الغدة النخامية مما يؤدي إلى انخفاض في مستوى معدلات الهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات وهذا يؤدي إلى تثبيط التخليق الحيوي للستيرويد بواسطة خلايا لايدك مما يسبب في انخفاض هرمون التستوستيرون و لأن البربخ يعد من الأعضاء المعتمدة على الأندروجين و التي لها الدور الرئيس في التكاثر و تمايز الخلايا الظهارية البربخية التي تحتوي على مستقبلات خاصة و حساسة للأندروجين؛ و قد يعزى سبب حدوث هذه التغيرات المرضية لنسيج البربخ إلى الزيادة الحاصلة في مستوى بيروكسيد الدهون و إنخفاض نشاط مضادات الأكسدة بعد إعطاء الأوكسي ميثلون و الذي يؤدي إلى تلف نسيج الخصية و البربخ و كذلك زيادة في مؤشر موت الخلايا المبرمج ، و من الممكن أن يكون الانخفاض الحاصل في مستوى الظهارية البربخية بسبب قلة في فعاليات أنوية خلايا نسيج البربخ و التي تؤدي إلى حدوث انخفاض في الفعاليات الحيوية الأيضية لهذه الخلايا و نسيج البربخ و التي تؤدي الى حدوث انخفاض في الفعاليات الحيوية الايضية لهذه الخلايا إذ أن كلا من التمايز و إفراز السوائل في تجويف البربخ يقع تحت سيطرة الأندروجينات (Akbari Bazm *et al*.,2020).

صورة (4-11) مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ من مجموعة السيطرة تظهر فيها النبيبات البربخية متماسكة ( ) وامتلاء التجويف بالنطف ( ) ووجود العضلات الملساء حول النبيبات ( ) والظهارة العمودية المطبقة الكاذبة ( )مع وجود العضلات ( ) مع وجود الاهداب الساكنة ( ) (ملو ن H&Eوقوة التكبير X100).



صورة (4-12) مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ في المجموعة المعاملة بالاوكسي ميثلون بتركيز5 ملغم /كغم من وزن الجسم تظهر فيها مجموعة من التغيرات النسجية تمثلت بوجود مسافات بينية بين نبيبات البربخ (⬅) النطف قليلة جدًا و معدومه في تجاويف النبيبات(★) (ملون H & E وقوة التكبيرX100).



صورة (4-13) مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ في المجموعة المعاملة بالأوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم /كغم من وزن الجسم تظهر فيها قلة او عدم وجود النطف في تجويف النبيبات (★) وضرر نسجي بتحطم الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات (↙)والظهارة مختزلة (⬅) و قلة وجود العضلات الملساء المحيطة بالنبيبات (↙) (ملون H & E وقوة التكبيرX100).

2.2.2.4. تأثير مجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز(200) ملغم/كغم ومجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون على نسيج البربخ ومعدل أقطار البرابخ وأقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان ولمدة(55) يوماً.

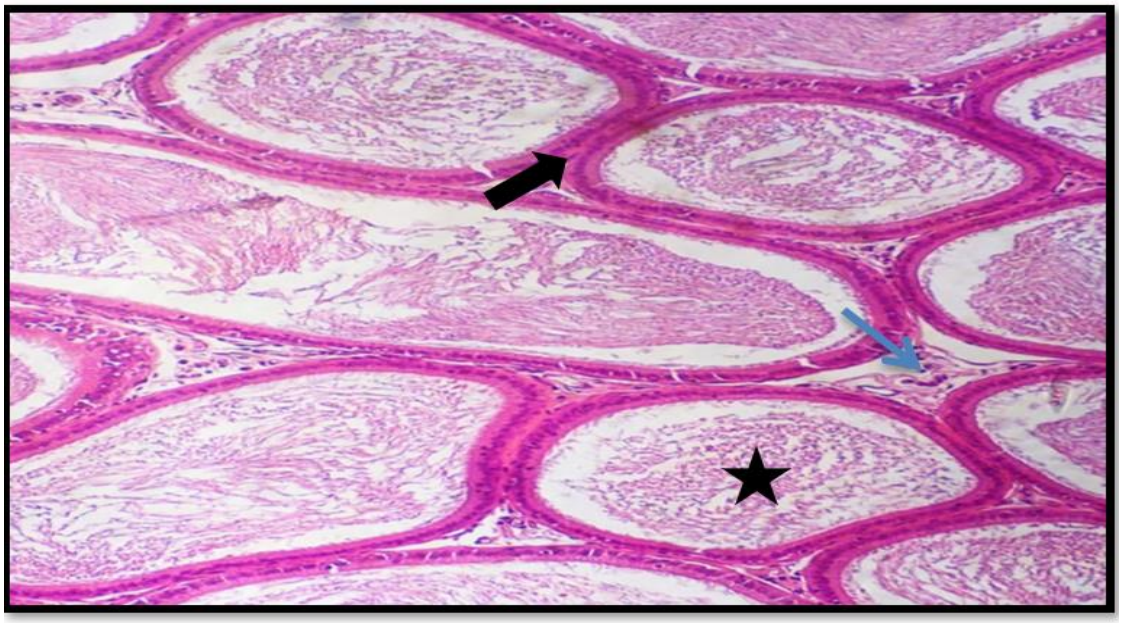
أظهرت نتائج الفحص المجهري للمقاطع النسجية في الصورة (4-14) لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز 200 ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة (55)يوماً. إذ ظهر فيها نسيج البربخ الطبيعي مع النبيبات البربخية المنتظمة وامتلاء التجاويف بالنطف الناضجة وكذلك وجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات مع وجود الأهداب الساكنة .

بيّنت نتائج الحالية للفحص النسجي للمجاميع الوقائية التي تم تجريعها بمستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز (200) ملغم /كغم مع الأوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم/كغم من وزن الجسم في الصورة (4-15) يظهر فيها تركيب البربخ الطبيعي وامتلاء التجاويف بالنطف الناضجة، وقلة وجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات ووجود مسافات بينية بين نبيبات البربخ .

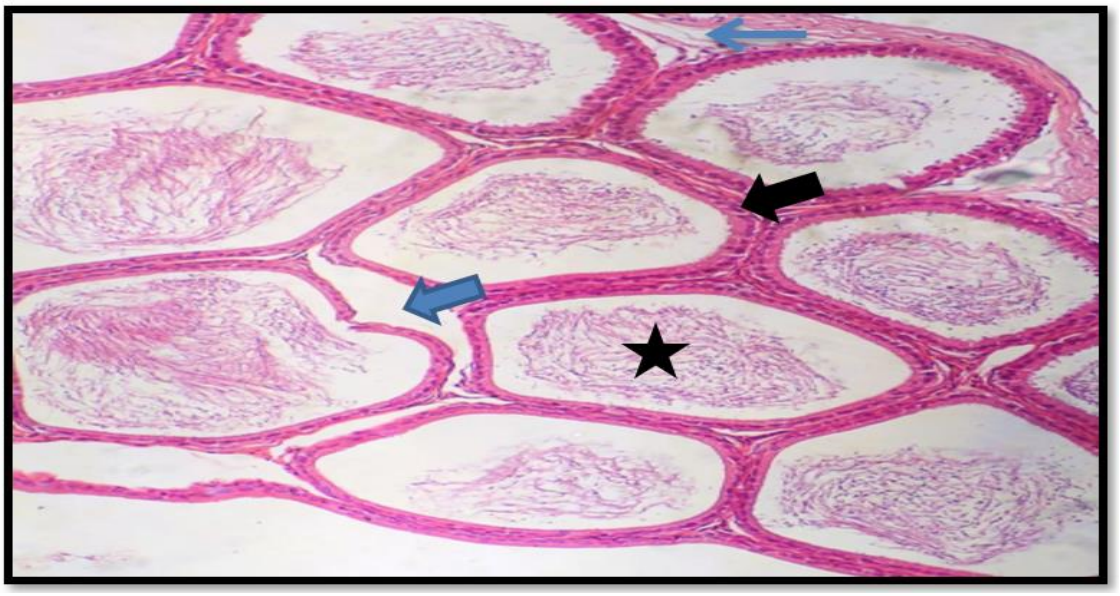
أظهرت نتائج الدراسة للقياسات النسجية البربخية والموضحة في الجدول(4-5) لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا فقط بتركيز (200) ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة (55) يوماً(G3) ،وعدم حصول فروق معنوية($p\geq0.05$)في قياس معدلات كل من معدل أقطار البرابخ (252.18±1.13) مايكرومتر، ومعدل قطر التجويف (222.58±2.07)مايكرومتر ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (19.66±0.29) مايكرومتر بالمقارنة مع معدل قطر البرابخ (252.70±0.96) مايكرومتر ومعدل قطر التجويف (224.28±0.78)، ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (19.33±0.46) مايكرومتر لمجموعة السيطرة السالبة (G1)، في حين اوضحت نتائج القياسات النسجية البربخية لمجموعة الوقاية المجرعة بالمستخلص المائي لجذور الماكا بتركيز (200) ملغم /كغم من وزن الجسم مع عقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم (G5) حسب الجدول(4-5)،هنالك ارتفاع معنوي ($P<0.05$)في مستويات معدل اقطار البرابخ (255.60±0.99) ولا يوجد فرق معنوي ($p\geq0.05$) في معدل اقطار التجويف (222.85±0.89) ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (19.35±0.47) بالمقارنة مع معدل قطر البربخ (132.20±0.46), ومعدل قطر التجويف(82.35±0.63), ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (13.88±0.29) لمجموعة السيطرة الموجبة (G2) .

إن الأثر الضار على نسيج البربخ بسبب إعطاء عقار الأوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم /كغم يعود إلى إن الأوكسي ميثلون يعمل على تثبيط نشاط إنزيمات مضادات الأكسدة الذاتية في الحيوانات المنوية للجرذان عن طريق زيادة أنواع الأكسجين التفاعلية ويزيد من موت الخلايا المبرمج(Chen *et al*., 2020).

اتفقت نتائج دراستنا الحالية مع (Gasco *et al*., 2007 ; Melnikovova *et al*.,2021; Ragab *et al*.,2023) ؛ وقد ترجع هذه النتائج الجيدة التي تم ملاحظتها في المجاميع التي جرعت بمستخلص الماكا إلى التحسن في تخليق هرمون التستوستيرون المسؤول عن إكمال عملية تكوين الحيوانات المنوية (Walker, 2009) ، والنشاط المضاد للأكسدة في الماكا الذي قد يحمي مراحل مختلفة من الخلايا المنوية من موت الخلايا المبرمج (Gasco *et al*., 2007)؛ قد يُعزى هذا التحسن إلى التأثيرات المفيدة للمكونات الكيميائية النباتية ذات الأنشطة البيولوجية في الماكا تم ربط تأثيره على الجهاز التناسلي بجزء الدهون النباتية، والذي يحتوي على الماكاميدات والأحماض الدهنية بشكل أساسي (Hudson, 2008)، و تعمل الماكاميدات، فضلاً عن الجزء القابل للاستخراج الدهني من الماكا بشكل مباشر على الجهاز التناسلي عن طريق التأثير على توازن مضادات الأكسدة (Melnikovova *et al*.,2021)،وعلاوة على ذلك تحتوي الماكا على ستيرولات مثل: كامبسترول , وستيغماستيرول , وبيتا سيتوستيرول (Ragab *et al*.,2023) .



صورة (4- 14) مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الماكا بتركيز (200) ملغم /كغم من وزن الجسم يظهر فيها تركيب البربخ الطبيعي مع النبيبات البربخيه المنتظمة (⬅) و امتلاء التجاويف بالنطف الناضجة (★) و وجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات (⬅) ملون H & E وقوة التكبير 100x).



صورة (4- 15) مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الماكا بتركيز (200) ملغم /كغم مع الاوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم /كغم من وزن الجسم يظهر فيها تركيب البربخ الطبيعي (⬅) امتلاء التجاويف بالنطف الناضجة (★) وقلة وجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات (⇐) وجود مسافات بينية بين نبيبات البربخ(⇐) (ملون 100X وقوة التكبير H & E).

3.2.2.4. تأثير مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز 100 ملغم /كغم ومجموعة المستخلص النانوي بتركيز 100 ملغم /كغم والمعاملة بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم من وزن الجسم على نسيج البربخ ومعدل اقطار البرابخ واقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان ولمدة (55) يوماً..

بيّنت النتائج الحالية للفحص النسجي للبربخ للمجموعة الوقائية (G4) التي تم تجريعها بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم ولمدة (55) يوماً في الصورة (4-16) ، والنسيج الطبيعي للبربخ وامتلائها بالنطف الناضجة، ووجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات، أما مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم والمعاملة بالأوكسي ميثلون بتركيز(5) ملغم /كغم من وزن الجسم (G6) ظهر فيه تركيب البربخ الطبيعي مع النبيبات البربخية المنتظمة وازدياد أعداد النطف في تجويف البربخ ووجود النسيج الرابط بين النبيبات كما في الصورة (4-17).

أظهرت نتائج الدراسة الحالة للقياسات النسجية للبربخ والموضحة في الجدول (4-5) لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا فقط بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم ولمدة (55) يوماً عدم وجود فروق معنويه ($p\geq0.05$) في كل من معدل أقطار البرابخ (254.03±0.41)

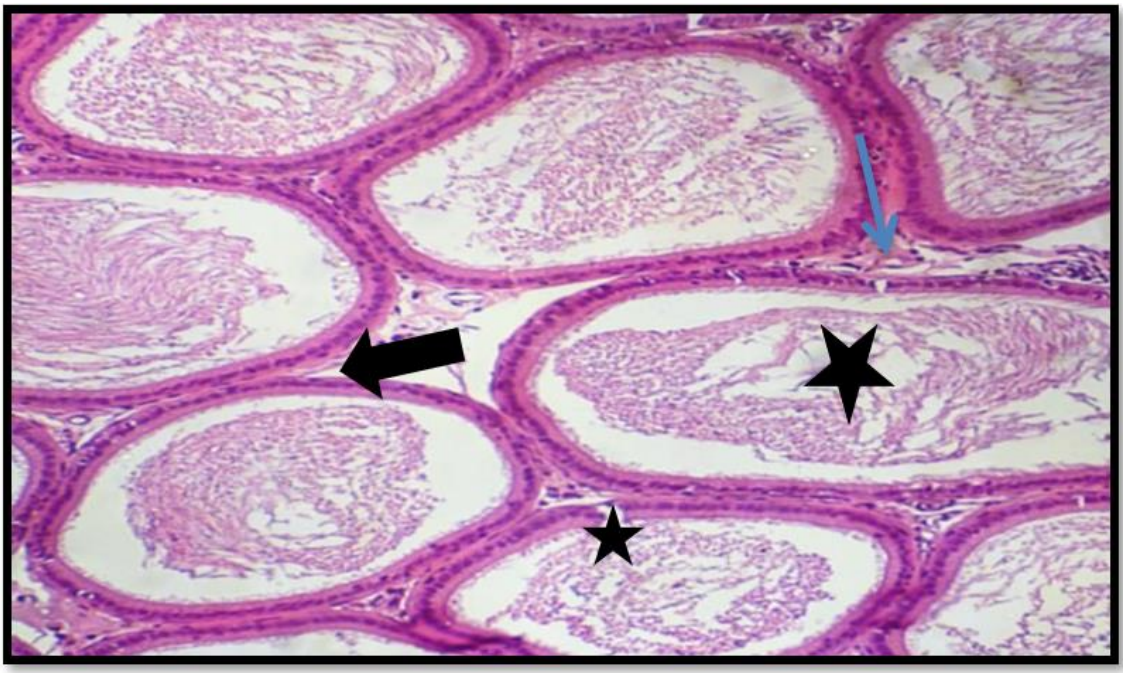
،ومعدل أقطار التجويف (221.68±1.93) ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (18.95±0.43) بالمقارنة مع معدل قطر البربخ (252.70±0.96) وقطر التجويف (224.28±0.78) ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (0.46± 19.33) لمجموعة السيطرة السالبة، بينما لوحظ حصول ارتفاع معنوي (p≤0.05)في معدلات قياس كل من اقطار البرابخ والتجويف ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2).

أوضحت نتائج الدراسة الحالية للقياسات النسجية للبربخ الموضحة في الجدول (4-5) لمجموعة الوقاية المجرعة بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم /كغم والمعاملة بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة (55) يوماً(G6) حصول ارتفاع معنوي (p≤0.05) في قياس معدل أقطار البرابخ (135.51±0.46) ومعدل أقطار التجويف (86.55±0.47) ،ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (15.83±0.30)بالمقارنة مع معدل قطر البربخ (132.20±0.46)، ومعدل قطر التجويف (82.35±0.63) ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (13.88±0.29) لمجموعة السيطرة الموجبة (2 G).بينما لوحظ حصول انخفاض معنوي في قياس معدلات كل من اقطار البرابخ والتجويف ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية (135.51±0.46)،(86.55±0.47)،(82.35±0.30) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1).

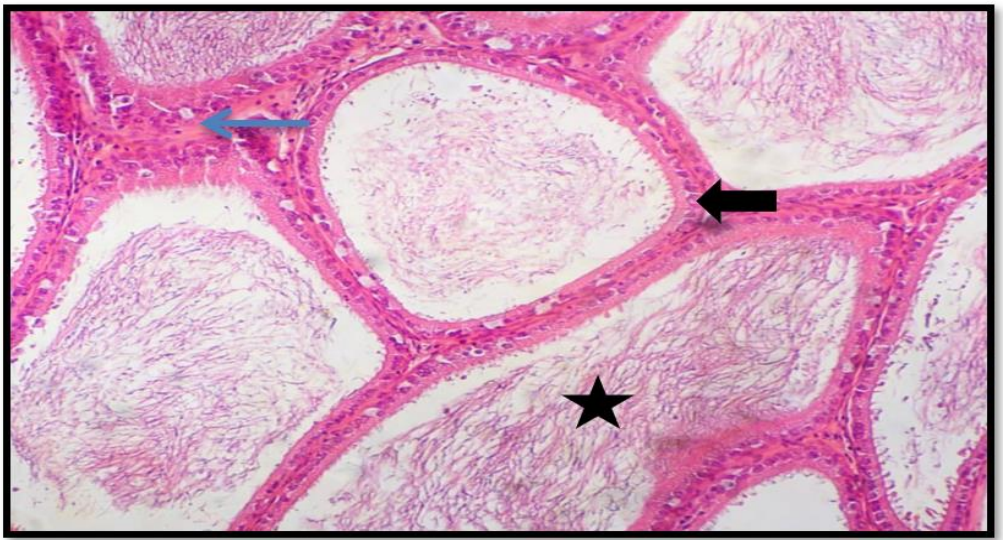
البربخ هو مستودع طبيعي للحيوانات المنوية له وظائف النضج والتخزين، كما أنه يحمي الحيوانات المنوية من الإصابة التأكسدية عن طريق تشجيع أنواع الأوكسجين التفاعلية (Zini and Schlegel,1997).

يمكن فهم النتائج بواسطة حقيقة أن الضرر التأكسدي قد يستهدف المايتوكوندريا؛ لأن غشاءها يحتوي على كميات كبيرة من الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة،و قد تساهم التغييرات التي تحدث في البيئة الدهنية في مجمعات السلسلة التنفسية في خفض نشاطها مما يتسبب في اضطراب التمثيل الغذائي فضلاً عن ذلك، فإن الألدهيدات التي تتولد عن أكسدة الدهون مستقرة ويمكن أن تنتشر بسهولة داخل الخلايا. وهذا يفسر حقيقة أنها قادرة على مهاجمة أهداف بعيدة عن الحدث الجذري الحر الأصلي، وهذا يساهم في توسع الضرر التأكسدي لمجموعة متنوعة من الجزيئات والبروتينات والحامض النووي والإنزيمات أو الهرمونات و لذلك يؤثر على أنسجة الجسم و يحطم الخلايا (Batais *et al* .,2020).

إتفقت نتائج دراستنا الحالية من حيث الأثر الإيجابي لمستخلص جذور الماكا مع(Del Prete وجماعته (2018) Lie وجماعته 2016 (2017) (Quandt and puga,2016)هناك مجموعة متنوعة من المركبات ذات الأهمية الدوائية والغذائية في جذور وأوراق الماكا تشمل السكريات غير النشوية والبوليفينول (على سبيل المثال) الفلافونوليجنان , المالاميدا, الماكينات, الماكاميدات, الجلوكوزينولات, الماكا هيدانتوينات (Korkmaz,2018; Zhou *et al*.,2018) إذ استخدمت لعلاج العقم ،وتحسين الخصوبة؛ و مكافحة الإجهاد وتعزيز القدرة الجنسية وزيادة الخصوبة، و تحسين كمية ونوعية الحيوانات المنوية بسبب مركباتها المفيدة. وقد أظهرت هذه الدراسات أن وجود هذه المركبات ينظم إفراز هرمون التستوستيرون من خلايا لايدك ويعزز من إنتاج حامض الساليسيليك, ويزيد من إفراز خلايا سيرتولي للماء وينظف تجويف المنطقة المحيطة بالحيوانات المنوية من أنواع الأوكسجين التفاعلية (Wang *et al* .,2021).



صورة (4-16) مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ لجرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا بتركيز 100 ملغم /كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها النسيج الطبيعي للبربخ (⬅) وامتلاء التجاويف بالنطف الناضجة(★) وجود خلايا العضلات الملساء حول النبيبات (←)(ملون H & E وقوة التكبير 100X).



صورة (4-17) مقطع نسيجي مستعرض في قناة البربخ الجرذ في المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا بتركيز (100) ملغم /كغم مع الاوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم /كغم من وزن الجسم تظهر فيها تركيب البربخ الطبيعي مع النبيبات البربخيه المنتظمة (⬅) و ازدياد اعداد النطف في تجويف البربخ (★) و وجود النسيج الرابط بين النبيبات (⬅) (ملون H & E وقوة التكبير 100X).

جدول (4-5) تاثير المستخلص المائي لجذور نبات الماكا على قياسات مستوى معدل أقطار البرابخ وأقطار تجاويفها ومعدل ارتفاع الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان البيض ولمدة (55) يوماً المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون.

المعايير / Means±S.E / المجاميع	معدل اقطار البرابخ µ M	معدل اقطار التجويف µ M	معدل سمك الطبقة البربخية µ M
السيطرة السالبة (G1)	252.70±0.96 B	224.28± 0.78 A	19.33±0.46 A
عقار الاوكسي ميثلون بتركيز(5) ملغم /كغم(G2)	132.20±0.46 D	82.35±0.63 C	13.88±0.29 C
المستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز(200)ملغم /كغم (G3)	252 .18± 1.13 B	222.58±2.07 A	19.66± 0.29 A
المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز(100) ملغم /كغم (G4)	254.03±0.41 AB	221.68±1.93 A	18.95± 0.43 A
المستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز(200) ملغم /كغم + عقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم (G5)	255.60±0.99 A	222.85±0.89 A	19.35±0.47 A
المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم /كغم +عقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم /كغم (G6)	135.51±0.46 C	86.55±0.47 B	15.83±0.30 B
L.S.D	2.3857	3.8612	1.6142
P(VALUE)	0.05	0.05	0.05

الخطأ القياسي ± المعدل N=7

*الحروف المختلفة عموديا تدل على وجود فروق معنوية ($p \leq 0.05$)

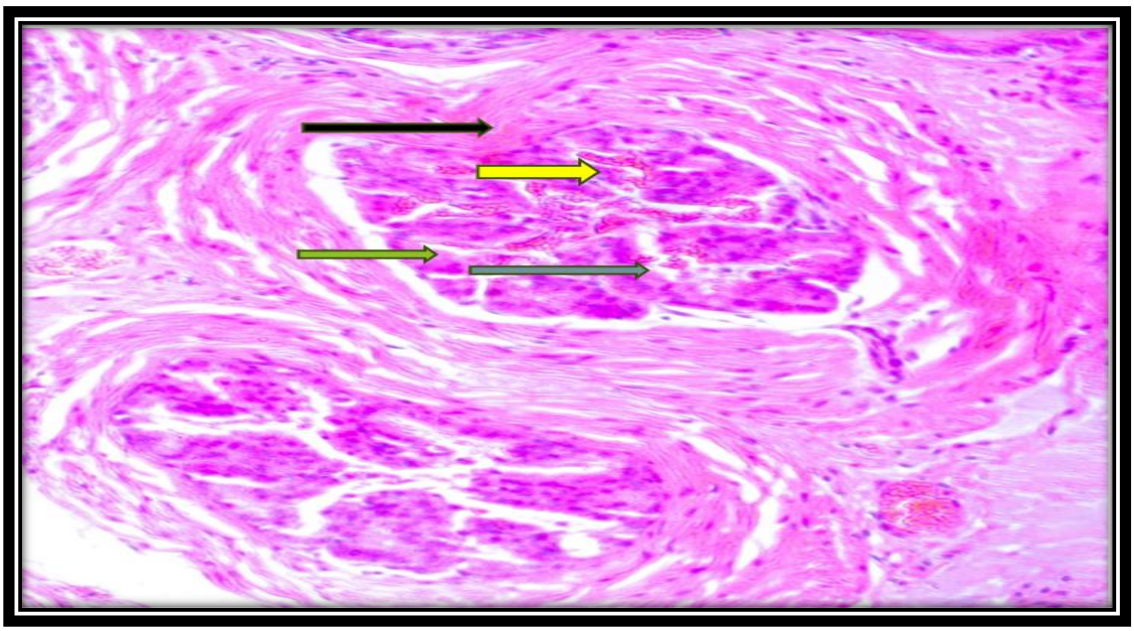
* والحروف المتشابهه عموديا تدل على عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.05$)

3.2.4. التغيرات النسجية لنسيج البروستات

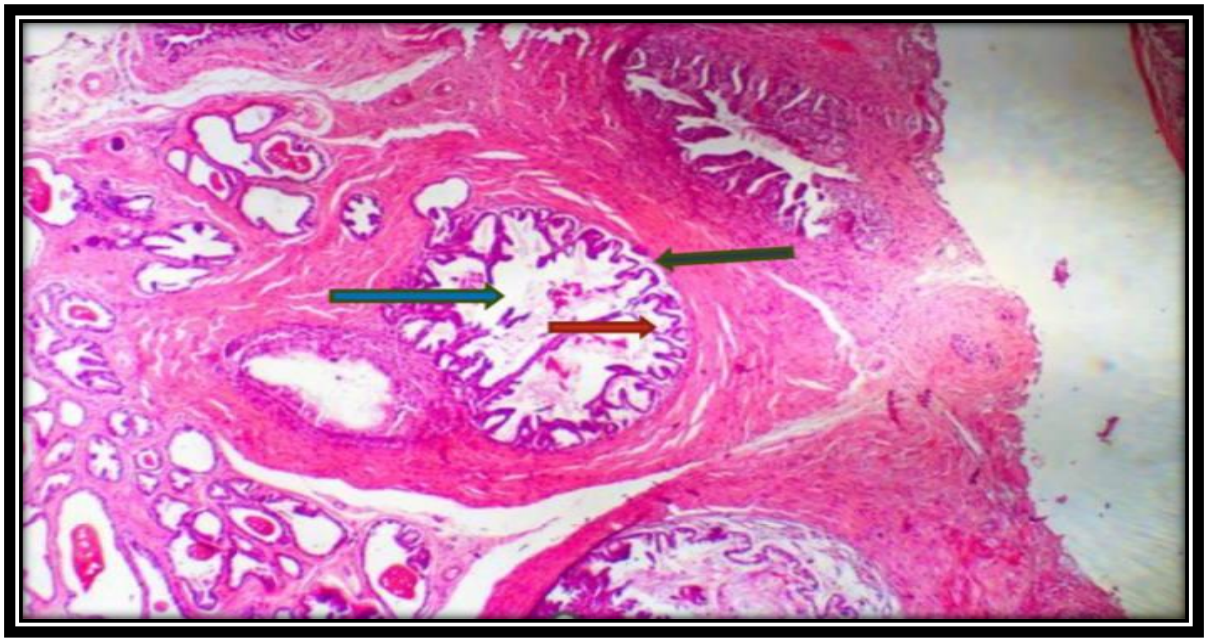
1.3.2.4. تأثير مجموعة عقار الأوكسي ميثلون بتركيز(5)ملغم/كغم على نسيج البروستات ولمدة (55) يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

اظهر الفحص النسيجي في الدراسة الحالية للبروستات في ذكور الجرذان لمجموعة السيطرة السالبة (G1) التركيب النسيجي الطبيعي المتكون من النسيج الضام بشكل طبيعي وظهر النسيج الضام البيني بين الأسناخ والنسيج الغدي بين الأسناخ مع وجود الإفرازات بشكل طبيعي كما في الصورة (4-18)،كما بينت نتائج الفحص النسيجي في الدراسة الحالية للمقاطع النسجية لنسيج البروستات في ذكور الجرذان المجرعة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة (55) يوماً تفكك النسيج الغدي الأسناخ والنسيج الضام المفكك وتفكك خلايا النسيج الغدي وقلة الإفرازات الغدية للأسناخ كما في الصورة (4-19) .

قد تكون هذه التغييرات بسبب الإجهاد التأكسدي الناجم عن تناولها عقار الأوكسي ميثلون والذي يزيد من إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية مع الضرر الناتج عن ذلك لأغشية خلاياها وكذلك أغشية العضيات الخلوية، وبذلك زيادة نفاذيتها (Ahmed, 2015) ، وأشار Kumar وجماعته (2017) الى أن الفجوات داخل سيتوبلازمها تمثل أجزاء منقبضة وممتدة من الشبكة الإند وبلازمية. فضلا عن ذلك أضافوا أن هذه الفجوات قد تكون بسبب التنكس الفجوي أو التغيرات المائية(Saba *et al.*,2023) .



صورة (4-18) مقطع نسجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة السيطرة ظهر فيه النسيج الضام بشكل طبيعي ( ) ويظهر النسيج الضام البيني بين الاسناخ ( ) والنسيج الغدي بين الاسناخ ( ) مع وجود الافرازات بشكل طبيعي ( )(ملون H +E وقوة التكبير X100) .



صورة (4-19) مقطع نسجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة العقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم ظهر فيه تفكك النسيج الغدي الاسناخ والنسيج الضام المفكك (⟹) وتفكك خلايا النسيج الغدي (⟹) وقلة الافرازات الغدية للأسناخ (⟹) (ملونE&H وقوة التكبير X100).

2.3.2.4.تأثير مجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز 200 ملغم/كغم ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون على نسيج البروستاتا لذكور الجرذان ولمدة 55 يوم.

أظهرت نتائج الفحص النسيجي للمقاطع النسجية للبروستات في الصورة (4-20) لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز (200)ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة (55) يوماً ظهر فيه النسيج الضام منتظم ومتماسك وكذلك تظهر الأسناخ اقرب الى الطبيعي والإفرازات الغديه بشكل طبيعي.

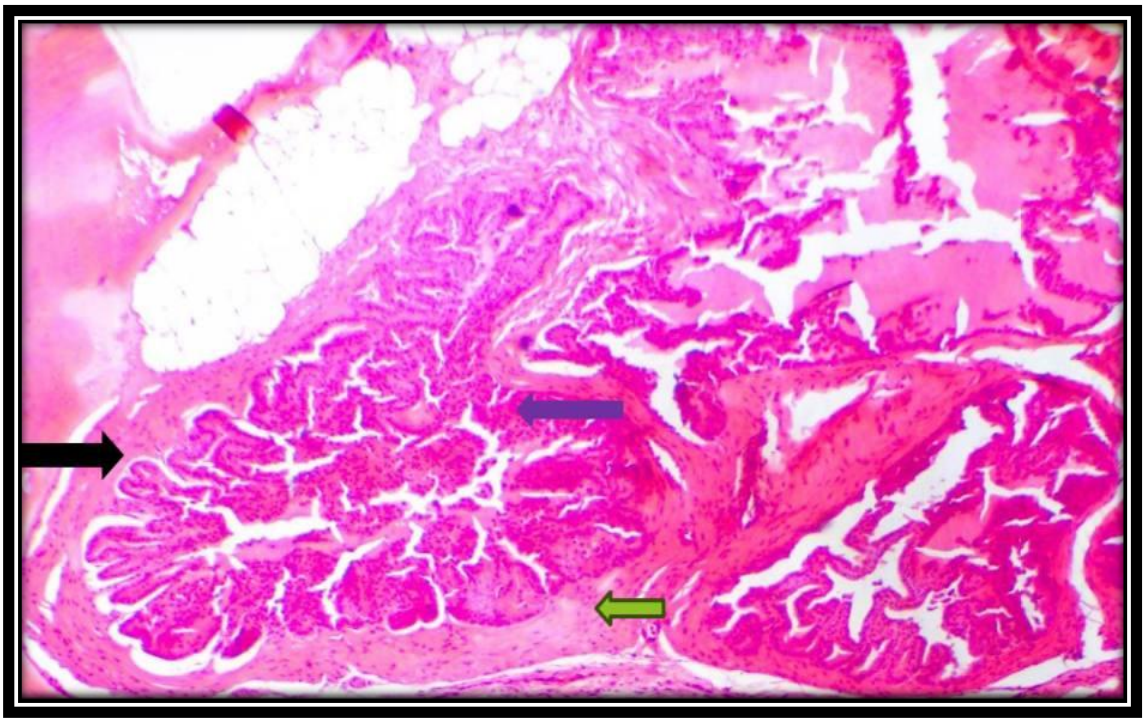
بيّنت نتائج الحالية للفحص النسجي للمجموعة الوقائية التي تم تجريعها بمستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز (200)ملغم /كغم مع الأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم/كغم من وزن الجسم ظهر فيه النسيج الضام منتظم ومتماسك وتظهر الافرازات بشكل طبيعي مع تفكك خلايا النسيج الغدي بشكل بسيط كما في الصورة (4-21) تتفق نتائج دراستنا الحالية مع (seeram *et al*.,2004; Gasco *et al*., 2007; Gonzales *etal* ., 2012; Gonzales *et al*,2013) .

في الآونة الأخيرة تم تقديم أدلة متزايدة تشير إلى أن الخضروات الصليبية (Brassicas) قد تقلل من خطر الإصابة بسرطان البروستات (Kristal *et al.*,2002; Cohen *et al*.,2000) يمكن أن يكون

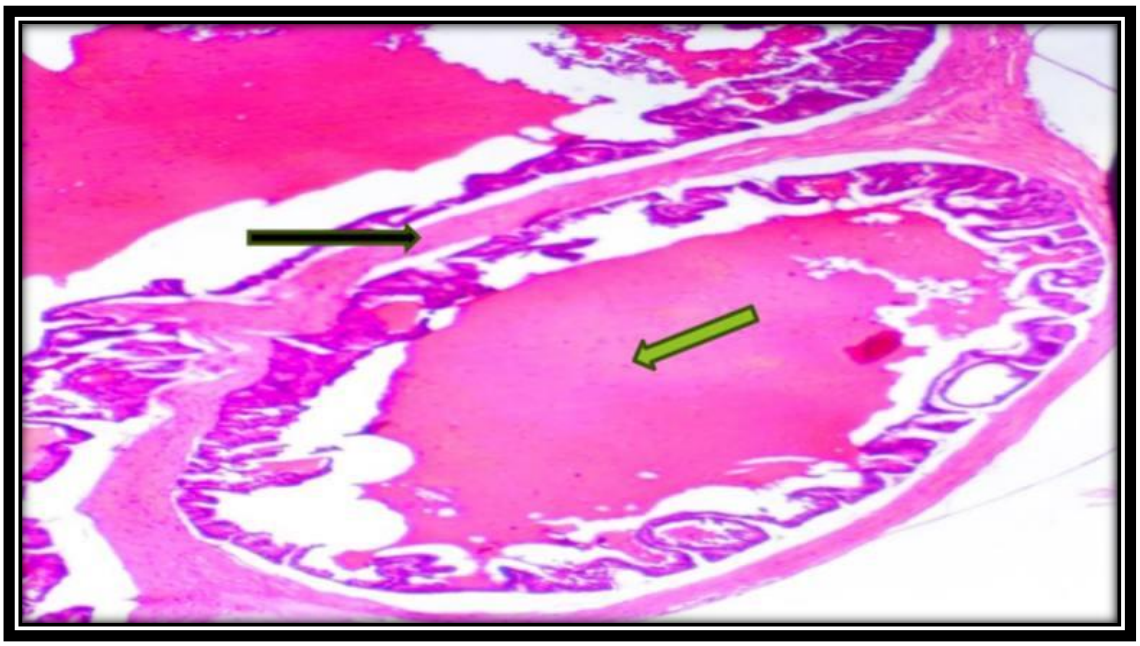
جنس الليبيديوم بديلاً مهمًا لعلاج أمراض البروستات(Martinez *et al*.,2004) مما يشير إلى أن الكرنب الصليبي من جنس الليبيديوم قد يكون له تأثيرات مهمة مضادة للتكاثر ومحفزة لموت المبرمج في الجرذان المعالجة بالماكا ، استخدمت هذه الدراسة المستخلص المائي لنبات الماكا، والتي تحتوي المستقلبات الثانوية على الجلوكوزينات (Fahey *et al*.,2001) والأنثوسيانين (Bagchi *et al*.,2004) . كلا المركبين لهما خصائص مضادة للتكاثر ومحفزة الاستماتة خلايا سرطان البروستاتا (Chiao *et al*.,2004; seeram *et al*.,2004)

لقد اقترح بأن الخضروات الصليبية تؤدي دورًا مهمًا في الوقاية من السرطان وأن تأثيراتها الوقائية الكيميائية هي نتيجة لمحتوى عالٍ من الجلوكوزينولات والتي تنتج تحت التحلل الأنزيمي مركبًا حيويًا نشطًا مثل إيزوثيوسيانات بواسطة إنزيم الميروزيناز (Keum *et al*., 2005)، و تتمتع هذه المركبات بالقدرة على تحفيز موت الخلايا المبرمج بشكل انتقائي في الخلايا السرطانية المتكاثرة بوساطة آلية تعتمد على إيقاف دورة الخلية (Miyoshi *et al*., 2004)،و في الواقع تم ربط المستقلبات من الجلوكوزينولات البنزيل بإيقاف انتشار سلالات خلايا سرطان البروستاتا (Le *et al*., 2003)، ولوحظ أن الجلوكوسينولات تعمل بشكل خاص على معارضة مستقبلات الأندروجين أو أن الماكا يمارس تأثيرًا مثبطًا عند مستوى dihydrotestosterone. (Gasco *et al*., 2007; Gonzales *etal* ., 2012).

تتمتع الماكا بخصائص غذائية ومنشطة ومعززة للخصوبة عند الذكور والإناث, ولها تأثير على الاختلالات الجنسية، وتضخم البروستات (Gonzle and Lozada-Requena,2013) ،ولها خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للأورام لذلك تعد الماكا طعامًا رائعًا يعمل على تحسين صحة الأشخاص الذين يتناولونها (Chen,2021).



صورة (4-20) مقطع نسيجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز 200 mg/kg من وزن الجسم ظهر فيه النسيج الضام منتظم ومتماسك ( ) وكذلك ظهرت الأسناخ أقرب الى الطبيعي ( ) والافرازات الغدية بشكل طبيعي ( ) (H&E،X100)



صورة (4-21) مقطع نسيجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا مع العقار الاوكسي ميثلون ظهر النسيج الضام منتظم ومتماسك ( ) وظهرت الإفرازات بشكل طبيعي ( ) (ملون H& E+ ،x 100).

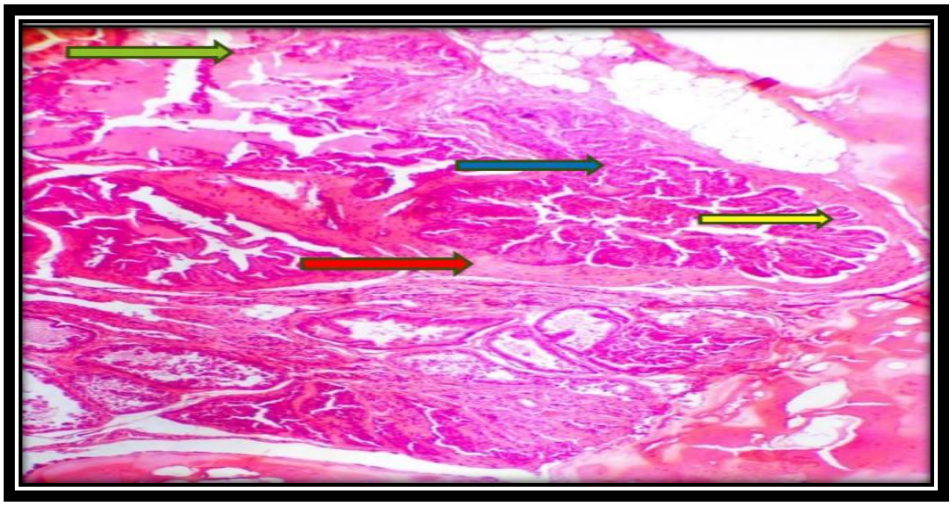
3.3.2.4. تأثير مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم/كغم ومجموعة المستخلص النانوي المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون على نسيج البروستات لذكور الجرذان ولمدة (55)يوماً.

أظهرت نتائج الفحص المجهري لمجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز 100 ملغم/كغم على نسيج البروستاتا لذكور الجرذان ولمدة (55) يوم , لوحظ فيها الإفرازات بشكل طبيعي والإفرازات الغدية بين الأسناخ بشكل طبيعي , والاسناخ ظهرت بشكل طبيعي والنسيج الضام طبيعي كما في الصورة (4-22) .أما مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز(100) ملغم/كغم والمعاملة بالأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم من وزن الجسم ظهر فيهالنسيج الضام منتظم ومتماسك الإفرازات بشكل طبيعي بين الاسناخ وظهرت الاسناخ والنسيج الغدي طبيعي كما في الصورة (4-23) .

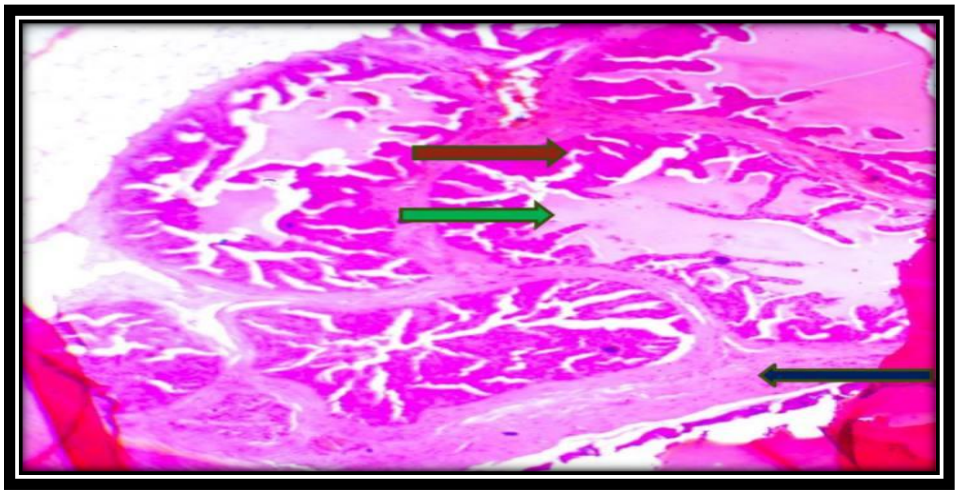
إن الماكا قد تتداخل مع عمل الأندروجين بشكل أساسي في الخلايا السدوية البروستاتية إذ يمارس تأثيراته على مستوى النسيج الضام ،وتتميز الماكا بمحتواها العالي من الجلوكوزينولات العطرية، ومؤخرًا تم وصفها على أنها ناتج استقلابي للجلوكوزينولات العطرية التي تقاوم مستقبلات الأندروجين على وجه التحديد , ومن هذا كان من المتوقع أن يكون تأثير الماكا على حجم البروستاتا البطني ناتجًا عن مستقلبات الجلوكوسينولات، ومع ذلك فقد أثبت مؤخرًا أنه بعد التحكم في محتوى الجلوكوسينولات كان الانخفاض في وزن البروستاتا ،بعد العلاج باستخدام الماكا مستقلاً عن محتوى الجلوكوسينولات (Gonzales *et al* ., 2007). وعلاوة على ذلك، فإن الماكا التي تم الحصول عليها كمستخلص كحولي مائي أو مستخلص مائي لها نفس التأثير على تقليل وزن البروستات،ويشير هذا إلى أن عمل الماكا قد يكون موجودًا في الجزء الأكثر قطبية من الماكا (Gonzales *et al* .,2008).

أظهرت إحدى الدراسات أن المركب الفعال n-butano من مستخلص الماكا كان لها تأثيرات مختلفة في الجرذان المصابة بتضخم البروستاتا الحميد الناجم عن هرمون التستوستيرون (Fano *et al*.,2017). إذ أدى جزء n-butano إلى تقليل حجم البروستات في تضخمها الحميد عن طريق استعادة التعبير عن مستقبلات الأندروجين، ويبدو أن تأثير الماكا على تضخم البروستات الحميد مرتبط بمحتوى جلوكوزينولات البنزيل قلل مستخلصها من وزن البروستات في الجرذان المصابة بتضخم البروستات الناجم عن هرمون التستوستيرون (Tafuri *et al* ., 2021) ،ومن المحتمل يؤدي الأوكسي ميثلون إلى حدوث تسمم وتغير في أنسجة غدة البروستات أعتماداً على الجرعة المعطاة ومدة العلاج مما إدى إلى خفض وزن غدة البروستات ،ويعد الماكا من المركبات المضادة للأكسدة التي تسطيع حماية الحامض النووي الحيوانات المنوية والخلايا التالفة من تأثير الجذور الحرة بواسطة أكسدة وتحسين كفاءة التكاثر،وإدى الى زيادة سمك الطبقة الظهارية

وزيادة النشاط الإفرازي لغدة البروستات للمكونات الموجودة المتمثلة بالفينولات و القلويدات والتي لها دور في زيادة مستوى هرمون الشحمون الخصوي وبدوره إدى إلى تطور التركيب النسيجي والإفرازي لغدة البروستات ،وتحتوي جذور الماكا على العديد من المستقلبات الثانوية ذات الأهمية بما في ذلك الجلوكوزينات واسترات الأحماض الدهنية، الفيتوستيرول.،و القلويدات ،والألكاميدات (الماكاميدات)(Lie *et al*.,2017) .



صورة (4-22) مقطع نسيجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم /كغم ظهر فيه الإفرازات بشكل طبيعي ( ) والافرازات الغدية بين الاسناخ بشكل طبيعي ( ) وظهرت الاسناخ بشكل طبيعي ( ) والنسيج الضام طبيعي ( ) (X100)(H&E).



صورة (4-23) مقطع نسجي مستعرض في البروستات لجرذ من مجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز 100 ملغم /كغم مع عقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم/ كغم ظهر فيه النسيج الضام منتظم ومتماسك ( ) الافرازات بشكل طبيعي بين الاسناخ ( ) وظهرت الاسناخ والنسيج الغدي طبيعي ( ) (X H&E) (100).

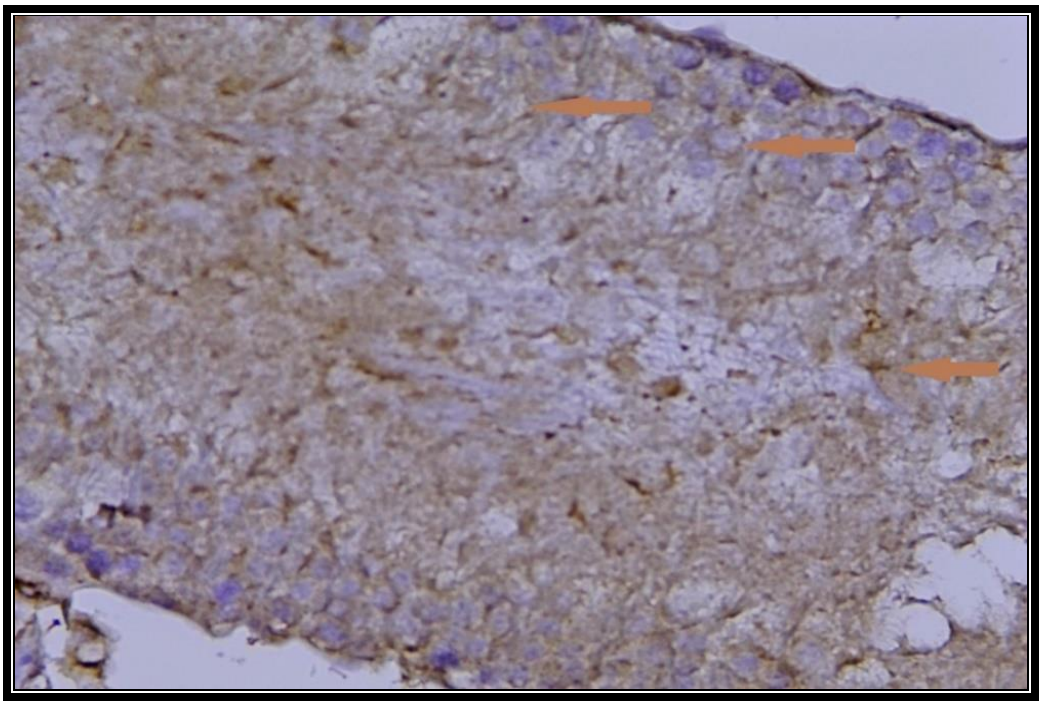
3.4. النتائج المناعية النسجية

1.3.4.نتائج عامل نخر الورم ألفا Tumar necrosis factor- alpha في الخصية

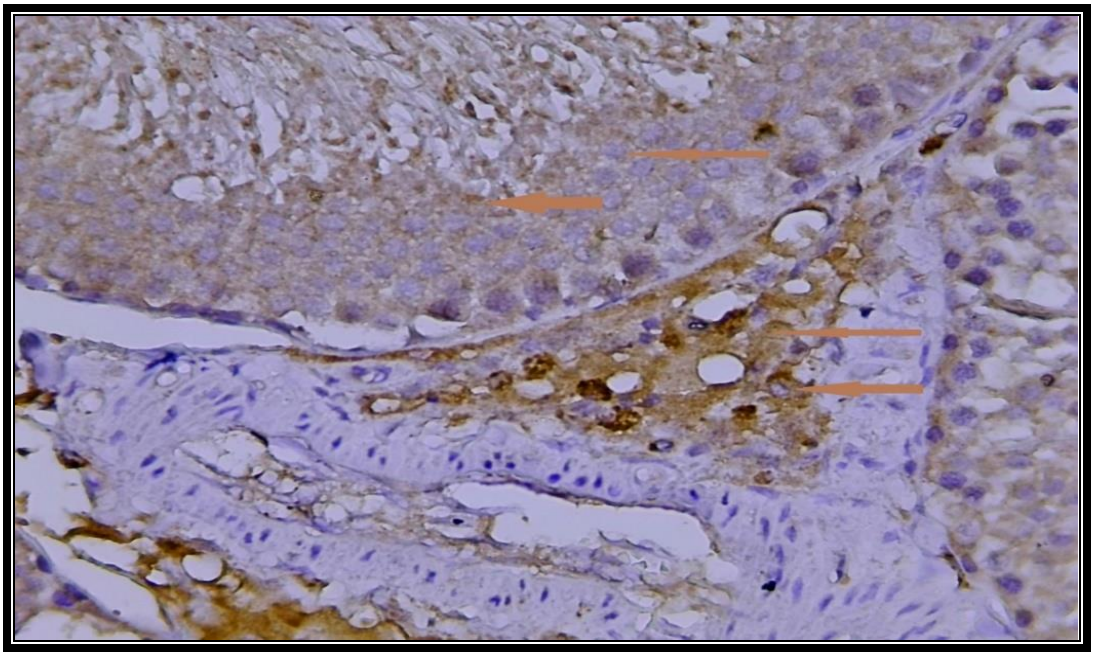
أظهرت نتائج الدراسة المناعية في سايتوبلازم الخلايا المنوية في مقاطع انسجة الخصى للجرذان تعبيرا إيجابيًا لل عامل النخر الورم ألفا بشدة متفاوتة إذ كانت SCORE +2 لحيوانات السيطرة السالبة كما في الصورة **(4-24)** ، بينما أظهرت نتائج الدراسة المناعية المجموعة المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون بأن النسيج بعد العقار في صبغة الكيمياء المناعية سجلت التعبير الجيني في منطقة الحيوانات المنوية كتعبير متوسط وكان اللون البني دلالة على عدد التعبير الجيني لعامل نخر الورم نوع ألفا صورة (4-25) وهذا يدل على أنه من الممكن أن يحدث التعبير الجيني في كلا المنطقتين الخصية والخلايا لا يدك ،و هذه النتائج جاءت مقاربة للباحث (Kanter *et al*.,2013) إذ سجل التعبير الجيني لعامل نخر الورم -ألفا محصلة ارتفاع (scrotal hyperthermia)في فترات التعرية المعرضة للإجهاد الحراري ،وكذلك تشير الدراسات السابقة إلى أن الأوكسي ميثلون يزيد من الالتهاب في أنسجة الخصية ويزيد من مستويات ال TNF-α في المصل ومما يشير إلى وجود علاقة بين إنتاج أنواع الاوكسجين التفاعلية وتقوية المسارات الالتهابية (Adewoin *et al*.,2017)

بيّنت نتائج التلوين المناعي الكيميائي لعامل نخر الورم نوع ألفا في أنسجة الخصية مع تسليط الضوء بشكل خاص على التعبير في خلايا الحيوانات المنوية وخلايا لايدك ،وكشف التلوين عند درجة معتدلة (++)ل TNF- α في سايتوبلازم الخلايا المنوية وكذلك في خلايا لايدك .يشير وجود TNF- α في خلايا الحيوانات المنوية الى استجابة التهابية نشطة أو آلية تنظيمية في هذه الخلايا الجرثومية،و من المعروف ان TNF- α يؤدي دوراً مزدوجاً في الخصية إذ يمكنه تعزيز تكوين الحيوانات المنوية في ظل ظروف معينة بينما يشارك أيضا في موت الخلايا الجرثومية اثناء الحالات المرضية ،وقد يشير التعبير المعتدل الملحوظ إلى أن خلايا الحيوانات المنوية تستجيب للمحفزات البيئية ،والتي قد تكون مرتبطة بتاثيرات الاجهاد التأكسدي أو التعديل الهرموني .،و فضلا على ذلك فأن اكتشاف TNF- α في خلايا لايدك يؤكد بشكل أكبر على دور هذا السيتوكين في وظيفة الخصية ،وتعد خلايا لايدك ضرورية لإنتاج هرمون التستوستيرون ويمكن أن يؤثر تفاعلها مع الوسطاء الالتهابيين مثل TNF- α على تكوين الستيرويد والصحة العامة للخصيتين ،وقد تشير درجة التلوين المعتدلة في هذه الخلايا إلى استجابة متوازنة للظروف الالتهابية مما يعكس تكيفاً مع العوامل المسببة للتوتر مثل تلك التي يسببها الإعطاء التجريبي لنبات الماكا. قد تؤدي الخصائص الوقائية لنبات الماكا دوراً مهماً في تعديل الاستجابة الالتهابية التي لوحظت في هذه الدراسة، بينت دراسة أن الماكا يمكن أن تعزز الصحة الإنجابية

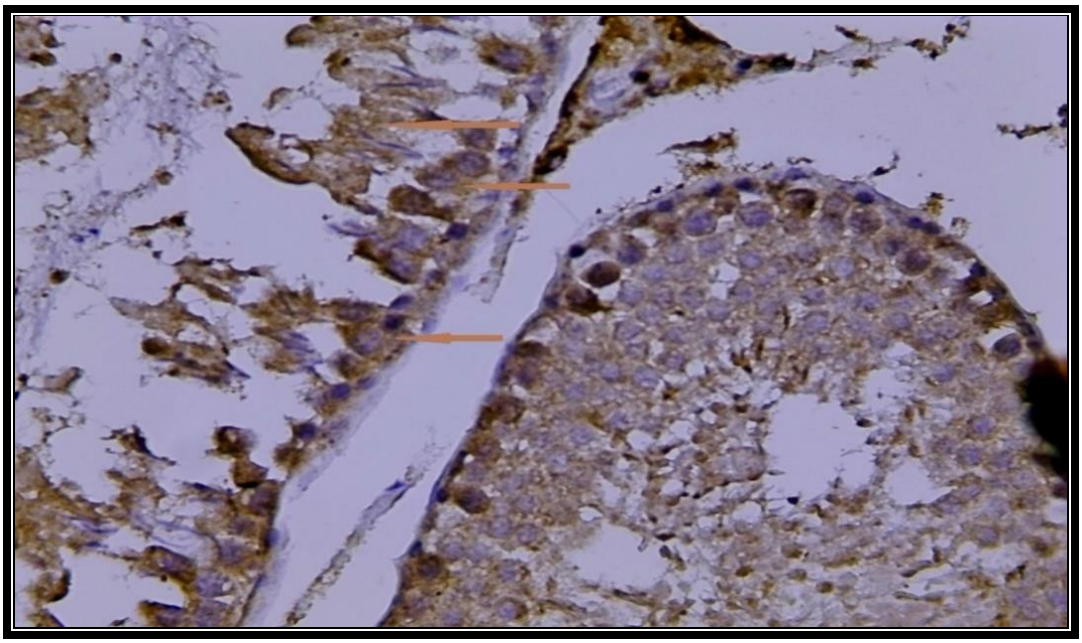
عن طريق تقليل الاجهاد التاكسدي وتحسين تكوين الحيوانات المنوية ،وقد تشير مستويات التعبير عن -عامل نخر الورم نوع الفا التي لوحظت إلى أن نبات الماكا يعمل كعامل وقائي مما قد يعاكس الالتهاب المفرط مع تعزيز بيئة مؤاتيه لتكوين الحيوانات المنوية ،وتطابقت النتائج مع Rubioوجماعته (2006) الذي أوضح بأن استخدام المستخلص المائي لنبات الماكا كعلاج وقائي للجرذان المعرضة للرصاص إذ استطاعت الماكا على تحسين التعبير الجيني للأنترلوكينات الالتهابية في الخصية المهيجة بالرصاص كما في صورة (4-26).



صورة (4-24) مقطع مستعرض في الخصية ذكور الجرذان البيض لمجموعة السيطرة ، اظهر المناطق البنية اللون (Chromagen)من TNF في السايتوبلازم للخلية المنوية تصبيغ IHC. SCORE (++).(x100)



صورة (4-25) مقطع مستعرض في الخصية في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون ،اظهر : المناطق البنية ل(TNF)(++ Score) لخلايا الحيوانات المنوية وكذلك خلايا لايدك (++score) (X100).



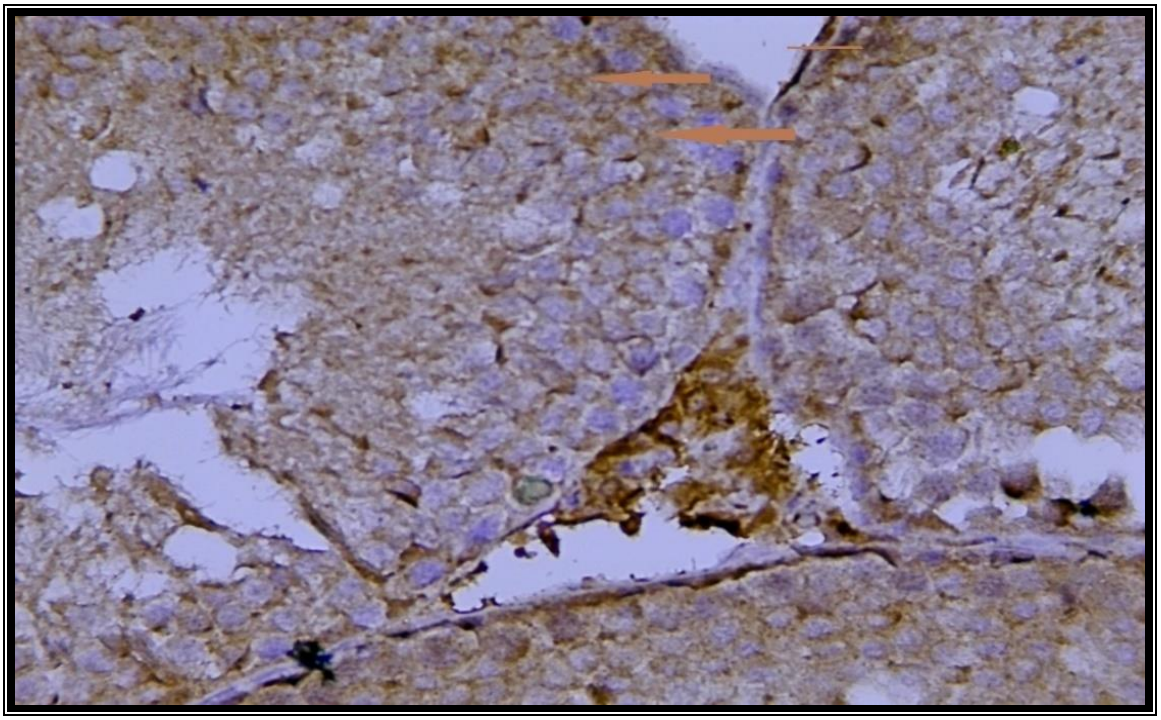
صورة (4-26) مقطع نسجي في الخصية في ذكور الجرذان البيض المعاملة بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* ،اظهر وجود spermatogonia في داخل سايتوبلازم ال (++Score)(IHC)(x100).

بيّنت نتائج الفحص المناعي الكيميائي ل، TNF- α في انسجة الخصية من الجرذان المجرعة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا أن اللون البني في سايتوبلازم أشار الى كل من خلايا الحيوانات المنوية وخلايا لا يدك ، بدرجة (++),إلى مستوى معتدل من تعبير TNF- α كما في الصورة صورة (4-27).

اشار وجود عامل نخر الورم نوع ألفا في سايتوبلازم الخلايا المنوية الى دور تنظيمي محتمل لهذا السيتوكين في تكوين الحيوانات المنوية. و تعد الخلايا المنوية بالغة الأهمية لتطور خلايا الحيوانات المنوية, وقد يمثل استجابتها ل TNF- α إلى آلية تكيفية للحفاظ على التوازن الداخلي في ظل ظروف فسيولوجية مختلفة ، و يمكن أن تعكس مستويات التعبير المعتدلة استجابة متوازنة للتأثيرات الوقائية لنبات الماكا مما قد يخفف من الالتهاب المفرط مع الاستمرار في تعزيز مسارات الإشارة الضرورية لتكوين الحيوانات المنوية، فضلاً عن ذلك فأن التعبير المعتدل عن TNF- α في خلايا لا يدك جدير بالملاحظة ، وتعد خلايا لا يدك ضرورية لإنتاج هرمون التستوستيرون، ويمكن أن يؤثر تفاعلها مع عامل نخر الورم ألفا على كل من تخليق الهرمون والوظيفة الخصوية بشكل عام. قد يشير التلوين البني في هذه الخلايا الى انها تستجيب أيضا للعلاج التجريبي، مما قد يعزز قدرتها الوظيفية او تتكيف مع الضغوطات التي تفرضها الظروف التجريبية. قد يعمل دمج الجسيمات النانوية مع على تعزيز التوافر البيولوجي وفعالية المركبات النشطة، مما يؤدي الى تحسين النتائج من حيث الصحة الإنجابية.

وقد اشارت دراسة أن نبات الماكا له خصائص مضادة للأكسدة ويمكنه تحسين معايير الانجاب .قد تدعم أنماط التعبير عن عامل نخر الورم نوع ألفا المرصودة الفرضية القائلة بأن هذا العلاج يعزز بيئة مؤاتيه لتكوين الحيوانات المنوية ووظيفة خلايا لا يدك (yang *et al.*,2021) .

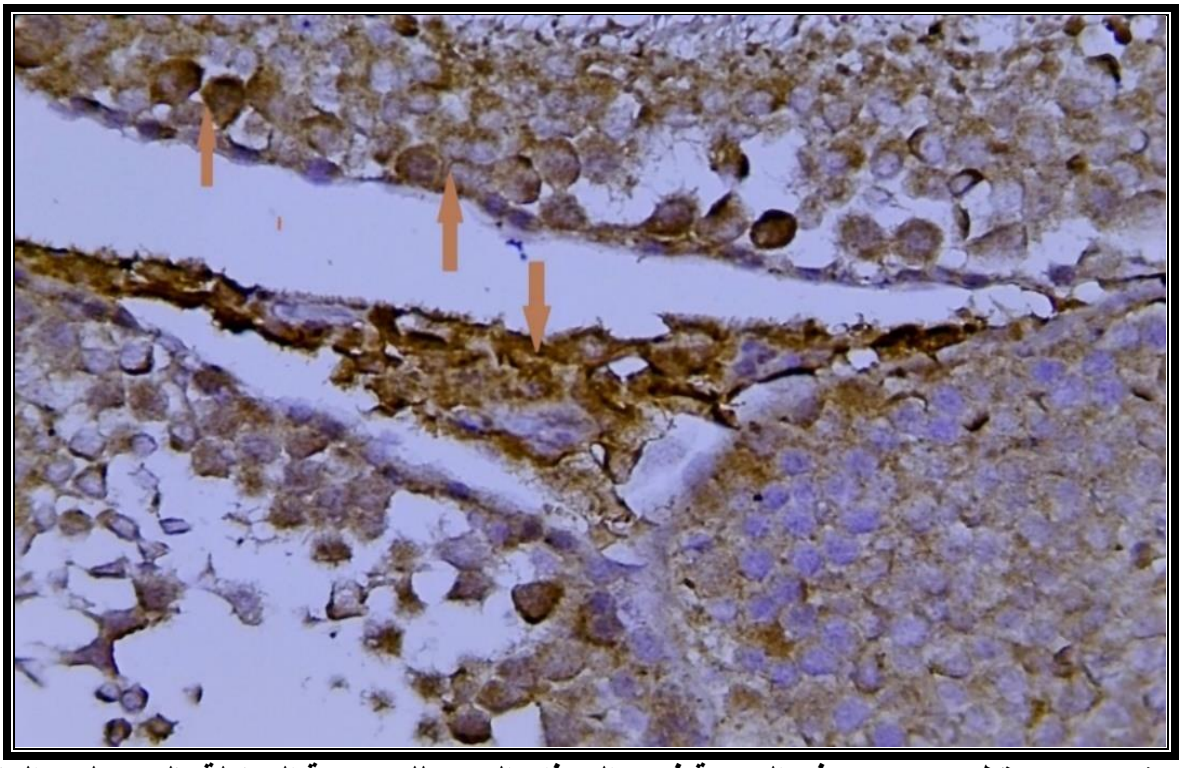
بشكل عام، يؤكد التعبير المعتدل عن عامل نخر الورم نوع ألفا في كلا النوعين من الخلايا على التفاعلات المعقدة بين الالتهاب والصحة الإنجابية .تستحق هذه النتائج مزيدا من التحقيق في الاليات التي تؤثر بها نبات الماكا و الجسيمات النانوية على مسارات إشارات عامل نخر الورم نوع ألفا ،فضلا عن فوائدها العلاجية المحتملة لتعزيز الخصوبة وصحة الخصية لدى ذكور الفئران , وجاءت هذه النتائج مقاربة مع دراسة ،باستخدام الجسيمات النانوية للمستخلص النباتي (Hashim and Alkhafagii,2023) في زيادة الفعالية البايلوجية للمستخلص النانوي للحصول على علاج فعال في الامراض السرطانية والفعالية التثبيطية للبكتريا على التوالي



صورة (4-27) مقطع مستعرض في الخصية لذكور الجرذان البيض المعاملة بالمستخلص النانوي *Lepidium meyenii* أظهر المناطق البنية اللون في السيتوبلازم لخلايا الخلايا المنوية وفي خلايا لا يدك ال (++ score)(IHC)(X100).

أوضح هذا الشكل تعبير TNF- α في أنسجة الخصية لدى ذكور الجرذان المجرعة بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون. يشير وجود اللون البني الى الكروموجين (chromagen) في خلايا الحيوانات المنوية صورة (4-28) والذي يشار اليه بدرجة (++) TNF- α إلى مستوى معتدل من التعبير الجيني لعامل نخر الورم الفا TNF- α وهذا قد يعكس التعبير الملحوظ ل TNF- α في خلايا الحيوانات المنوية استجابة التهابية داخل البيئة المحيطة بالخصية , من المعروف أن TNF- α يؤدي دورا مزدوجا في علم الاحياء التناسلية اذ يعمل عمل السايتوكين تنظيمي ووسيط للالتهاب قد يشير مستويات TNF- α المرتفعة الى اجهاد التأكسدي ، او تلف في انسجة الخصية مما قد يؤثر على تكوين الحيوانات المنوية وجاءت هذه النتائج متفقة مع (Wang *et al.*,2018) والذي بين أن الالتهاب هو استجابة بايولوجية للجهاز المناعي يمكن ان تحدث نتيجة لمجموعة متنوعة من العوامل ،بما في ذلك مسببات الأمراض والخلايا التالفة والمركبات السامة وتؤدي هذه العوامل المعدية إلى استجابة التهابية حادة أو مزمنة مما قد يؤدي إلى تلف الانسجة أو المرض وهذه العوامل تعمل على تنشيط الخلايا الالتهابية وتحفيز مسارات الإشارات الالتهابية .وقد تتفاعل العلاجات التي يتم اعطاؤها وهي المستخلص المائي لنبات الماكا المعروف بخصائصه التكيفية وعقار الاوكسي ميثلون oxymethelone هو منشط ابتنائي بطرق معقدة مع المسارات الالتهابية في الخصيتين ,

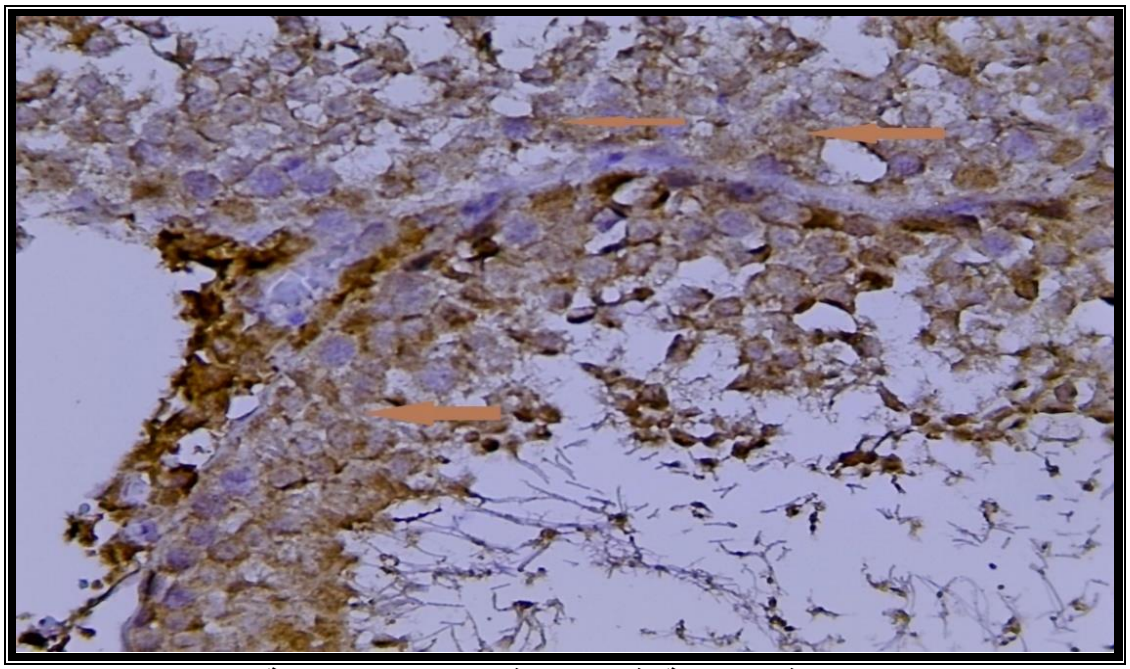
في حين أن نبات الماكا قد يكون له تأثيرات وقائية ضد الضرر الناجم عن الاجهاد التأكسدي بينما oxymethelone قد يؤدي الى تفاقم الالتهاب مما يؤدي الى زيادة التعبير عن TNF- α وقد أكدت النتائج على أهميه فهم السيتوكينات فيما يتعلق بخصوبة الذكور ، يمكن أن يؤثر الالتهاب المزمن كما هو موضح بوساطة المستويات TNF- α المرتفعة سببا على تكوين الحيوانات المنوية والصحة الإنجابية بشكل عام لذلك فان مراقبة التعبير الجيني TNF- α يمكن أن تكون بمثابة علامة حيوية مهمة لتقييم تأثير العلاجات المختلفة على وظيفة الخصية .



صورة (4-28) مقطع مستعرض في الخصية ذكور الجرذان البيض للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون ،اظهر المناطق البنية اللون (chromagen) لل TNF ال(++ Score)(IHC)(X100).

يكشف الفحص المناعي الكيميائي لنسيج الخصية للمجموعة المجرعة بالمستخلص النانوي *Lepidium meyenii* والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون عن درجة صبغة بنية كبيرة (++) في خلايا سايتوبلازم الحيوانات المنوية وخلايا لأيدك أو TNF-α ، مما يشير إلى TNF- α تعبير معتدل عن البروتين المستهدف، وربما علامة التهابية أخرى صورة (4-29). وجاءت هذه النتائج متفقة مع نتائج الباحث Kwon وجماعته (2013) إذ أشار هذا الاكتشاف إلى استجابة التهابية نشطة داخل أنسجة الخصية، والتي قد تتأثر بالعلاجات بالمستخلص

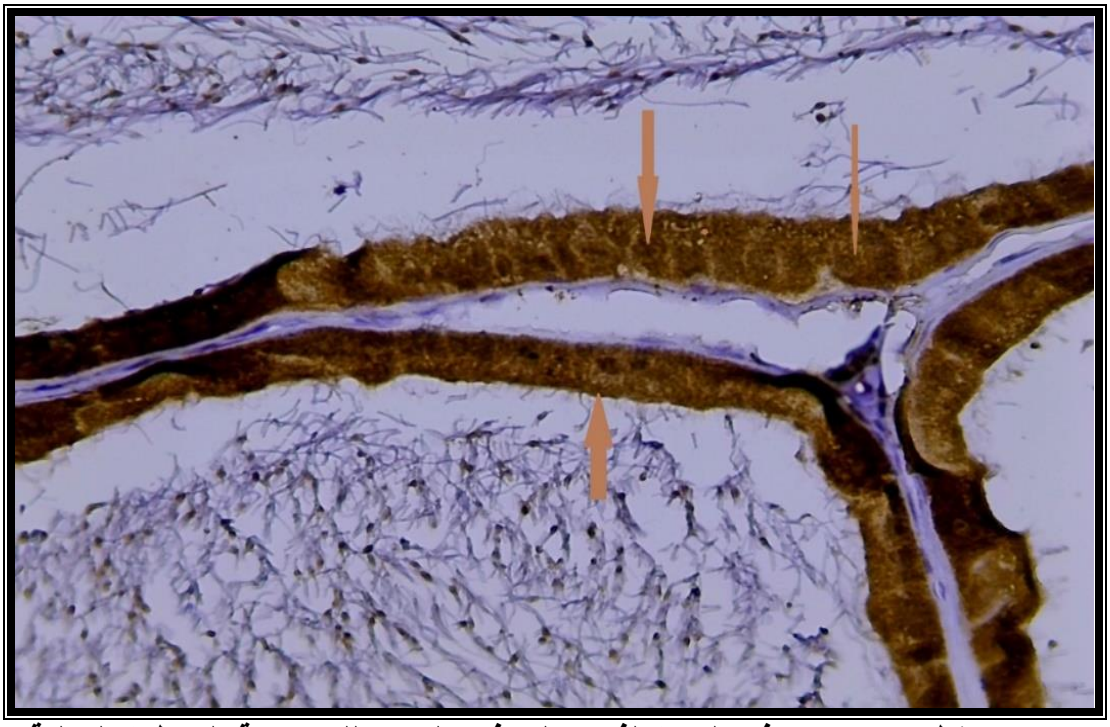
النانوي وعقار الأوكسي ميثلون استجابة الحيوانات المنوية وكذلك تشير الصبغة IHC في خلايا الحيوانات المنوية إلى أن هذه الخلايا تستجيب للعلاج وقد تخضع لتغييرات بسبب الظروف الالتهابية. يمكن أن يؤثر وجود مستويات معتدلة من TNF-α على تكوين الحيوانات المنوية من خلال التأثير على تكاثر الخلايا وتمايزها في النبيبات المنوية. مما قد يؤدي إلى تعطيل العمليات الطبيعية لتكوين الحيوانات المنوية. وكذلك يشار إلى ندرة الحيوانات المنوية بالتزامن مع ارتفاع مستويات TNF-α مخاوف بشأن ضعف الخصوبة. قد تشير هذه الحالة إلى أن البيئة الالتهابية، والتي ربما تكون ناجمة عن علاجات مثل أوكسي ميثلون وجسيمات نانوية من الماكا، تؤثر سلبًا على إنتاج الحيوانات المنوية. إن ملاحظة الحيوانات المنوية القليلة في النسيج الخصية يثير المخاوف بشأن الصحة العامة لعمليات تكوين الحيوانات المنوية. قد يشير هذا إلى ضعف تكوين الحيوانات المنوية: قد تؤدي الاستجابة الالتهابية إلى تعطيل إنتاج الحيوانات المنوية الطبيعي، مما يؤدي إلى انخفاض عدد الحيوانات المنوية، قد يشير وجود TNF-α إلى إجهاد خلوي، مما قد يؤثر سلبًا على نضوج الحيوانات المنوية وإطلاقها. قد يشير الجمع بين ارتفاع التعبير عن TNF-α و انخفاض السايتوكاين TGF- 1B مع ندرة الحيوانات المنوية إلى أنه في حين يؤثر العلاج الماكا وعقار oxymetholoneعلى الخصيتين، فقد لا يعزز تكوين الحيوانات المنوية. بدلاً من ذلك، قد يؤدي إلى حالة من الالتهاب تضر بإنتاج الحيوانات المنوية.



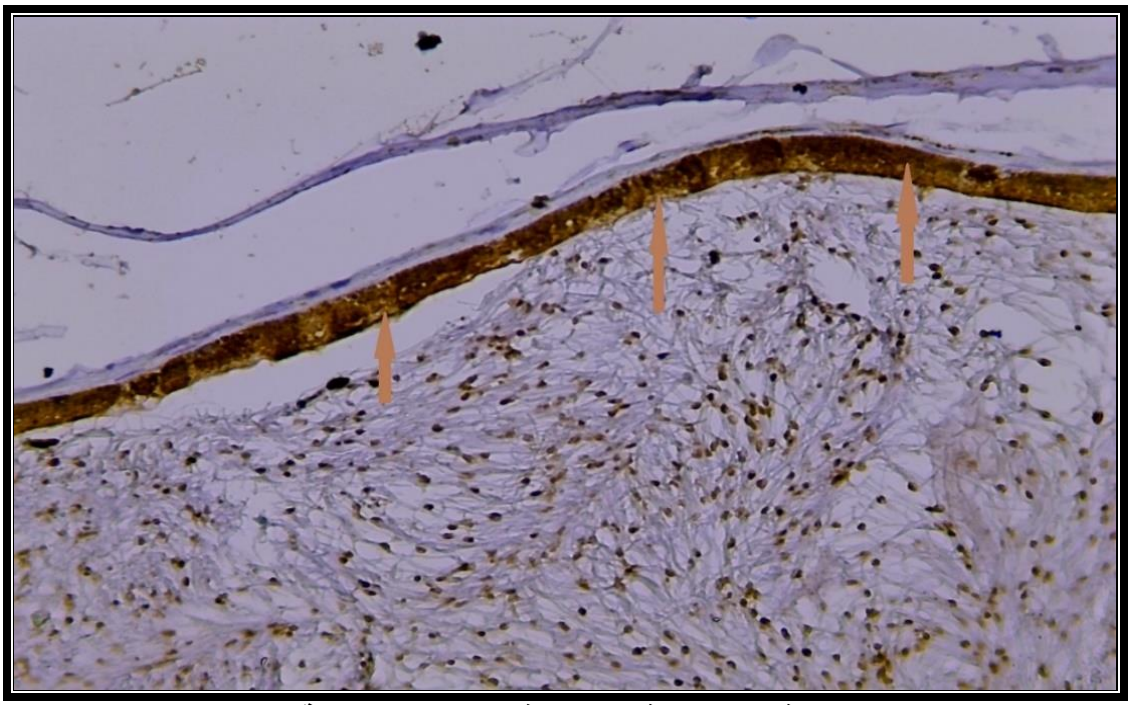
صورة (4-29) مقطع مستعرض في الخصية لذكور الجرذان البيض للمجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون :اظهر المناطق البنية اللون ال(++ score)الخلايا المنوية مع وجود حيوانات منوية نادرة (IHC)(100x).

2.3.4.نتائج عامل نخر الورم نوع الفاTumer necrosis factor _alpha في البربخ

أظهرت نتائج الدراسة المناعية في سايتوبلازم الخلايا المنوية في مقاطع أنسجة البربخ لجرذان ظهور مناطق بنية اللون من TNF في السيتوبلازم ونواة البطانة الظهارية للقناة البربخ (+++) score لمجموعة السيطرة صورة (4-30) , بينما أظهرت نتائج الدراسة المناعية المجموعة المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون وجود اللون البني (Chromagen)في (++) score في سيتوبلازم البطانة الظهارية. كشف التحليل المناعي النسيجي للبربخ لدى ذكور الفئران المعالجة بأوكسي ميثلون عن درجة الصبغة IHC بنية اللون (+++) في سيتوبلازم البطانة الظهارية كما في صورة (4-31). تشير هذه النتيجة إلى تعبير معتدل عن العلامات الالتهابية، والتي قد يكون لها آثار كبيرة على الصحة الإنجابية، كما تشير الصبغة إلى أن الخلايا الظهارية للبربخ تستجيب للعلاج بأوكسي ميثلون. من المرجح أن ترتبط هذه الاستجابة بمستويات الالتهاب المتزايدة، اذ يمكن للمنشطات الابتنائية مثل أوكسي ميثلون أن تعطل التوازن الهرموني وتحفز استجابات الإجهاد في أنسجة الخصية وكذلك للبربخ دور مهم وضروري لنضوج الحيوانات المنوية وتخزينها. قد يؤدي التعبير المعتدل عن العلامات الالتهابية إلى تغيير البيئة المحيطة اللازمة لتطور الحيوانات المنوية بشكل مثالي. ومن المعروف أن الالتهاب المزمن يضعف تكوين الحيوانات المنوية، مما يؤدي إلى انخفاض محتمل في عدد الحيوانات المنوية وجودتها قد يشير وجود العلامات الالتهابية، مثلTNF-α , في البطانة الظهارية إلى عملية التهابية مستمرة. وهذا أمر مثير للقلق إذ ارتبطت المستويات المرتفعة من هذه العلامات بانخفاض الخصوبة وزيادة خطر خلل الحيوانات المنوية. يمكن أن يعيق الاضطراب في وظيفة الظهارة نقل الحيوانات المنوية ونضجها، قد يحفز أوكسي ميثولون الإجهاد التأكسدي ويغير إنتاج السيتوكينات، مما يؤدي إلى التغييرات الملحوظة في البطانة الظهارية. وهذا يشير التلوين المعتدل (++) إلى أنه في حين أن الاستجابة الالتهابية موجودة، فقد لا تكون بعد على مستوى مزمن، مما يسمح بإمكانية التعافي إذا تم تعديل العلاج أو إيقافه هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتوضيح المسارات المحددة التي يؤثر بها الأوكسي ميثلون على ظهارة البربخ. إن التحقيق في الديناميكيات الزمنية للالتهاب وتأثيره على معايير الحيوانات المنوية من شأنه أن يوفر رؤى عميقة لاستخدام المنشطات الابتنائية على الصحة الإنجابية للذكور. فإن البقع البنية المعتدلة التي لوحظت في بطانة ظهارة البربخ لدى ذكور الجرذان المعاملة بالأوكسي ميثلون تسلط الضوء على إمكانية حدوث تغييرات التهابية يمكن أن تؤثر سلبًا على نضوج الحيوانات المنوية والخصوبة بشكل عام. إن فهم هذه التأثيرات أمر بالغ الأهمية لتقييم المخاطر الإنجابية المرتبطة باستخدام المنشطات الابتنائية.(O'Connor *et al.*,2005).



صورة (4-30) مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض للمجموعة السيطرة السالبة : أظهر المناطق البنية اللون لعامل TNF الموجود في السيتوبلازم والغشاء الخلوي لقناة البطانة الظهارية (score+++)(IHC)(X100).



صورة (4-31) مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون :أظهر المناطق البنية اللون (score ++) في السيتوبلازم في البطانة الظهارية (IHC)(100X).

يكشف الفحص المناعي النسيجي لعامل نخر الورم نوع ألفا في البربخ لدى ذكور الجرذان البيض المعالجة بالمستخلص المائي ii*Lepidium meyen* وجود الكروماجين البني اللون الى التعبير الجيني الإيجابي ل TNF- α score(+++) في سايتوبلازم الخلايا الظهارية لوعاء البربخ لاحظ صورة (4-32) .

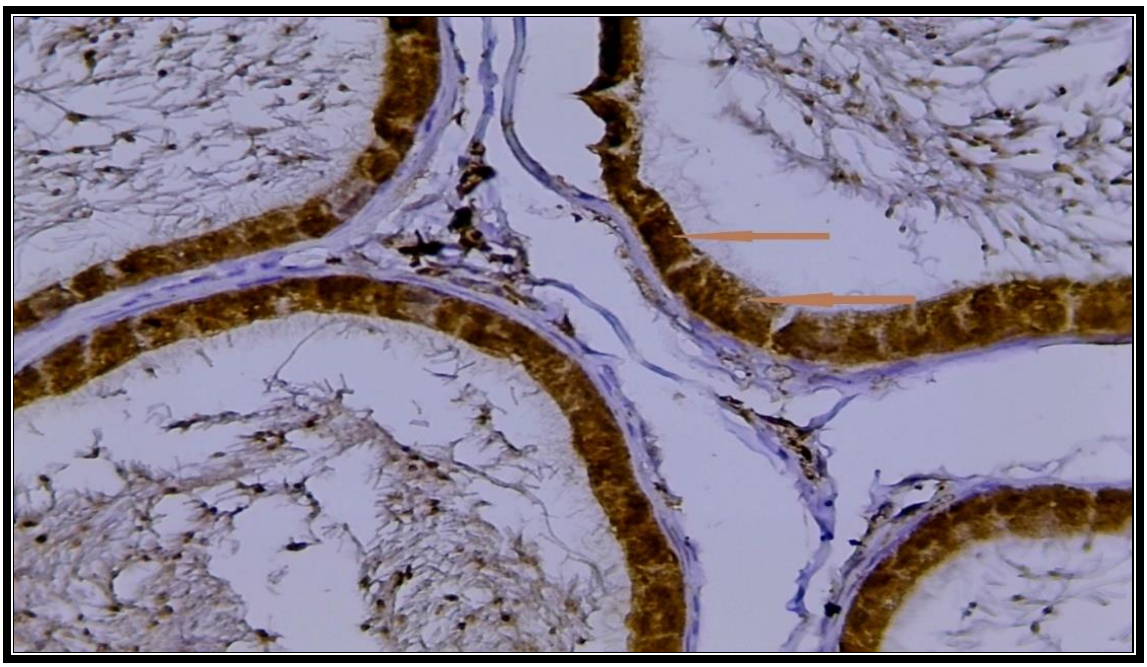
إن تنظيم السيتوكينات المؤيدة للالتهابات وغيرها من منظمات المناعة من أجل منع الاستجابات الالتهابية والمناعية في الخصية ومن أدوار عامل نخر الورم ألفا والانترلوكين 1(IL-1) و الوظيفة الأساسية في زيادة الالتهاب في الخصية الجرذان.

اتفقت نتائج دراستنا الحالية مع Fijak and Meinhardt (2006) إذ وضح تأثير لعامل نخر الورم نوع ألفا على الخصوبة عند الذكور ترتبط . المستويات المرتفعة من عامل نخر الورم الفا الى استجابة التهابية التي يمكن أن تؤثر سلباً على تكوين الحيوانات المنوية و يمكن أن يؤدي الالتهاب المزمن في البربخ إلى ضعف تكوين الحيوانات المنوية ، وكذلك يمكن أن يحفز عامل نخر الورم نوع ألفا الإجهاد التأكسدي في الأنسجة التناسلية الذكرية مما يؤدي الى تلف الخلايا وكذلك يؤثر على حركة الحيوانات المنوية وقابلتيها للبقاء وسلامة الحامض النووي والتي تعد بالغة الأهمية للتخصيب الناجح ، مما يشير الى التخليق النشط أو الاستجابة للالتهابات او الإجهاد ويشير وجود الصبغة IHC لعامل نخر الورم الفا TNF- α إلى أن مستخلص المائي لنبات الماكا قد يؤثر على المسارات الالتهابية في البربخ TNF- α ،وهو أحد السيتوكينات الرئيسية المشاركة في تنظيم الاستجابات المناعية والالتهابات يمكن أن يؤثر TNF- α على تكوين الحيوانات المنوية ووظيفتها بينما يعمل المستخلص المائي لنبات الماكا على خفض التعبير الجيني لعامل نخر الورم الفا مما قد يخفف من الاستجابات الالتهابية المفرطة ،ويمكن أن يعزز هذا في بيئة أكثر صحة لنضوج الحيوانات المنوية ونقلها أن المستخلص المائي لنبات الماكا له تأثيرات وقائية عن طريق موازنة السيتوكينات الالتهابية ومن ثم منع الاجهاد التاكسدي والالتهاب في البربخ ،ويعد هذا التوازن ضروري للحفاظ على الصحة الإنجابية وان فهم دور عامل نخر الورم الفا في استخدام المستخلص المائي امر ضروري لتقييم إمكاناته كعامل علاجي لتعزيز الخصوبة لدى ذكور وحماية من الالتهابات التي تؤثر على الخصوبة (Agarwal *et al*.,2014)

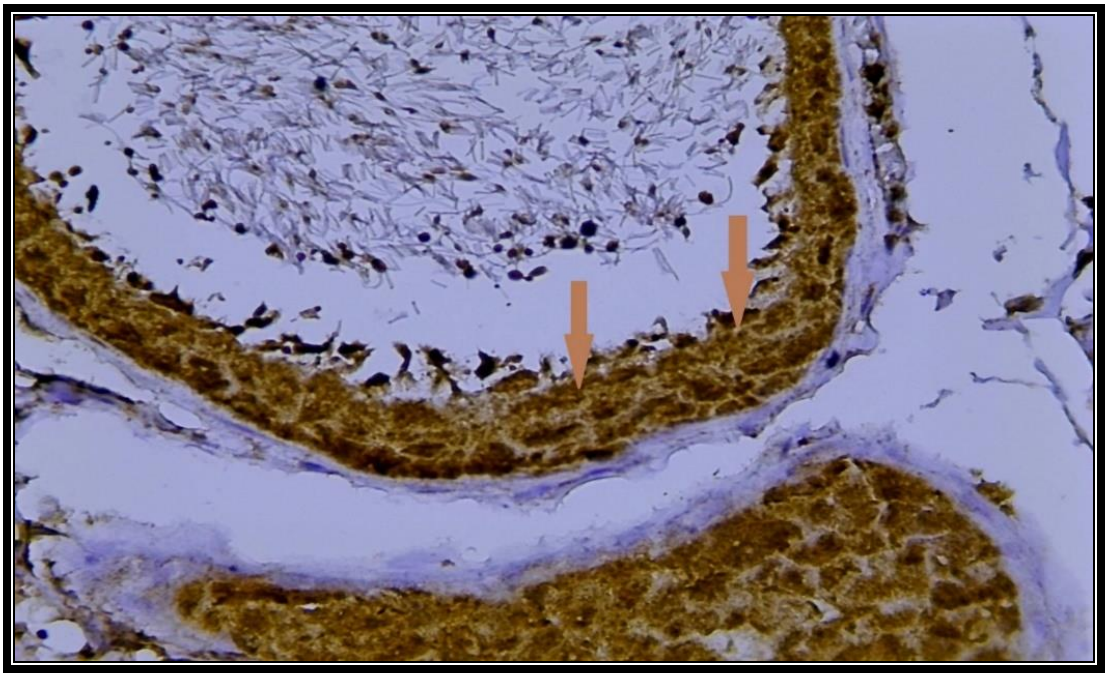
يكشف الفحص المناعي الكيميائي للبربخ من ذكور الجرذان للمجموعة المعالجة بالمستخلص المائي والمعاملة بعقار الأوكسي ميثلون عن الصبغة الإيجابية IHC وجود اللون البني (الكروماجين) في البطانة الظهارية للقناة (+++) score الى التعبير عن بروتينات معينة صورة (4-33) ،مما يشير إلى حدوث تغييرات في تخليق البروتين داخل نسيج البربخ ،وكذلك تشير الصبغة الملحوظة في سايتوبلازم خلايا الظهارية الى

استجابات خلوية نشطة من المحتمل ان تكون مرتبطة بالالتهاب أو آليات حماية المناطق المحددة بالأسهم الى مناطق ذات أهمية حيث تم ملاحظة تغييرات كبيرة في التعبير عن البروتين مما يعكس تأثيرات العلاج ،وتأثير الأوكسي ميثلون هو ستيرويد بنائي بإمكانه تعزيز كتلة العضلات وبنائها ولكنه قد يحفز أيضاً استجابات التهابية في الانسجة التناسلية يمكن أن يمثل اللون البني إلى استجابة خلوية للإجهاد أو الالتهاب الناجم عن الستيرويد في البربخ، وقد يعزز المستخلص المائي لنبات الماكا التعبير عن البروتينات الواقية مما يدل إلى تأثيره الوقائي للخلايا ويساعد في الحفاظ على بيئة دقيقة مؤاتيه لنضج الحيوانات المنوية ووظيفتها مما يعاكس أي تغيرات ضارة ناجمة عن عقار الأوكسي ميثلون ،وجاءت نتائج هذه الدراسة مقاربة لما توصل إليه الباحث Garcia وجماعته (2022) من لأن دور المستخلص المائي لنبات الماكا فوائد وقائية ضد الآثار الضارة لأوكسي ميثولون.

تعطى نتائج إحدى الدراسات السابقة إلى أن مستويات TNF-α المرتفعة يمكن أن تعمل كعلامات حيوية لقضايا الخصوبة المرتبطة بالالتهاب. على العكس من ذلك، قد *يوفر* نبات الماكا إمكانات علاجية لتحسين الصحة الإنجابية للذكور بواسطة تعديل الاستجابات الالتهابية (Martinez *et al*.,2022).



صورة (4-32) مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا :*Lepidium meyenii* اظهر مناطق البنية اللون في السايتوبلازم ونواة الخلية المبطنة لوعاء البربخ (+++ score)(100x).



صورة (4-33) مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون : أظهر المناطق البنية اللون (chromagen)في البطانة الظهارية للقنوات (+++ score)(IHC).

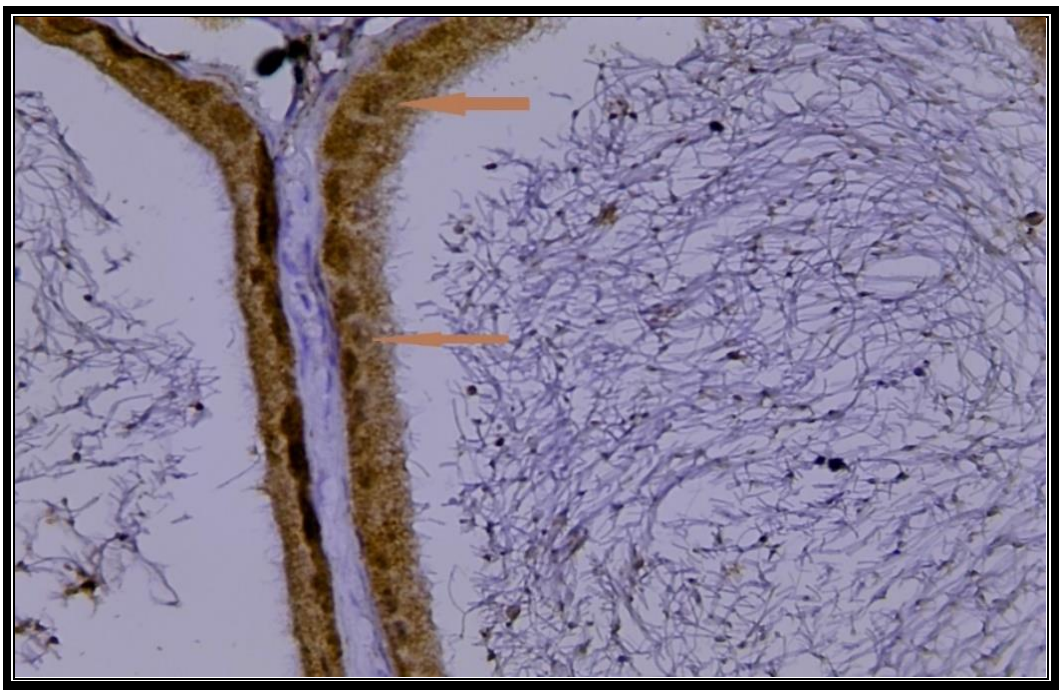
أشار الفحص المناعي النسيجي لمجموعة ذكور الجرذان المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات الماكا *Lepidium meyenii* إلى وجود أكسيد الزنك النانوي (nZnO) في البربخ, والذي يتميز بوجود صبغة IHC محددة ،ولوحظت في الأنسجة التلوين الإيجابي يسلط الكروموجين البني الضوء على المناطق التي يوجد فيها أكسيد الزنك النانوي مما يدل إلى دمجه في الخلايا الظهارية البربخية صورة (4-34) ،وقد وجد أن التوزيع الخلوي قد يتركز التلوين في مناطق معينة, مما يدل إلى المكان الذي يتفاعل فيه المستخلص النانوي لنبات الماكا مع الخلايا الظهارية, و قد يؤثر على وظيفتها والبيئة المحيطة بنضوج الحيوانات المنوية ، و ذكر الباحث Khanوجماعته (2022) أن جسيمات الزنك النانوية تتميز بخصائصها المضادة للأكسدة ، والتي يمكن أن تقلل من الاجهاد التاكسدي في الأنسجة التناسلية .،وتعطي الصبغة الإيجابية إلى أن أكسيد الزنك موجود بشكل فعال في البربخ مما قد يخفف من الضرر التأكسدي ويدعم صحة الحيوانات المنوية، وذكر الباحث patel وجماعته (2022) إلى تأثير جسيمات الزنك النانوية على وظيفة البربخ يعمل على تعزيز الوظائف الخلوية مثل امتصاص العناصر الغذائية ونقل الايونات والحفاظ على البربخ وأنه يعد أمراً ضرورياً للنضج وتخزين الحيوانات المنوية اثناء مرورها عبر البربخ ، أما بالنسبة لمجموعة المستخلص النانوي لنبات الماكا والمعاملة بعقار الأوكسي ميثلون نتائج الدراسة المناعية أظهرت مناطق اللون البني للخلايا الظهارية السيتوبلازمية

(+++) score صورة (4-35) , مما يمثل الى التعبير الإيجابي عن البروتينات المستهدفة الدرجة التلوين (+++) Score إلى مستوى عال من التعبير البروتيني والذي قد يرتبط بوظائف خلوية محسنة مثل زيادة نشاط مضادات الأكسدة وتحسين عمليات نضوج الحيوانات المنوية مما يعكس التعبير القوي ،ويدل هذا الى وجود قوي للبروتينات المرتبطة بنشاط مضادات الأكسدة وتكوين الحيوانات المنوية ،ولوحظ في المقطع النسجي الخلايا الظهارية للبربخ سليمة مع وجود علامات طفيفة للالتهاب ،كان وجود الحيوانات المنوية الناضجة بارزاً وأظهرت الخلايا الظهارية حدوداً سايتوبلازمية محددة جيداً وبواسطة نتائج دراستنا الحالية لوحظ أن المستخلص النانوي لنبات الماكا مع علاج الأوكسي ميثلون له دور في تعزيز التعبير البروتيني داخل البربخ .

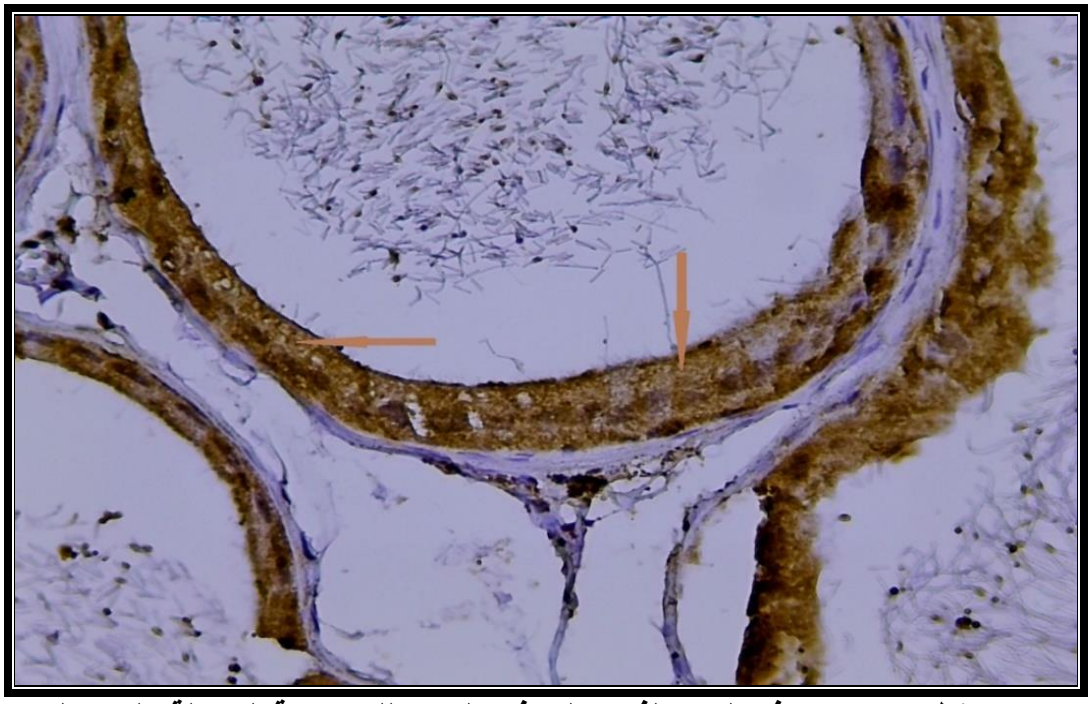
التعبير البروتيني السايتوبلازمي يد ل اللون البني على زيادة كبيرة في البروتينات التي قد تشارك في آليات الدفاع المضادة للاكسدة ،والتي تعد ضرورية لحماية الحيوانات المنوية من الاجهاد التاكسدي .وهذا يتفق مع نتائج إحدى الدراستات السابقة التي تؤكد على الدور الوقائي لمضادات الأكسدة في الصحة الإنجابية Ranjbar *et al.*,2020))ولوحظ أن الآثار المترتبة على تكوين الحيوانات المنوية تدل على مستوى (+++)score إلى أن العلاج قد أثر بشكل إيجابي على العمليات المولدة للحيوانات المنوية داخل البربخ ،ويمكن ربط التعبير البروتيني المعزز في الخلايا الظهارية بدعم محسن لنضج الحيوانات المنوية وتخزينها, وهو امر ضروري لخصوبة الذكور .

جاءت هذه النتائج مقاربة إلى نتائج الباحث Gonzales وجماعته (2020) الذي لاحظ التغييرات التي سببها المستخلص النانوي لنبات الماكا على الجهاز التناسلي على تعديل الاجهاد التأكسدي والالتهاب ،وهما عاملان حاسمان يؤثران على جودة الحيوانات المنوية ،وتشير الاستجابة المناعية القوية الى تكيف خلوي لهذه العلاجات مما يعزز الوظيفة العامة للبربخ وأن التفاعل بين عامل نخر الورم ألفا (TNF-α) والعلاجات التي تتضمن المستخلص النانوي لنبات الماكا وعقار الأوكسي ميثلون أمراً بالغ الأهمية لفهم الصحة الإنجابية للذكور ووظيفة البربخ، فضلاًعن ذلك أثبتت الدراسة أن جسيمات الزنك النانوية يمكن أن تعمل كمضادة للأكسدة ومضاد للالتهابات للحد من TNF-α يمتلك المستخلص النانوي القدرة على تثبيط تعبير TNF-α ،ومن ثم تقليل الالتهاب في البربخ تساعد هذه الحماية في الحفاظ على بيئة اكثر صحة لنضج الحيوانات المنوية، فضلاًعن الخصائص المضادة للأكسدة من خلال تخفيف الاجهاد التاكسدي ،وتدعم الجسيمات الزنك النانوية جودة الحيوانات المنوية ووظيفتها ،ويواجه الآثار السلبية المرتبطة بمستويات TNF-αالمرتفعة (Zhan *et al.*,2023)

يعرف الماكا بتأثيراته التكيفية وامكاناته في تعزيز الصحه الإنجابية على تعديل TNF-αقد تمارس نبات الماكا ذات تأثيرات مضادة للالتهابات تساعد في خفض مستويات TNF-α في البربخ ،مما يعزز الظروف المؤاتيه لصحة الحيوانات المنوية (Gonzales *et al*.,2023)،و لوحظ التوازن الهرموني بواسطة زيادة مستويات هرمون التستوستيرون ،و يمكن أن تعزز الماكا الوظيفة الإنجابية الشاملة وتخفف من الاثار الضارة للالتهابات التي يسببها TNF-α وكذلك تأثيرات أوكسي ميثلون، وهو ستيرويد بنائي له تفاعلات معقدة، مع الجهاز التناسلي بواسطة زيادة مستويات TNF-α في حين يعرف عن اوكسي ميثلون أنه يعزز كتلة العضلات, الأنه قد يرفع أيضاً من العلامات الالتهابية مثل TNF-α ،والتي يمكن أن تؤثر سلباً على إنتاج الحيوانات المنوية وجودتها إذ لوحظ أيضا أن ارتفاع مستويات TNF-α المحفزة باستخدام الأوكسي ميثلون يسلط الضوء على أهمية دمج العوامل المضادة للالتهابات مثل جسيمات الزنك النانوية ونبات الماكا للتخفيف من هذه التأثيرات(Smith and doe,2023).



صورة (4-34) مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض للمجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*: أظهر المناطق البنية اللون في السايتوبلازم في البطانة الظهارية للقنوات(++ score) (IHC) (100X).



صورة (4-35) مقطع مستعرض في البربخ لذكور الجرذان البيض للمجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا Lepidium meyenii والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون: اظهر المناطق البنية اللون (Chromagen)في السايتوبلازم للخلايا الظهارية (+++ score)(IHC).

4.4 . الدراسة الفسلجية أو الوظيفية

1.4.4 تأثير المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا *على* الجرذان البيض المعاملة بـعقار الاوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم\كغم على معدل مضادات الاكسدة الكلوتاثيون (GSH) وبيروكسيد (SOD) والمواد المؤكسدة المالونديهايد (MDA)في مصل الدم لذكور الجرذان البيض ولمدة 55 يوم.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الموضحة في الجدول (4-6) مستوى مضادات الأكسدة و المواد المؤكسدة ولاحظنا حصول انخفاضاً معنوياً ($P\leq0.05$) في معدل مستوى SOD, GSH (0.56± 9.28) (1.94 ± 297.74) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (0.61±37.67) (1.52 ± 435.36) لمصل دم مجموعة ذكور الجرذان المجرعة بالأوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم\كغم من وزن الجسم يومياً على طول مدة التجربة البالغة (55) يوماً ،ولوحظ حصول ارتفاعاً معنوياً ($P\leq0.05$)في معدل مستوى MDA (0.66±23.53) بالمقارنة مع مجموعة ذكور الجرذان للسيطرة السالبة (0.39±7.38).

أوضحت نتائج الدراسة الحالية المبينة في الجدول (4-6) عدم وجود فروق معنوية ($p\geq0.05$)بين مجموعة السيطرة السالبة والمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *بتركيز* (200) ملغم\كغم لمستوى

GSH ,SOD, MDA والبالغة (7.33±1.54) (0.94 ±436.27) (9.33 ±38.58) على التوالي لمصل دم ذكور الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا فقط بتركيز (200)ملغم\كغم لمدة (55)يوماً بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (0.39±7.38) (1.52±435.36) (0.61±37.67) على التوالي . وأيضا حصول ارتفاع معنوي (P≤0.05)في ال GSH،SOD لمجموعة G3 قياساً مع مجموعة G2،وانخفاض معنوي (P≤0.05)ل MDA للمجموعة G3 قياساً مع G2

بيّنت نتائج الدراسة الحالية الموضحة في الجدول (4-6) عدم وجود فروق معنوية(P≥0.05) بين مجموعة السيطرة السالبة والمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز (100) ملغم\كغم المذكور لمستوى MDA,SOD والبالغة (0.32±6.64) (1.43 ±438.90) على التوالي لمصل دم ذكور الجرذان بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (0.39±7.38) (1.52±435.36) على التوالي , و لاحظنا وجود ارتفاع معنوي(P≤0.05) في مستوى GSH (0.58± 40.10) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (0.61±37.67).بينما لوحظ حصول ارتفاع معنوي (P≤0.05)في SOD,GSH لمجموعة (G4)قياساً مع (G2)وانخفاض معنوي (P≤0.05)ل MDA ل(G4) قياسا مع (G2).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية في الجدول (4-6) لمجموعة المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز (200) ملغم\كغم والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم\كغم من وزن الجسم يوميا على طول مدة التجربة البالغة (55)يوماً ،لوحظ حصول انخفاض معنوي (P≤0.05)في مستوى MDA (0.47±8.69) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (0.66±23.53) ،ولوحظ وجود ارتفاع معنوي (P≤0.05) في مستوى SOD و GSH (1.70±430.86) (0.50±32.95) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (1.94±297.74) (0.56±9.28) على التوالي وعدم وجود فروق معنوية (p≥0.05) لهذه الفحوصات بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة ، أما بالنسبة لمجموعة المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز(100) ملغم\كغم المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم\كغم من وزن الجسم يوميا على طول مدة التجربة البالغة(55) يوماً، لوحظ وجود انخفاض معنوي(P≤0.05) في مستوى MDA (.49 0±6.57) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (0.66±23.53) ،ولوحظ وجود ارتفاع معنوي (P≤0.05) في مستوى SOD و GSH (0.90±436.53) (1.48±38.62) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (1.94±297.74) (0.56±9.28) على التوالي وعدم وجود فروق معنوية (p≥0.05)لهذه الفحوصات بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة كما في جدول (4-6).

الجدول (4-6) تأثير المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* على مستوى المالونداياالديهايد (MDA) والكلوتاثيون (GSH) والسوبراوكسيد (SOD) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بعقار الأوكسي ميثلون.

المعاملات	S.E ± Means		
	MDA µmol/L	SOD µmol/L	GSH µmol/L
Control السيطرة السالبة (G1)	7.38 ±0.39 C	435.36±1.52 A	37.67±0.61 B
عقار Oxymethelone بتركيز (5)ملغم/كغم السيطرة الموجبة (G2)	23.53±0.66 A	297.74±1.94 C	9.28±0.56 D
المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز (200) ملغم/كغم (G3)	7.33±1.54 C	436.27±0.94 A	38.58±9.33 AB
المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii*بتركيز (100)ملغم /كغم (G4)	6.64 ±0.32 C	438.90±1.43 A	40.10±0.58 A
المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium Meyenii*بتركيز (200)ملغم/كغم + عقارالاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم /كغم (G5)	8.69±0.47 B	430.86±1.70 B	32.95±0.50 C
المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا Lepidium meyenii بتركيز(100) ملغم /كلغم +عقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم/كغم (G6)	6.57±0.49 C	436.53±0.90 A	38.62±1.48 AB
LSD	1.2721	4.3805	2.3391
P (VALUE)	0.05	0.05	0.05

الخطأ القياسي ± المعدل N=7

***الحروف المختلفة عموديا تدل على وجود فروق معنوية($p \geq 0.05$)**

*** والحروف المتشابهة عموديا تدل على عدم وجود فروق معنوية($P \leq 0.05$)**

أدى التجريع بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم\كغم من وزن الجسم حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل مستوى SOD, GSH و ارتفاع معنوي($P\leq0.05$)في مستوى MDA إذ اتفقت نتائج دراستنا مع (Wang *et al* ., 2021; Batais *et al* ., 2020; Chen *et al*., 2020)

بدأ الإجهاد التأكسدي بعدم التوازن بين نشاط الإنزيمات المؤكسدة الذاتية والإنزيمات المضادة للأكسدة مثل SOD وCAT ،و تساعد أنظمة مضادات الأكسدة في الحفاظ على أنواع الأوكسجين التفاعلية داخل الخلايا (ROS) عند مستويات مناسبة. تتفاعل هذه الأنظمة مع هذه الجزيئات لإنتاج مركبات أقل تفاعلية. يساعد CAT في إزالة سموم H_2O_2 مما ينتج عنه H_2O مباشرة, بينما يعزز إنزيم (SOD) تحويل الأوكسيد الفائقH_2O_2 إلى MDA نتيجة لتفاعل الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة وأنيون الأكسيد الفائق (O_2) ،وتساعد التغيرات في المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي في الإشارة إلى مستويات تلف الحمض النووي التأكسدي. سجل المدربون الذين تناولوا مكملاتAAS زيادة في مستويات الإجهاد التأكسدي بسبب زيادة أكسدة الدهون (Arazi *et al* .,2017) .،وأظهرت الجرذان المعالجة بجرعة (5)ملغم/كغم من الأوكسي ميثلون ارتفاعًا في MDA وانخفاضًا في GSH ويمكن فهم النتائج بوساطة حقيقة أن الضرر التأكسدي قد يستهدف الميتوكوندريا لأن غشاءها يحتوي على كميات كبيرة من الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة. قد تساهم التغييرات التي تحدث في البيئة الدهنية في مسارات السلسلة التنفسية في خفض نشاطها مما يتسبب في اضطراب التمثيل الغذائي. فضلاًعن ذلك، فإن MDA التي تتولد عن أكسدة الدهون، مستقرة ويمكن أن تنتشر بسهولة داخل الخلايا. وهذا يفسر حقيقة أنها قادرة على مهاجمة أهداف بعيدة عن حدث جذر الحر الأصلي، وهذا يساهم في توسع الضرر التأكسدي لمجموعة متنوعة من الجزيئات والبروتينات والحامض النووي والإنزيمات أو الهرمونات،وأن عقار الأوكسي ميثلون يثبط نشاط إنزيمات مضادات الأكسدة الذاتية عن طريق زيادة أنواع الأكسجين التفاعلية ويزيد من موت الخلايا المبرمج (Batais *et al* ., 2020; Chen *et al*., 2020).

يعد الكلوتاثيون أهم مضادات الأكسدة غير الإنزيمية الداخلية في الجسم وله دور مهم في الفعاليات الحيوية إذ يعمل كمساعد انزيمي co-enzyme للأنظمة المضادة للأكسدة والكاسحة للجذور الحرة وخاصة أصناف الاوكسجين الحرة (ROS) (Ibrahim and Ghoneim,2014)،فضلا عن أن هناك عدة أسباب تؤدي إلى انخفاض الكلوتاثيون منها ضعف في عملية تخليقه أو زيادة معدل أ كسدته وتحوله من الشكل المختزل الفعال GSH الى الشكل المؤكسد غير الفعال ثنائي الكبريت Glutathione disulfide (GSSG) ،إذ إن مجموعة الثايول SH في تركيب GSH تعد عاملاً مختزلاًوواهبة لذرة الهيدروجين وتضعف الآصرة بين

الكبريت والهيدروجين (S-H) وقوة الآصرة بين الكاربون والهيدروجين في الجذور الحرة لذلك هي تقوم بحماية الاغشية الخلوية من ضرر الجذور الحرة (C-H) (Sharma *et al*.,2011).

إن الإجهاد التأكسدي الذي يظهر عبر التعرض للمواد الكيميائية السامة، ويسبب ضررًا كبيرًا لجودة الحيوانات المنوية عن طريق تعطيل توازن مضادات الأكسدة و زيادة أنواع الأوكسجين التفاعلية(ROS) Reactive Oxygen Species , مما يؤدي إلى حدوث خلل في تكوين الحيوانات المنوية وعقم الذكور . (Othman *et al* ., 2014 ; Maestra *et al*., 2015)

أن دراسة التأثيرات الوقائية لمضادات الأكسدة الطبيعية ضد السموم الناجمة عن المواد الكيميائية. المركبات الفينولية مثل الأحماض الفينولية، والفلافونويدات ،والعفص هي أكثر المستقلبات الثانوية وفرة في العديد من النباتات التي تعمل كمضادات أكسدة طبيعية والتي تم استخدامها على نطاق واسع للوقاية من الإجهاد التأكسدي والحالات الالتهابية والسمية الكيميائية،وترتبط الأنشطة المضادة للأكسدة والحماية الكيميائية الممثلة بشكل أساس بإزالة الجذور الحرة وتعديل إنزيمات المرحلة الأولى والثانية لإزالة السموم من المواد المسرطنة ،حيث أثبتنا أن التجريع للمستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا على الجرذان المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم \كغم من وزن الجسم الى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل مستوى SOD, GSH و انخفاض معنوي في مستوى MDA وأتفقت نتائج دراستنا مع (Dzhakova *et al*.,2023; Ragab *et al*.,2023; Mirzaee *et al*.,2021; Wang *et al*., 2021; Melnikovova *et al*., 2021; Tafuri *et al*.,2019; Tang *et al*.,2015)

ويعود ذلك إلى ان الماكا تنشط مسارات نشاط عامل النسخ المسؤول عن التعبير عن جينات مضادات الاكسدة المختلفة وهو Nrf2(Nuclear factor -erythroid2-related factor2) الذي قد يحمي مراحل الخلايا المختلفة من موت الخلايا المبرمج، و قد يُعزى هذا التحسن إلى التأثيرات المفيدة للمكونات الكيميائية النباتية ذات الأنشطة البيولوجية في الماكا ،وتم ربط تأثير الماكا على الجهاز التناسلي بجزء الدهون النباتية, والذي يحتوي على الماكاميدات والأحماض الدهنية بشكل رئيس، و قد تعمل الماكاميدات فضلاًعن عن الجزء القابل للاستخراج الدهني من الماكا *Lepidium meyenii* , بشكل مباشر على الجهاز التناسلي عن طريق التأثير على توازن مضادات الأكسدة (Melnikovova *et al*., 2021)،و فضلا عن ذلك، تحتوي الماكا على ستيرولات، مثل كامبسترول، وستيغماستيرول، وبيتا التي أدت الى انخفاض MDA وارتفاع SOD في مستخلص الماكا *Lepidium meyenii* الذي تم إعطاؤه عن طريق الفم للجرذان, مما يشير إلى قدرة مضادة للأكسدة للتخفيف من التأثيرات السلبية للإجهاد التأكسدي يمكن توضيح هذا التأثير

المضاد للأكسدة لـ Maca عن طريق محتواه العالي من جزيئات الماكاميد, والتي تعتبر ألكاميدات محددة ذات تأثير مضاد للأكسدة (Chain *et al*.,2014) ،و أظهرت الدراسات التأثير الإيجابي لحالة مضادات الأكسدة من خلال تحسين الجلوتاثيون بيروكسيديز وتقليل مستويات MDA (Ragab *et al*., 2023 .(;Tafuri *et al*.,2019; Tang *et al*.,2015

2.4.4. تأثير المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* على الجرذان المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم على معدل مستوى هرمون الشحمون الخصوي (T) والهرمون المحفز للجريبات (FSH) والهرمون اللوتيني (LH) في مصل الدم لذكور الجرذان البيض ولمدة(55) يوماً.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-7) حصول انخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في مستويات الهرمونات الجنسية Sexual hormones المستخدمة في الدراسة الشحمون الخصوي (T) (0.18±0.71) والهرمون المحفز للجريبات (0.003±0.01) والهرمون اللوتيني (0.07±0.50) لمجموعة ذكور الجرذان المجرعة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم/كغم يوميا ولمدة (55) يوماً على طول مدة التجربة بالمقارنة مع مجموعة ذكور الجرذان السيطرة السالبة (0.21±2.55)(0.20±2.38)(0.32±4.99)على التوالي.

اوضحت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-7) عدم وجود فرق معنوي ($P\geq0.05$) في مستوى كل من هرمون T (0.15±2.83) وهرمون FSH (0.01±2.19) و هرمون LH (0.30±5.08) لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* فقط بتركيز (200) ملغم /كغم لمدة (55) يوماً على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (0.21±2.55) (0.20±2.38) (0.32±4. 99) ،وحصول ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى كل من هرمون ال (T، FSH،LH)للمجموعة (G3)(0.15±2.83) (،(0.07±5.08)،(0.01±2.19) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2)(0.18± 0.71) (0.07±0.50)،(0.003±0.01) على التوالي.

بيّنت نتائج دراستنا الحالية في الجدول (4-7) حصول ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى كل من هرمون T, LH,FSH (0.26 ± 2.29) (0.07 ± 2.02) (0.53 ±4.66) لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز(200) ملغم /كغم والمجرعة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم لمدة (55) يوماً على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (0.18±0.71)(0.003 ±0.01)(0.07±0.50)على التوالي , وعدم وجود فرق معنوي($P\geq0.05$)بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

أوضحت نتائج الدراسة في الجدول (4-7) عدم وجود فرق معنوي ($P\geq0.05$) في مستوى كل من هرمونT, FSH, LH (2.85±0.16) (2.89±0.18) (5.80±0.35) لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* فقط بتركيز 100 ملغم \كغم لمدة 55 يوما على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (2.55±0.21) (2.38±0.20) (4.99±0.32) على التوالي.

كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-7) حصول ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى معدلات كل من هرمون T, FSH, LH (2.63±0.31) (2.56±0.26) (5.82±0.32) على التوالي لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم/كغم والمجرعة بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم/كغم على طول مدة التجربة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (0.71±0.18) (0.01±0.003) (0.07± 0.50) على التوالي وكذلك عدم وجود فرق معنوي($P\geq0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة.

الجدول (4-7) تأثير المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* على مستوى هرمون الشحمون الخصوي (T) والهرمون المحفز للجريبات (FSH) والهرمون اللوتيني (LH) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بعقار الاوكسي ميثلون.

S.E ± Means			المعايير المدروسة / المجاميع	
التستوستيرون mIU / ml	**FSH mIU / ml**	**LH mIU / ml**		
2.55± 0.21 A	2.38± 0.20 BC	4.99± 0.32 AB	السيطرة	G1
0.71 ±0.18 B	0.01 ±0.003 D	0.50± 0.07 C	عقار Oxymethelone بتركيز (5) ملغم/كغم	G2
2.83± 0.15 A	2.19±0.01 BC	5.08±0.30 AB	المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز (200) ملغم/كغم	G3
2.85± 0.16 A	2.89± 0.18 A	5.80±0.35 A	المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز (100) ملغم /كغم	G4
2.29± 0.26 A	2.02± 0.07 C	4.66± 0.53 B	المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium Meyenii* بتركيز (200) ملغم/كغم + عقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم	G5
2.63± 0.31 A	2.56± 0.26 AB	5.82±0.32 A	المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا Lepidium meyenii بتركيز(100) ملغم/كغم + عقار الأوكسي ميثلون بتركيز(5)ملغم/ كغم	G6
0.6551	0.4692	1.0132	LSD	
0.05	0.05	0.05	P (VALUE)	

الخطأ القياسي ± المعدل N=7
***الحروف المختلفة عمودياً تدل على وجود فروق معنوية (P≤0.05)**
*** والحروف المتشابهه عموديا تدل على عدم وجود فروق معنوية (P≤0.05)**

وجدت نتائج الدراسة الحالية إلى أن الانخفاض في مستويات كل من هرمون Tالتستوستيرون والهرمون المحفز للجريبات FSHوكذلك مستويات تركيز هرمون اللوتيني LH في المجموعة الثانية المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة متفقة مع ., Batais *et al* (2021;Lateef,2021; 2020; Akbari *et al* ., 2019; Al-Olayan *et al*.,2014) التي تضمنت تجريع عقار الأوكسي ميثلون بتركيز(5)ملغم / كغم في الجرذان البيضاء.

وأشار Wang وجماعته (2021) أن إعطاء عقار الاوكسي ميثلون عن طريق الفم ، قد انخفضت مستويات LH وFSH مستويات هرمون T ،مما يشير إلى أن الأوكسي ميثلون قام بتثبيط محور تحت المهاد-الغدة النخامية -الغدد التناسلية وزيادة مستويات التستوستيرون الداخلي ،وأشارت دراسة أخرى Lateef (2021)أن التثبيط الحاصل في محور تحت المهاد-الغدة النخامية -الغدد التناسلية والتغذية الراجعة السلبية الناتجة عن التعرض للاوكسي ميثلون يؤديان إلى انخفاض في الهرمونات المحرضة للخصى وبذلك يؤثر في نهاية الأمر على عملية تكوين الحيوانات المنوية ووظيفة خلايا سيرتولي ،و يعمل هرمون المحفز للجريبات على زيادة تكاثر خلايا سيرتولي و بواسطة ارتباطه بها وإنتاج النطف (Bhushan *et al*.,2016).

إتفقت نتائج دراستنا الحالية مع ماتوصل اليه strommeوجماعته(1974) Akbari وجماعته (2019) إذ يؤدي الاستخدام المتكرر للجرعات من الاندروجينات الابيتنائية الى زيادة في التمثيل الغذائي وتغير في نشاط الغدد الصم.

كما أشار schurmeyer وجماعته (1984) الى إن الزيادة في الجرعات اليومية من الاندروجينات الابتنائية الخارجية الى انخفاض في إفراز الاندروجينات الداخلية وكما هو متوقع من الاستخدام المستمر للسترويدات الابتنائية وتسبب استجابات ردود فعل سلبية في الدماغ ، وقد يعزى انخفاض هرمون Testosterone ومستويات هرموني المحفز للجريبات واللوتيني الى كون السترويدات الابتنائية التي تدار من خارج الجسم تؤدي إلى ردود أفعال سلبية على إفراز الغدد التناسلية والذي قد يعود إلى تأثير مباشر على ما تحت المهاد لتقليل إفراز GNRH والذي ينتج عنه انخفاض افراز كل من هرمون LH,FSH ومن ثم قلة التخليق الحيوي لاطلاق هرمونات التستوستيرون من الخصية , فضلاً عن أنه قد ينتج الستروبد مجموعة من الاثار الجانبية التي تؤثر على الجهاز التناسلي الذكري بصورة عامة وعلى الخصى بصورة خاصة وذلك كونها تؤثر على انتاج الهرمونات الاندروجينية الكظرية (Abdollahi *et al*.,2014; Batais *et al* .,2020) ،ومن ضمن الآليات التي يعمل بها المضاد عن طريق التنشيط المباشر للأندروجين مستقبلات أو بشكل غير مباشر عن طريق تفعيل محددة مستقبلات هرمون الاستروجين بعد تحويله إلى استراديول(Nejati *et al*.,2016)، أما

بالنسبة للتأثير الإيجابي لمستخلص جذور الماكا على مستوى الهرمونات تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه كل من Al-Dujaily وجماعته (2018) wang وجماعته (2023) ، و قد يُعزى هذا التحسن إلى التأثيرات المفيدة للمكونات الكيميائية النباتية ذات الأنشطة البيولوجية في الماكا ،وتم ربط تأثير الماكا على الجهاز التناسلي بجزء الدهون النباتية، والذي يحتوي البراعم السفلية للماكا المجففة على العديد من العناصر الغذائية، عادةً الكربوهيدرات والبروتين والدهون والألياف والرماد والعديد من المكونات الفريدة المكونات الخاصة للماكا هي أصول الجلوكوزينولات المنكهة، والأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة الماكاين ،والماكاميد،والكثير من القلويدات كمادة نشطة فسيولوجيًا(Ragab *et al* ., 2023)

تحمي المركبات النباتية المتعددة الفينول (الايزوفلافون والفلافونويد) والمنشطات الجنسية بخصائصها الستيرويدية ومضادات الأكسدة والالتهابات السلالات المولدة للحيوانات المنوية من تلف أنواع الأوكسجين التفاعلية عن طريق تعزيزHPGA وزيادة تكاثر خلايا سيرتولي ولايدك وتمايزها *et* Elumalai) .(*al*.,2009 أظهرت دراسة التأثيرات الوقائية والمقوية للأبيجينين والكيرسيتين والميريسيتين والكامبفيرول وألفا توكوفيرولديدزين وبعض المركبات الفينولية الأخرى على الأضرار الناجمة عن أنواع الاوكسجين التفاعلية في الجهاز التناسلي (Li *et al*., 2011) . أن وجود هذه المركبات ينظم إفراز هرمون التستوستيرون من خلايا لايدك ، ويعزز من إنتاج حامض الساليسيليك، ويزيد من إفراز خلايا سيرتولي للماءوالمغذيات الدقيقة في سلالة الحيوانات المنوية، وينظف تجويف المنطقة المحيطة بالحيوانات المنوية من أنواع الأكسجين التفاعلية (Jamalan *et al* ., 2016) ؛ تؤثر جذور الماكا على افراز HPGA من خلال زيادة إنتاج هرمون اللوتيني والمحفز للجريبات وبذلك زيادة تركيز الحيوانات المنوية، وايضاً وجود مركبات بوليفينولية مختلفة ذات خصائص مضادة للأكسدة عالية كان له الأثر الإيجابي في تنظيم مستوى الهرمونات .(Wang *et al*.,2021; Al-Dujaily *et al* ., 2018)

3.4.4. تأثير مجموعة المستخلص المائي و النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* على الجرذان المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز(5) ملغم /كغم على مستوى معدل تركيز النطف في ذكور الجرذان البيض لمدة (55)يوماً

أظهرت نتائج الدراسة الحالية في الجدول (4-8) تأثير تركيز النطف بشكل واضح إذ لوحظ حصول انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في المجموعة التي جرعت بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم/كغم في ذكور الجرذان ولمدة (55) يوماً وكانت النسبة (1.35±2.80) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (1.35±81.80).

بيّنت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-8) عدم حصول فروق معنوية($p\geq0.05$) في تركيز النطف لمجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي للماكا فقط بتركيز(200)ملغم/كغم لمدة 55 يوماً(G3) وكانت النسبة (1.32±82.60) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1)(1.35±81.80)،وحدوث ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) للمجموعة (G3) بالمقارنة مع (G2) وحدوث ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى معدلات تركيز النطف لمجموعة الجرذان التي جرعت المستخلص النانوي للماكا بتركيز (100)ملغم/كغم لمدة (55)يوماً (1.36± 88.60) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (1.35±81.80) والسيطرة الموجبة (G2)(1.35±2.80).

أوضحت نتائج الدراسة الحالية حصول انخفاض معنوي($p\leq0.05$) في مستوى معدلات تراكيز النطف (2.33±72.40) لمجموعة الجرذان الوقائية التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز (200) ملغم /كغم لمدة (55) يوماً والمجرعة بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز(5) ملغم/كغم يوميا ولمدة (55) يوماً بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (1.32±81.80) ،وحصول ارتفاع معنوي($P\leq0.05$)للمجموعة (G5) مقارنة مع (G2) بينما لم يحصل أي فرق معنوي($P\geq0.05$) في مجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص النانوي لجذور الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز (100) ملغم/كغم من وزن الجسم و عقار الأوكسي ميثلون بتركيز(5) ملغم/ كغم لمدة (55) يوماً (1.06 ± 83.20) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (1.35±81.80) وحصول ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$)لمجموعة (G6) مقارنة مع (G2).

اوضحت نتائج الجدول (4-8) حصول ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى معدلات تركيز النطف في مجموعة الجرذان الوقائية (G6 ,G5 ,G4,G3)التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز 200 ملغم\كغم لمدة 55 يوم والمجرعة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم\كغم و كذلك مجموعة الجرذان التي جرعت بالمستخلص النانوي لجذور نبات الماكا بتركيز (100) ملغم /كغم والمجرعة بعقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة (55) يوماً((72.40±2.33) (83.20±1.06)على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (2.80±1.35).

جدول رقم (4-8) تاثير المستخلص المائي والنانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* على مستوى معدل تركيز النطاف في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون بتركيز 5 ملغم\كغم من وزن الجسم لمدة 55 يوما.

S.E ± Means **1 ml * 10^6** تركيز النطف في ذيل البربخ	المعايير المدروسة / المجاميع	
81.80± 1.35 B	السيطرة	G 1
2.80± 1.35 D	الاوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم / كغم	G 2
82.60± 1.32 B	المستخلص المائي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز(200) ملغم/كغم	G 3
88.60± 1.36 A	المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا *Lepidium meyenii* بتركيز (100)ملغم /كغم	G 4
72.40± 2.33 C	المستخلص المائي لجذور نبات الماكا بتركيز (200) *Lepidium Meyenii* ملغم /كغم + عقارالاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم	G 5
83.20± 1.06 B	المستخلص النانوي لجذور نبات الماكا Lepidium meyeniiبتركيز (100)ملغم /كغم + عقارالاوكسي ميثلون بتركيز (5) ملغم /كغم	G 6
4.4426	LSD	
0.05	P (VALUE)	

تمثل القيم الخطأ القياسي ± المعدل N=7
***الحروف المختلفة عمودياً تدل على وجود فروق معنوية ($p\leq0.05$)**
*** والحروف المتشابهه عمودياً تدل على عدم وجود فروق معنوية ($P\geq0.05$)**

إتفقت نتائج الدراسة الحالية التي تثبت انخفاض مستوى تركيز النطف في المجموعة المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون مع نتائج (Saba *et al*., 2023; lateef , 2021) أن إعطاء عقار الأوكسي ميثلون بتركيز (5)ملغم /كغم ولمدة 60 يوماً إلى ذكور الجرذان البيض يؤدي إلى انخفاض كبير في تركيز الحيوانات المنوية ومؤشراتها كالحركة والحيوية وانخفاض تراكيز النطف في البربخ مقارنة مع مجموعة السيطرة ، أدى الى تغير مسامية غشاء الحيوانات المنوية من خلال زيادة اطلاق انزيم LDH Lactate dehydrogenase من الحيوانات المنوية المصابة والذي يعد شكلا من اشكال تلف النسيج ،او التغييرات النسجية الحاصلة نتيجة العقار والتي اظهرتها صور المقاطع النسجية للبرابخ من تنخر وتنكس وانخفاض في سمك الخلايا المبطنة للنبيبات البربخية التي ستهم في الحفاظ على حيوية ونضج الحيوانات المنوية وذلك بسبب الهرمونات المسؤولة عن تكوين النطف وهما هرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات والتي لها دور في البدء والانتهاء من عملية تكوين الحيوانات المنوية أثناء النضج الطبيعي للجرذان كان هذا متوافقًا مع Feng وجماعته (2022) ، الذين اقترحوا أن آلية التغذية الراجعة السلبية للأوكسي ميثلون على المحور التناسلي تحت المهاد تؤدي إلى انخفاض في هرمونات إطلاق الغدد التناسلية وعيوب في عملية تكوين الحيوانات المنوية, مع انخفاض عدد الحيوانات المنوية الناضجة. وكذلك أشار الباحث Neuman وجماعته (2002) أن بدء عملية تكوين الحيوانات المنوية بشكل طبيعي ونوعي يتطلب وجود مستويات كافية من هرمون التستوستيرون والعناصر الغذائية للتغذية وعادة ترتبط المستويات غير الكافية من هذه الهرمونات مع وجود تشوهات شديدة في الحيوانات المنوية قد تؤدي إلى ضعف الحيوانات المنوية وموتها , فضلاً عن ذلك تعتمد وظيفة الغدد التناسلية المساعدة أيضًا على وجود مستويات كافية من هرمون التستوستيرون في الجسم الجهاز الدوري يقوم بتطوير خلايا الحيوانات المنوية وتمايزها و يساهم في توليد مستقبلات الهرمون المحفز للجريبات في خلايا سيرتولي.

قد يكون الانخفاض في حركة الحيوانات المنوية راجعًا إلى التأثير السام لـلأوكسي ميثلون على السوط. ونظرًا لأن ATP هو المصدر الرئيس للطاقة لحركة الحيوانات المنوية، فإن عقار الاوكسي ميثلون قد يسبب انخفاضًا في التمثيل الغذائي للطاقة، وهو عامل مقيد مسؤول عن فقدان حركة الحيوانات المنوية (Zahmatkesh *et al* ., *2015*) ،و أظهر (Woo *et al.,2000*) أن النشاط الأنزيمي لـ Na / K ATPase، كمضخة أيونات يشارك في الحركة وفي النهاية تقل حركة الحيوانات المنوية بعد التغييرات التي تسبب أكسدة مكونات غشاء الحيوانات المنوية ، ويحتوي الغشاء البلازمي للحيوانات المنوية على أحماض دهنية غير مشبعة هي حساسة جدًا للجذور الحرة والتلف التأكسدي،و تدمر بيروكسيد الدهون بنية المصفوفة الدهنية في الأنواع التفاعلية للأوكسجين مجموعة من عوامل الأكسدة شديدة التفاعل القادرة على إتلاف جميع

الأنواع الجزيئية تقريبًا في الحيوانات المنوية، بما في ذلك الدهون والبروتينات والأحماض النووية التي تقلل في النهاية من عدد الحيوانات المنوية وقابليتها للحياة وأشارت الدراسة الحالية أن انخفاض عدد الحيوانات المنوية قد يكون بسبب زيادة إنتاج الجذور الحرة مما يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي، وقد وجد أن الجذور الحرة لها تأثير ضار على وظيفة الخصية وعملية تكوين الحيوانات المنوية ، فضلا عن ذلك أثرت الجذور الحرة على البنية الدقيقة للحيوانات المنوية وزيادة تشوهات الحمض النووي *(Akbari et al.,2019)*.

تتفق نتائج دراستنا الحالية من حيث ارتفاع تركيز النطف في نبات الماكا مع نتائج (Dzhakova *et al.,2023;* Muritala *et al.,2022*)

وقد أشارت العديد من الدراسات إلى أن الماكا تزيد من إنتاج الحيوانات المنوية اليومي، أو عدد الحيوانات المنوية في البربخ أو عدد الحيوانات المنوية في قناة البربخ، وقد أثبت الباحث (*Gonzales et al.,2006*) أن نبات الماكا زاد من انتاج الحيوانات المنوية يومياً بعد(7) أيام من العلاج، إذ أن تناول المستخلص المائي للماكا عن طريق الفم يمكن أن يؤثر بشكل إيجابي على انتاج الحيوانات المنوية يوميا وعدد الحيوانات المنوية في البربخ. ربما نُسبت هذه النتيجة إلى تأثير الألكاميدات، الماكاميدات المعزولة والمحددة في جذر الماكا (Tafuri *et al* ., 2021) ،و إن وجود مستقلبات ثانوية معينة هو المسؤول عن تأثير الماكا على إنتاج وتحسين جودة الحيوانات المنوية إن وجود الجلوكوزينولات والماكاميدات يسمح للماكا بحماية الخلايا من الإجهاد التأكسدي و كذلك وجود الأحماض الدهنية بشكل أساسي قد تعمل الماكاميدات، بالإضافة إلى الجزء القابل للاستخراج الدهني من الماكا, بشكل مباشر على الجهاز التناسلي من خلال التأثير على توازن مضادات الأكسدة (Melnikov ova *et al* ., 2021)، وعلاوة على ذلك تحتوي الماكا على ستيرولات مثل: كامب سترول، وستيغماستيرول، وبيتا سيتوستيرول، ولوحظت زيادة في مراحل تكوين الحيوانات المنوية وانقسام الخلايا الجرثومية والإنتاج اليومي للحيوانات المنوية وعدد الحيوانات المنوية في البربخ للحيوانات التي جرعت بمستخلص الماكا (Tafuri *et al* ., 2021)

إن لجذور نبات الماكا تأثير على زيادة مستويات هرمون التستوستيرون , وقطر القناة البربخية وتجويفها، وتركيز الحيوانات المنوية (Miranda *et al*., 2022).، وإن جذور الماكا عملت أيضاً على تخفيف الإجهاد التأكسدي عن طريق تقليل (MDA وزيادة GSH , SOD) (Onaolapo *et al*., 2018) ،و بذلك عملت على تقليل الضرر الذي حصل بسبب تأثير العقار الاوكسي ميثلون على آلية التغذية الراجعة السلبية للأوكسي ميثلون على المحور التناسلي تحت المهاد و خفض مستوى الهرمونات و زيادة مستوى الاجهاد التأكسدي ، و أدى مستخلص الماكا إلى زيادة مستويات هرمون التستوستيرون في الدم وبعض معايير جودة الحيوانات المنوية

(التركيز والحركة) (Onaolapo *et al*., 2018; Zhou *et al*., 2023)، كما أدى المستخلص المائي إلى زيادة بقاء غشاء البلازما للحيوانات المنوية ووظيفته (Ragab *et al*., 2023)

تبيّن الدراسات أن لمسحوق جذور نبات الماكا تأثيراً كبيراً في الحفاظ على تركيز الحيوانات المنوية وحركة الأسواط. لذلك، يُعتقد أن مسحوق مستخلص الماكا يعزز بعض خصائص وظائف الحيوانات المنوية بسبب تأثيره على زيادة التأثير على هرمونات التكاثر النخامية أي هرمونات FSH وLH (Li *et al*., 2017) ، وقد تم اكتشاف أن مسحوق الماكا يتكون من قلويدات (Gan *et al*., 2010) هي المسؤولة عن تعزيز تأثير الخصوبة على كل من المبايض والخصيتين وتسبب في زيادة تركيز الحيوانات المنوية لدى الذكور (Ohta *et al* ., 2017)

من ناحية أخرى، قد تكون الزيادة في عدد الحيوانات المنوية ناتجة عن حقن مستخلص الماكا والتي قد تحفز عملية تكوين الحيوانات المنوية أو قد تكون بسبب دورها في الغدة النخامية لزيادة إنتاج هرمون LH وبذلك زيادة تركيز الحيوانات المنوية (Hussein, 2013). أن تحفيز عمل FSH و LHبواسطة الماكا قد يدعم مراحل تكوين الحيوانات المنوية وهذا قد يؤدي إلى ارتفاع تركيز الحيوانات المنوية (Salem and Moustafa, 2001) .

إن تناول نبات الماكا عن طريق الفم سيكون بمثابة مضاد للأكسدة ويمكنه إزالة الجذور الحرة الزائدة ومنع الإجهاد التأكسدي. إذ أن مستخلص الماكا أدى إلى إزالة أنواع النيتروجين التفاعلية وعودة الشكل المظهري الحيوانات المنوية إلى طبيعتها (Al-Dujaily *et al*., 2018)

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusion and Recommendations

5. الاستنتاجات والتوصيات Conclusions & Recommedations

1.5. الاستنتاجات Conclusions:

في ضوء النتائج التي أظهرتها الدراسة الحالية أمكن التوصل إلى الاستنتاجات الآتية:

1- أثر الإجهاد التأكسدي المستحدث بعقار الاوكسي ميثلون سلباً في خصوبة ذكور الجرذان عن طريق تغيرات في معالم النطف الطبيعية التي تضمنت انخفاضاً في تركيز النطف ، فضلاً عن التغيرات النسيجية التنكسية في الخصية والبربخ و البروستات، مع انخفاض أقطار النبيبات المنوية والبريخية.

2- أدت المعاملة بعقار الأوكسي ميثلون إلى التأثير على مستوى الهرمونات الجنسية (T , LH ,FSH).

3- أدت المعاملة بعقار الاوكسي ميثلون إلى زيادة مستوى الأكسدة متمثلة بـ MDA مع انخفاض مستويات مضادات الأكسدة (SOD, GSH) .

4- أدى الفعل الوقائي لمستخلص لجذور نبات الماكا النانوي والاعتيادي بصورة متزامنة في التقليل من التأثيرات السلبية للعقار وكان الدور الأكثر وضوحاً في حالة النانوي مما لو أعطيت بصورة عادية للمعايير المدروسة انفة الذكر، وذلك بوساطة اعطاء افضل النتائج في معظم المعايير المدروسة لاسيما مضادات الاكسدة وتحسن معالم النسيج ومعالم النطف والنتائج الهرمونية ، إلى جانب دوره في تحسين كفاءة الخصوبة بواسطة تحسين المعايير أعلاه وأنسجة الخصى والبرابخ.

5- الدراسات المناعية النسجية أعطت نتائج أكثر دقة لتشخيص التغيرات النسجية المناعية الحاصلة في الخصى والبربخ حيوانات التجربة .

2.5.التوصيات: Recommendations

بعد إنجاز هذه الدراسة، توصي بإجراء المزيد من الدراسات ، ومن هذه الدراسات تقترح ما يأتي :

1- بإجراء المزيد من الدراسات لتبيان تأثير معاملة عقار الأوكسي ميثلون في الغدد كالغدة النخامية والغدة الكظرية والغدة الدرقية لما لها من علاقة بالنضج الجنسي وغيره بعد التعرض للإجهاد التأكسدي في الجسم.

2.إجراء دراسات أخرى على المنشطات الرياضية لتشخيص الآثار الجانبية المرتبطة باستخدامها في وزن الجسم وأوزان الأعضاء والمعايير الفسلجية والكيموحيوية للدم.

3. تأثير المستخلص المائي لجذور نبات الماكا في بعض المعايير الكيموحيوية والهرمونات لاناث واجنة الجرذان البيض.

4.إجراء دراسات نسجية لمعرفة تأثير المستخلص المائي لجذور نبات الماكا في الكبد والكلية وبقية الأعضاء.

5. زيادة الوعي الصحي بأهمية النباتات الطبية بوساطة الاستفادة منها في العلاجات الصيدلانية الدوائية وذلك للتقليل من الآثار الجانبية الناتجة من العلاجات .

6. يمكن الاستفادة من المركبات الفعالة في مستخلص نبات الماكا بعد عزلها للتقليل من السمية المستحثة من المواد الكيميائية .

7.تصنيع جسيمات نانوية أخرى كالذهب والنحاس والفضة من مستخلصات نبات الماكا ودراستها على الامراض المختلفة .

المصادر عربي

خليل، مدحت حسين (2013) علم الغدد الصماء، دار الكتاب الجامعي العين الامارات العربية المتحدة.

موسى ، محمد عثمان ؛ محمد عبدالمنعم العاني ؛ نوفل عدنان صبري وعبدالكريم 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.

References

Abarikwu, S. O., Onuah, C. L., and Singh, S. K. (2020). Plants in the management of male infertility. *Andrologia*, *52*(3), e13509.

Abdollahi M, and Pakzad M (2014). Oxymetholone. In: Wexler P, editor. Encyclopedia of Toxicology (Third Edition). Oxford: Academic Press; p. 744-6

Abhilash, A., M. (2010). Potential Applications of Nanoparticles**.** Int. J. pharm. Biol.Sci.,1(1):1-12.

Agarwal, A., *et al*. (2014). "Role of oxidative stress in male infertility: a review." Reproductive BioMedicine Online, 29(5), 535-551. DOI: 10.1016/j.rbmo.2014.08.009.

Ana_María_Alcalde ., and Jordi Rabasa. (2020)" Does Lepidium meyenii (Maca) improve seminal quality" DOI: 10.1111/and.13755.

Ahmed, M. A. (2015). Amelioration of nandrolone decanoate-induced testicular and sperm toxicity in rats by taurine: effects on steroidogenesis, redox and inflammatory cascades, and intrinsic apoptotic pathway. *Toxicology and applied pharmacology*, *282*(3), 285-296.

Akbari Bazm, M., Goodarzi, N., Shahrokhi, S. R., and Khazaei, M. (2020). The effects of hydroalcoholic extract of *Vaccinium arctostaphylos* L. on sperm parameters, oxidative injury and apoptotic changes in oxymetholone-induced testicular toxicity in mouse. *Andrologia, 52*(3), e13522.

Akbari Bazm, M., Khazaei, M., Khazaei, F., and Naseri, L. (2019). Nasturtium Officinale L. hydroalcoholic extract improved oxymetholone-induced oxidative injury in mouse testis and sperm parameters. *Andrologia*, *51*(7), e13294.

Akron. (2009) . The Chemical Database. The Department of Chemistry at the University of Akron. http://ull. chemistry.uakron.edu/erd and search on CAS number. Last accessed: 8/14/09

Alcalde, A. M., and Rabasa, J. (2020). Does Lepidium meyenii (Maca) improve seminal quality?. Andrologia, 52(10), e13755.

Al-Dujaily, S. S., Al-Arak, J. K., and Ethawi, J. M. (2018). Effect of maca (Lepidium meyenii) aqueous extract on the epididymal sperms quality and the DNA normality of vasectomized mature mice: model for obstructive azoospermia in men. *Journal of Biotechnology Research Center*, *12*(2), 73-81.

Al-Olayan EM, El-Khadragy MF, Metwally DM, and 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.

Almundarij, T.I., Zaki, A.K., Albarrak, S.M., Alharbi, Y.M., Almuzaini, S, A., and Abo-Aziza, F.A.(2020). Evaluation of the Anti-diabetic Activities of Colored Rice Varieties in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Systematic Reviews in pharmacy* ,*11*(11),1424-1433.

Anderson, J. E., Farr, S. L., Jamieson, D. J., Warner, L., and Macaluso, M. (2009). Infertility services reported by men in the United States: national survey data. *Fertility and sterility*, *91*(6): 2466-2470.

Aragaw, T. J., Afework, D. T., and Getahun, K. A. (2020). Assessment of Knowledge, Attitude, and Utilization of Traditional Medicine among the Communities of Debre Tabor Town, Amhara Regional State, North Central Ethiopia: A Cross-Sectional Study. Evidence-Based Complementary and Alternative *Medicine*, (1), 6565131.

Arazi H, Mohammad Jafari H, Asadi A**.**(2017). Use of anabolic androgenic steroids produces greater oxidative stress responses to resistance exercise in strength-trained men. *Toxicol Rep*. Jun 08;4:282-6.

Akdere, H., Yurut Calogu, v., Tastekin,E.,Caloglu,M.,Turkkan ,G.,Mericliler ,M.,and M.,and Mehmet Burgazli ,k. (2015).Acute histopathological response of testicular tissue after different fractionated abdominal irradiation in rats .*postgraduate medicine* ,*127*(1),73-77

Atalar, K. (2023). Anatomy of Testes. *Testicular Disorders in Children*, 11.

Bardin , C.W. et Paulsen C.A.(1981). Textbook of endocrinology - Ed WILLIAMS H.R. et SAUNDERS W.B., 6ème édition Philadelphia, The Testes, 6, 293-354.

Bagchi D, Sen CK, Bagchi M, Atalay M (2004): Anti-angiogenic, antioxi dant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocy anin-rich berry extract formula. *Biochemistry (Moscow), 69*:75-80.

Balash, K.J., AL-Omar, M.A., and Abdul Latif, B.M. (1987). Effect of chlordane on testicular tissue of Swiss,Bull,Environ,Contam.*Toxical.,39,*434-422.

Barone, R., Pitruzzella, A., Marino Gammazza, A., Rappa, F., Salerno, M., Barone, F., ... and Pomara, C. (2017). Nandrolone decanoate interferes with testosterone biosynthesis altering blood–testis barrier components. *Journal of cellular and molecular medicine*, *21*(8), 1636-1647.

Bashi, A. M., Hussein, M. Z., Zainal, Z., and Tichit, D. (2013). Synthesis and controlled release properties of 2, 4-dichlorophenoxy acetate–zinc layered hydroxide nanohybrid. *Journal of Solid State Chemistry*, *203*; 19–24.

Batais, S. T., Elhalwagy, M. E., and Ayaz, N. O .(2020). Influence of Short-Term Supplementation with Anabolic Steroid Drug Oxymetholone And/Or Creatine Widely Used In Ksa on Some Fertility Biomarkers in Albino Rats*Int. J. Life Sci. Pharma Res*, *10*(5), 211-220.

Buchwalow, I,B., and B ö cker,w.(2010).Immunohistochemistry. Bisic and Methods,1-149

Beharry, S., and Heinrich, M. (2018). Is the hype around the reproductive health claims of maca (Lepidium meyenii Walp.) justified?. Journal of Ethnopharmacology, 211, 126-170.

Brand M.P., Kingham B.J., Esteves T.C.(2004) Mitochondri-al superoxide and aging; uncoupling. Biochem. *Soc. Symp*. ;*71*:205. doi: 10.1042/bss0710203

Bhushan, S., Aslani, F., Zhang, Z., Sebastian, T., Elsaesser, H. P., & Klug, J. (2016). Isolation of sertoli cells and peritubular cells from rat testes. *Journal of Visualized Experiments: Jove, 108*, e53389–e53389.

Bianchi, A. (2003). MACA Lepidium meyenii. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, *2*(3), 30-36.

Bishayee, A., Sarkar, A., and Chatterjee, M. (1995). Hepatoprotective activity of carrot (Daucus carota L.) against carbon tetrachloride intoxication in mouse liver. *Journal of ethnopharmacology*, *47*(2), 69-74

Cai, R., Hao, Y., Liu, Y. Y., Huang, L., Yao, Y., and Zhou, M. S. (2020)**.** Tumor necrosis factor alpha deficiency improves endothelial function and cardiovascular injury in deoxycorticosterone acetate/salt-hypertensive mice. *BioMed Research International*, *1:1*-10 .

Carvalho, F. V., da Silva, V. D. A., and Ribeiro, P. R. (2023). Bioactive Compounds and Biological Activities of Peruvian Maca (Lepidium meyenii Walp.). In Bioactive Compounds in the Storage Organs of Plants (pp. 1-22). Cham: Springer Nature Switzerland

Carvalho, F. V., Ferraz, C. G., and Ribeiro, P. R. (2020). Pharmacological activities of the nutraceutical plant *Lepidium meyenii*. *A Critical Review. J Food Chem Nanotechnology*; *6*(2), 107-116.

Chain, F. E., Grau, A., Martins, J. C., and Catalán, C. A. (2014). Macamides from wild ‘maca', *Lepidium meyenii* Walpers (Brassicaceae). Phytochemistry Letters, 8, 145–148

Chen, Z.; Meng, H.; Xing, G.; Chen, C.; Zhao, Y.; Jia, G.; Wang, T.; Yuan, H.; Ye, C.; Zhao, F.; Chai,Z.; Zhu, C.; Fang , X.; Ma ,B. and Wan, L.(2006).Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo .Toxical.Lett.,163(2):109-120

Chaudhary, J.; Sandler, I. and skinner, M.K. (2004). Identification of a noval sertoli cell gene product SERT that influences follicle stimulating hormone action. *Gene.*, *324*: 79-88.

Chen, L., Li, J., and Fan, L. (2017). The nutritional composition of maca in hypocotyls (Lepidium meyenii Walp.) cultivated in different regions of China. Journal of Food Quality, (1), 3749627.

Chen, X., Feng, H., El-kott, A. F., and Abd-Ella, E. M. (2020). Origanum vulgare L. leaves extract alleviates testis and sperm damages induced by finasteride: Biochemical, Immunohistological and apoptosis genes based evidences. *Andrologia*, *52*(11), e13823.

Chung F, Rubio J, Gonzales C, Gasco M, Gonzales GF (2005) Dose-response effects of Lepidium meyenii (Maca) aqueous extract on testicular function and weight of different organs in adult rat. J Ethnopharmacol 98:143–147

Choi WT, Youn YC, Han ES, Lee CS(2004): Protective effect of 1-meth ylated beta-carbolines against 3-morpholinosydnonimine induced mitochondrial damage and cell viability loss in PC12 cells. *Neurochem Res, 29*:1807-1816.

Cicero, A. F., Bandieri, E., and Arletti, R. (2001). Lepidium meyenii Walp. improves sexual behaviour in male rats independently from its action on spontaneous locomotor activity. *Journal of ethnopharmacology*, *75*(2-3), 225-229.

Coons, A. H., Creech, H. J., and Jones, R. N. (1941). Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. Proceedings of the society for experimental biology and medicine, 47(2), 200-202.

Cohen JH, Kristal AR, Stanford JL(2000): Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. J Nat Cancer Inst, 92:61-68.

Cui, B., Zheng, B. L., He, K., and Zheng, Q. Y. (2003). Imidazole alkaloids from lepidium meyenii. Journal of natural products, 66(8), 1101-1103.

Cunningham, J. G. (2002). Control of ovulation and the corpus luteum. Textbook of veterinary physiology. Philadelphia: WB Saunders, 382-388.

Dacheux, J. L., Castella, S., Gatti, J. L., and Dacheux, F. (2005). Epididymal cell secretory activities and the role of proteins in boar sperm maturation. Theriogenology, 63(2), 319-341.

Dekrester, D.M. (2002). General structure of male reproductive system. In endocrinology of male reproductive system. Appleton and Lange. New York. Chapter 1.: 2-17.

Del Prete C *et al* (2018). In uences of dietary supplementation with Lepidium meyenii (Maca) on stallion sperm production and on preservation of sperm quality during storage at 5 *C. Andrology 6*(2):351–361

Dias, G., Lino-Neto, J., Mercati, D., and Dallai, R. (2016)**.** The sperm structure and spermiogenesis of the heteropteran Coptosom ascutellatum (Geoffroy) with emphasis on the development of the centriole adjunct. *Micron, 82*: 33-40.

Dhabian,S.Z.,Jasim,R.S.,(2012)."Anticancer and Antioxidant Activity of the Greenly Synthesized zinc Nanoparticle Composite using Aqueous Extract of withania Somnifera plant",*Egypt J.Chem ,64*5561-5574.

Dini, A., Migliuolo, G., Rastrelli, L., Saturnino, P., and Schettino, O. (1994). Chemical composition of Lepidium meyenii. Food chemistry, 49(4), 347-349..

Dong, Y. S., Hou, W. G., Li, Y., Liu, D. B., Hao, G. Z., Zhang, H. F., and Li, W. (2016). Unexpected requirement for a binding partner of the syntaxin family in phagocytosis by murine testicular Sertoli cells. *Cell death and differentiation*, *23*(5), 787.

Durairajanayagam, D., Agarwal, A., and Ong, C. (2015)**.** Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress. *Reproductive biomedicine online*, *30*(1), 14-27

Dzhakova, Z., Karcheva- Bahchevanska, D., and Ivanova, S. (2023). Lepidium meyenii biological activity and future perspectives(Review paper). *Mac. Pharm. Bull. 69*(1),1-33

El Osta, R., Almont, T., Diligent, C., Hubert, N., Eschwège, P., and Hubert, J. (2016). Anabolic steroids abuse and male infertility. Basic and clinical andrology, 26, 1-8.

El Shafai, A., Zohdy, N., El Mulla, K., Hassan, M., and Morad, N. (2011)**.** Light and electron microscopic study of the toxic effect of prolonged lead exposure on the seminiferous tubules of albino rats and the possible protective effect of ascorbic acid. *Food and chemical toxicology*, *49*(4), 734-743.

Elumalai, P., Krishnamoorthy, G., Selvakumar, K., Arunkumar, R., Venkataraman, P., and Arunakaran, J. (2009). Studies on the protective role of lycopene against polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254)-induced changes in StAR protein and cytochrome P450 scc enzyme expression on Leydig cells of adult rats. *Reproductive Toxicology, 27,* 41–45

Eroschenko, V. P. (2008). Chapter17: Male reproductive system. diFiore's atlas of histology with functional correlations (18th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. (pp. 409-427).

Eskandarion, M., Kheirvari Khezerloo, J., Hemmatian, S., Tabasi, M., and Ghorbani, R. (2019). Prevalence of anabolic steroids among the male bodybuilding athletes and rate of awareness to side effects in Shahrud. *Scientific Journal of Forensic Medicine*, *25*(1), 1–7

Fano D, Vasquez-Velasquez C, Gonzales-Castaneda C, Guajardo-Correa E, Orihuela PA, Gonzales ~ GF.(2017). N-Butanol and aqueous fractions of red Maca methanolic extract exerts opposite effects on androgen and oestrogens receptors (alpha and beta) in rats with testosteroneinduced benign prostatic hyperplasia. Evid *Based Complement Alternat Med:1*

Feng, J.; Gao, H.; Yang, L.; Xie, Y.; El-Kenawy, A.E.; and El-kott, A.F.(2020) Renoprotective and Hepatoprotective Activity of Lepidium draba L. Extracts on Oxymetholone-induced Oxidative Stress in Rat. *J. Food Biochem*, *46*, e14250.

Fijak, M., and Meinhardt, A. (2006). "The Testis in Immunological Privilege." Immunology Letters, 102(1), 99-105. DOI: 10.1016/j.imlet.2005.08.001.

Fujino Y, Ku Y, Suzuki Y, Ajiki T, Hasegawa Y, Kuroda Y. (2001). Ampullary carcinoma developing after androgenic steroid therapy for aplastic anemia: Report of a case. Surgery 129(4): 501-503

Gan, J., X Feng, V., Zhao V, L., Xu, F., Zhang, H., and Chen, X.M. (2010) .Total alkaloids in maca (Lepidium meyenii) cultivated in Yunnan *Food SC ; 31*(24): 415–419,

Garcia, R., *et al*. (2022). "The Protective Effects of Lepidium meyenii on Reproductive Health." *Phytotherapy Research*, *36*(6), 2450-2460. DOI: 10.1002/ptr.7485

García-Manso, J. M., and Valverde Esteve, T. (2016). Consequences of the use of anabolic-androgenic steroids for male athletes' fertility. Exercise and human reproduction: *induced fertility disorders and possible therapies*, 153-165.

Gasco, M., Aguilar, J., and Gonzales, G. F. (2007). Effect of chronic treatment with three varieties of Lepidium meyenii (Maca) on reproductive parameters and DNA quantification in adult male rats. *Andrologia, 39*(4), 151–158 .

Ganong W.F.(2010) Review of medical physiology .23st Ed.Lange medical books/McGraw Hill .United states of America.

Ge J, Han B, Hu H, Liu J, and 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.

Gonzales ,G.F.,(2023)."Lepidium meyenii (Maca)and its effects on reproductive health: A review of recent findings.*"Andrology,11*(1),25-35.

Gonzales GF, Gasco M, Lozada-Requena I (2013). Role of maca (Lepidium meyenii) consumption on serum interleukin-6 levels and health status in populations living in the Peruvian Central Andes over 4000 m of altitude. Plant foods for human nutrition 68(4):347–351

Gonzales, G.F. 2012. Ethnobiology and ethnopharmacology of Lepidium meyenii (Maca), a plant from the Peruvian Highlands. Evid. Based Compl. Alt. Med. 2, 1–10. https://doi.org/10.1155/2012/193496.

Gonzales GF, Miranda S, Nieto J, Fernandez G, Yucra S, Rubio J, Yi P, Gasco M (2005) . Red maca (Lepidium meyenii) reduced prostate size in rats. Reprod Biol Endocrinol 3:5.

Gonzales GF, Rubio J, Chung A, Gasco M, Villegas L (2003b). Effect of alcoholic extract of Lepidium meyenii (Maca) on testicular function in male rats. Asian J Androl 5:349–352.

Gonzales GF, Vasquez V, Rodriguez D, Maldonado C, Mormontoy J, Portella J, Pajuelo M, Villegas L, Gasco M (2007) Effect of two different extracts of red maca in male rats with testosterone-induced prostatic hyperplasia. Asian J Androl 9:245–251.

Gonzales, C., Leiva-Revilla, J., Rubio, J., Gasco, M., and Gonzales, G. F. (2012). Effect of red maca (Lepidium meyenii) on prostate zinc levels in rats with testosterone-induced prostatic hyperplasia. *Andrologia*, *44*, 362-369.

Gonzales, C., Rubio, J., Gasco, M., Nieto, J., Yucra, S., and Gonzales, G. F. (2006). Effect of short-term and long-term treatments with three ecotypes of Lepidium meyenii (MACA) on spermatogenesis in rats. Journal of ethnopharmacology, 103(3), 448-454.

Gonzales, G. F., Gasco, M., Malheiros-Pereira, A., and Gonzales-Castañeda, C. (2008). Antagonistic effect of Lepidium meyenii (red maca) on prostatic hyperplasia in adult mice. *Andrologia*, *40*(3), 179-185.

Gonzales, G. F., Gonzales, C., and Gonzales-Castañeda, C. (2009). Lepidium meyenii (Maca): a plant from the highlands of Peru–from tradition to science. Forschende Komplementärmedizin/*Research in Complementary Medicine*, *16*(6), 373-380.

Gonzales, G. F., Nieto, J., Rubio, J., and Gasco, M. (2006). Effect of Black maca (Lepidium meyenii) on one spermatogenic cycle in rats. Andrologia, 38(5), 166-172.

Ganong, W.F. (2003). The gonads: development and function of the reproductive system. In: Review of medical physiology 21 ed MC Graw Hill companies, USA,: 415-457.

Gonzales, G.F., Gonzales-Castañeda, C. and Gasco, M. (2013). A mixture of extracts from Peruvian plants (black maca and yacon) improves sperm count and reduced glycemia in mice with streptozotocin-induced diabetes. *Toxicology Mechanisms and Methods.; 23*(7): 509–518.

Griswold, M. D. (2015). Spermatogenesis: the commitment to meiosis. *Physiological reviews, 96*(1), 1-17.

Gurunathan, S.; Han, J.W.; Dayem, A.A.; Eppakayala, V.; Kim, J.H. (2012). Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide in Pseudomonas aeruginosa. Int. J.

Guidet, B. R., and Shah, S. V. (1989). In vivo generation of hydrogen peroxide by rat kidney cortex and glomeruli. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, *256*(1), F158-F164.

Hashim, M. H., and Al Khafaji, M. H (2023). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Aqueous Extract of Lepidium Meyenii and Testing Their Antimicrobial Activity. International journal of health sciences, 7(S1), 2944-2953.

Hassan, A.U.; Hassan, G.; Rassool, Z.; and Zubeida.(2013). Aims and objectives of Histological Studies of prostate, *Universal Journal of clinical medicine .1*(2) :13-21

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

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: 8/14/09.

Hoey L., McNulty H., Askin N., Dunne A., Ward M., Pentieva K., Strain J., Molloy A.M., Flynn C.A., Scott J.M(2007). Effect of a voluntary food fortification policy on folate, related B vitamin status, and homocysteine in healthy adults. Am. *J. Clin. Nutr.;86*(5):1405–1413

Hengge UR, Stocks K, Faulkner S, Wiehler H, Lorenz C, Jentzen W, *et al*.(2003). Oxymetholone for the treatment of HIV-wasting: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase III trial in eugonadal men and women. HIV clinical trials.;4(3):150-63.

Hussein,A.M.;AL-Sammarae,N.S.and Sadik,A.H(1997).The cylic events of spermatogenesis and sperm the testes of adult rat.Iraqi.J.Vet.Sci,1(6,7):116-120.

Hooker, C.W. (1970).The intratubular tissue of testes. part 1. Chapter 8.: 483-556. printed in U.S.A

Hudson, T. (2008). Maca: New insights on an ancient plant. Integrative Medicine: A Clinician's Journal, 7(6), 54–57

Hussein, R. A., and El-Anssary, A. A. (2019)**.** Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal medicine*, *1*, 13.

Hussein, Z.F. (2013). Study the effect of Eruca Sativa leaves extract on male fertility in albino mice. J. *Al Nahrain University,; 16*(1): 143-146.

Hussein,A.M.;AL-Sammarae,N.S. and Sadik, A.H.(1997).The cyclic events of spermatogenesis and sperm the testes of adult rat. Iraqi.J.Vet.Sci,1(6,7):116-120.

.

Jassim, A.M.; ALZamely , H.A.N. and abbas , G.H. (2015). Study of testicular damage induced by dianabol and its effect on morphological and histological changes in albino male rats. (IOSR-JAVS)., 8(8): 24-32.

Jagdale YD *et al* (2021). Nutritional Pro le and Potential Health Bene ts of Super Foods: A Review. Sustainability 13(16):9240

Jamalan, M., Ghaffari, M. A., Hoseinzadeh, P., Hashemitabar, M., and Zeinali, M. (2016). Human sperm quality and metal toxicants: Protective effects of some flavonoids on male reproductive function. *International Journal of Fertility & Sterility*, *10*(2), 215.

Jang, D. I., Lee, A. H., Shin, H. Y., Song, H. R., Park, J. H., Kang, T. B., ... and Yang, S. H. (2021). The role of tumor necrosis factor alpha (TNF-α) in autoimmune disease and current TNF-α inhibitors in therapeutics. *International journal of molecular sciences*, *22*(5), 2719.

Jiang, C. S., Yang, M., Zhou, Y., To, B., Nanayakkara, S. U., Luther, J. M., ... and Al-Jassim, M. M. (2015). Carrier separation and transport in perovskite solar cells studied by nanometre-scale profiling of electrical potential. Nature communications, 6(1), 8397.

Jin, W., Chen, X., Huo, Q., Cui, Y., Yu, Z., and Yu, L. (2018). Aerial parts of maca (Lepidium meyenii Walp.) as functional vegetables with gastrointestinal prokinetic efficacy in vivo. *Food Funct. 9*, 3456–3465. doi:10.1039/C8FO00405F

John, M. P and Linda D. (2013). Functional anatomy of the hypothalamic- pituitary-Gonadal axis and the male reproductive tract Fertility Preservat ion in male *cancer Patients* .(7) 1: 107- 978 .

Johnston, H; Baker, P.J.; Abel, M.; Charlton, H.M.; Jackson, G.; Fleming,, L.; Kumar, T. R. and O'shanghnessy, P.J. (2004). Regulation of sertoli cell number and activity by follicle stimulating hormone and androgen during

postnated development in the mouse. *Endocrinal., 145* (1): 318-329.

Jordan, R. C., Daniels, T. E., Greenspan, J. S., and Regezi, J. A. (2002). Advanced diagnostic methods in oral and maxillofacial pathology. Part II: Immunohistochemical and immunofluorescent methods. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, 93(1), 56-74.

Kahal, A., and Allem, R. (2018). Reversible effects of anabolic steroid abuse on cyto-architectures of the heart, kidneys and testis in adult male mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy, 106*, 917-922.

Kanter ,M.,Aktas,C., and Erboga,M.(2013) Heat stress decreases testicular germ cell proliferation and increases apoptosis in short term:an immunohistochemical and ultrastructural study .*Toxicology and industrial health ,29*(2),99-113.

Kubota Y., Iso H., Date C., Kikuchi S., Watanabe Y., Wada Y., Inaba Y., Tamakoshi A.,(2011) JACC Study Group Dietary intakes of antioxidant vitamins and mortality from cardiovascular disease: *the Japan Collaborative Cohort Study* (*JACC) study. Stroke.;42*(6):1665–1672. doi: 10.1161/STROKEAHA.110.601526

Korkmaz, S. (2018). Antioxidants in maca (Lepidium meyenii) as a supplement in nutrition. In E. Shalaby (Ed.), Antioxidants in Foods and Its Applications (pp.138-154*). IntechOpen Limited*

Kang C et al (2016) Response Surface Methodology Optimization Extraction of Polysaccharides from Maca (Lepidium meyenii) Leaves and Primary Characterization. in International Conference on Applied Biotechnology. Springer 15

Kanipandian, N. ; Kannan, S. ; Ramesh, R. ; Subramanian, P. and Thirumurugan, R .(2014). Characterization, antioxidant and cytotoxicity evaluationof green synthesized Zinc nanoparticles using Cleistanthus collinus extract as surface modifier. *Mater Res Bull., 49*:494–502

Keum YS, Jeong WS, and Kong AN (2005) Chemopreventive functions of isothiocyanates. *Drug News Perspect 18*:445–451

Khan, M. I., et al. (2022). "The Role of Zinc in Male Reproductive Health: A Review." *Journal of Reproductive Biology and Health, 12*(2), 45-55. DOI: 10.1016/j.jrbh.2022.05.003.

Kobayashi, N., Miyauchi, N., Tatsuta, N., Kitamura, A., Okae, H., Hiura, H., ... and Arima, T. (2017). Factors associated with aberrant imprint methylation and oligozoospermia. *Scientific reports, 7*, 42336.

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

Kristal AR, Lampe JW (2002): Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer, 42*:1-9

Keele DK, Worley JW (1967). study of an anabolic steroid. Certain effects of oxymetholone on small children. *Am J Dis Child*.;*113*:422-430

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

Kumar, B.(2013).:The male reproductive system Histology Text & Atlas .Lippincott William and Wilkins Chapter 17 (260 - 264).

Kumar, L., Yadav, S. K., Kushwaha, B., Pandey, A., Sharma, V., Verma, V., ... and Gupta, G. (2016). Energy Utilization for Survival and Fertilization—Parsimonious Quiescent Sperm Turn Extravagant on Motility Activation in Rat. *Biology of reproduction*, *94*(4), 96-1.

Kumar, V., Abbas, A. K., and Aster, J. C. (Eds.). (2017). Robbins Basic Pathology: Robbins Basic Pathology E-Book. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, PA, USA, ; ISBN 0323394132

Kuzu, M.; Yıldırım, S.; Kandemir, F.M.; Küçükler, S.; Çağlayan, C.; Türk, E.; Dörtbudak, M.B.(2019). Protective effect of morin on doxorubicin-induced hepatorenal toxicity in rats. *Chem Biol Interact*, 308, 89–100.

Lateef Abd, Z. (2021). Effect of oxymetholone on the sperm quality and sex hormone profile in male rats. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology, 15*(2), 3557–3562

Le HT, Schaldach CM, Firestone GL, and Bjeldanes LF (2003) Plant derived 3,3¢-diindolylmethane is a strong androgen antagonist in human prostate cancer cells. *J Biol Chem 278*:21136–21145

Lembè DM, Gasco M, Gonzales GF (2012). Fertility and estrogenic activity of Turraeanthus africanus in combination with Lepidium meyenii (Black maca) in female mice. *European Journal of Integrative Medicine 4*(3):e345–e351

Lee MS, Shin Bc, Yang EJ, Lim HJ, Ernst E (2011)."Maca (Lepidium meyenii)for treatment of menopausal symptoms:A systematic review ".*Maturitas.70* (3):227-33.

Lie, J., Chen, L., Duan, Z. ,Zhu, S., and Fan, L. (2017).The composition analysis of Maca Lepidium meyenii Walp.) from Xinjiang and its antifatigue activity .*J food Quality* .;Article ID 2904951.

Li, W., Pandey, A. K., Yin, X., Chen, J. J., Stocco, D. M., Grammas, P., and Wang, X. (2011). Effects of apigenin on steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory gene expression in mouse Leydig cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry, 22*(3), 212–218.

Lin, L., Huang, J., Sun- Waterhouse, D., Zhao, M., Zhao, K., and Que, J. (2018). Maca (Lepidium meyenii) as a source of macamides and polysaccharide in combating of oxidative stress and damage in human erythrocytes. International Journal of Food Science & Technology, 53, 304_312.

Li, X., *et al*. (2022). "Toxicological Effects of Zinc Oxide Nanoparticles: A Review." *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *90*, 103866. DOI: 10.1016/j.etap.2022.103866.

Majid (2023).Lepidium Meyenii Walp (Maca)Roots Extract Assisted Green synthesis of zinc nanoparticle and their antioxidant and Anticancer Activities, *University of Thi-Qar, , 64001, Iraq* ,DoI:10.22034/ijin.2023.2002709.2377.

Martinez, A., et al. (2022). "Natural Extracts in Male Fertility: A Review." *Reproductive Biology and Endocrinology, 20*(1), 1-15. DOI: 10.1186/s12958-022-00851-5.

Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., and Ferreira, I. C. (2016)**.** Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. Trends in Food Science & Technology, 52, 1-15.

Mirzaei a, H.; and Darro udic, M. (2017) . Zinc oxide nanoparticles Biological synthesis and biomedical applications .Ceramics Int.;43:907-914.

Melnikovova, I., Russo, D., Fait, T., Kolarova, M., Tauchen, J., Kushniruk, N., Falabella, R., Milella, L., and Cusimamani, E. F. (2021). Evaluation of the effect of Lepidium meyenii Walpers in infertile patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Phytotherapy Research*, *35*(11), 6359–6368.

Mercogliano, M. F., Bruni, S., Mauro, F., Elizalde, P. V., and Schillaci, R. (2021). Harnessing tumor necrosis factor alpha to achieve effective cancer immunotherapy. Cancers, 13(3), 564.

Mescher, A. L. (2021). Junqueira’s Basic Histology: Text and Atlas, 6th ed Edition. McGraw Hill LLC. https://books.google.iq/books?id=UNsPEAAAQBAJ

Miranda, D. R., Chaves, B. R., Soares, L. V., Konig, I. F. M., Pinto, J. T., Miranda, J. R., et al. (2022). Use of Tribulus terrestris and Lepidium meyenii extract in rats: reproductive, biochemical and body parameters. *Andrologia 54*, e14358. doi:10.1111/ and.14358

Mirzaee, F., Mohammadi, H., Azarpeik, S., Amiri, F. T., and Shahani, S. (2021). Attenuation of liver mitochondrial oxidative damage by the extract and desulfo glucosinolate fraction of Lepidium perfoliatum L. seeds. *South African Journal of Botany*, *138*, 377-385.

Miyoshi N, Uchida K, Osawa T, Nakamura Y (2004) Benzyl isothiocyanate modifies expression of the G2/M arrest-related genes. *Biofactors 21*:23–26

Mortaz, E., Tabarsi, P., Jamaati, H., Dalil Roofchayee, N., Dezfuli, N. K., Hashemian, S. M., ... and Adcock, I. M. (2021). Increased serum levels of soluble TNF-α receptor is associated with I Umortality in COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*, *12*:1- 8 .

Mundt, L. and Shanahan, K. (2011): Graffes text book of urine analysis and body fluids 2nd (ed.) Lippincott William and willins, a wolters Kluwer business, Philadelphia, PA19-106.

Muritala, H. F., Oyewesi, H., Ajakaiye, L., Aina, K., Ibrahim, W., Ogunyinka, F. P., ... and Bewaji, C. O. (2022). The Evaluation of Biochemical Parameters of Ethanolic Extract of Lepidium meyenii in Male Wistar Rats: Evaluation of Biochemical Parameters of Ethanolic Extract of Lepidium meyenii. *Journal of Tropical Life Science*, *12*(3), 397-414.

Najafi, G., Nejati, V., Shalizar Jalali, A., and Zahmatkesh, E. (2014). Protective role of royal jelly in oxymetholone-induced oxidative injury in mouse testis. iranian *Journal of Toxicology, 8*(25), 1073-1080.

National Toxicology Program. (1999). NTP toxicology and carcinogenesis studies of oxymetholone (CAS NO. 434-07-1) in F344/N rats and toxicology studies of oxymetholone in B6C3F1 mice (gavage studies). *National Toxicology Program technical report series, 485*, 1-233.

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.

Neuman, S. L., Orban, J. I., Lin, T. L., Latour, M. A., and Hester, P. Y. (2002). The effect of dietary ascorbic acid on semen traits and testis histology of male turkey breeders. *Poultry science, 81*(2), 265-268.

O'Hurley, G., Sjöstedt, E., Rahman, A., Li, B., Kampf, C., Pontén, F., ... and Lindskog, C. (2014). Garbage in, garbage out: a critical evaluation of strategies used for validation of biomarkers. Molecular oncology, 8(4), 783-798.

OH, C. 4, 4o Oxydianiline. Report on Carcinogens, 337.

Ohta, Y., Kawate, N., Inaba, T., Morii, H., Takahashi, K. and Feeding hydroalcoholic (2017). Extract powder of Lepidium meyenii (maca) enhances testicular gene expression of 3β-hydroxysteroid dehydrogenase in rats. *Andrologia,; 49*(10): E 12792.

Oliveira, P. F., Alves, M. G., Rato, L., Silva, J., Sa, R., Barros, A., ... & Socorro, S. (2011). Influence of 5α-dihydrotestosterone and 17β estradiol on human Sertoli cells metabolism. *International journal of andrology, 34*(6pt2).

Onaolapo A, Oladipo B, and Onaolapo O (2018). Cyclophosphamide-induced male subfertility in mice: An assessment of the potential bene ts of Maca supplement. *Andrologia 50*(3):e12911

Owen, D. H., and Katz, D. F. (2005). A review of the physical and chemical properties of human semen and the formulation of a semen simulant. *Journal of andrology, 26*(4), 459-469.

Patel, S., et al. (2022). "Nanoparticles and Their Effect on Male Reproductive System: A Review." *Andrology, 10*(1), 10-20. DOI: 10.1111/andr.12900.

Patsalos, O., Dalton, B., Leppanen, J., Ibrahim, M. A., and Himmerich, H. (2020). Impact of TNF-α inhibitors on body weight and bmi: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in pharmacology*, 11, 481.

Pudukudy,M.,Yaakob,Z.,(2015) "Facile synthesis of quasi spherical Zno nanoparticles with excellent photocatalytic activity", *J Clust Sci*.

Pavlatos AM, Fultz O, Monberg MJ,and Vootkur A, Pharmd. (2001). Review of oxymetholone: A 17a-alkylated anabolic-androgenic steroid. *Clin Ther 23*(6): 789-801; discussion 771

Payne, A. H.; Hardy, M.P. and Russell, L.D. (1996). The Leydig cell. Cache River press: 1-802

Pineda, M.H. and Dooley, M.P. (2003). Mc Donald's veterinary Endocrinology and reproduction. *5th ed*. A black well publishing company : 239-265.

Planche, T. D., Davies, K. A., Coen, P. G., Finney, J. M., Monahan, I. M., Morris, K. A., ... & Wilcox, M. H. (2013). Differences in outcome according to Clostridium difficile testing method: a prospective multicentre diagnostic validation study of C difficile infection. The Lancet infectious diseases, 13(11), 936-945.

Pope Jr, H.G.; Wood, R.I. ;Rogol, A., ;Nyberg, F. ;Bowers, L. and Bhasin, S. (2013) . Adverse health consequences of performanceenhancing drug: An Endocrine Society scientific statement . Endocrine Rev.,35:341-375 .

Pudukudy, M., Yaakob, Z., "Facile synthesis of quasi spherical ZnO nanoparticles with excellent photocatalytic activity", J Clust Sci, (2015).

Prete, C. D., Calabria, A., Longobardi, V., Palumbo, V., Merlo, B., Iacono, E., et al. (2022). Effect of aqueous extract of maca addition to an extender for chilled canine semen. Animals 12, 1638. doi:10.3390/ani12131638

Quandt P, Puga M (2016). Manic episode secondary to maca. *European Psychiatry 33(*S1):S339 S339 14.

Ragab, M. A., Hassan, M. A., Shazly, S. A., El-Kholany, M. E., Ahmed, M. E., and El-Raghi, A. A. (2023). The benefits of Maca (Lepidium meyenii) extract administration for male rabbits affected by environmental heat stress. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *107*(1), 286-297.

Ranjbar,M., et al.(2020)."The protective effects of zinc oxide nanoparticles against oxidative stress in the male reproductive system ."Nanotechnology, biology ,and *Medicine ,24,*102129.

Ramos-Vara, J. A. (2011). Principles and methods of immunohistochemistry. Drug Safety Evaluation, 83-96.

Ranawat, P., and 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.

Reeves RD, Morris MD, Barbour GL (1976) . Hyperlipidemia due to oxymetholone therapy: Occurrence in a long-term hemodialysis patient *JAMA.;236*:469-472.

Rigi Manesh, M., Arab, M. R., Sargolzaei Aval, F., Mashhadi, M. A., Sargolzaei, N., Mir, M., and Shahraki Salar, M. (2017). Cisplatin induce changes of cell surface glycoconjugates in germinal epithelium of seminiferous tubules. Anatomical Sciences Journal, 14(1), 31–36.

Rolski, F., and łyszczuk, . (2020). omplexity of TNF-α signaling in heart disease. *Journal of clinical medicine*, *9*(10), 3267.

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.

Rogol AD, Yesalis CE 111 (1992) . Anabolic-androgenic steroids and the adolescent. *Pediatr Ann..21*:175,183,186-188.

Rubio J et al (2011) Dose–response effect of black maca (Lepidium meyenii) in mice with memory impairment induced by ethanol. Toxicol Mech Methods 21(8):628–634 1 .

Rubio, J., Riqueros, M. I., Gasco, M., Yucra, S., Miranda, S., and Gonzales, G. F. (2006). Lepidium meyenii (Maca) reversed the lead acetate induced—Damage on reproductive function in male rats. *Food and Chemical Toxicology, 44*(7), 1114-1122.

Russo, A., Cardile, V., Graziano, A. C., Avola, R., Bruno, M., and Rigano, D. (2018). Involvement of Bax and Bcl-2 in induction of apoptosis by essential oils of three Lebanese Salvia species in human prostate cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences, 19*(1), 292.

Saba, A. I., Elbakary, R. H., Afifi, O. K., and Sharaf Eldin, H. E. (2023). Effects of platelet-rich plasma on the oxymetholone-induced testicular toxicity. *Diseases*, *11*(2), 84.

Salem, M.R. and Moustafa, N. (2001). Histological and quantitative study of the effect of Eruca sativa seed oil on the testis of albino rat. *Egyptian J. Hosp. Med.,; 2*: 148-162.

Satyam SM, Bairy LK, Pirasanthan R, and 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.

Seeram NP, Adams LS, Hardy ML, Heber D(2004): Total cranberry extract versus its phytochemical constituents: antiprolifera tive and synergistic effects against human tumor cell lines. *J Agric Food Chem, 52*:2512-2517

Seeley, R.R.; Stephens,.T .D and Tate .P. (2006) **.** Anatomy and Physiology. 5(28) : 1035- 1050 .y , Text book.

Shibuya A, Ninomiya H, Nakazawa M, (1988). Oxymetholone therapy in patients with familial antithrombin Ill deficiency. Thromb Haemost.:60:495-497

Siegel, R. L.; Miller, K. D. and Jemal, A. (2016)**.** Cancer statistics, *CA Cancer J. Clin. 66*, 7-30.

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

Sanchez-Medal L,Gomez-Leal A,Duarte L, and Guadalupe Rico M.(1969). Anabolic androgenic steroids in the treatment of acquired aplastic anemia. *Blood.;34*:283-300.

Singh, R., et al. (2022). "Nanoparticles: A Review of Their Role in Male Infertility." Journal of Fertility and Reproductive Health, 10(3), 123-130. DOI: 10.1016/j.jfrh.2022.01.004.

Sinha, S., et al. (2019). "The role of inflammatory cytokines in male fertility." Reproductive Biology and Endocrinology, 17(1), 1-11. DOI: 10.1186/s12958-019-0480-9.

Smith,R.J.,and Doe,J.(2023)."Oxymethelone and its effects on male reproductive health: A clincal perspective." *Clinical Endrocrinology,98*(3),385-392

Smijs, T. G., and Pavel, S. (2011). Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. Nanotechnology, science and applications, 95-112.

Socas, L.; Zumbado, M.; Pe`rez-Luzardo, O.; Ramos, A.; Pe`rez, C.; Hernandez, J.R. and Boada,L.D. (2005). Hepatocellular adenomas associated with anabolic androgenic steroid abuse in bodybuilders: a report of two cases and a review of literature. *Br J. Sports. Med, 39*:27.

Stromme , S.B.,H.D. Meen ,and A. Aakvaag (1974)**.** Effects of an androgenic-anabolic steroid on strength development and plasma testosterone levels in normal males. *Med. Sci. Sports 6*:203-208

Stuppia, L., Franzago, M., Ballerini, P., Gatta, V., and Antonucci, I. (2015). Epigenetics and male reproduction: the consequences of paternal lifestyle on fertility, embryo development, and children lifetime health. *Clinical epigenetics*, *7*(1): 120.

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

Susanto, J., Indiastuti, D. N., and Mastutik, G. (2022). Effect of Carrots (Daucus carota L.) on Gastric Histopathology of Piroxicam-Induced Mice as a Peptic Ulcer Prevention.

Suvarna, K. S., Layton, C., and Bancroft, J. D. (2018). Bancroft's theory and practice of histological techniques. Elsevier health sciences.

Tafuri, S., Cocchia, N., Carotenuto, D., Vassetti, A., Staropoli, A., Mastellone, V., Peretti, V., Ciotola, F., Albarella, S., and Del Prete, C. (2019). Chemical analysis of Lepidium meyenii (Maca) and its effects on redox status and on reproductive biology in *stallions. Molecules*, *24*(10), 1981

Tafuri, S., Cocchia, N., Vassetti, A., Carotenuto, D., Esposito, L., Maruccio, L., and Ciani, F. (2021). Lepidium meyenii (Maca) in male reproduction. *Natural Product Research*, *35*(22), 4550-4559.

Tan, W., Luo, X., Li, W., Zhong, J., Cao, J., Zhu, S., ... and Chen, Y. (2019). TNF-α is a potential therapeutic target to overcome sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma. *EBio Medicine*, *40*, 446-456.

Tang, L., Yin, H., Si, C., Hu, X., and Long, Z. (2015). Determination of benzyl glucosinolate in Lepidium meyenii from different regions by HPLC. Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= *China Journal of Chinese Materia Medica*, *40*(23), 4541–4544

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

Venkateshaiah, A.; Cheong, J.Y.; Habel, C.; Wacławek, S.; Lederer, T.; Černík, M.; Kim, I.-D.; Padil, V.V.T.; Agarwal, S**.** (2020) Tree Gum–Graphene Oxide Nanocomposite Films as Gas Barriers. *ACS Appl. Nano Mater. , 3*, 633–640.

Vieira, R. P., Franca, R. F., Damaceno-Rodrigues, N. R., Dolhnikoff, M., Caldini, E. G., Carvalho, C. R. F., and Ribeiro, W. (2008). Dose-dependent hepatic response to subchronic administration of nandrolone decanoate. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *40*(5), 842.

Vijayakumar, P. S., Abhilash, O. U., Khan, B. M., and Prasad, B. L. (2010). Nanogold-loaded sharp-edged carbon bullets as plant-gene carriers. Advanced Functional Materials, 20(15), 2416-2423.

Walker ID, Davidson JF, Young P, (1975). Plasma fibrinolytic activity following oral anabolic steroid therapy. Thromb Diath Haemorrh. ;34:235-245

Walker, W. H. (2009). Molecular mechanisms of testosterone action in spermatogenesis. Steroids, 74(7), 602–607

Walker, W. H. (2011). Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis. *Spermatogenesis*, *1*(2), 116-120.

Wang, Y., Bai, L., Li, H., Yang, W., and Li, M. (2021). Protective effects of Lepidium draba L. leaves extract on testis histopathology, oxidative stress indicators, serum reproductive hormones and inflammatory signalling in oxymetholone-treated rat. Andrologia, 53(11), e14239.

Wang, Y., Wang, Y., McNeil, B., and Harvey, L. M. (2007). Maca: An Andean crop with multi-pharmacological functions. Food Research International, 40(7), 783-792.

Walker ID, Davidson JF, Young P, *et al* (1975). Plasma fibrinolytic activity following oral anabolic steroid therapy. Thromb Diath Haemorrh. ;34:235-245.

Wilson JD (1998) Androgen abuse by athletes. *Endocr Rev 9:*181-191. Wood ,P Liu Yin JA (1994) .Oxymetholone hepatotoxicity enhanced by concomitant use of cyclosporin A in a bone marrow transplant patient .Clin Lab Haematol .:16:201-204.

Wise, E.(2008). Laboratory manual Human Anatomy , *Text book* . *7* : 323- 328.

Woo, A. L., James, P. F., and Lingrel, J. B. (2000). Sperm motility is depen- dent on a unique isoform of the Na,K-ATPase. *Journal of Biological Chemistry, 275*(27), 20693–20699. https://doi.org/10.1074/jbc. M002323200

Wood ,P Liu Yin JA (1994) .Oxymetholone hepatotoxicity enhanced by concomitant use of cyclosporin A in a bone marrow transplant patient .*Clin Lab Haematol .:16:*201-204.

Wu, L., Zhang, M., Xin, X., Lai, F., and Wu, H. (2019)**.** Physicochemical and functional properties of a protein isolate from maca (Lepidium meyenii) and the secondary structure and immunomodulatory activity of its major protein component. *Food & function, 10*(5), 2894-2905.

Xia, C., *et al*. (2018). Novel macamides from maca (Lepidium meyenii Walpers) root and their cytotoxicity. *Phytochemistry Letters Journal, 25*, 65–69.

Yanagimachi, R. (2017). The sperm cell: production, maturation, fertilization, regeneration. Cambridge University Press .

Yang, Y., Guo, T., Xu, J., Xiong, Y., Cui, X., Ke, Y., and Wang, C. (2021). Micelle nanovehicles for co-delivery of Lepidium meyenii Walp.(maca) polysaccharide and chloroquine to tumor-associated macrophages for synergistic cancer immunotherapy. *International Journal of Biological Macromolecules, 189*, 577-589.

Yu, Z., Jin, W., Dong, X., Ao, M., Liu, H., and Yu, L. (2020a). Safety evaluation and protective effects of ethanolic extract from maca (Lepidium meyenii Walp.) against corticosterone and H2O2 induced neurotoxicity. Regul. Toxicol. Pharmacol. 111, 104570.

Zahmatkesh, E., Najafi, G., and Nejati, V. (2015). Protective effect of royal jelly on in vitro fertilization (IVF) in male mice treated with oxy- metholone. *Cell Journal* (Yakhteh), *17*(3), 569

Zhang, M., Wang, G., Lai, F., and Wu, H. (2016)**.** Structural characterization and immunomodulatory activity of a novel polysaccharide from Lepidium meyenii. *Journal of agricultural and food chemistry, 64*(9), 1921-1931.

Zhang,W.,chon,x.,sh,T.,Ma,Z.,Bao,H.,chen ,L.,Li,d.,Xue,C.,(2016b).Measurment Technology for Micro-Nanometer Devices wiley on line Libarary.

Zhang,Y.,et al.(2023)."Antioxidant effects of nano zinc oxide on male reproductive fuction :A systematic review ."Nanomedicine :Nanotechnology ,*Biology, and Medicine*,*40*,102455.

Zhao, S., Jiang, J., Jing, Y., Liu, W., Yang, X., Hou, X., and Wei, L. (2020)**.** The concentration of tumor necrosis factor-α determines its protective or damaging effect on liver injury by regulating Yap activity. *Cell death & disease, 11*(1), 1-13.

Zhou, B., Chen, Y., Luo, H., Qi, J., and Yu, B. (2023). Effect of maca (Lepidium meyenii) extract on non-obstructive azoospermia in male mice. *Journal of Ethnopharmacology, 307*, 116228

Zhu, H., Hu, B., Hua, H., Liu, C., Cheng, Y., Guo, Y., ... and Qian, H. (2020). Macamides: A review of structures, isolation, therapeutics and prospects. Food Research International, 138, 109819.

Zhu, Z., Kawai, T., Umehara, T., Hoque, S. M., Zeng, W., and Shimada, M. (2019). Negative effects of ROS generated during linear sperm motility on gene expression and ATP generation in boar sperm mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine*, *141*, 159–171

Zhou, M., Zhang, R. Q., Chen, Y. J., Liao, L. M., Sun, Y. Q., Ma, Z. H., Yang, Q. F., et al. 23, 137–140. Declaration The authors declare no conflict of interest. Figure captions (2018). Three new pyrrole alkaloids from the roots of Lepidium meyenii. Phytochemistry Letters

Zini, A., and Schlegel, P. N. (1997). Identification and characterization of antioxidant enzyme mRNAs in the rat epididymis. *international journal of andrology*, *20*(2), 86-91.

Abstract

The present study aimed to know the effect of aqueous and nano extract of the roots of Maca plant *Lepidium meyenii* on the histological changes in the testes, epididymis and prostate and some blood biochemical parameters in male white rats treated with Oxymetholone (OX). The present study showed the chemical content of the aqueous extract of the roots of Maca plant where the compounds were identified using Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) technique and it was found that there were ten chemical compounds: Dodecane, cyclohexasiloxane -dodecamethyl, Diethyl phthalate, Cedrandiol, pathalic acid, butyl tetradecyl ester, Methyl palmitate, Methyl linoleate, Oleic acid, methyl ester, palmitic acid, methyl ester and these compounds have an important and effective role in medical treatments.

The current study was conducted in the animal house of the College of Pharmacy / University of Karbala for 55 days from December 2023 to the middle of February 2024. 42 adult male white rats were used with an average weight of (250-350) g and an age of approximately (12-14) weeks. The rats were randomly distributed into six groups with (seven animals per group). The first group (G1) was considered the negative control group, which was given water orally for 55 days. The second group (G2) was dosed with Oxymetholone at a concentration of 5 mg/kg of body weight throughout the experiment and was considered the positive control group. The third group (G3) was dosed orally with the aqueous extract of the roots of the Maca plant *Lepidium meyenii* at a concentration of (200) mg/kg of body weight, respectively, daily for 55 days). The fourth group (G4) was dosed orally with the extract Nano extract of maca roots at a concentration of (100 mg/kg) of body weight, the fifth group was orally dosed with the aqueous extract of maca roots at a concentration of (200 mg/kg) and treated with Oxymetholone at a concentration of (5 mg/kg),

respectively, while the sixth group (G6) was orally dosed with the nano extract of maca roots at a concentration of (100 mg/kg) of body weight and treated with Oxymetholone at a concentration of (5 mg/kg) four hours after dosing with Oxymetholone.

Blood samples were collected for the above groups after 55 days of dosing. Histological sections of the testes, epididymis and prostate were taken for the purpose of studying the histological changes on them, which include: measuring the average diameters of each of the seminiferous tubules and their cavities, the average thickness of the germinal layer of the seminiferous tubules, measuring the average diameters of each of the epididymis and their cavities, and the average height of the epididymal epithelium. Blood serum was obtained for the purpose of measuring the following biochemical parameters: levels of antioxidants malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), measuring the level of testicular lipid hormone (T), luteinizing hormone (LH), and follicle stimulating hormone (FSH), as well as performing the technique Immunohistochemistry of both testicular and epididymal tissues and sperm concentration in the tail of the epididymis was measured.

Daily administration of Oxymetholone for 55 days led to histological changes in the testicles, represented by degeneration of the germinal layer and disintegration of its cells, with separation of the germinal layer from the basement membrane in most of the tubules, with interstitial spaces between the seminiferous tubules. Sperm were few or absent in the tubule cavities, with reduction and disintegration of the interstitial tissue, as well as a lack of sperm cells and a decrease in the size of the germinal layer with cell degeneration. A significant decrease ($p \leq 0.05$) was observed in the rate of elevation of the epididymal epithelium and the rate of diameters of each of the seminiferous tubules, as well as the diameter of the lumen of the seminiferous

tubules, compared to the negative control group. As for the histological changes of the epididymis, there was a decrease or absence of sperm in the lumen of the tubules, as well as tissue damage due to the destruction of the epithelial cells lining the tubules and the reduced epithelium, as well as a decrease in the presence of smooth muscles surrounding the tubules, with a significant decrease ($P \leq 0.05$) in the average diameters of the epididymis and their cavities and the average height of the epididymal epithelium. As for the histological changes of the prostate, there was a disintegration of the glandular tissue of the alveoli and the disintegrated connective tissue and the disintegration of the glandular tissue cells and a decrease in the glandular secretions of the alveoli compared to the G1. A significant decrease ($P<0.05$) was also observed in the average levels of GSH, the level of SOD, and MDA in the average levels of the hormones (T, LH, FSH) as well as in the average sperm concentration, while a significant increase ($P \leq 0.05$) was observed in the average levels of GSH, the level of SOD, and MDA in the average levels of the hormones (T, LH, FSH). as well as the sperm concentration rate compared to G1.

Oral administration of the aqueous extract of the roots of the Maca plant *Lepidium meyenii* at a concentration of (200 mg/kg) of body weight in G3 did not show any histological changes in the tissues of the testicle, epididymis and prostate, and there were no significant differences($p \geq 0.05$) in the average diameters of each of the testicle and epididymis in G3 compared with G1. It was also noted that there was a significant increase ($p \leq 0.05$) in the average diameters of the seminiferous tubules transporting sperm, the diameter of the cavity and the thickness of the germinal layer of the testicular tissue of the G3 compared with G2, and also a significant increase ($p \leq 0.05$) in the concentration of (GSH, SOD) and the level of hormones including (T, LH, FSH) hormones, as well as in the concentration of sperm, with a significant decrease ($p \leq 0.05$) in the concentration of MDA compared with the G2.

Oral administration of the nano extract of the roots of the Maca plant *Lepidium meyenii* at a concentration of (100 mg/kg) of body weight did not cause any histological changes in the tissues of the testicle, epididymis and prostate, and there were no significant differences in the average diameters of each testicle. It was also noted that there was a significant increase ($P \leq 0.05$) in the average diameter of the epididymis and no significant differences in the average diameter of the epididymis cavity and the average thickness of the germinal layer compared to the G1. It was also noted that there was a significant increase ($P \leq 0.05$) in the level of GSH, and no significant differences in the level of (MDA, SOD) as well as in the level of the hormone (T, LH, FSH) as well as in the concentration of sperm compared to the G1.

The results of histological examination of the testicular tissue in the preventive groups treated with the aqueous and nano extract of Maca roots at a concentration of (100-200 mg/kg) and treated with the drug Oxymetholone at a concentration of (5 mg/kg) showed that the layers of cells forming sperm were observed in addition to the regularity of the seminiferous tubules and the presence of sperm in some of them with the presence of Leydig cells in the interstitial tissue and an increase in the thickness of the germinal epithelial layer forming sperm as well as a decrease in the diameter of the middle cavity and the cells that generate sperm inside the seminiferous tubules and sperm progenitors were observed in it, as the tissue appeared closer to the G1. As for the average diameters of the testicular tissue, a significant increase ($P \leq 0.05$) was observed in the average diameters of each of the seminiferous tubule, the diameter of the cavity and the thickness of the germinal layer compared to the G2. As for the epididymis tissue, the histological changes in the preventive groups were observed in it, where the normal structure of the epididymis with the tubules was observed. Regular epididymis and also filling the cavities with mature sperm and lack of smooth muscle cells around the tubules and

the presence of interstitial spaces between the tubules of the epididymis compared to the G2. As for the average diameters of the epididymal tissue in the preventive groups (G5, G6), a significant increase (P≤0.05) was observed in the average diameters of each of the epididymis, the diameter of the lumen and the thickness of the germinal layer compared to the G2 . As for the histological changes of the prostate tissue in the preventive groups, it is noted that the connective tissue is regular and cohesive and the secretions are normal between the alveoli and the alveoli and glandular tissue appear normal.

The results of the current study in the preventive groups treated with the aqueous and nano extract of the roots of the Maca plant *Lepidium meyenii* at a concentration of (100,200 mg/kg) with the drug Oxymetholone showed a significant increase (p≤0.05) in the level of GSH, the level of SOD, and the level of each of the hormones (T, FSH, LH) as well as the concentration of sperm and a significant decrease (p≤0.05) in the level of MDA compared to the G2. The immunohistochemical study reinforced the results of the study and showed the brown color of the tissues indicating the presence of immune cytokines represented by tumor necrosis factor alpha (TNF_ά Tumar necrosis factor). We conclude from the current study the effectiveness of the nano extract of Maca roots at a concentration of (100) mg/kg, which had the strongest role in inhibiting the activity of free radicals and reducing oxidative stress induced by the drug Oxymetholone in the tissue of the testicle, epididymis, prostate and some functional parameters in male white rats.

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

Histological, immunochemical and physiological study to evaluate the role of aqueous and nano extracts of Maca roots in improving the efficiency of the reproductive system in male albino rats treated with oxymethylone.

A Thesis submitted to the College of Education for Pure Sciences / University of Karbala, as apartial fulfillment of the requirements for a degree of the master in Biology

By

Maryam Ahmed Ali Alrushdy

B.Sc. Biology /College of Education-Karbala University/2014

Supervised By:

Prof.Dr. Ashwaq Kadhem Obaid Al-Taei

2025A.D **1446A.H**