



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

**الدور الوقائي لجسيمات اوكسيد الزنك لنبات اكليل الجبل
Rosmarinus officinalis ضد الاجهاد التأكسدي المستحث بالبراسيتامول
في ذكور الجرذ**

أطروحة مُقدمة الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في تربية علوم الحياة - علم الحيوان
كُتبت بواسطة

ساره سعد عبد الامير مهدي

بكالوريوس علوم حياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / 2013

ماجستير علوم حياة-علم الحيوان/ كلية التربية للعلوم الصرفة / 2018

بإشراف

أ. د. رشا عبد الامير جواد

بإشراف

أ. د. نصير مرزا حمزة

2025م

1447 هـ

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

﴿ یَرْفَعُ اللّٰهُ الَّذِیْنَ ءَامَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِیْنَ أُوتُوا

الْعِلْمَ دَرَجٰتٍ وَّاللّٰهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِیْرٌ ﴾

صَدَقَ اللّٰهُ الْعَلِیُّ الْعَظِیْمُ

سورة المجادلة - آية (11)

إقرار المشرف على الأطروحة

نشهد أن إعداد هذه الأطروحة الموسومة بـ (الدور الوقائي لجسيمات اوكسيد الزنك لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* ضد الاجهاد التأكسدي المستحث بالبراسيتامول في ذكور الجرذ) التي قدمتها الطالبة (ساره سعد عبد الامير) قد جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة/ علم الحيوان.



التوقيع:

اسم المشرف الاول: د. نصير مرزا حمزة

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة

التاريخ: / / 2025



التوقيع:

اسم المشرف الثاني: د. رشا عبد الامير جواد

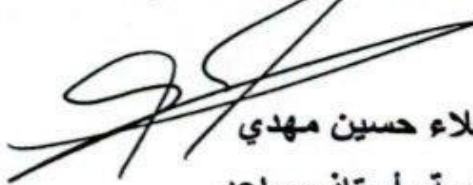
المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة

التاريخ: / / 2025

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات المقدمة أشرح هذه الأطروحة للمناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.



التوقيع:

الاسم: د. علاء حسين مهدي

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة

التاريخ: 2025 / 09 / 12

﴿إقرار المقوم اللغوي﴾

اشهد أن هذه الأطروحة الموسومة بـ (الدور الوقائي لجسيمات اوكسيد الزنك
لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* ضد الاجهاد التأكسدي المستحث
بالبراسيتامول في ذكور الجرذ) في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة/ جامعة
كربلاء التي قدمتها الطالبة (ساره سعد عبد الامير) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية
وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الأطروحة مؤهلة للمناقشة
بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.



التوقيع:

الاسم: أ.م.د. خالد عبدالنبي عيدان

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة كربلاء / كلية العلوم الاسلامية

التاريخ: / / 2025

﴿إقرار المقوم العلمي الأول﴾

اشهد أن هذه الأطروحة الموسومة بـ (الدور الوقائي لجسيمات اوكسيد الزنك لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* ضد الاجهاد التأكسدي المستحث بالبراسيتامول في ذكور الجرذ) في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة / جامعة كربلاء التي قدمتها الطالبة (ساره سعد عبد الامير) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الأطروحة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ.م. د. ايناس محمد مجهول

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة القادسية / كلية التربية

التاريخ: 2025 / /

﴿إقرار المقوم العلمي الثاني﴾

اشهد أن هذه الاطروحة الموسومة بـ (الدور الوقائي لجسيمات اوكسيد الزنك لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* ضد الاجهاد التأكسدي المستحث بالبراسيتامول في ذكور الجرذ) في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة/ جامعة كربلاء التي قدمتها الطالبة (ساره سعد عبد الامير) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الاطروحة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع:

الاسم: أ.د. غصون غانم كعيم

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية العلوم الطبية التطبيقية

التاريخ: 2025 / /

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين ادناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الأطروحة الموسومة بـ (الدور الوقائي لجسيمات اوكسيد الزنك لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* ضد الاجهاد التأكسدي المستحث بالبراسيتامول في ذكور الجرذ) في كلية التربية للعلوم الصرفة/ قسم علوم الحياة/ جامعة كربلاء التي قدمتها الطالبة (ساره سعد عبد الامير) كجزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه، وبعد اجراء المناقشة العلنية وجد انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الأطروحة بتقدير (امتياز).

رئيس لجنة المناقشة

التوقيع: 

الاسم: د. عايد حميد حسن

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية الطب البيطري

عضو اللجنة

التوقيع: 

الاسم: د. تحرير محمد نطاح

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة قاسم الخضراء / كلية الزراعة

عضو اللجنة

التوقيع: 

الاسم: د. علاء حسين مهدي

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

عضواً ومشرفاً

التوقيع: 

الاسم: د. نصير مرزا حمزة

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

عضو ومشرفاً

التوقيع: 

الاسم: د. رشا عبد الامير جواد

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

أصابت على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع: 

الاسم: د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2025/ 9 / 11

الاهداء

الى من عرفت طعم التعب منذ نعومة اظافرها، الى من كانت كل خطوة في حياتها مقاومة وصبرا، وكل لحظه صمت منها كانت حديثا خفيا بينها وبين الله لا يسمعه سواها، حين مر الربيع مثقلا بالمرض بقيت كما عهدناها قوية تنكئ على الله وتحفي وجعها خلف نظرات مرضا ومرضوخ، واليوم كل توفيق كتب لي في هذه الحياة، وكل باب افتتح امامي اعلمه تماما انه وراءه دعاؤك (امي)

الى من لم يكن كثير الحديث لكنه منحني الامان والقوة في ضلله (ابي)

الى مرفيق المدرب ورميل البدايات الى من شاركني مقاعد الدراسة يوما ما ولم يكن مجرد زميل بل سنداً ومرفيقاً لم يقف يوماً في طريق احلامي بل كان يدفعني نحوها بثقة ومحبة فكان النجاح لنا معا (نروجي)

الى التي لم تكن يوماً مجرد شقيقة بل كانت صديقتي ومرفيقة دربي وسندا لي حين يثقلني التعب وملأذا امنالأولادي يا نعم الهدية من السماء ها انا تنكئ عليك اليوم كما لو كنت انت الكبرى دمتي لي قلبا لا يتغير (اختي)

الى من تسعد عيني برؤياه شريك العمر ومرفيق الطفولة والكبر (اخوي امير)

الى من يشبه النقيض الجميل صغير في سنه كبير في فهمه عنيد بطبعه لكنه يحمل قلبا نقيا يملأه الحنان اخي الصغير . . (منذمر)

الى نبع الفرح الذي تفتحت به مروحي ونبض قلبي الهادي . . . (بنائي مروزر وعلي)

سامرة

شكر وتقدير

الحمد لله الذي لا يبلغ مدحته القائلون ولا يحصى نعمائه العادون ولا يؤدي حقه المجتهدون الذي ليس لصفته حد محدود ولا نعت موجود ، والصلاة والسلام على خير خلقه سيد المرسلين محمد صل الله عليه واله وسلم. وانا اضع اللمسات الاخيرة في اطروحتي أتوجه بخالص شكري وتقديري لأستاذي الفاضل الدكتور نصير مرزا حمزه لاقتراحه عنوان الأطروحة ولما قدمه لي من توجيهات علمية قيمة فجزاه الله عني خير الجزاء. كما اتقدم بالشكر الجزيل الى استاذتي الفاضلة الدكتورة رشا عبد الامير جواد لما قدمته لي من مساعدة ودعم طيلة مدة الدراسة ولما تحلت به من رحابة صدر وحسن استماع اسأل الله ان يبارك في علمها وعملها ويمن عليها بتمام الصحة والتوفيق والسداد.

كما ويطيب لي ان اتقدم بالشكر إلى رئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة المتمثلة بالدكتور علاء حسين مهدي الصافي لعطاءه الدائم ودعمه المستمر لطلبته فجزاه الله عنا خير الجزاء ، كما ويسرني ان اتقدم بالشكر والتقدير للكادر التدريسي في قسم علوم الحياة وخص بالذكر الدكتورة بان موسى والدكتورة اشواق طالب لدعمهم وتشجيعهم المستمر الى لطلبة الدراسات العليا فأسأل الله أن يوفقهم و يسدد خطاهم.

ويسرني ان اتقدم بجزيل الشكر والعرفان الى زميلتي م.م فضاء عبد السادة عذاب شكرا لأنك كنت السند حين تعثرت الخطى والفرحة حين نجحنا معنا ادعو الله ان يحفظك برحمته ويسدد خطاك نحو كل خير ويقر عينيك بمن تحبين ويرزقك حياة تشرق بها الايام كما اشرفت على دربي .

و اتوجه بشكري وتقديري الى الدكتور كرار حسين حنيت والى اخوتي واخواتي في درب العلم والمعرفة من طلبة الدراسات العليا اسأل الله ان يوفقكم جميعا .

سارة

الخلاصة

تهدف الدراسة الحالية الى معرفة التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي المخلوق من جسيمات اوكسيد الزنك لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* ضد السمية التكاثرية المستحثة بالبراسيتامول لدى ذكور الجرذان البيضاء عن طريق دراسة بعض التغييرات في المعايير الفسيولوجية والنسجية.

اجريت هذه الدراسة في مختبر الدراسات العليا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء للمدة من 2024/4/13 الى 2024/10/13

اجريت الدراسة على 60 جرذا من الذكور البالغة اذ تضمنت الدراسة تجربتين تهدف الاولى الى تحديد التركيز الاكثر فعالية من بين ثلاث تراكيز امانة للمستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل استعمل فيها (24) جرذ تراوحت اوزانهم بين (200-250) غم وكانت اعمارهم من (12-14) اسبوع ، قسمت الى اربع مجاميع بواقع (6) جرذان لكل مجموعة تركت المجموعة الاولى بدون معاملة و عدت مجموعة سيطرة ، في حين جرعت المجموعات الثلاث الاخرى فمويا بأحد تراكيز المستخلص النانوي (50، 100، 150) ملغم / كغم / يوم ولمدة 30 يوم ، بعدها تم سحب عينات الدم لتقدير نشاط انزيم السوبر اوكسيد الدسموتيز Superoxide dismutase الذي اعتمد كمعيار لتحديد فعالية المستخلص النانوي اذ اظهر التركيز (100) ملغم / كغم زيادة معنوية في نشاطية SOD و عليه تم اختياره للتجربة الثانية .

التجربة الثانية شملت 36 من ذكور الجرذان البيضاء (بنفس الاعمار والاوزان اعلاه) قسمت عشوائيا الى ست مجاميع بواقع (6) حيوانات لكل مجموعة عدت المجموعة الاولى G1 مجموعة السيطرة السالبة ، المجموعة الثانية G2 سيطرة موجبة جرعت البراسيتامول بتركيز 25 ملغم / كغم ، المجموعة الثالثة G3 جرعت بالمستخلص المائي لنبات اكليل الجبل بتركيز 200 ملغم / كغم ، المجموعة الرابعة G4 المجموعة الوقائية جرعت بالمستخلص المائي بتركيز (200) ملغم / كغم وبعدها بساعتين جرعت بالبراسيتامول (25) ملغم / كغم ، المجموعة الخامسة G5 جرعت بالمستخلص النانوي لاكليل الجبل بتركيز (100) ملغم / كغم ، المجموعة السادسة G6 المجموعة الوقائية جرعت بالمستخلص النانوي (100) ملغم / كغم وبعده ساعتين جرعت بالبراسيتامول (25) ملغم / كغم ،المجاميع اعلاه جرعت فمويا ولمدة 60 يوم .

تم تسجيل اوزان الحيوانات عند بداية التجربة ونهايتها وجرت عملية التضحية بالحيوانات بعد مرور (24) ساعة من اخر تجريع . جمعت عينات الدم لغرض تحليل المعايير والتي تشمل قياس مستوى هرمون التستوستيرون Testosterone، الهرمون المحفز للحيوانات المنوية Spermatogenic stimulating hormone والهرمون المحفز للخلايا البينية Interstitial Cell – Stimulating Hormon، مستوى المألون ثنائي ألدهايد Malondialdehyde و الكلوثاينون Glotathione ونشاط أنزيم الكاتليز Catalase ، كما و تم استئصال الخصى والبرابخ واخذ اوزنها ومن ثم قياس معدل اقطار النيببات الناقلة للمني ومعدل قطر التجويف ومعدل سمك الطبقة الجرثومية ومعدل كل من سليفات النطف والخلايا النطفية الاولى و ارومات النطف وخلايا سيرتولي ومعدل اقطار البرابخ وقطر التجويف البربخي ومعدل سمك

الظهارة البربخية ومن ثم دراسة معايير الخصوبة الاخرى (معالم النطف والتي شملت تركيز النطف وحيويتها ، النسبة المئوية للنطف المتحركة والنطف اللاسوية) والتغيرات النسجية.

اظهرت نتائج التشخيص لمستخلص اكليل الجبل المحمل على جسيمات اوكسيد الزنك النانوية مؤشرات واضحة على نجاح عملية التحميل والتفاعل بين المركبات الفعالة والمادة الحاملة

و اظهرت تقنية GC-MS عن وجود (48) مركب فعال في اوراق نبات اكليل الجبل وكان المركب الفعال Guaiol يمتلك اعلى مساحة في المستخلص اما المركب الفعال Neophytadiene كان يمتلك اقل مساحة في المستخلص.

اظهرت نتائج التجربة الاولى وجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى نشاط انزيم SOD في مجموعة الوقائية (100) ملغم / كغم و (150) ملغم / كغم من المستخلص النانوي لاكليل الجبل مقارنة مع مجموعة السيطرة. بالمقابل، لم تكن هنالك فروق معنوية ($P \geq 0.05$) في مستوى نشاط انزيم SOD في مجموعة الوقاية عند تركيز (50) ملغم / كغم وعليه تم اختيار المجموعة الوقائية الثانية لوجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في قيمتها احصائيا بالمقارنة مع المجموعة الوقائية الثالثة.

كما بينت نتائج التجربة الثانية وجود انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في معدل الوزن المطلق للجسم ، تركيز النطف ، حيوية النطاف، حركتها ، مستوى GSH، CAT ، مستويات هرمونات التكاثر (FSH،LH،T) ، معدل اقطار سليفات النطف ، الخلايا النطفية الاولية ، ارومات النطف ، خلايا سيرتولي في الخصى ، اقطار البربخ والظهارة البربخية ، وارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للنطف اللاسوية ، مستوى MDA، وقطر تجويف النبيبات المنوية وقطر تجويف البربخ في حين لم يلاحظ فرق معنوي ($P \geq 0.05$) في معدل الكسب الوزني للخصى والبرابخ لدى مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

اشارت النتائج ايضا الى وجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في معدل الوزن المطلق للجسم والخصى والبرابخ ، تركيز النطف، حيوية النطاف، حركتها ، مستوى GSH، CAT ، مستويات هرمونات التكاثر (FSH،LH،T) ، معدل اقطار كل من النبيبات الناقلة للمني ، سليفات النطف ، الخلايا النطفية الاولية، ارومات النطف ، خلايا سيرتولي وسمك الطبقة الجرثومية في الخصى، و معدل اقطار البربخ ، والظهارة البربخية ، وانخفاض معنوي معنوي ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للنطف اللاسوية و مستوى MDA ومعدل قطر تجاويف النبيبات الناقلة للمني والبرابخ في مجموعة الحيوانات المعاملة بالمستخلص المائي ومجموعة الحيوانات المعاملة بالنانوي بالمقارنة مع الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول .

كما اشارت الدراسة النسجية للمقاطع وجود تغيرات مرضية لدى مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول تمثلت بتحطم الغشاء القاعدي للنبيب المنوي، تفكك النسيج البيني مع تنكس خلايا لايدك وتناقص اعدادها ، توسيع تجويف النبيب، قلة اعداد النطف، احتقان النسيج البيني، و تفجج في سليفات

النطف، بالمقابل اظهرت المقاطع النسجية لحيوانات مجموعة الوقاية المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي اختزالا كبيرا في التغيرات التي لوحظت في مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول .

اما بالنسبة للبرابخ فقد اظهرت المقاطع النسجية وجود تغيرات مرضية لدى مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول تمثلت بخلو او قلة تجاويف البربخ من النطف، كبر حجم الفراغات بين النبيبات، ارتشاح للخلايا الالتهابية، تحطم للاهداب، تنكس للخلايا المبطننة للنبيب، فرط تنسج داخلي و حدوث نزف. بالمقابل اظهرت المقاطع النسجية لحيوانات مجموعة الوقاية المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي انحسارا كبيرا في التغيرات التي لوحظت في مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول. نستنتج من الدراسة الحالية ان المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل بتركيز (200) ملغم/ كغم والمستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل بتركيز (100) ملغم / كغم يمتلك القابلية على اختزال التأثيرات الضارة على الجهاز التناسلي الذكري والناجمة عن البراسيتامول بتركيز (25) ملغم / كغم وظهور تحسن واضح مما يدل على دوره الوقائي عن طريق فعاليته المضادة للاكسدة .

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
I	الخلاصة	
IV	قائمة المحتويات	
13	قائمة الجداول	
XI	قائمة الاشكال	
XII	قائمة الصور	
XIII	قائمة المختصرات	
الفصل الاول : المقدمة		
1	المقدمة	1.1
3	الهدف من الدراسة	2.1
الفصل الثاني : استعراض المراجع		
4	الأدوية غير الستيرويدية المضادة للالتهابات	1.2
4	الخصائص العامة لعقار الباراسيتامول	2.2
5	الخصائص الكيميائية والفيزيائية للباراسيتامول	1.2.2
5	جرعة عقار الباراسيتامول	2.2.2
6	استعمالات الباراسيتامول والتأثيرات الجانبية	3.2.2
6	تأثير العوامل الدوائية على الوظائف التناسلية للذكور	4.2.2
8	الحركية الدوائية	5.2.2
8	الباراسيتامول أيض	6.2.2
9	الية عمل الباراسيتامول	7.2.2
10	دور الباراسيتامول في حدوث الاجهاد التأكسدي	8.2.2
10	الإجهاد التأكسدي	3.2
11	توليد أنواع الأوكسجين التفاعلية في النطفة	1.3.2

12	مصادر أنواع الأوكسجين التفاعلية في البلازما المنوي	2.3.2
12	التأثيرات الامراضية والفسلجية للجذور الحرة على الوظائف المختلفة للنفطة	3.3.2
14	مضادات الاكسدة	4.3.2
15	نبات اكليل الجبل	4.2
16	تصنيف نبات اكليل الجبل	1.4.2
17	الاجزاء الطبية	2.4.2
18	الدور الوقائي لمستخلص اكليل الجبل من الاجهاد التأكسدي الناتج عن استعمال العقاقير والأدوية	3.4.2
21	تقنية النانو	5.2
22	التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية من المستخلصات النباتية	1.5.2
23	تطبيقات الجسيمات النانوية في المجال الاحيائي	2.5.2
24	الذكري للجرذان تشريح الجهاز التناسلي	6.2
25	الخصية	1.6.2
26	التركيب النسيجي للخصية	2.6.2
28	البربخ	3.6.2
29	السائل المنوي	4.6.2
30	عملية تكوين النطف	5.6.2
31	تركيب النفطة الناضجة	6.6.2
31	الهرمونات المسيطرة على عملية تكوين النطف	7.6.2
الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل		
33	الأجهزة المستعملة	1.3
34	الأدوات المستعملة	2.1.3
35	المواد الكيميائية المستعملة	3.1.3
36	طرائق العمل	2.3

36	الحيوانات المستعملة في الدراسة	1.2.3
37	تصميم التجربة	2.2.3
38	مخطط التجربة	3.2.3
39	تحضير المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل	4.2.3
39	تحضير المستخلص النانوي	5.2.3
39	تشخيص المستخلص النانوي	6.2.3
40	مجهر القوة الذرية	1.6..2.3
40	تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء	2.6.2.3
40	المجهر الالكتروني الماسح	3.6.2.3
41	الحيود بالاشعة السينية	4.6.2.3
41	تشخيص المركبات الفعالة بجهاز كروماتوكرافيا الغاز ومطياف الكتلة	7.2.3
42	التضحية بالحيوانات وجمع عينات الدم	8.2.3
42	معايير الدراسة	3.3
42	التغيرات الوزنية	1.3.3
42	وزن الجسم	1.1.3.3
43	وزن الاعضاء التكاثرية	2.1.3.3
43	المعايير الفسيولوجية للخصوبة	2.3.3
43	دراسة معايير النطف في البربخ	1.2.3.3
43	تقدير مستويات الهرمونات	3.3.3
45	تقدير مستوى هرمون التستوستيرون	1.3.3.3
45	تقدير مستوى الهرمون المحفز للخلايا البينية و الهرمون المحفز للجريب	2.3.3.3
48	تقدير مستويات عوامل الاكسدة ومضادات الاكسدة في المصل	4.3.3
48	تقدير مستوى المالون ثنائي ألددهايد	1.4.3.3
49	تقدير مستوى الكلوتاثيون في المصل	2.4.3.3

52	تقدير فعالية إنزيم الكاتليز	3.4.3.3
54	تقدير مستوى انزيم سوبر اوكسايد دسيميو تيز	4.4.3.3
57	الدراسة النسجية	5.3.3
57	تحضير المقاطع النسجية	1.5.3.3
58	الفحص والتصوير المجهرى	2.5.3.3
59	القياسات النسجية	3.5.3.3
59	الخصى	1.3.5.3.3
59	البرايخ	2.3.5.3.3
59	التحليل الاحصائي	4.3
الفصل الرابع		
61	نتائج تشخيص المستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل	1.4
61	مجهر القوة الذرية	1.1.4
62	تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء	2.1.4
63	المجهر الالكتروني الماسح	3.1.4
65	الحيود بالاشعة السينية	4.1.4
66	GC-MS نتائج تحليل تقنية	2.4
68	التجربة الاولى تحديد التركيز الأكثر فعالية لمستخلص اكيل الجبل النانوي	3.4
70	التجربة الثانية تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي(200) ملغم / كغم والمستخلص النانوي (100) ملغم / كغم لأكيل الجبل ضد السمية التكاثرية المستحثة بالبراسيتامول (25) ملغم / كغم لدى ذكور الجرذان البيضاء ولمدة 60 يوم.	4.4
74	التغيرات الوزنية في كل من وزن (الجسم، الخصية والبربخ)	1.4.4
71	التغيرات في معالم الحيوانات المنوية بما في ذلك (التركيز ، الحركة ، الحيوية ونسبة الحيوانات المنوية الغير طبيعية)	2.4.4
77	التغيرات في مستوى المؤكسدات (المالون ثنائي الدهايد) ومضادات	3.4.4

	الأكسدة (الكاتليز و الكلوتاثيون)	
80	التغيرات في مستويات هرمونات التكاثر (هرمون التستوستيرون، الهرمون الليوتيني والهرمون المحفز للجريب)	4.4.4
82	الجانب النسجي	5.4
82	التغيرات في معدل اقطار سليفات النطف، الخلايا النطفية الاولية، ارومات النطف و خلايا سيرتولي لخصى الجرذان	1.5.4
87	التغيرات في معدل اقطار النبيبات الناقلة للمني، قطر التجويف وسمك لخصى الجرذان. الطبقة الجرثومية	2.5.4
95	معدل اقطار كل من (البريخ، تجويف البريخ، ارتفاع الظهر البريخية)	3.5.4
الفصل الخامس الاستنتاجات والتوصيات		
102	الاستنتاجات	
103	التوصيات	
المصادر		
104	المصادر العربية	
105	المصادر الاجنبية	
a	الخلاصة باللغة الانكليزية	

قائمة الجداول

رقم الصفحة	اسم الجدول	رقم الجدول
33	الاجهزة المستعملة تبعاً لاسم الشركة والمصنع	1-3
34	الأدوات المستعملة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ	2-3
35	المواد الكيميائية المستعملة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ	3-3
66	المركبات الفعالة المشخصة لنبات اكليل الجبل والنسبة المئوية لمساحتها GC-MS ووزنها في النبات حسب تحليل تقنية	1-4
69	تأثير ثلاثة تراكيز من المستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل على مستوى في مصل الدم لدى ذكور الجرذان البيضاء ولمدة 30 SOD نشاط انزيم يوما	2-4
71	لنبات اكليل الجبل تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والمستخلص والنانوي في معدل متوسطات الكسب الوزني لكل من وزن الجسم ووزن الخصى ، وزن البرابخ في ذكور الجرذان البيضاء المعاملة بالبراسيتامول	3-4
75	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والمستخلص والنانوي في معايير النطف (التركيز، الحيوية، الحركة، النطف اللاسوية) في ذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول	4-4
78	في مستوى تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والمستخلص والنانوي (في مصل الدم لدى ذكور الجرذان المعاملة GSH, CAT, MDA)	5-4

	بالبراسيتامول	
82	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والمستخلص والنانوي في هرمونات (في مصل الدم لدى ذكور الجرذان FSH و LH التكاثر (التستوستيرون، المعاملة بالبراسيتامول.	6-4
86	تأثير مجموع تأثير المعاملة المستخلص المائي والنانوي على قياس معدلا من سليفات النطف والخلايا النطفية الاولية وارومات النطف ومعدل اقطار خلايا سيرتولي في النبيبات الناقلة للمني مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول	7-4
88	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي على قياس معدلات ا النبيبات الناقلة للمني، قطر التجويف ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول	8-4
96	تأثير مجموع أ تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي على قياس معدلا من البربخ ، تجويف البربخ، الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول	9-4

قائمة الاشكال

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
5	يمثل التركيب الكيميائي للبراسيتامول	1-2
13	يمثل تأثير الاجهاد التاكسدي في الجهاز التكاثري الذكري	2-2
17	نبات الروزماري	3-2
45	المنحني القياسي لتقدير تركيز هرمون التستوستيرون	1-3
47	LH المنحني القياسي لتحديد تركيز الهرمون المحفز للخلايا البينية	2-3
47	FSH المنحني القياسي لتحديد تركيز الهرمون المحفز للجريبات	3-3
52	GSH المنحني القياسي لتقدير تركيز الجلوتاثيون المختزل	4-3
61	تحليل الهستوكرام لجسيمات اوكسيد الزنك النانوية المحضرة بواسطة المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل	1-4
62	صورة ثلاثية الابعاد تم التقاطها بواسطة مجهر القوة الذرية لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص المائي لاوراق نبات اكليل الجبل	2-4
63	التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل	3-4
64	صورة بالمجهر الالكتروني الماسح لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل عند حدود 200 نانومتر	4-4
64	صورة بالمجهر الالكتروني الماسح لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل عند حدود 500 نانومتر	5-4
65	نمط حيود الاشعة السينية لجسيمات اكسيد الزنك النانوية المحضرة باستخدام المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل	6-4
68	GC-MS يمثل منحني زمن ظهور المركبات الفعالة التي تم قياسها بجهاز	7-4

--	--	--

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
92	مقطع عرضي من نسيج الخصية لجرذ من مجموعة السيطرة السالبة	1-4
92	مقطع عرضي من نسيج الخصية لجرذ من المجموعة المعاملة بالبراسيتامول (25) ملغم / كغم	2-4
93	مقطع من نسيج الخصية لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات اكليل الجبل بتركيز (200) ملغم / كغم	3-4
93	مقطع عرضي من نسيج الخصية لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لاكليل الجبل بتركيز (200) ملغم / كغم مع البراسيتامول بتركيز (25) ملغم/كغم	4-4
94	مقطع من نسيج الخصية لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل بتركيز (100) ملغم / كغم	5-4
94	مقطع عرضي من نسيج الخصية لجرذ من المجموعة المعامل بالمستخلص النانوي لاكليل الجبل بتركيز (100) ملغم / كغم مع البراسيتامول بتركيز (25) ملغم/كغم	6-4
99	مقطع عرضي لنبيب ذيل البربخ لجرذ من مجموعة السيطرة السالبة	7-4
99	مقطع عرضي لنبيب البربخ لجرذ من المجموعة المعاملة بالبراسيتامول (25) ملغم / كغم	8-4
100	مقطع عرضي لنبيب البربخ لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات اكليل الجبل (200) ملغم / كغم	9-4
100	مقطع عرضي لنبيب البربخ لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لاكليل الجبل(200) ملغم / كغم مع الباراسيتامول (25) ملغم / كغم	10-4

101	مقطع عرضي لنبيب البربخ لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل (100) ملغم / كغم	11-4
101	مقطع عرضي لنبيب البربخ لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لاكليل الجبل(100) ملغم / كغم مع الباراسيتامول (25) ملغم	12-4

قائمة الصور

قائمة المختصرات

المصطلح	الاختصار	التسلسل
Androgen-binding-protein	ABP	31
Atomic force microscope	AFM	10
Alkaline phosphatase	ALP	29
Alanine transaminase	ALT	26
Analysis of Variance	ANOVA	1
Aspartate transaminase	AST	27
Catalase	CAT	2
Cyclooxygenases	COX	18
Deoxyribonucleic Acid	DNA	28
Distyrene Plasticizer Xylene	DPX	34
Endocrine-Disrupting Chemicals	EDCs	21
Ethylene Diamine Tetra Acetate	EDTA	33
Food and Drug Administration	FDA	20
Fourier transform infrared spectrometer	FI-TR	11
Follicle stimulating hormone	FSH	3
Gas Chromatography – Mass Spectrometry	GC-MS	4
gonadotropin –release hormone	GnRH	32

Glutathione	GSH	5
Hematoxylin & Eosin	H&E	12
Hypothalamic- Pituitary- Gonadal axis	HPG	22
Interstitial cell stimulating hormone	ICSH	16
Lethal Dose 50%	LD50	14
Least Significant difference	LSD	6
Nicotinamide Adenine Dinucleotide	NADPH	25
N- acetyl – benzoquinone imine	NAPQI	19
Nuclear factor erythoid 2- related factor 2	Nrf2	35
Non- steroidal anti-inflammatory drugs	NSAIDS	17
Prostaglandns	PGs	23
Reactive Nitrogen spicies	RNS	24
Reactive Oxygen Species	ROS	7
Scanning Electron Microscope	SEM	13
superoxide dismutase	SOD	8
Testosterone	T	9
X-Ray Diffraction	XRD	15
Zinc Oxide Nano Particles	ZnO NPs	30

الفصل الأول

المقدمة

INTRODUCTION

1.1 المقدمة :- Introduction

شهدت العقود الأخيرة تطورا ملحوظا في الصناعات الدوائية، أدى إلى توسع كبير في استخدام الأدوية المصنعة لعلاج طيف واسع من الأمراض. وقد اسهمت هذه العلاجات بشكل كبير في تحسين مستوى الصحة العامة وتقليل معدلات الوفيات المرتبطة بالأمراض المعدية والمزمنة، إضافة الى توفير وسائل سريعة وفعالة لتخفيف الألم والسيطرة على الالتهابات. الا ان الاستخدام المتزايد لهذه الادوية لم يخلو من التأثيرات الجانبية والتي تؤثر على الوظائف الحيوية للجسم ومن ابرزها التأثير على الصحة الإيجابية الذكرية (Eisenberg *et al.*, 2023).

يعرف العقم الذكري بعدم قدرة الرجل على تحقيق الحمل بعد مرور عام من المحاولات المنتظمة دون استخدام وسائل منع الحمل، وهو يعد من المشكلات المتنامية التي تؤثر في شريحة كبيرة من الأزواج حول العالم. وتشير الإحصائيات الى ان نسبة العقم المرتبطة بمشكلات لدى الذكور تتراوح ما بين 30-50% من اجمالي حالات العقم حول العالم (Albert *et al.*, 2021). وان من ابرز أسباب هذا العقم: اضطراب التوازن الهرموني الذي يؤدي الى تثبيط تخليق هرمون التستوستيرون او التأثير على مستقبلات الاندروجين ، مما ينعكس سلبا على انتاج النطف . كما ان التعرض للإجهاد التأكسدي وتراكم الجذور الحرة يسهم في تلف الحمض النووي للحيوانات المنوية، ويؤثر في وظائف الغدد الصماء، مما يؤدي الى انخفاض الخصوبة (Aitken and Baker, 2020) او عبر التأثير فوق الجيني اذ ان بعض المركبات الدوائية تؤثر على تنظيم الجينات المرتبطة بالخصوبة مما يؤدي الى انتقال التأثيرات السلبية الى الأجيال القادمة (Skinner, 2019) يعد الاستخدام المزمن لمسكنات الألم ومضادات الالتهاب غير الستيرويدية (NSAIDs)، مثل (الباراسيتامول)، من العوامل التي تؤدي الى اضطراب في الخصوبة الذكرية. على الرغم ان هذا الدواء يعد امنا عند الالتزام بالجرعات العلاجية الموصي بها، إلا أن الاستخدام طويل الأمد او الجرعات العالية منه قد تؤدي الى انخفاض مستويات هرمون التستوستيرون، مما يؤثر سلبا على انتاج الحيوانات المنوية وجودتها كما انها من الممكن ان تسبب هذه العقاقير المستخدمة الاجهاد التأكسدي الذي يؤدي الى زيادة انتاج الجذور الحرة، مما يضر بالحمض النووي للنطف وبذلك تتخضع قدرتها على الاخصاب (Aitken and Baker, 2020)، وبسبب القلق المتزايد بشأن التأثيرات الضارة للأدوية الكيميائية، بدأ العلماء في البحث عن علاجات بديلة مستمدة من الطبيعة، مثل المكملات الغذائية والمستخلصات النباتية، التي تمتلك خصائص مضادة للاكسدة ومضادة للالتهابات، مما يجعلها خيارا علاجيا محتملا لتحسين الصحة الإيجابية الذكرية وتقليل الاضرار الناتجة عن الادوية المصنعة (Rahman *et al.*, 2023).

ان بعض النباتات تمتلك تأثيرات إيجابية على الجهاز التناسلي الذكري ومن ابرزها نبات اكليل الجبل التي اكتسبت اهتماما واسعا نظرا لغناه بالمركبات النشطة بيولوجيا مثل حمض الروزمارينيك والكارنوسول اللذان يمتلكان خصائص مضادة للاكسدة والالتهاب (Takayaman *et al.*, 2016). يمتلك اكليل الجبل خصائص علاجية قوية لتحسين صحة الجهاز التناسلي الذكري. فهو يعمل بآليات متعددة تشمل تقليل الإجهاد التأكسدي، وتحفيز إنتاج التستوستيرون، تقليل الالتهابات، وتعزيز تدفق الدم إلى الأعضاء التناسلية و تنزاد الأبحاث حول إمكانية استخدام العلاجات الطبيعية والتغذية الصحية لتحسين الخصوبة، اذ يسعى العلماء الى تطوير مكملات غذائية تعتمد على مزيج من المستخلصات النباتية لتعزيز

الصحة الإنجابية اذ يجري البحث في إمكانية دمج العلاجات النباتية مع الأدوية التقليدية لتقليل الآثار الجانبية وتحسين الفعالية العلاجية (Rezzoug et al., 2019) .

ان الاستخدام المتزايد لهذه الأدوية لم يخلو من الآثار الجانبية والتي تؤثر في الوظائف الفسيولوجية الحيوية للجسم، بناء على ما سبق، يمكن القول ان الاستخدام المفرط للأدوية المصنعة قد يشكل خطرا على الصحة الإنجابية الذكرية، مما يستدعي البحث عن بدائل طبيعية أكثر امانا وفعالية اذ تؤدي النباتات الطبية دورا مهما في حماية الجهاز التناسلي الذكري وتعزيز الخصوبة، مما يجعلها خيارا واعدا في المستقبل. ومع استمرار الأبحاث في هذا المجال يمكن تطوير استراتيجيات علاجية تعتمد على التوازن بين الطب التقليدي والبدائل الطبيعية، مما يوفر حولا جديدة لمشكلات العقم الذكري دون التعرض للمخاطر المرتبطة بالأدوية الكيميائية.

2.1 الهدف من الدراسة Aim of this study

تهدف الدراسة الحالية الى:

- 1- الكشف العام عن المركبات الفعالة في نبات اكليل الجبل وتحسين بعض الاضرار الجانبية لعقار الباراسيتامول على بعض المعايير الفسيولوجية والنسجية لخصى وبرابخ ذكور الجرذان.
- 2- تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي والمستخلص النانوي ضد التغيرات السمية في الجهاز التناسلي الذكري والناجمة عن التعامل بعقار الباراسيتامول.
- 3- تقييم كفاءة المستخلص المائي والمستخلص النانوي على تحسين وظائف الجهاز التكاثري لذكور الجرذان البيضاء.

المعايير المدروسة:

اولا:- الأوزان بوساطة تقدير معدل الكسب الوزني للجسم والأوزان المطلقة للخصى والبرابخ.

ثانيا :- الجانب الفسلجي ويتضمن

- 1- معايير النطف: عن طريق حساب أعداد النطف ، والنسبة المئوية للنطف المتحركة، النطف الحية والنطف اللاسوية في ذيل البربخ.
- 2- عوامل الأكسدة ومضادات الأكسدة: عن طريق تقدير مستوى المألون ثنائي ألدهايد Malondialdehyde (MDA) ، الكلوتاثيون (GSH) ونشاط أنزيم الكاتليز Catalase (CAT) في مصل الدم.
- 3- الهرمونات: عن طريق تقدير مستويات هرمون الشحمون الخصوي (T) Testosterone والهرمون المحفز للجريبات Follicle stimulating hormone (FSH) والهرمون اللوتيني Luteinizing hormone (LH) في مصل الدم.

ثالثاً:- الجانب النسجي ويشمل

1- القياسات النسجية للخصى وتتضمن :

- قياس معدل اقطار النبيبات الناقلة للمني وتجاويفها وسمك الطبقة الجرثومية
 - حساب معدل اقطار الخلايا المولدة للنطف وتشمل (سليقات النطف، الخلايا النطفية الاولية، ارومات النطف وخلايا سيرتولي)
- 2- القياسات النسجية للبرايخ وتتضمن
- قياس معدل اقطار نبيبات البرايخ وتجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية.

رابعاً : دراسة التغيرات النسجية – المرضية في الخصى والبرايخ

الفصل الثاني

استعراض المراجع

LITERATURES

REVIEWE

1.2 الأدوية غير الستيرويدية المضادة للالتهابات :-

Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs)

هي مجموعة من الادوية التي تستخدم كثيرا من قبل الأطفال والبالغين كأدوية خافضة للحرارة ومضادة للحساسية ومسكنة للألم أي أن لها القدرة على السيطرة على الاعراض التي تقع نتيجة الالتهاب ولكن في ذات الوقت نفسه بلغ معدل فرط الحساسية لها في الانسان بما يقارب (0.3%) (Zambonino *et al.*, 2013) ، تم تصنيف هذه الادوية حسب الية عملها داخل الجسم والتركيب الكيميائي ، اذ تعمل هذه الادوية بشكل رئيسي بتعطيل أحد إنزيمات الأكسدة الحلقية (COX) Cyclooxygenases التي لها دور هام في تكوين المواد التي قد تسبب الإصابة بالالتهابات وهي الانزيمات المسؤولة عن تصنيع البروستوكلاندينات Prostaglandins من حامض الاركيونيك arachidonic acid (Bally *et al.*, 2017) من دون التأثيرات الجانبية على الجهاز الهضمي ، يختلف تثبيط هذه الانزيمات بحسب اختلاف نوع مضادات الالتهاب غير الستيرويدية (EL Hajj *et al.*, 2009) . تمتلك هذه المواد أيضا دور فسيولوجي في الجسم يتضمن حماية المعدة وتنظيم تدفق الدم في الكليتين وما الى ذلك ، اذ ان هذه الادوية تستهلك بشكل واسع في جميع انحاء العالم وتعد من أكثر الادوية التي تؤدي الى إصابة الكبد بالعديد من الاضرار واغلب اجهزة الجسم (Bjornsson , 2010).

2.2 الخصائص العامة للباراسيتامول

General Properties of the Drug Paracetamol

اشار Ali وجماعته (2020) ان الخصائص العامة لعقار الباراسيتامول كالاتي

التسمية الكيميائية : N-acetyl – para-aminophenol (APAP)

الاسم العلمي : Acetaminophen

الاسم الشائع : Paracetamol

الصيغة الكيميائية : $C_8H_9NO_2$

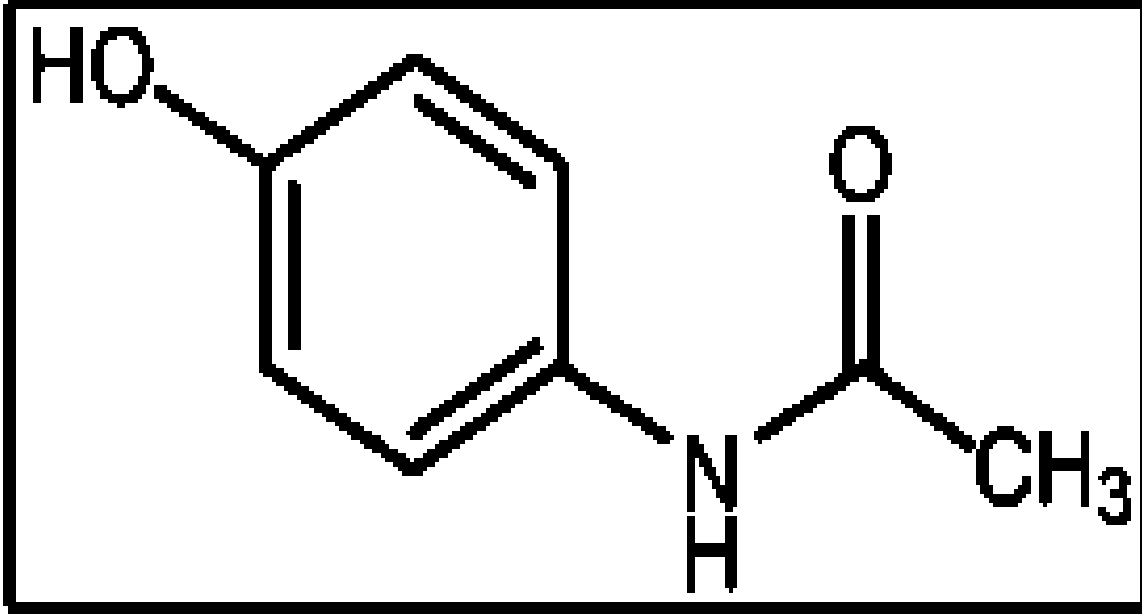
الأسماء التجارية : Panadol , Aminofen , Panamax

1.2.2 الخصائص الكيميائية والفيزيائية للباراسيتامول

Chemical and Physical Properties of Paracetamol

هو عبارة عن مسحوق بلوري أبيض عديم الرائحة مر المذاق يذوب في الماء ، وزنه الجزيئي (151.16غم \ مول، درجة انصهاره (169-170) درجة مئوية، الأس الهيدروجيني له (5.3-6.5) عند درجة حرارة (25) درجة مئوية، كثافته تبلغ (1.293 g/cc) وصيغته الجزيئية $C_8H_9NO_2$ كما في شكل (1-2)(Iloamaeke and Iwuozor , 2018) .

يحضر كيميائيا على ثلاث مراحل تبدأ عبر تحويل الفينول الى نثرو فينول عن طريق اختزال مجموعة النيتروجين الى مجموعة أمين، ثم يتحول بارا - أمينو فينول الى اسيتامينوفين بالتفاعل مع Acetic anhydride (Iloamaeke and Iwuozor , 2018)، تم اكتشافه في أواخر القرن التاسع عشر و حضر لأول مرة عام (1878) م من قبل الكيميائي(Harmon Northrop morcy) ومع ذلك لم يستخدم كعقار لمدة 15 عام ، واستخدم سريريا لأول مرة كخافض للحرارة بواسطة Vaughn Mering في عام 1887 م (Ogemdi, 2019).



الشكل (1-2) التركيب الكيميائي للبراسيتامول

2.2.2 جرعة عقار الباراسيتامول Dosage of Paracetamol

يستخدم الباراسيتامول على نطاق واسع كخافض للحرارة ومسكن للألم في العديد من الامراض التي لا تحتاج الى وصفة طبية بالنسبة للأطفال والبالغين ، الجرعة العلاجية الموصى بها للبالغين (1) غم / يوميا

تتناول عن طريق الفم لتسكين الالام الخفيفة او المتوسطة الحدة او في حالة التعرض للحمى، بالنسبة للاطفال (10-15) ملغم /كغم (Bannwarth, and Péhourcq, 2003). يؤدي استهلاك جرعة واحدة مفرطة اكثر من (7) غم / يوميا للبالغين و (150) ملغم / كغم للأطفال تسبب تسمم الكبد وتعرض الجسم والأعضاء الى الاجهاد التأكسدي بسبب الناتج الايضي التفاعلي (N- acetyl – (NAPQI) (Hodgman and Garrard,2012) benzoquinone imine)

3.2.2 استعمال الباراسيتامول والتأثيرات الجانبية

Paracetamol Uses and Side Effects

هو دواء شائع الاستخدام على نطاق واسع ومتاح بدون وصفة طبية إذ يعد الدواء المفضل للمرضى الذين لا يمكن علاجهم بالأدوية المضادة للالتهابات غير الستيرويدية (NSAIDs) مثل أولئك الذين يعانون من الربو القصبي، القرحة الهضمية، الهيموفيليا، الأطفال دون سن 12 عامًا و النساء الحوامل أو المرضعات (Józwiak and Nowak ., 2014)، اشارت دراسة الى سمية هذا الدواء مع الاستخدام طويل الأمد والجرعة الزائدة في كل عضو تقريبًا في جسم الإنسان (Saragiotto et al., 2019)، إذ يعد العقار خطيرا بشكل خاص على الكبد في حالة تناوله لفترات طويلة بالإضافة الى وجود مخاوف كبيرة بشأن تسببه بأمراض القلب، الاوعية الدموية، الكلى، الجهاز التنفسي، الجهاز الهضمي، الجهاز العصبي والجهاز التناسلي، إذ تشكل الجرعة الزائدة من العقار واحدة من اكثر حالات التسمم المرتبطة بالأدوية (Graham et al., 2012 ; Hodgman and Garrard , 2013 ; al. . طالبت إدارة الغذاء والدواء الامريكية (FDA) من الشركات المصنعة للأدوية بتجنب وصف العقارات التي تحتوي على اكثر من (325) ملغم من الباراسيتامول لكل جرعة وذلك من اجل الحد من مخاطر السمية الكبدية (Mitka , 2014)

اشارت دراسة Yan وجماعته (2018) عن سمية هذا العقار عبر دراسة مساراته المتعددة في التمثيل الغذائي، الاجهاد التأكسدي، اجهاد الشبكة الاندوبلازمية، ضعف الدورة الدموية وتعويض وإصلاح الكبد وتجديده بالإضافة الى العديد من الجينات او الجزيئات التي تؤدي دور اساس في تنظيم السمية الكبدية للباراسيتامول مثل (P53) .

4.2.2 تأثير العوامل الدوائية على الوظائف التناسلية للذكور

The Effect of Pharmacological Agents on Male Reproductive Functions

تؤثر بعض الأدوية على محور تحت المهاد-الغدة النخامية-الخصيتين، إذ تعمل كمواد كيميائية مُعطِّلة للغدد الصماء (EDCs). تؤثر هذه العوامل على النظام التناسلي إما بواسطة الارتباط المباشر بمستقبلات الأندروجين وتغيير نشاط الهرمونات الذكورية، أو عن طريق التدخل في آليات التغذية الراجعة في منطقة تحت المهاد والغدة النخامية، مما يؤدي إلى التأثير على إفراز هرمونات الغدد التناسلية إذ تشمل الاضطرابات الأساسية انخفاض إنتاج التستوستيرون وضعف عملية تكوين الحيوانات المنوية، مما يؤدي إلى اضطرابات تناسلية (Hotaling and Patel 2014).

يمكن أن يكون للأدوية أيضًا تأثيرات سامة مباشرة على بنية الخصية مثل خلايا لايدك، سيرتولي، والخلايا الجرثومية، وهي جميعها مهمة لعملية تكوين الحيوانات المنوية، بالإضافة إلى ذلك يمكن أن تتعرض

النفط للضرر أثناء انتقالها عبر البربخ، وقد يتعطل رد الفعل القذفي، مما يؤثر على عملية خروج وإطلاق السائل المنوي كما قد تحدث تأثيرات إضافية بعد القذف، حيث يمكن لبعض الأدوية تغيير وظائف النفط داخل البلازما المنوية حيث يمكن أن تؤدي هذه الاضطرابات إلى تقليل الخصوبة وإحداث تأثيرات صحية سلبية على النسل، (Klein and Cherrington 2014).

تأثيرات الأدوية على التكاثر لدى الذكور تقع ضمن ثلاث فئات: قبل الخصية، في الخصية، وبعد الخصية. التأثيرات قبل الخصية تؤثر على محور تحت المهاد-الغدة النخامية-الخصيتين (HPG)، غالباً من خلال التأثير على وظيفة الغدد الصماء. أما التأثيرات في الخصية فتتعلق بالسُممية المباشرة للغدد التناسلية، حيث يتم إعاقة تكوين الحيوانات المنوية بتأثيرات على الخلايا الجرثومية أو خلايا سيرتولي أو خلايا ليديك. بينما تحدث التأثيرات بعد الخصية من الوقت الذي تترك فيه الحيوانات المنوية الأنابيب المنوية حتى يتم إطلاقها من الجسم عند القذف و قد يؤدي تعديل عملية النقل النهائي ونسج الحيوانات المنوية خلال مرحلة ما بعد الخصية إلى حيوانات منوية ذات وظائف غير طبيعية (Drobnis et al., 2017).

يعد البراسيتامول احد الادوية التي تؤثر على الجهاز التناسلي اذ ان الإفراط في استخدام البراسيتامول يزيد من خطر الآثار الجانبية و المضاعفات في كل من البشر وحيوانات التجربة ، الجرعة الزائدة أو الاستخدام على المدى الطويل يمكن أن يؤدي إلى تسمم الأعضاء بما في ذلك سمية الخصية فضلا عن التغيرات في كيمياء الدم والمعايير الإنجابية بواسطة تثبيط تخليق هرمون التستوستيرون مما يسبب الإجهاد التأكسدي ويؤدي إلى موت الخلايا المبرمج ، كذلك يمكن أن يكون له تأثير على كل من كمية ونوعية وشكل الحيوانات المنوية وتركيب الكروماتين في الخلايا المنوية، مما يؤثر سلباً على الجهاز التناسلي الذكري (Khayyat , 2021).

5.2.2 الحركية الدوائية Pharmacokinetics

يتمتص البراسيتامول بسرعة من الامعاء الدقيقة عبر الانتشار البسيط بعد تناوله عن طريق الفم بجرعة علاجية مقدارها (1) غم يصل اعلى تركيز له في البلازما خلال (30-60) دقيقة بعد تناوله ، ويصل عمر النصف له في البلازما (1.5 – 2.5) ساعة بالجرعات الموصى بها (McGill and Jaeschke , 2013) ، لكن بالإضافة الى ذلك مع الجرعات الزائدة يضعف التمثيل الغذائي ويزداد عمر النصف الى حوالي (4-8) ساعات وهذا يرتبط مباشرة بمدى إصابة الكبد بالعديد من الاضرار (Hodgman and Garrard , 2012).

6.2.2 أيض البراسيتامول Paracetamol Metabolism

يتم ايض البراسيتامول بشكل اساس في الكبد الذي يؤدي دورا مهما في عملية التمثيل الغذائي للبراسيتامول ، بعد إعطاء الجرعة العلاجية من العقار للشخص السليم يتم اقتران الأغلبية من العقار بشكل مباشر في الكبد بواسطة انزيمات المرحلة الثانية Phase II enzyme وبالتحديد انزيم Glucuronosyltransferase و Sulfotransferas لتخليق مشتقات الكلوكورونيد Glucuronide والكبريتات Sulfate ، بعد الجرعة العلاجية يفرز البراسيتامول (52-57) % على شكل كلوكورونيد و

(30-40)% على شكل كبريتات و (5-10)% كنواتج للأبيض التأكسدي بينما يتم اخراج اقل من (5)% منه دون تغيير في البول (Chen *et al.*, 2023).

في الجرعة العلاجية يكون مسار الكبريتات قابل للتشبع في حين ان مسار الكلوكورونيد يتشبع فقط في الجرعات الزائدة ، يتم تأكسد نسبة قليلة بتفاعلات المرحلة الأولى التي تم تحفيزها بواسطة انزيمات الاكسدة المتمثلة بأنزيمات السايوكروم و Cyp2E1 ، Cyp450 ، Cyp3A4 ، ونيكوتيناميد الادنين ثنائي النيوكليوتيد فوسفات اوكسيديز Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NADPH oxidase) (Caparrotta *et al.*, 2018) يتم ايض من (5-10)% من الدواء في المرحلة الأولى من تفاعلات الاكسدة الى مركب شديد التفاعل (NAPQI) وهو المسؤول عن التأثير السام وان انزيمات السايوكروم (P450) هي المسؤولة عن تكوين NAPQI اذ يمتاز هذا الناتج التفاعلي الايضي السام بأنه عامل اكسدة قوي لديه القدرة على الارتباط مع البروتينات الخلوية واحداث الضرر في الأعضاء ، اما في حالات الجرعة العلاجية يكون الكبد السليم قادر على إزالة NAPQI بسرعة بواسطة الكلوتاثيون عن طريق ارتباط مجموعة السلفهيدريل sulfhydryl من الكلوتاثيون مع NAPQI والتي يتم افرازها فيما بعد في البول على شكل حامض المركابتوريك Mercapturatic acid والسيستين (Caparrotta *et al.*, 2018).

7.2.2 الية عمل الباراسيتامول Mechanism Action of Paracetamol

هو دواء مسكن للالم وخافض للحرارة ويستخدم عادة لعلاج الصداع وتسكين الالام الخفيفة الى المتوسطة والحمى ولكن من المعروف انه يؤثر على الجهاز العصبي المركزي ويثبط انتاج بعض المواد الكيميائية المسؤولة عن الشعور والحرارة بواسطة تثبيط الانزيمات عن طريق تثبيط انتاج البروستوغلاندين بواسطة أنزيمات الأكسدة الحلقية (COX) Cyclooxygenase الذي يكون مسؤول عن تحويل حمض الراكيدونيك الى مركبات البروستاغلاندين التي تؤدي دور مهم في نقل الالم ورفع درجة حرارة الجسم ، وأيضا من خلال تأثيره على الجهاز العصبي المركزي اذ يؤثر بشكل كبير على انزيم COX₁ و COX₂ في الجهاز العصبي المركزي اكثر من تأثيره على انزيم COX في الانسجة الطرفية لهذا السبب اشير الى ان الباراسيتامول لا يقلل من التهاب الأنسجة وتم تفسير ذلك على أساس ان الأنزيم المسؤول عن استقلاب حامض الأراكيدونك الى البروستاغلاندينات بما في ذلك البروستاغلاندين والثرموبوبوكسانات الذي يطلق عليه عادة بانزيمات الاكسدة الحلقية اذ يمتلك موقعين نشطين هما COX و بيروكسيديز (Pox) ، اذ ان التحول من حامض الأراكيدونك الى البروستانويد عملية من مرحلتين تتطلب نشاطا في موقع COX لإنتاج Hydroperoxide ، وهو غير مستقر يتحول بعد ذلك الى Prostaglandin H₂ (PGH₂) من خلال موقع Pox ، وان النشاط الأنزيمي COX يعتمد على وجوده في الشكل المؤكسد ، وينتدخّل الأستيامينوفين بشكل غير مباشر مع الشكل المؤكسد COX في الموقع Pox في الخلايا السليمة عندما تكون مستويات حامض الأراكيدونك منخفضة ، ويكون الأستيامينوفين مثبطا قويا لتخليق PGs عن طريق منع التجدد الفسيولوجي لل Pox (Graham and Scott, 2003)، أما الخلايا المصابة يكون تركيز الهيدروبيروكسيديات مرتفعا ويتم تثبيط تخليق البروستاغلاندين (PGs) بشكل ضعيف وبذلك لا يمتلك الباراسيتامول نفس التأثير المضاد للالتهاب مثل مضادات الالتهاب الغير الستيرويدية (NSAIDs) ويكون ذلك بسبب ان مضادات الالتهاب غير الستيرويدية التي تعمل على COX-2 و COX-1 حيث كان يعتقد أن

Cox-1 نشط في الجهاز العصبي المركزي وليس في موقع الأنسجة المصابة أو الملتهبة ، لذلك فإن التثبيط بواسطة الالاستامينوفين يفتقر الى النشاط المضاد للالتهابات (Mattia and Coluzzi , 2009 ; Tittarelli et al ., 2017).

8.2.2 دور الباراسيتامول في حدوث الاجهاد التأكسدي

Role of Paracetamol in the Occurrence of Oxidative Stress

تعد بروتينات المايوتوكونديريا من الأهداف الرئيسية ل NAPQI في الإصابة الكبدية بالجرعة الزائدة للعقار بالمقارنة مع مجموعة البروتينات الأخرى المرتبطة في خلايا الكبد بما في ذلك الكلوتاثيون بيروكسيداز (GPX) Glutathione peroxidase والادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) (Qiu et al., 1988) ، اذا يتداخل الناتج الايضي التفاعلي للالاستامينوفين مع المعقد الأول والثاني من سلسلة نقل الإلكترون (ETC) electron transport chain في المايوتوكونديريا مما يتسبب في تسرب الالكترونات من ETC الى الاوكسجين وهذا يشكل جذور الاوكسجين الفائقة وبمجرد تشكيل جذر الاوكسجين الفائق (O_2^-) يتم تفكيكها في المايوتوكونديريا بواسطة ديسموتاز أوكسيد المنغنيز الفائق (Manganese Superoxide Dismutase) (MnSOD) الى بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) والجزيئة (O_2) او يتفاعل مع أكسيد النيتريك الداخلي (NO) ليتشكل بيروكسي نيتريت ($ONOO^-$) ثم يتم إزالة السموم من بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بواسطة عدد من الانزيمات المضادة للاكسدة في خلايا الكبد مثل الكاتاليز والكلوتاثيون بيروكسيداز (GPx)، يرتبط الكلوتاثيون مع الجذر الحر ($ONOO^-$) في المايوتوكونديريا لإزالة السموم وبذلك يتم استنفاد GSH نتيجة لهذه الجذور الحرة المفرطة مما يؤدي الى تراكم ($ONOO^-$) وبذلك يسبب تلف (DNA) وبروتينات المايوتوكونديريا (Chrois et al., 2020).

3.2 الإجهاد التأكسدي Oxidative Stress

يتم توليد أنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS) عن طريق عمليات داخلية وخارجية مختلفة ومع ذلك تتم معادلتها بواسطة مضادات الأكسدة الأنزيمية وغير الأنزيمية ويؤدي عدم التوازن بين توليد تلك الأنواع ومعادلتها إلى التقدم نحو حالة الإجهاد التأكسدي (OS) الذي يؤدي بدوره إلى ظهور أمراض واضطرابات مختلفة فضلاً عن الشيخوخة التي من خصائصها فقدان التدريجي لوظائف الأنسجة والأعضاء (Hajam et al., 2022). كذلك تتولد جنباً إلى جنب مع البيروكسيدات العضوية في التمثيل الغذائي التأكسدي للمايوتوكونديريا أثناء تنفس الخلية (Starkov, 2008) كما و يتم إنتاجها بفعلاً إنزيمي لتدمير مسببات الأمراض ولكن ثبت أنها لا تستطيع التفريق بين الخلايا المضيفة والعوامل المسببة للعدوى، إذ يؤدي إنتاجها المفرط إلى ضعف الخلية المضيفة والأعضاء (Yadav et al., 2016) ويمكن ان تنتج ROS وأنواع النتروجين التفاعلية (RNS) Reactive Nitrogen species أيضاً من عمليات إنزيمية غير مرتبطة بسلسلة نقل الإلكترون في المايوتوكونديريا إذ تم تحديد أكثر من 30 إنزيم خلوي لإنتاج H_2O_2 (Go et al., 2015).

تحدث التفاعلات غير الأنزيمية المسؤولة عن وجود أنواع الأوكسجين التفاعلية أثناء الخطوات الوسطية لاختزال الأوكسجين الجزيئي في السلسلة التنفسية فالتفاعل الشامل يكون ممثلاً عن طريق اختزال

الأوكسجين لتكوين الماء لكن التفاعلات الجانبية غير المرغوب فيها تولد أنواع الأوكسجين التفاعلية (2018) (Cheignon *et al.*, ، أن الجذور أو الجزيئات الأكثر انتشاراً والتي تتمتع بفاعلية عالية تتضمن بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، الأوكسيد الفائق ($O_2^{\cdot-}$)، والهيدروكسيل (OH^{\cdot})، أوكسيد النيتريك (NO^{\cdot})، والبيروكسينيتريت ($-ONOO$) (Pizzino *et al.*, 2017).

1.3.2 توليد أنواع الأوكسجين التفاعلية في النطفة

Generation of Reactive Oxygen Species in Sperm

تُنتج أنواع الأوكسجين التفاعلية في النطفة عن طريق نظام Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate oxidase (NADPH oxidase) على مستوى الغشاء البلازمي أو عن طريق تفاعلات الأوكسدة والاختزال المعتمدة على مركب Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH) على مستوى الماييتوكونديريا وتمثل الميكانيكية الأخيرة المصدر الرئيس لهذا الإنتاج كون النطفة غنيّة بالمايتوكونديريا الضرورية لتحقيق تجهيز مستمر من الطاقة اللازمة للحركة (Henkel, 2011). ينتج عن النطف الفاقدة لوظيفتها في المنى زيادة كبيرة في توليد هذه الأنواع وهذا بدوره يؤثر سلباً على وظائف الماييتوكونديريا وقدرتها على الحركة (Chen *et al.*, 2013). تمثل جذور الأوكسيد الفوقي ($O_2^{\cdot-}$) المُنتج الرئيس من الجذور الحرة المتولدة في نطفة الإنسان وهي تتفاعل بتأثير انزيم السوبر أوكسيد دسميوتيز لتكوين بيروكسيد الهيدروجين وبوجود معادن الانتقال مثل الحديد Fe والنحاس Cu يدخل بيروكسيد الهيدروجين وجذور الأوكسيد الفوقي في تفاعل Haber-Weiss لإنتاج جذر الهيدروكسيل OH^{\cdot} الشديد التفاعل والذي بدوره يدخل بقوة في سلسلة تفاعلات الأوكسدة الفائقة للدهون مما يؤدي إلى فقدان النطفة لوظيفتها بسبب تدمير سيولة الغشاء البلازمي (Sikka, 2001).

2.3.2 مصادر أنواع الأوكسجين التفاعلية في السائل المنوي

Sources of Reactive Oxygen Species in Seminal Flounde

المصادر الداخلية: يحتوي السائل المنوي على أنواع مختلفة من الخلايا تتضمن النطف الناضجة وغير الناضجة والخلايا المستديرة في المراحل المختلفة من نشأة النطف فضلاً عن الخلايا الطلائية والخلايا البيض وتمثل الخلايا البيض (خاصة العدلات والبلعمات الكبيرة) والنطف غير الناضجة المصدر الداخلي الرئيس لإنتاج أنواع الأوكسجين الفعالة (Gharagozloo and Aitken, 2011). تعد غدة البروستات والحويصلات المنوية مصدراً للخلايا البيض في السائل المنوي والتي تقوم بانتاج الـ ROS بمقدار (100) ضعف مقارنة بالحالة الطبيعية عندما تستحث بالاصابات أو الاستجابات الالتهابية كجزء من

آليات الدفاع (Agarwal *et al.*, 2003) ، ينبثق الساييتوبلازم من النطف المتطورة (في الظروف الاعتيادية) لكي تتمايز إلى نطف ناضجة ولكن قد يؤدي الكبح أو التوقف في عملية تكوين النطف إلى الاحتفاظ بالساييتوبلازم الزائد حول القطعة الوسطية للنطف التالفة وهذا الساييتوبلازم الزائد المتبقي قادر على تنشيط نظام NADPH عبر مسار الهكسوز أحادي الفوسفات ، والذي يعد مصدراً للإلكترونات لإنتاج الـ ROS (Rengan *et al.*, 2012) .

المصادر الخارجية : أن المصادر الخارجية للـ ROS في البلازما النووي تتمثل بأنماط الحياة (كالتدخين واستهلاك الكحول وتناول الادوية والعقاقير دون وصفة طبية) والعوامل البيئية (كالإشعاع والسموم) إذ يمكن للإشعاع الصادر من الهواتف المحمولة أن يحفز إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية في السائل المنوي البشري مما يضعف جودة السائل المنوي ويؤدي إلى تلف الحامض النووي للحيوانات المنوية وبالتالي يؤثر على عدد النطف وحركتها وحيويتها (Aitken *et al.*, 2016) كما يمكن للموجات الكهرومغناطيسية بالترددات الراديوية أن تضعف تدفق الإلكترون داخل الخلايا على طول الأغشية الداخلية بسبب العديد من الجزيئات المشحونة في الساييتوبلازم مما يؤدي إلى تعطيل الأداء الطبيعي للخلايا الجرثومية (Sabeti *et al.*, 2016) .

3.3.2 التأثيرات الامراضية والفسلجية للجذور الحرة على الوظائف المختلفة للنطف

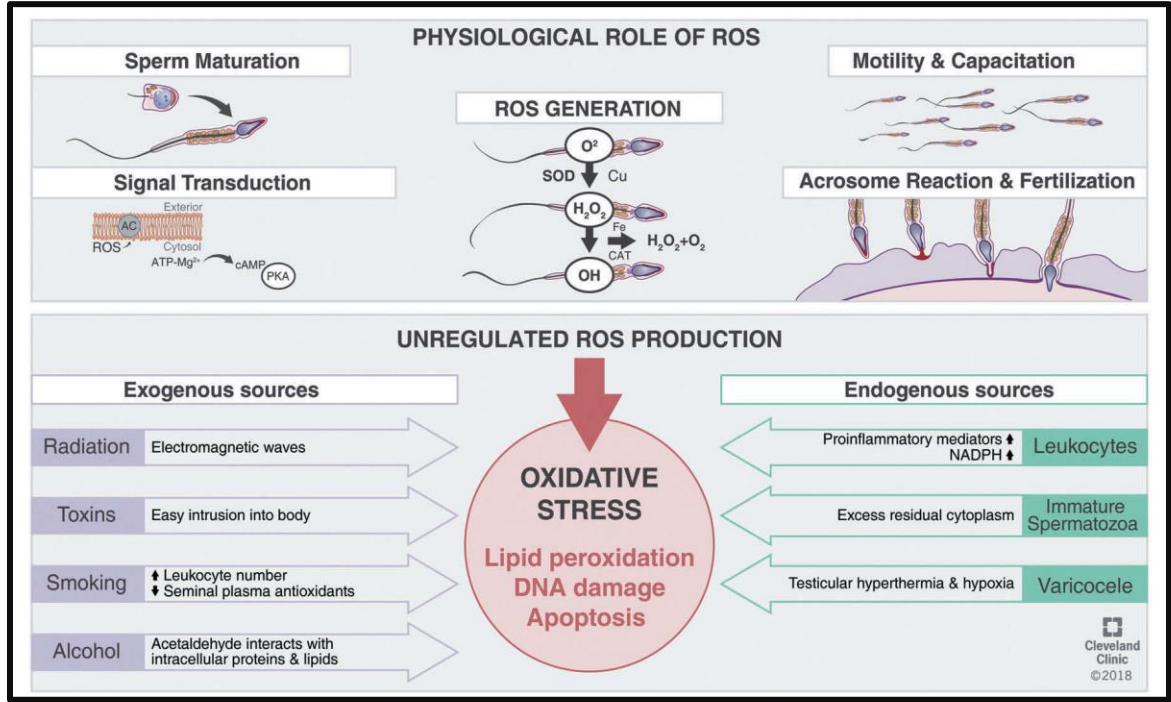
Pathological and Physiological Effects of Free Radicals on The Different Functions of Sperm

التأثيرات الامراضية : للإجهاد التأكسدي آثار سلبية كبيرة على المكونات الخلوية المختلفة مثل: الكربوهيدرات والأحماض النووية والبروتينات والدهون (Agarwal *et al.*, 2003) إذ يؤدي الهجوم المستمر لـ ROS إلى تدمير النفاذية الانتقائية لغشاء الخلية مما يقود إلى أكسدة الدهون , في حين يؤدي الهجوم التأكسدي على البروتينات إلى تغيير البنية التركيبية لها مما يتسبب في فقدان الوظيفة الكيميائية الحيوية ، بينما تؤدي التغييرات التأكسدية في الحامض النووي إلى حدوث طفرات وأخطاء في التكرار وتغييرات في الاستقرار الجيني وموت الخلايا (Molayi-Jabdaragi *et al.*, 2020)

التأثيرات الفسلجية : يتم إنتاج ROS داخل الجسم بكميات محدودة وهي ضرورية للحفاظ على التوازن الخلوي ، نقل الإشارات ، التعبير الجيني ، التعرف على العوامل الممرضة ، ضمان بقاء الخلية ، الانتشار ، الهجرة والتمايز (Hussain *et al.*, 2016) وقد بين Sies (2018) أن تعرض الخلايا والكائنات الحية للتراكيز المنخفضة ضروري لإشارات الأكسدة والاختزال ، الموجهة نحو أهداف محددة ، في حين يؤدي

التعرض المرتفع إلى تعطيل إشارات الأكسدة والاختزال وتدهورها وبالتالي معالجة اهداف غير محددة (Mannucci *et al.*, 2022).

تؤدي التراكيز المنخفضة والمنتظمة لـ ROS أدواراً فسلجية حيوية في تكاثر الذكور كنضج النطف , اكتسابها القدرة ، فرط النشاط ، تفاعل الجسيم الطرفي والاندماج بالبويضات (Dutta *et al.*, 2019) كما موضح في الشكل (2-2)



شكل (2-2) تأثير الاجهاد التاكسدي في الجهاز التناسلي الذكري (Dutta *et al.*, 2019)

يعد MDA ناتج نهائي لأكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة والأسترات المتعلقة بها (Chauhan, 2013) ، تؤدي مهاجمة الجذور الحرة للأحماض الدهنية غير المشبعة إلى إنتاج MDA لذا يستعمل بشكل واسع كمؤشر بايولوجي لأكسدة الدهون بسبب الإجهاد التأكسدي (Liu *et al.*, 2008) ، كذلك يُعد مركب 4-hydroxynonenal ناتجاً عرضياً آخر لأكسدة الدهون وهو مركب محب للماء يمكن أن يسبب خللاً وظيفياً شديداً في الخلية على مستوى التركيب الجيني ومستوى بناء البروتينات (Hample *et al.*, 2012).

يعمل بيروكسيد الهيدروجين على إتلاف غشاء الخلية وخفض حيويتها ويسبب ضرراً تأكسدياً للـ DNA في النواة والميتوكوندريا (Guha *et al.*, 2011) وقد بينَ Sikka (2001) ان تعرض النطف إلى بيروكسيد الهيدروجين يُظهر إنخفاضاً واضحاً في مستوى مضادات الاكسدة الانزيمية (SOD, CAT) والكلوتاثيون بيروكسيديز (Glutathione peroxidase (GPX)).

أشارت دراسة إلى التأثير الضار للإجهاد التأكسدي على معايير السائل المنوي وإمكانية الخصوبة إذ يتسبب في تعطيل حيوية النطف وحركتها وإمكانية التخصيب في الأنسجة التناسلية ويتضح ذلك عن طريق وجود مستويات عالية جداً من أنواع الأوكسجين التفاعلية في السائل المنوي للرجال المصابين بالعقم عند مقارنتها بالمستويات الطبيعية (Agarwal *et al.*, 2003).

4.3.2 مضادات الاكسدة Antioxidant

مضادات الأكسدة هي الجزيئات التي تمنع أو تقلل أو تؤخر أو تقضي تماماً على عمل الجذور الحرة والمؤكسدات وتحمي الجسم من الضرر التأكسدي (Lobo *et al.*, 2010) وقد بين Ali وجماعته (2020) إن مضادات الأكسدة الأنزيمية (SOD، GPX، CAT) وغير الأنزيمية (الكلوتاثيون والثيوردوكسين وحامض الأسكوربيك) تقاوم الإجهاد الناجم عن الجذور التفاعلية وتحمي الجزيئات الحيوية الخلوية كما أوضح إن التوكوفيرول، حامض الأسكوربيك، الأحماض الأمينية، الفلافونيدات، الكاروتينات، الفوسفوليبيدات والستيرولات مضادات أكسدة طبيعية تثبط أكسدة الأغذية عن طريق كسح الجذور الحرة، خلب الأيونات المعدنية المستعدة للأكسدة وإبطال نشاط المحتوى غير الحديدي لأنزيم lipoxigenase لمنع أكسدة الدهون.

تم تحديد أربعة خطوط دفاعية لمضادات الاكسدة بناءً على تفاعلاتها :

مضادات الأكسدة الوقائية : تعمل هذه المجموعة على منع عمليات الأكسدة عن طريق كبح تكوين الأنواع الجذرية إذ تعمل بسرعة كبيرة وتقيد أي جذور حرة تحفز لإنتاج جذور أخرى أو أي أنواع كيميائية لديها القدرة على التحول إلى جذور حرة. تقوم تلك المضادات بتفكيك جذر الأوكسيد الفائق وتحليل بيروكسيد الهيدروجين مؤدية إلى ظهور أنواع غير ضارة كالأوكسجين الجزيئي (Noguchi *et al.*, 2000) .

كاسحات الجذور الحرة : تقوم مضادات الأكسدة هذه بكبت مرحلة البدء أو أيقاف مرحلة الانتشار في تفاعلات السلسلة الجذرية عن طريق اعطاء الإلكترونات كما بإمكانها تقييد الجذور الناتجة حديثاً بسهولة لتصبح أنواعاً غير ضارة. تشمل هذه الفئة مضادات الأكسدة المحبة للماء (حامض الأسكوربيك ، الجلوتاثيون ، حامض البوليك) والمحبة للدهون (ألفا توكوفيرول ويوبيكوينول) (Ighodaro and Akinloye, 2018).

مضادات الأكسدة الإصلاحية : تعمل هذه المجموعة بعد حدوث ضرر الجذور الحرة وتتضمن الإنزيمات التي تعمل على إصلاح تلف الحامض النووي والدهون والبروتينات إذ تمتلك قابلية كبيرة على تشخيص وتحليل البروتينات والدهون والأحماض النووية المتضررة من الاكسدة مبطللة تراكمها الخلوي. مثل إنزيمات إصلاح الحامض النووي (بوليمريز ، كليكوسيليز ونيوكليز) والإنزيمات المحللة للبروتين (الببتيديز ، البروتيز والبروتينيز) الموجودة في كل من المايكوبلازما والعصارة الخلوية لخلايا الثدييات (Ighodaro and Akinloye, 2018) .

مضادات الأكسدة التي تعتمد على آليات التكيف : تشمل هذه الفئة المضادات التي تعمل عن طريق استغلال آليات التكيف إذ تتعامل مع الإشارات المطلوبة لإنتاج الجذور الحرة أو الإشارات اللازمة للتفاعلات

المشتملة عليها مما يؤدي إلى منع توليد الجذور الحرة أو منع التفاعلات التي تنطوي عليها (Ighodaro and Akinloye, 2018).

4.2 نبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis*

يعد اكليل الجبل من النباتات التي استفاد منه الناس لقرون واستخدم منذ زمن بعيد فكان الرومان والاغريق يتزينون بأوراق هذا النبات بوضعها على ملابسهم في المناسبات الخاصة ، اذ كانت أوراق اكليل الجبل تستخدم في الجنازات لمساعدة الفراغة على إيجاد السلام بعد الموت ويتم زراعتها في حدائق الملوك بوصفه نبات زينة وعطري ، استخدم في مجال الطب منذ عصور ، و في عام 1950 تم اكتشاف فعاليته المضادة للاكسدة ، اما العالمان Oriente و Scarbati فقد عزلا حامض الروزمارينك من المستخلص المائي لاكليل الجبل وذلك في عام 1960 ، وبدأ استعمال هذا النبات كمضاد للاكسدة (Aziza et al., 2008).

هو نبات عطري عشبي ينمو بشكل عام كشجيرات صغيرة يصل ارتفاعها حوالي متر ونصف يفضل النمو في المناطق الدافئة بين درجة حرارة (20-35) درجة مئوية وكذلك يتحمل درجات الحرارة المنخفضة يتميز بأوراق دائمة الخضرة وبسيطة ومتعكسة وتكون ضيقة طويلة ومبرومة بشدة من اطرافها يبلغ طولها من 2-4 سنتيمتر وعرضها حوالي من 2-5 ملليمتر لونها اخضر داكن براق من السطح العلوي ومنقط بنقط صفراء ذهبية او بيضاء فضية واخضر شاحب من الجانب السفلي مكسو بشعيرات دقيقة بيضاء ولها عرق وسطي بارز تخرج الاوراق من الساق على شكل مجموعات ثلاثية الوريقات ، يزهر من بداية شهر نيسان الى نهاية شهر تشرين الاول ، الازهار بنفسجية او زرقاء اللون متجمعة في نورات عنقودية و يتكاثر جنسيا بوساطة البذور التي يتم زراعتها في فصل الخريف ، والتكاثر خضري عن طريق تجذيرالعقد الطرفية في فصلي الربيع والخريف (Mecarthy , et al., 2001).

موطنه الاصلي دول البحر الابيض المتوسط مثل تركيا و سوريا إذ ينمو بشكل طبيعي في المناطق الساحلية والجبلية ذات المناخ المعتدل و اوريا مثل اليونان وايطاليا ومن الممكن ان ينمو في التربة الجافة والصخرية ويتحمل الظروف القاسية مما يجعله شائعا في مناطق شمال افريقيا مثل مصر اي انه يزرع في مناطق مختلفة العالم مثل الهند واستراليا وجنوب البرازيل والولايات المتحدة تعد اسبانيا والمغرب وتونس من اهم الدول المنتجة لزيت اكليل الجبل. وفي الوطن العربي يسمى اكليل الجبل بأسماء متعددة منها الأزيز ،التوزالة وفي اللغة الانكليزية يسمى الروزماري والاسم العلمي له *Rosmarinus officinalis* ، ويسمى ايضا اكليل النفساء ، ندى البحر ، وحشيشة العرب ، اما اسم الجنس *Rosmarinus* فإنه مشتق من الكلمة اللاتينية *Ros* و *marinus* وال *Rosmarinus* في اللاتيني تعني ندى البحر (Giordani and Sestito, 2020).

1.4.2 تصنيف النبات Classification of plant

المملكة النباتات (Plantae)

الشعبة مغطاة البذور (Angiosperms)

الصف ثنائيات الفلقة (Eudicots)
الرتبة الشفويات (Lamiales)
الفصيلة الشفوية (Lamiaceae)
الجنس *Rosmarinus*
النوع *officinalis*

(McCarthy *et al.*, 2001)



شكل (2-3) نبات اكليل الجبل (Kompelly *et al.*, 2019)

ينتمي هذا النبات الى العائلة الشفوية (Labiatae) وهي اعشاب معمرة او حولية تضم حوالي 258 جنسا و 3250 نوع ، يوجد في العراق حوالي 31 جنس و153 نوع تعرف بعائلة النعناع تعود لرتبة Lamiales تعد عائلة طبية مهمة ، تحتوي حوالي 236 جنس واكثر من 6000 نوع ، تعيش انواعها في النظم البيئية الطبيعية المختلفة سواء كانت برية او مزروعة ، معظم الانواع التي تنتمي الى هذه العائلة اعشاب و شجيرات ، اما الاشجار فنادرة للغاية ، اهم سمة تتميز بها هذه العائلة هي وجود الشعيرات الغدية الموزعة في الاعضاء الخضرية والتكاثرية اذ تكون هذه الشعيرات منتفخة ، والعديد من انواع هذه العائلة (Giordani and Sestito , 2020).

2.4.2 الاجزاء الطبية Medical parts

الاجزاء الهوائية لنبات اكليل الجبل هي المستخدمة في العلاج التقليدي هذا ما اجمع عليه المهتمون بالنباتات ، وكذلك الدراسات الحديثة وخصوصا الاوراق (ابراهيم ، 2013). تحتوي جميع مستخلصات اكليل الجبل والزيوت الأساسية على مركبات نشطة بيولوجيا تجعل النبات مميزا على سبيل المثال الفينولات phenolics حمض الكارنوسيك, carnosic acid والكارنوسول carnosol وحمض اكليل الجبل rosemary acid هي السبب وراء النشاط القوي المضاد للأكسدة لزيت اكليل الجبل ومستخلصه على مجموعة متنوعة من فئات البوليفينول بما في ذلك الأحماض الفينولية والفلافونويد والتربينات الفينولية المتعددة اذ يعد مصدر جذب بشكل خاص للمواد الكيميائية النباتية النشطة بيولوجيا لأنه يحتوي على فينولات متنوعة miscellaneous phenols, بما في ذلك حمض الكارنوسيك carnosic acid، الروزمانول rosmanol، 7-ميثيل إبيروزمانول، الأيزوروسمانول, isorosmanol،، الروزماديل rosmadial وحمض الكافين caffeinated acid (De Macedo *et al.*, 2020).

3.4.2 الدور الوقائي لمستخلص اكليل الجبل من الاجهاد التأكسدي الناتج عن استعمال العقاقير والأدوية

The Protective Role of Rosemary Extract From Oxidative Stress Resulting From the Use of Drugs and Medicines:-

لطالما اخذت عشبة اكليل الجبل مكانه بارزه عبر التاريخ ليس فقط لرائحتها العطرة و المميزة ، ولكن لتميزها بتنوع كيميائي استثنائي مما يجعلها كنزا دوائيا ، اثبتت العلوم الحديثة ان هذا النبات يعد مستودعا لمركبات كيميائية تفتح افاقا جديدة في الطب والعلاج الدوائي، ان الاوراق الخضراء لهذه العشبة تحتوي بداخلها على كثير من المركبات الفعالة ذات الخصائص المميزة من ابرز هذه المركبات:

- المركبات الفينولية مثل حمض الروزمارنيك الذي يعد من اقوى مضادات الاكسدة الطبيعية اذ يساهم في حماية الخلايا من التلف الناتج عن الجذور الحرة (AL Jaafreh , 2024)
- مركبات الديتربينات كالكارنوسول والكارنوسيك اسيد التي لها القدرة على محاربة الالتهابات وايضا تثبيط نمو الخلايا السرطانية (González-Vallinas, 2015)
- الزيوت الطيارة مثل السينول والكامفين التي تستخدم في علاج مشاكل الجهاز التنفسي عبر توسيع الشعب الهوائية بالإضافة الى الرائحة المميزة (Jawad *et al.*, 2018)

وفي دراسة تقييم السمية الحادة تبين ان الجرعة النصف قاتلة (LD50) تجاوزت 2000 ملغم / كغم عند اعطائها فمويا للجرذان مما يدل على سميته المنخفضة (Anadon *et al.*, 2008)،بينت دراسة (Modaresi and Emadi, 2018) تأثير مستخلص اكليل الجبل على الفئران المعرضة للاجهاد الحراري، والتي اظهرت ان المستخلص ساعد في استعادة مستويات الهرمونات الجنسية (FSH, LH) و التستوستيرون (وعدد الخلايا المنوية الى مستويات قريبة من المجموعة الضابطة، مما يشير الى دوره في تحسين الخصوبة تحت ظروف الاجهاد الحراري، ان اعطاء مكمل غذائي يحتوي على زيت اكليل الجبل بجرعة 2 ملغم / كغم

يومية ولمدة 45 ادى الى تحسن ملحوظ في حجم الخصيتين، نشاط الغدد التناسلية الملحقة، حركة الحيوانات المنوية، عددها بالإضافة الى زيادة مستوى هرمون التستوستيرون (Ali et al., 2024) ، ان مستخلص اكليل الجبل بجرعة (200) ملغم / كغم يحمي من التهاب الخصية ويحسن جودة السائل المنوي في ذكور الفئران المعرضة لالتواء الانبوب المنوي ومن ثم فك الالتواء وذلك بفعل خصائصه المضادة للاكسدة والالتهاب (Mansouri Torghabeh et al., 2022)، كذلك اظهرت دراسة (Mohammadzadeh et al., 2023) تأثير زيت اكليل الجبل على تلف الخصية الناتج عن عقار الايتوبوسيد في ذكور الفئران، اظهرت النتائج ان الزيت ادى الى خفض مستويات انزيمات الكبد (ALT, AST)، وقلل من الكوليسترول والدهون الثلاثية، وزاد من مستوى التستوستيرون كما حسن من ارتفاع ظاهرة الانابيب المنوية.

بينت نتائج (Horvathova et al., 2014) دراسة الخصائص المضادة للاكسدة لمكونات مستخلص الروزماري وخاصة Carvacrol و Thymol في حماية DNA الخلايا الكبدية البشرية من التلف والوقاية من الموت الخلوي، وكذلك الوقاية من سرطان الجلد ،اذ ان زيت اكليل الجبل يحتوي مجموعة من المركبات الأخرى الفعالة مثل Terpene، Thymol، alpha-pinene و beta-pinene التي تمتلك خصائص مضادة للاجهاد التأكسدي المستحث بالليثيوم (Mwaheb et al., 2016).

وفي دراسة نسجية وحيوية كيميائية على الجرذان البيضاء المعاملة بعقار الباراسيتامول تبين ان تجريع الجرذان بجرعه قدرها 600 ملغم / كغم تسبب تنخر وارتشاح لخلايا الدم البيضاء وتشكيل بؤر التهابية في اكباد هذه الحيوانات ، كذلك ارتفاع تركيز ALT , AST و ALP وأن تجريعها بجرعة مقدارها 25-50 ملغم / كغم من حامض الروزمارينيك المتزامن والمسبق لعلاج الباراسيتامول أدى الى زيادة معنوية في جميع المعايير السابقة وكذلك تغيير في البنية النسجية لكبد الفئران (Lucarini et al., 2014).

ان مستخلص نبات إكليل الجبل يتمتع بخصائص وقائية للكبد مضادة للاجهاد التأكسدي المستحث بعقار Aspartame، وذلك بدراسة اجريت على الفئران بعد تجريعها بجرعة قدرها 2000 ملغم /كغم من هذا العقار أدى إلى حدوث تنخر خلوي وارتفاع تركيز مصل الدم من عامل التنخر الورمي، وكذلك تراكيز انزيمات ALT وAST وALP، وأن التجريع المتزامن بمستخلص إكليل الجبل بجرعة قدرها 212 ملغم /كغم يؤدي إلى انخفاض معنوي في تركيز جميع المعايير السابقة (Soliman et al., 2013) .

وفي دراسة أخرى هدفت تقصي الدور الوقائي لمستخلص إكليل الجبل في حماية الكلية من الضرر المستحث بالمضاد الحيوي Gentamycin ، تبين أن تجريع الفئران بالمضاد الحيوي بجرعة قدرها 200 ملغم/كغم تسببت حدوث ضرر في النسيج الطلائي للنيبيات البولية وخاصة محفظة بومان، إضافة إلى ارتشاح خلايا الدم البيض وتشكل بؤر التهابية، وفي نفس الوقت أدى إلى ارتفاع معدل كل من حمض البولييك والكرياتينين في مصل الدم. بالمقابل فإن التجريع المتزامن للمضاد الحيوي مع جرعات من المستخلص المائي لاكليل الجبل 110 ملغم / كغم أدى إلى تحسن في المعايير الكيموحيوية وفي بنية نسيج الكلى (El Saied Azab et al ., 2014)، ان مشاركة المستخلص الكحولي للروزماري مع عدد من المضادات الحيوية كل على حدة مثل Amoxicillin، و Cefquinom، و Danofloxacin، أعطت نتائج أكثر فعالية

من المضادات الحيوية لوحدها في تثبيط نمو جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus* (Ashraf et al., 2015).

كذلك أظهرت دراسة أخرى كفاءة كل من مستخلص إكليل الجبل والزعتر في الوقاية من السمية الكبدية المستحثة بالمضاد الحيوي Gentamycin في فئران التجربة، إذ أدى استخدام المستخلص المائي لإكليل الجبل والزعتر إلى خفض تراكيز أنزيمات ALT وAST ، كما أن التغيرات النسيجية التي تشير إلى حدوث تنخر خلوي يتجلى بارتشاح الخلايا الدم البيض وزوال انوية الخلايا الكبدية في مواقع البؤر الالتهابية قد تحسنت بشكل معنوي (Hegazy et al., 2018).

وفي دراسة حول التأثيرات الجانبية لعقار Doxorubicin المستخدم كمضاد للسرطان والدور الوقائي لمستخلص إكليل الجبل على أنسجة القلب والكلى، أظهرت نتائج الدراسة أن حقن جرعة قدرها 2 ملغم / كغم من العقار لفئران التجربة أدى إلى ارتفاع تراكيز انزيمات كرياتين كيناز MB-Kinase Creatinine ، والكرياتينين في مصل الدم ، بينما انخفض معدل كل من الكلوتاثيون و الكاتليز في أنسجة القلب والكلى. وفي الوقت نفسه زاد معدل أكسدة الدهون في الانسجة وأظهرت النتائج أن التجريع المسبق للفئران قبل ثلاثة أيام بحمض الروزمارينيك، و من ثم التجريع المتزامن بحمض الروزمارينيك مع المضاد الحيوي Doxorubicin، قد أدى إلى تحسن معنوي في جميع المعايير المدروسة (Maher et al., 2016) وأكدت الدراسة أيضا حصول تغيرات نسيجية مترافقة مع التغيرات الكيموحيوية في أنسجة الدماغ والكلى، كذلك اظهرت الجرذان البالغة المعطاة مستخلص إكليل الجبل بجرعة (500) ملغم / كغم / يوم ولمدة 60 تأثيرات ضارة على الجهاز التناسلي الذكري في الجرذان وكانت اقل حدة في جرعة (250) ملغم / كغم (Nusier et al., 2007).

5.2 تقنية النانو Nanotechnology

اصبحت تقنية النانو حقيقة واقعية إذ تحظى بعناية كبيرة من قبل أنحاء العالم وخاصة في دول العالم المتقدمة هذه التقنية لم تعد من الخيال العلمي لكن تعد إحدى أهم وأبرز الاتجاهات والاولويات للبحث العلمي وقد أدت التطورات والاكتشافات في هذا المجال الجديد الى زيادة الاستثمارات في العديد من مختبرات المؤسسات التجارية و البحثية ،ويؤكد العديد من العلماء بأن تقنية النانو سوف تكون مستقبل العالم ضمن إطار الثورة الصناعية الجديدة (Khan et al., 2019) ، إذ ان المواد النانوية ليست جديدة وكذلك ليست جميعها مصنعة فهي توجد في الطبيعة مثل مناقير الطيور وريشها ، اوراق النباتات ، شبكات العنكبوت و هياكل الشعب المرجانية ، وكذلك تظهر في الطبيعية مواد نانوية غير عضوية مثل بعض المعادن ، انما الجديد هو استطاعة الانسان على تصنيعها هندسيا من مواد شائعة لأغراض وظيفية معينة (Visakh and morlanes , 2016).

بدأت فكرة النانو بشكل جدي في عام 1959 عندما القي الفيزيائي الشهير رينشارد فاينمان محاضراته بعنوان "هناك متسع كبير في القاع" إذ تحدث عن امكانية التحكم في الذرات والجزيئات بشكل مباشر (Khan et al., 2019) ، تشير كلمة نانو Nano في اليونانية الى الشئ الصغير جدا او القزم 10^{-9} (nm)، و تعرف الجسيمات النانوية بانها عبارة عن مجموعة من الذرات التي يتراوح حجمها من 1-100

نانو متر ، يمكن ان تظهر هذه المواد خصائص كهربائية و ميكانيكية وبصرية مختلفة تماما عن تلك الموجودة في نفس المادة ولكن بالابعاد الاعتيادية (Bayda et al., 2019) ، ان تصغير حجم المواد الى اقل من 100 نانومتر تعطي تخصص عالي على المستوى الخلوي وكذلك تعطي جودة ملحوظة من التقدم التكنولوجي بسبب خصائصها الفريدة ، تستخدم المعادن النانوية في مجالات مختلفة مثل الطب والهندسة والبيئة وتعتمد على نوع الطريقة المستخدمة في التصنيع سواء كانت فيزيائية او كيميائية او بطريقة التخليق الاخضر ، ان من مساوئ طرائق التصنيع الكيميائية والفيزيائية انها اكثر تكلفة ، تستهلك الطاقة ، وتسمم البيئة كما انها ليست مناسبة للتطبيقات الحيوية ، بما في ذلك استعمال المواد الكيميائية الخطرة والسامة المسؤولة عن مختلف المخاطر الحيوية مثل المذيبات العضوية (Gupta and Xie , 2018) ، اما طريقة التخليق الخضراء للمواد النانوية فهي ذات فعالية وصديقة للبيئة كما انها تميزت بكونها غير سامة و اقل تكلفة فهي تقلل من استهلاك الطاقة وتحسن سلامة البيئة وصحة الانسان اذ يتم الحصول على هذه الجسيمات التي تكون اكثر استقرار وثباتية من المستخلصات النباتية او المزارع الميكروبية (Ying et al ., 2022).

تمت الإشارة في الكثير من الدراسات الى ان استخدام معادن مختلفة كالذهب والفضة والحديد والنحاس و اوكسيد الزنك وغيرها في التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية مع احياء (بدائية او حقيقة النواة) او مستخلصات نباتية اعتمادا على مركبات التمثيل الغذائي او الأنشطة الانزيمية والقدرة على الاختزال الحيوي للمعادن مما يؤدي الى تخليق الجسيمات النانوية (Zhang et al .,2020).

1.5.2 التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية من المستخلصات النباتية

Biosynthesis of Nanoparticles From Plant Extract

في الوقت الذي ازدهرت وتطورت به الصناعة على حساب التلوث في البيئة ، اصبح من الضرورة اختيار المواد التي لا تضر بالبيئة لذلك تم تطوير جزيئات نانوية آمنة وصديقة للبيئة باستخدام المستخلصات النباتية اذ تعرف النباتات بانها مصانع كيميائية طبيعية تتصف بانها ذات كفاءة عالية وتكلفة قليلة و إمكانية بارزة في إزالة السموم وتراكم الملوثات في البيئة ويتميز تخليق الجسيمات النانوية بوساطة النبات اكثر فائدة من تصنيعها بوساطة الكائنات الحية الأخرى والتي تتطلب تنميتها في أوساط معينة ولمدة معينة في ظروف معينة (Shahid et al .,2017) ويعتبر تخليق الجسيمات النانوية بوساطة النبات اسهل مع عدم وجود فرص للطفرة كما هو الحال في الكائنات الدقيقة وغالبا ما يكون انتاج الكائنات الحية الدقيقة اكثر تكلفة من انتاج المستخلصات النباتية (Mittal et al., 2013) . تمتلك العديد من النباتات القدرة على التراكم المفرط وتقليل أيونات المعادن هذه الخاصية الحيوية للمستخلصات النباتية يمكن من خلالها تصنيع هذه الجسيمات (Kulkarni and Muddapur ., 2014). وان سهولة الحصول على المستخلص النباتي الذي يعد المصدر الحيوي في هذه العملية يعد من اهم الخصائص المثيرة للاهتمام في طريقة تصنيع الجسيمات النانوية بوساطة المستخلصات النباتية اذ ان هذه الطريقة توفر الحصول على جسيمات نانوية مستقرة وفعالة وليس هناك حاجة لاختيار سلالة معينة من النبات (Mukherjee and Nethi ., 2019) ، يعتقد العلماء ان مركبات الفلافونويد والتربينويد والقلويدات الموجودة في المستخلص النباتي مسؤولة عن اختزال واستقرار

الجسيمات النانوية (Dubey *et al.*, 2009). حتى الان تم تصنيع المواد النانوية من الذهب والفضة والزنك وغيرها من المعادن بنجاح باستخدام المستخلصات النباتية (Hu and Xianyu , 2021).

يعد الزنك واكسيده واحدا من أكثر المواد النانوية المعدنية إثارة للاهتمام فهو عنصر نشط إلى حد ما وفي نفس الوقت عامل اختزال قوي وفقا لإمكانات الاختزال ويمكن أن يتأكسد بسهولة وهو مفيد جدا في تحضير جزيئات أكسيد الزنك النانوية. يؤدي الزنك دورا مهما في الكائنات البشرية كواحد من أهم العناصر الدقيقة ، اذ يوجد في جميع أنسجة الجسم ، أي في العضلات والعظام والجلد وفي جميع الأنسجة الأخرى (Sun *et al.*, 2018).

فقد استخدمت جسيمات ZnO النانوية باستخدام مستخلصات نباتية لاجزاء مختلفة من النبات مثل الجذور والسيقان والأوراق والازهار والثمار ، اذ تتفاعل ايونات الزنك مع المركبات النشطة مثل البروتينات الموجودة في المستخلص مما يؤدي الى تكوين مركب الزنك بالإضافة الى الوصلات المرنة للبروتينات والجزيئات النشطة الى تخليق جسيمات نانوية كروية مستقرة (Ahmadi Shadmehri and Namvar, 2020)، بفضل الخصائص المميزة لجسيمات اكسيد الزنك النانوي (ZnO NPs) يستخدم في مجالات متعددة منها المستحضرات الطبية والتجميلية و الالكترونيات في الاجهزة الضوئية وشبه الموصلة والصناعات البيئية مثل تنقية المياه والهواء بالإضافة الى استخدامه في الطاقة في الخلايا الشمسية وتحسين كفاءتها وكذلك من المتوقع ان يكون له تطبيقات في العلاج الحيوي وتوصيل الادوية والمجالات الطبية (Agarwal *et al.*, 2019).

2.5.2 تطبيقات الجسيمات النانوية في المجال الاحيائي

Applications of Nanoparticles in the Biological Field

شهدت تقنية النانو تطورًا كبيرًا في العقود الأخيرة، مما أتاح استخدامها في العديد من المجالات، بما في ذلك المجال الأحيائي وقد تم دمجها في وقتنا الحالي بعدة طرق مفيدة كالهندسة الوراثية والتي تعتمد على أساس اضافة جين أو حذفه أو تعديله من اجل التخلص من الخصائص أو الصفات الغير مرغوب فيها أو المرتبطة بالأمراض أو لتعزيز الصفات المرغوبة (Qiu *et al.*; 2021).

ومن تطبيقات الجسيمات النانوية هي توصيل الادوية الى الخلايا المريضة او المستهدفة اذ تساعد في تحسين فعالية العلاجات وتقليل أثارها الجانبية على الانسجة السليمة من خلال إيصالها بدقة إلى الخلايا المصابة (Mitchell *et al.*, 2021). كما تُستخدم في التصوير الطبي الحيوي، اذ تساهم في تحسين جودة الصور التشخيصية، فضلاً عن دورها في تطوير المستشعرات الحيوية للكشف المبكر عن الأمراض (Sheng *et al.*; 2021).

إضافةً إلى ذلك، تؤدي الجسيمات النانوية دورًا هامًا في الهندسة الوراثية والتطبيقات البيئية، مثل معالجة المياه والتخلص من الملوثات الحيوية. والتطبيقات في مجال الكهرباء الضوئية وصناعة الإلكترونيات وقد تم استخدام المواد النانوية من أكسيد الزنك لإنتاج نظارات واقية من الشمس لتعزيز كفاءة وعمر الزجاج القياسي (Nasrollahzadeh *et al.*; 2019) ومع تزايد الأبحاث في هذا المجال يُتوقع أن تسهم تقنية النانو في إحداث ثورة في العلوم الأحيائية، مما يفتح آفاقًا جديدة للعلاجات الطبية المتقدمة والتشخيص الدقيق للأمراض.

6.2 تشريح الجهاز التناسلي الذكري للجرذان

Anatomy of Male Rat Reproductive System

يتألف الجهاز التناسلي في ذكور اللبائن ومن ضمنها الجرذان من زوج من الغدد التناسلية هما الخصيتان وهي من الغدد المختلطة الإفراز Mixed Gland تتصف هاتان الغدتان بقيامهما بوظيفتين أساسيتين الأولى إنتاج النطف من النبيبات الناقلة للمني Seminiferous tubules وفي هذه الحالة من الخلايا البينية للخصية interstitial cell التي تعرف باسم خلايا لايدك Leydig cell تعد الخصية غدة خارجية الإفراز Exocrine gland، أما وظيفتها الثانية فتتضمن إنتاج الهرمونات الستيرويدية والتي تقع بين النبيبات ناقلة المني وتقوم هذه الخلايا وتأثير السيطرة الهرمونية القادمة من الغدة النخامية Pituitary gland بإفراز الأندروجين والذي يكون أساسيًا ومهم في الذكور ويطلق عليه هرمون الشحمون الخصوي وفي هذه الحالة تعد الخصية غده صماء داخلية الإفراز Endocrine gland Louiza *et al.*, (2024).

تتألف كل خصية من طرف رأسي Head extremity يتصل برأس البربخ وطرف ذيلي extremity Tail يتطابق بدوره مع ذيل البربخ، وتشتمل كل خصية على حافة بربخية Epididymal border تتصل هذه الحافة اتصالاً ضعيفاً مع جسم البربخ مؤلفه الجيب البربخي Epididymal Sinus وحافة حرة Free border والتي تقع في الجهة المقابلة للحافة البربخية وتكون عادة محدبة. تحتوي الخصية على سطحين هما سطح وسطي Medial surfaces ويكون مقعر تقريباً، و سطح جانبي محدب Lateral surfaces. وهناك اختلافات في أحجام وأوزان وأشكال الخصى باختلاف نوع الحيوان إذ تكون خصى القوارض كبيرة الحجم وغير متناسبة مع حجم الجسم (التميمي، 2003).

إن الجهاز التناسلي الذكري يتكون من الخصيتين Testes والقنوات التناسلية الذكرية الناقلة للنطف Efferent ductules والتي تتضمن الأسهر (الوعاء الناقل) Vas deferens والبربخ Epididymis والقناة القاذفة Ejaculatory duct والقضيب Penis أما الغدد الإضافية الملحقة بالجهاز الذكري فهي البروستات Prostate و الحويصلات المنوية Seminal Vesicles وغدد كوبر Cowpers glands. (Wilson, 1979).

1.6.2 الخصية Testis of Male Rats

هي غدة بيضوية الشكل يصل طولها إلى 4-5 سم وقطرها 5. 2 ووزنها من 5-7 غم وتعد تركيب غدي مختلط ذات إفراز خارجي وداخلي. وتكون الخصية اليسرى أكبر حجما وفعالية أكبر بسبب زيادة كمية الدم فيها كذلك تقع في مستوى أسفل من الخصية اليمنى، واثناء النمو الجنيني تنمو الخصية في التجويف البطني ثم تنزل قبل الولادة أو بعدها بمدة قليلة في كيس الصفن Scrotal Sac وهو عبارة عن كيس جلدي ينتج عن انبعاث خارجي من الجلد ويتشكل على هيئة جيب خارجي من جدار الجسم والذي يقسم من الخارج إلى قسمين عن طريق نسيج ضام سطحي يسمى بالرفاء السطحي Superficial Raphe، ويتألف جدار كيس الصفن من عدة طبقات عضلية ملساء تتكمش بالبرودة وتنبسط عند الحرارة، و وظيفة كيس الصفن حفظ الخصيتين عند درجة حرارة أقل من درجة حرارة الجسم بحوالي درجة إلى درجة ونصف (34-35) درجة مئوية ويعود السبب في ذلك إلى إن عملية إنتاج الحيوانات المنوية في الخصية لا تستطيع البقاء لمدة طويلة عند درجة حرارة الجسم ويتم الحفاظ على الحرارة المنخفضة لكيس الصفن بواسطة العضلات الخاصة التي تمتد بين الجسم وكيس الصفن أما عندما تنخفض درجة الحرارة تنقلص هذه العضلات وتقرب الخصيتين من الجسم وتحاط الخصية من كافة أسطحها الأمامية والجانبية فيما عدا السطح الخلفي بغشاء مصلي Serous يطلق عليه الغلالة الغمدية Tunica Vaginalis وتتألف هذه الغلالة من طبقة أحشائية داخلية Inner visceral Layer وطبقة جدارية خارجية Outer Parietal Layer وتحت هذه الغلالة تحاط الخصية بغلاف أو محفظة من نسيج ضام كثيف يشتمل على بعض الألياف العضلية الملساء يطلق عليها الغلالة البيضاء Tunica albuginea والتي تنتخن في السطح الخلفي للخصية لتكون طبقة داخلية من نسيج ضام رخو غني بالأوعية الدموية من غلاف الخصية الوعائية التركيب الذي يقع تحت الغلالة البيضاء يطلق عليه الغلالة الوعائية Tunica Vasculosa

ومن الجزء الخلفي المنتخن للغلالة البيضاء تمتد حواجز ليفية داخل الخصية تقسم الخصية إلى (250-300) حجيرة أو ردهة هرمية الشكل يطلق عليها بالفصيصات الخصوية Testicular lobules ويتضمن كل فصيص (2-5) من النبيبات الملتوية على بعضها بعضا بكثرة يطلق عليها النبيبات ناقلة المني والتي تكون الحيوانات المنوية وتسمى عملية إنتاج الحيوانات المنوية بنشأة النطف (Ricci Spermatogenesis) (et al., 2009).

2.6.6 التركيب النسيجي للخصية Histological Structure of the Testis

يتألف متن الخصية من جزأين رئيسيين هما:--

- النبيبات المنوية Seminiferous tubules

- النسيج البيني Interstitial tissue

اولا / النبيبات المنوية:--

هي قنوات منوية دقيقة التواءاتها كثيرة تقع بين الفصوص يصل عددها إلى 840 نبيب ويبلغ طولها من 30-70 سم و قطرها 0.2 ملم ويفقد كل نبيب التواءه في قمة الفصيص ويصبح بشكل نبيب مستقيم Straight tubule تنتشر هذه النبيبات في النسيج الضام الأساسي أو السدى Stroma الذي يكون غني

بالأوعية الدموية والأعصاب ويكون النبيب المنوي ذا نهاية مسدودة وتفتح نهاية كل نبيب من الأنابيب الجامعة مع بعضها في الشبكة الخصوية Rete testis التي تقع قريباً من رأس البربخ ويبطن النبيب المنوي بالنسيج الظهاري المنوي Seminiferous epithelium أو يدعى بالظهارة الجرثومية Germinal epithelium والذي هو عبارة عن نسيج ظهاري مطبق مكون من خلايا ظهارية مكعبة أو عمودية واطئة ويستقر هذا النسيج على صفيحة قاعدية رقيقة تغطي من الخارج بغلاف من نسيج ليفي يطلق عليه النسيج المحدد والذي يضم كثير من خلايا النسيج الضام والألياف وبعض الألياف العضلية الملساء، إذ يعتقد إن تقلص الخلايا العضلية الملساء ممكن إن يؤدي إلى تغيير قطر النبببات الملتوية مما يساعد في حركة النطف على طول النبيب المنوي (Louiza et al., 2024)، وتحمل النبببات المنوية حوالي 75% من حجم الخصية وتبطن هذه النبببات داخلياً بظهارة مطبقة تتألف من نوعين من الخلايا هما :-

1- خلايا سرتولي Sertoli cells

2- خلايا المكونة للنطف Spermatogenic cells

خلايا سرتولي : وتدعى بالخلايا الداعمة أو الساندة Supporting cell وهي خلايا كبيرة طويلة هرمية إلى 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 (Dooly and Pineda,2003) . تشتمل الخلية على نواة بيضوية تكون على مسافة قليلة فوق قاعدة الخلية كما إن لها نوية أو أكثر كبيرة وواضحة تقع باتجاه قاعدة النواة كما يشتمل الساييتوبلازم على شبكة بلازمية داخلية ملساء وخشنة والميتوكونديريا والعديد من القطيرات الدهنية وجهاز كولجي والكلايكوجين، كما يحتوي الساييتوبلازم في خلايا سرتولي في الإنسان على بلورات Crystalloids غير معروفة الوظيفة , كما تشتمل الحافات الجانبية للخلية على نبببات دقيقة وخيوط متوسطة يعتقد إنها من الممكن إن تسهم في تحرك الخلايا من المنطقة القاعدية إلى المنطقة المجاورة لتجويف النبيب الناقل للمني كما إن جدرانها الجانبية تتحد فيما بينها بروابط محكمة وظيفتها منع مرور الجزيئات الكبيرة من الفسحة البينية إلى داخل النبببات الناقلة للمني . تقوم خلايا سرتولي بوظائف متعددة إذ تسهم في تنظيم عملية تكوين النطف Spermatogenesis وتطورها واستمرارها عن طريق تجهيز النطف المتكونة بالمغذيات اللازمة والأسناد والحماية والتهام النطف المتحللة المريضة كما إن ها تسمح بمرور بعض المواد الضرورية لتكوين النطفة عبر تكوين مركب خاص يقوم بتنظيم إفراز هرمون الشحمون الخصوي وإعادة بعض المواد الضارة التي تعيق تطور النطف وبذلك تعد الحاجز الدموي الخصوي الذي يمنع تكوين أجسام مضادة للخلايا النطفية الجديدة . كما و تفرز خلايا سرتولي البروتين الذي يربط الأندروجين Androgen-binding-protein (ABP) تحت سيطرة هرمون التستوستيرون وFSH والذي يشارك في تنظيم عملية تكوين النطف عن

طريق نقل وتركيز الأندروجينات الذكرية حول الخلايا الجرثومية وتركيز التستوستيرون في النبيب المنوي (Johnston *et al.*,2004) .

الخلايا المنشأة للنطف : هي طبقة ظهارية تؤلف الجزء الأكبر من النسيج الظهاري المنوي و تترتب 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 وصولاً إلى تجويفه ، وعند تكاثرها ونموها وتخصصها تندفع نحو التجويف وتتحول إلى النطف لتتفصل عن النسيج الظهاري وتصبح حرة في التجويف (white,1976) وتشتمل أنواع الخلايا المنشأة للنطف ابتداء من الغشاء القاعدي للنبيب وإلى الداخل ما يلي :-

1. سليفات النطف Spermatogonia
2. الخلايا النطفية الابتدائية Primary Spermatocytes
3. الخلايا النطفية الثانوية Secondary Spermatocyte
4. الارومة النطفية Spermatides
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 لايدك وهي خلايا كبيرة مستديرة أو متعددة الأضلاع الذي يوجد إما بشكل فردي أو في مجموعات في النسيج الخلالي بين النبيبات الناقله للمني ، لذلك يطلق عليه أيضاً الخلايا الخلالية أو البينية Interstitial cell (Payne *et al.*,1996). اذ إن نواتها بيضاوية أو كروية حاوية على حبيبات صبغية ونوية واحدة كما إن احتواء الخلية على نواتين هي حالة شائعة أما الساييتوبلازم فيحتوي على الشبكة الإندوبلازمية الملساء التي تقوم بتصنيع الهرمونات Steroid hormone (Hooker,1970).

3.6.2 البربخ في الجرذان Epididymis in Rats

البربخ على إنه عباره عن انبوب طويل كثير الالتواء يبلغ طوله حوالي 7 م، ومبطن بخلايا عمودية وطبقة كاذبه مهدبه ترتكز على غشاء قاعدي يتكون من نسيج ضام رخو غني بالأوعية الدموية والألياف العضلية الملساء (Louiza *et al.*, 2024)، ويتواجد 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، يتكون البربخ من ثلاثة مناطق اولها منطقة رأس البربخ Caput وتمثل

نهايته الأمامية المتضخمة القريبة من الخصية ويتصل رأس البربخ بالخصية بالقنيتات الصادرة Efferent ductules يتراوح عددها من 13-23 قنية ملتفة حلزونية وتحاط بنسيج ضام ويبلغ طول كل قنية 6-8 سم ذات قطر 0.05 ملم وتكون هذه القنيتات ذات تجويف متموج غير منتظم ومنفصلة ولها سطح أملس منتظم وتبطن هذه القنيتات بظهارة بسيطة تتكون من خلايا عمودية مهدبة وبعض الخلايا الإفرازية المكعبة غير المهذبة التي تتركز على الغشاء القاعدي وتتبادل كثيرا مجاميع من الخلايا العمودية الطويلة مع مجاميع أخرى من الخلايا القصيرة بسبب الارتفاعات المختلفة لخلايا النسيج الظهاري المبطن تحتوي الخلايا الطويلة على الساييتوبلازم الذي يمتلك قطيرات دهنية وحببيبات صبغية وتحتوي هذه الخلايا على اهداب وظيفتها هي نقل الحيوانات المنوية عبر القنيتات (Robaire and Hermo, 1988)، أما بالنسبة للخلايا القصيرة فيحتوي الساييتوبلازم على جسيمات حاله وعلى زغيبات تقع على سطحها الحر كما إنها تعد خلايا امتصاصية Absorptive في وظيفتها لأنها تمتص نسبة كبيرة من السائل المفرز في النبيبات الناقلة للمني و تصبح بطانتها عمودية فقط في نهاية القنيتات الصادرة ويكون تجويفها مستوي وتلتوي القنيتات على بعضها البعض لتكون رأس البربخ ثم تتحد مع بعضها لتشكل قناة كبيرة تسمى قناة البربخ Ductus Epididymidis والتي تمتد من رأس البربخ إلى جسم البربخ Corpora وهي منطقة وسطية ضيقة تنتهي بمنطقة ذيل البربخ Cauda و تقع إلى الأسفل وتتصل مع الأسهر وتحدث في منطقة الرأس والجسم عملية نضج الحيوانات المنوية أما ذيل البربخ فهي المنطقة الرئيسية لاكتساب النطف القدرة على الحركة والأخصاب إذ ان خزن النطف الحية وحفظها تعد من أهم الوظائف للبربخ إذ تحتوي على بعض المواد الغذائية اللازمة لنشاطها بالإضافة إلى ذلك فإن تطور ونضج النطف ونقلها يتم داخل البربخ إذ إن النطف تكتسب القدرة على الحركة عند مرورها من قناة البربخ (Turner, 1995).

4.6.2 السائل المنوي في الجرذان Seminal Fluid in Rats

الحويصلات المنوية والبروستات ويتألف الدفق العادي من النطف Sperms والبالزما المنوية Seminal Plasma وتعرف الأخيرة على إنها السائل الذي يعمل على تهيئة الغذاء اللازم لأيض النطف وحركتها وهي تشكل (60%) من حجم المني الذي يفرز من الحويصلة المنوية وتكون النسبة 13-33 % من السائل المنوي لها مظهر حليبي Milky appearance من غدة البروستات الذي يحتوي إفرازها على حامض الستريك والكالسيوم والفوسفات الحامضية وإنزيم محلل للبروتين يدعى Proteolytic Enzyme ويكون الاخير مسؤول عن إذابة السائل المنوي كما تفرز أيضا الكوليسترول الذي تكون وظيفته حماية النطف من الصدمات البيئية، أما أقل نسبة من السوائل المفرزة فهي من البربخ وغدة كوبر وبنسبة 5%. إن من أهم المقاييس النوعية لصفات السائل المنوي هي حركة الحيامن إذ تعد مؤشر جيد يرتبط إيجابيا مع نسبة الحيامن الحية الطبيعية وسلبيا مع نسبة الحيامن الميتة والمشوهة وتعد هذه الحركة دليل على حيوية الحيامن وقدرتها على اختراق الحواجز التي تقابلها وتعترضها في الجهاز التناسلي لغرض الوصول إلى موقع الأخصاب. تتمكن الحيامن من العيش في القنوات عدة أسابيع أما بعد قذفها فيبلغ أقصى حد لحياتها إلى 72 ساعة وإذا جمدت (-100) درجة مئوية فإنها تبقى لمدة سنة واحدة، إن من الصفات المهمة للسائل المنوي ذو النوعية الجيدة والذي يعطي نسبة أعلى من الحمل هو الذي تكون فيه النسبة العالية من النطف الحية ذات الحركة التقدمية للأمام (عبد اللطيف والبازي, 2005).

5.6.2 عملية تكوين النطف (الانطاف) Spermatogenesis in Rats

تجري هذه العملية في النبيبات المنوية والتي تؤدي إلى إنتاج النطف الناضجة Spermatozoa وتبدأ بمدة البلوغ وتستمر طوال مدة حياة الذكور، تشمل عملية تكوين النطف على سلسلة معقدة من الانقسامات الخلوية والتخصصية يختزل خلالها العدد الكامل من الكروموسومات (2n) Diploid الممثلة لنوع الحيوان إلى النصف (1n) Hapoid ، إذ تتطور الخلايا الجنسية وتمر بأطوار وتحورات مختلفة تؤدي بعد ذلك إلى إنتاج النطف . وتتضمن هذه العملية مرحلتين تكون المرحلة الأولى مرحلة الانقسامات الخيطية والاختزالية وتضاعف عدد الخلايا ، والثانية مرحلة الحؤول النطفي Spermogenesis (المختار والراوي ، 2000) . إذ تبدأ عملية تكوين النطف بانقسام الخلايا الجرثومية Germ cells لتكوين سليفات النطف نوع (أ) Type A Spermatogonia التي تنقسم معظمها لتكوين سليفات النطف الوسطية Intermediat Spermatogonia والتي تنقسم معظمها لتكوين سليفات النطف نوع (ب) Type B Spermatogonia التي تمر بأخر انقسام خيطي Mitosis لتكوين الخلايا النطفية التي تمر بأخر إنقسام خيطي Mitosis لتكون الخلايا النطفية الأولية Primary spermatocyte الحاوية على العدد الكامل من الكروموسومات وبعد ذلك تتحرك هذه الخلايا بعيداً عن الغشاء القاعدي ويزداد حجمها وتتهيأ للدخول في مرحلة الإنقسام الاختزالي Meiosis المنصف للكروموسومات التي تنتج عنها الخلايا النطفية الثانوية Secondary spermatocytes ثم ارومات النطف Spermatids التي تمر بسلسلة من التغيرات الشكلية لتحويلها إلى نطف بعملية تدعى التخصص (الحؤول) الخولي للنطف Spermogenesis (Ganong, 2010) إن عملية تكوين النطف تمر بسلسلة من المراحل وهذا يسبب اختلاف ترتيب سليفات النطف والخلايا النطفية الأولية والثانوية وارومات النطف والنطف من مقطع عرضي في النبيبات المنوية عن مقطع آخر ولهذا السبب تلاحظ سلسلة من الخلايا المترابطة مرتبة بشكل معين على طول النبيب المنوي وتدعى التغيرات المتسلسلة في جميع المراحل على طول النبيب المنوي بين نوعين من الخلايا بدورة الظهارة المنوية Cycle of the seminiferous epithelium، أما التغيرات الكلية في الخلايا التي تبدأ من تنشيط الخلايا الجرثومية أو سليفات النطف وحتى إنطلاق النطف إلى داخل تجويف النبيب المنوي فتدعى بدورة تكوين النطف Spermatic cycle والتي تستغرق 48 - 52 يوماً في الجرذان (Guyton and Hall, 2006).

6.6.2 تركيب النطفة الناضجة Mature sperm

تتألف نطفة الانسان الناضجة من رأس head وقطعة وسطية middle piece وذنب tail إذ يتكون الرأس من النواة والقبة الرأسية المحتوية على الجسيم الطرفي عند حافته الامامية . ويحتل الجزء الأكبر من الرأس النواة التي تحتوي بدورها على المادة الوراثية DNA . ان وظيفة الجسيم الطرفي هو تكوين مواد ذات طبيعة انزيمية تدعى المحللات النطفية Sperm lysins وفي الثدييات يدعى هذا الانزيم باسم هاييلورنديز hyaluronidase . إذ تحلل هذه الانزيمات اغشية البيضة في منطقة التقاء النطفة بالبيضة لتسهل مرور النطفة الى سطح البيضة . اما القطعة الوسطية المنفصلة عن الرأس بعنق ضيق تحتوي على محور من نبيبات طولية مكونة ما يسمى بمعقد الخيط المحوري axial filament complex محاطة بتسعة الياف سميكة وتكون بدورها محاطة بغلاف من المايتوكونديريا . ويعتقد ان القطعة الوسطية تسيطر على حركة الذنب (المختار والراوي ، 2000) .

7.6.2 الهرمونات المسيطرة على عملية تكوين النطف

Hormones Control the Process of Spermatogenesis

إنّ عملية تنشيط الجهاز التناسلي الذكري تتشارك فيها ثلاث غدد صماء ، وهي تحت المهاد hypothalamic والتي تفرز هرمون gonadotropin –release hormone (GnRH) و الغدة النخامية pituitary gland والخصيتان testis واللتان تفرزان هرمون التستوستيرون Testosterone والهرمون المثبط inhibin ،ويطلق على التداخل بين عمل هذه الغدد محور تحت المهاد – النخامية – الخصية hypothalamic-pituitary-testis axis والذي يكون ساكن قبل البلوغ (Kuiri-Hänninen *et al.*, 2014) ،تنشط تحت المهاد عند الوصول إلى سن البلوغ وتفرز هرمون GnRH والذي يكون عمره اقل من عشرة دقائق ثم يهدم بواسطة إنزيمات موجودة في خلايا الغدة النخامية . ثم ينتقل بالأوعية دموية تحت المهادية النخامية البوابية Portal system إذ يؤثر على خلايا الجزء الأمامي للنخامية والتي تستجيب بدورها لتفرز الهرمونات المنشطة LH و FSH (Clasadonte and Prevot , 2018).

ينتقل هرمون FSH بالدم إلى النبيبات المنوية ويرتبط بمستقبلات على خلايا سرتولي مما يحثها على إفراز البروتين الرابط للأندروجين للهرمونات الذكرية (ABP) الذي يربط التستوستيرون فيؤدي إلى زيادة تركيزه على أسطح خلايا سرتولي مما يسهم في نضج وتمايز الحيوانات المنوية Sperms وهذه من الوظائف الأساسية والأهم للخصية أما هرمون LH ينتقل بالدم إلى الخصية ليؤثر على خلايا لايدك Leyding التي توجد بين النبيبات المنوية لتقوم ببناء وإفراز هرمون الشحمون الخصوي Testosterone المهم في تكوين و نمو وتطور النطف (Lindgren *et al.*, 2012).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Material and Methods

1.3 الأجهزة المستعملة

الجدول (1-3) الأجهزة المستخدمة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ.

ت	الأجهزة Devices	الشركة Company	المنشأ Origin
1	جهاز السكسوليت Sexhlet apparatus	Daihan Labtech	كوريا
2	ثلاجة Refrigerator	Concord	فرنسا
3	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer	Apple 203	يابان
4	جهاز قياس تألق بالأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet radiation device	Clever scientific	بريطانيا
5	جهاز الطرد المركزي Centerfuge	Hermile	المانيا
6	خلاط Blender	Glassco	الهند
7	صفيحة ساخنة Hot plate	Sartorius	الهند
8	جهاز المشراح الدوار Rotary microtome	Histo-Line Lab. Mod.MRS 3500	إيطاليا
9	فرن Oven	Daihan-lab.Tech	كوريا
10	طاحونة Blender	Hermile	المانيا
11	ماصة pipette	Bio Basic	كندا
12	حمام مائي water bath	Chicago surgical	أمريكا
13	كاميرا رقمية Digital Camera	PMPHD 60 f	يابان
14	مجهر ضوئي مركب Compound microscope	Human scope	المانيا

الصين	SGS	ميزان balance	15
المانيا	Sartorius	ميزان حساس Sensitive balance	16
اليابان	National	محرك مغناطيسي Magnatic stirrer	17
إيطاليا	PEAK	حاضنة هزازة shaker incubate	18
المانيا	Human Scope	اوكيولر Ocular microscope	19
المانيا	Und Handelsgesmbh	مجهر مخصص لفحص السائل البريخي	20

2.1.3: الأدوات المستخدمة :

جدول (2-3) الأدوات المستخدمة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ

ت	الاوتات Tools	الشركة Company	المنشأ Origin
1	أوراق ترشيح Filter paper	Sail Brand	الصين
2	سيت تشريح Anatomy set	S.I.E.	باكستان
3	أداة تجريع Gavage	Oxford	أمريكا
4	زجاجيات مختلفة Pyrex	Volac	إنكلترا
5	شراح زجاجية Slides	Sail Brand	الصين
6	اغطية شراح زجاجية cover slides	Sail Brand	الصين
7	أنابيب شعرية Capillary tubes	Mheco	الصين
8	انابيب خالية من EDTA Gel tube	AFCO-Dispo	الأردن

9	قطن طبي Medical cotton	KardelenHidrophile Pamuk	تركيا
10	انابيب حفظ الامصال Eppendrof Tubes	Lab-Tech	صيني
11	محاقن طبية Disposable syringes	Enteplin	مصر

3.1.3: المواد الكيميائية المستخدمة :

جدول (3-3) المواد الكيميائية المستخدمة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ.

ت	المواد Materials	الشركة Company	المنشأ Origin
1	ايتانول 96% Ethanol %96	Scharlau	اسبانيا
2	Thioacetamide	Santa Cruz Biotechnology	كندا
3	Thiobarbituric acid(TBA)	BDH	إنكلترا
4	زايلين Xylene	Scharlau	اسبانيا
5	Trichlor acetic acid	BDH	إنكلترا
6	ملون الايوسين Eosin Stain	BDH	إنكلترا
7	شمع البارافين Paraffin Wax	Histo-Line OWax•Lab	إيطاليا
8	عدة فحص انزيم CAT	Cayman Chemical	امريكا
9	ملون هيماتوكسيلين Hemotoxyline Stain	BDH	إنكلترا

10	عدة فحص المالون دياليهايد MDA	Spectrum	المانيا
11	عدة فحص هرمون التستوستيرون	Cayman Chemical	امريكا
12	عدة فحص السوبر اوكسيديز SOD	Biomerieux	فرنسا
13	عدة فحص هرمون FSH	OriGene Technologies	امريكا
14	عدة فحص الكلوتاثيون GSH	Biomerieux	فرنسا
15	عدة فحص هرمون LH	Cayman Chemical	امريكا
16	اوكسيد الزنك النانوي	Laboratory reagent	أمريكا
17	فورمالين Formalin	Iraqi co.	العراق
18	مادة DPX	Himedia Lab. Pvt. Ltd	الهند
19	كلوروفورم Chloroform	Himedia Lab. Pvt. Ltd.	الهند

2.3 طرائق العمل Materials and Methods

1.2.3. الحيوانات المستعملة في الدراسة Experimental Animals

استخدمت في هذه الدراسة ذكور الجرذ الأبيض المختبرية *Rattus rattus* والبالغ عددها (60) جرذاً تراوحت معدل اوزانها من 200-250 غرام ومعدل أعمارها (12-14) اسبوع والتي جلبت من البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة – جامعة كربلاء ، ووضعت في أقفاص بلاستيكية ذات أغطية معدنية مخصصة لتربية الجرذان وفرشت أرضية الأقفاص بنشارة الخشب مع مراعاة تبديلها من حين إلى آخر إذ تم توفير الماء والغذاء المكون من العليقة الحيوانية *ad libitum* وهي عبارة عن علف يتم شراؤه من الأسواق المحلية ، تحت ظروف تهوية مناسبة ودرجة حرارة (25) درجة مئوية واعتمدت مدة الإضاءة 12 ساعة ومدة الظلام 12 ساعة وتركت الحيوانات لمدة أسبوعين للتأقلم قبل بدء التجربة (Kaman and Dutta, 2019).

2.2.3. تصميم التجربة Experimental Design

اجريت التجربة في مختبر الدراسات العليا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء للمدة من 2024/4/13 الى 2024/10/13

اشتملت الدراسة على تجربتين تضمنت الاولى تحديد تركيز المستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل الاكثر فعالية من بين ثلاث جرعات امنه (50، 100، 150) ملغم /كغم من خلال تقييم فعالية المستخلص النانوي لاكليل الجبل على تركيز انزيم SOD، بينما تضمنت التجربة الثانية تقييم دور المستخلص المائي والمستخلص النانوي بالتركيز الذي تم اختياره وفقا لنتائج التجربة الاولى (100) ملغم / كغم ضد الاجهاد التأكسدي الناجم عن البراسيتامول

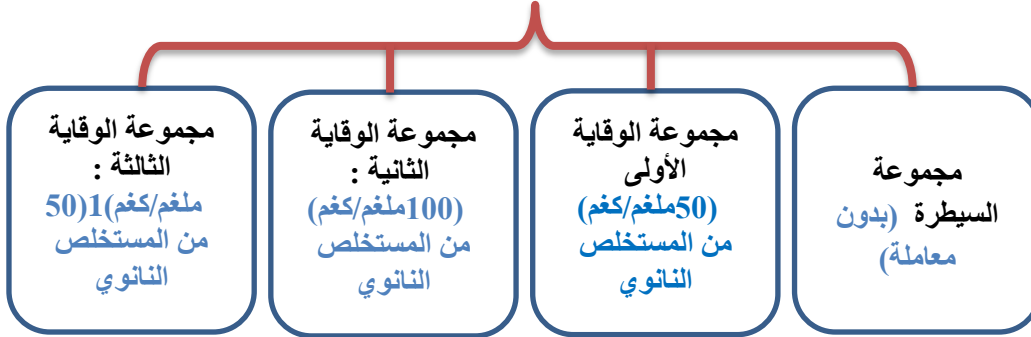
تم إجراء هذه التجربة الثانية على (36) حيواناً من ذكور الجرذان البيض وقسمت عشوائياً إلى ست مجاميع بواقع (6) جرذان لكل مجموعة، واستمرت التجربة لمدة شهرين وكما يلي:

- 1- لمجموعة الأولى (مجموعة السيطرة السالبة) (G1): بدون معاملة
- 2- المجموعة الثانية (مجموعة السيطرة الموجبة) (G2): حيوانات جُرعت فموياً بعقار الباراسيتامول بتركيز (25) ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً ولمدة شهرين (Reagan- Shaw *et al.*, 2008)
- 3- المجموعة الثالثة (G3): حيوانات جُرعت فموياً بالمسخلص المائي لأكليل الجبل بتركيز (200) ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً لمدة شهرين (Alahmadi and Alahmadi 2024)
- 4- المجموعة الرابعة (G4): حيوانات جُرعت فموياً بالمسخلص المائي لأكليل الجبل بتركيز (200) ملغم/كغم من وزن الجسم ، ثم جُرعت عقار الباراسيتامول فموياً بتركيز (25) ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً لمدة شهرين
- 5- المجموعة الخامسة (G5): حيوانات جُرعت فموياً بالمسخلص النانوي لأكليل الجبل بتركيز (100) ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً لمدة شهرين.
- 6- المجموعة السادسة (G6): حيوانات جُرعت فموياً بالمسخلص النانوي لأكليل الجبل بتركيز (100) ملغم/كغم من وزن الجسم ، ثم جُرعت عقار الباراسيتامول فموياً بتركيز (25) ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً لمدة شهرين ، وكما موضح ادناه في مخطط التجربة:-

3.2.3 مخطط التجربة Experimental Design Diagram

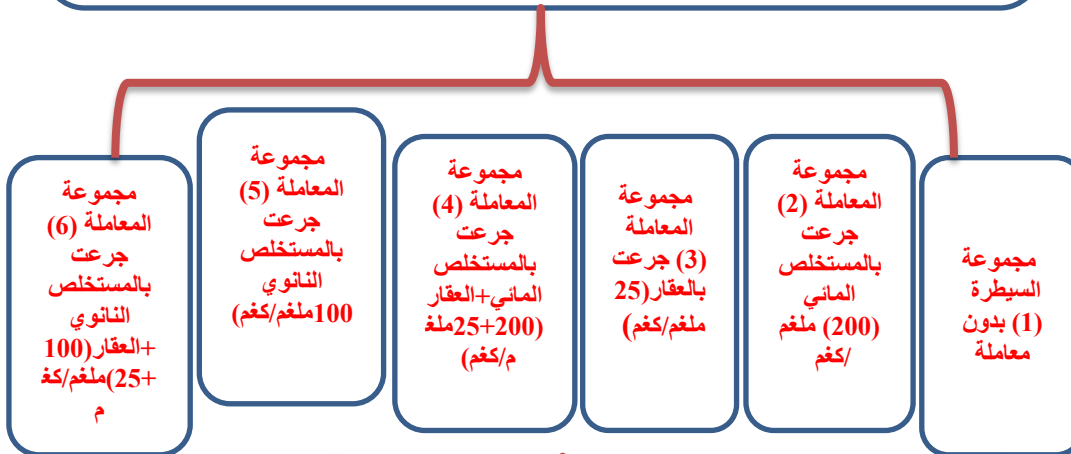
تجربة 1

تحديد التركيز الأكثر فعالية من بين ثلاث تراكيز امانة من المستخلص النانوي لمدة SOD لاكليل الجبل, من خلال تقييم فعالية المستخلص على تركيز انزيم (6 جردان لكل مجموعة) 30N يوماً (24=)



تجربة 2

تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لاكليل الجبل بالتركيز الذي تم اختياره في (ملغم/كغم) ضد الاجهاد التأكسدي الناتج عن المعاملة بالبراسيتامول 100 التجربة الأولى (: 6 جردان لكل مجموعة) (N=36) (25 ملغم /كغم لمدة 60 يوماً)



الاختبارات الفسلجية

الاوران : معدل الكسب الوزني للجسم ، للخصى والبرايخ
- معايير النطف : عن طريق حساب اعداد النطف ، النسبة الموية للنطف المتحركة ، حيوية النطف والنطف اللاسوية في ذيل البريخ .
T, FSH , LH - الهرمونات :
MDA, GSH , عوامل الاكسدة ومضادات الاكسدة :
CAT

الاختبارات النسجية

القياسات النسجية للخصى تتضمن قياس معدل اقطار النبيبات الناقلة للمني وتجاويفها وسمك الطبقة الجرثومية
حساب معدل اقطار الخلايا المولدة للنطف (سليقات النطف، الخلايا النطفية الاولى، ارومات النطف ، خلايا سيرتولي
-القياسات النسجية للبرايخ تتضمن قياس معدل اقطار نبيبات البريخ، تجاويها ومعدل سمك البطانة الظهارية -دراسة التغيرات النسجية - المرضية للخصى والبرايخ

4.2.3 تحضير المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل

Preparation of Aqueous Extract of *Rosemarinus officinalis*

تم الحصول على نبات اكليل الجبل *R. officinalis* من الاسواق المحلية في كربلاء ، العراق ، وتم تشخيصها طبيا في جامعة كربلاء ، العراق. تم تنظيف الأوراق بإزالة المواد الغريبة وتجفيفها في الظل مع التحريك المستمر. بعد السحق داخل الخلاط ، تم صنع مسحوق ناعم ، تم خلط 20 جم منه مع 400 مل من الماء المقطر وتركه لمدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة. تم ترشيح هذا الخليط بواسطة شاش طبي متعدد الطبقات لإزالة الشوائب. تم تدويره بسرعة عند 3000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق ، وتنظيفه بأوراق الترشيح ، وتجفيفه في الفرن إلى درجة 40 درجة مئوية ، وأخيرا تم تبريده للاستخدام اعطي للحيوان بعد إذابته بالماء بجرعة مقدارها 200ملغم/كغم (Hernandez *et al.*, 1994)

5.2.3 تحضير المستخلص النانوي

Preparation of Nano Extract of *Rosemarinus officinalis*

حضر المستخلص النانوي عن طريق اضافة 1 غم من اوكسيد الزنك إلى 50 مل من الماء المفرغ الايونات ومن ثم اضافة 1 غم من المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل ومع تحريك المزيج بواسطة المحرك المغناطيسي Magnetic stirrer وبدرجة حرارة الغرفة لمدة (24 ساعة) وبعد ذلك وضع المزيج في الحاضنة الهزازة Shaker incubator عند درجة حرارة 40 درجة مئوية ولمدة 18 ساعة ومن ثم فصل الراسب بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة ولمدة 20 دقيقة وبعدها تم الغسل بالماء المفرغ منه الايونات عدة مرارة ومن ثم يجفف الراسب بالفرن الكهربائي عند درجة حرارة 50 درجة مئوية وبعدها يتم طحنه بالهاون الخزفي جيداً للحصول على مسحوق ناعم , يحفظ هذا المسحوق في الثلاجة لحين استخدامه وحسب طريقة (Bashi *et al.*; 2013)

6.2.3 تشخيص المستخلص النانوي Diagnoses of Nano Extract

استخدمت اربع فحوصات للتأكد من التخليق الحيوي للمستخلص النانوي من نبات اكليل الجبل وهي مجهر القوة الذرية Atomic Force Microscopie (AFM) وتحليل طيف الاشعة تحت الحمراء X-ray (XRD) و Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) و الحيويد بالاشعة السينية Scanning Electron Microscope (SEM) فضلاً عن المجهر الالكتروني الماسح Diffraction.

1.6.2.3 مجهر القوة الذرية Atomic force microscope (AFM)

استخدم مجهر القوة الذرية AFM في فحص مستخلص نبات اكليل الجبل بعد تحميله على مركب اوكسيد الزنك النانوي وقياس خشونة السطح وحجوم واقطار وتجمعات الجزيئات النانوية إذ تم ارسال

النماذج إلى الجمهورية الإسلامية الإيرانية لغرض فحصها وحسب طريقة (Kaman & Dutta, 2019) لتحديد شكل وحجم جسيمات النانوية فقد تم وضع غشاء رقيق للعينة من الجسيمات النانوية على شريحة زجاجية بإسقاط 100 مايكروليتر من العينة على الشريحة، وتم السماح لها بالجفاف لمدة 5 دقائق ثم تم مسح الشرائح ضوئياً باستعمال AFM.

2.6.2.3 تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR)

Fourier transform infrared spectromete

يستخدم هذا التحليل لغرض تحديد المجاميع الفعالة في المستخلص النباتي وتعد هذه المجاميع الفعالة كمواد مغلفة ومختزلة ومثبتة لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي، وحضرت النماذج عن طريق تجفيف العينة (ZnO) المحمل بالمستخلص المائي لاكليل الجبل) عند 60 درجة مئوية داخل الفرن الكهربائي ولمدة 30 دقيقة، تخلط كمية صغيرة (5 ملغم) من العينة المجففة مع قطرة من زيت نوجل لتكوين عينة ناعمة. توضع كمية قليلة من هذه العينة بيني قرصي من بروميد البوتاسيوم (KBr) وتفحص بجهاز (Fourier transform infrared) ضمن مدى 4000-400 cm⁻¹، وتجل الاطياف لتحديد المجاميع الفعالة والتفاعل مع ZnO. وحسب طريقة (Bobbu et al.; 2016).

3.6.2.3 المجهر الالكتروني الماسح (SEM) Scanning Electron Microscope

استخدم المجهر الالكتروني الماسح لمعرفة أشكال وأحجام واقطار جسيمات اوكسيد الزنك النانوي (ZnO) المحمل عليها المستخلص المائي لنبات الروزماري إذ تم إسقاط 100 ميكروليتر من العينة المستخلص النانوي على شريحة زجاجية ومن ثم تركها بعد ذلك لتجف لمدة 5 دقائق من أجل تشكيل طبقة رقيقة وبعدها يتم ارسال حزمة من الالكترونات إلى العينة لغرض اظهار شكل وحجم الجسيمات النانوية (Wnek and Bowlin , 2008).

4.6.2.3 الحيود بالأشعة السينية (XRD) X-ray Diffraction

استخدم جهاز الحيود بالأشعة السينية لتحليل المواد الصلبة وتحديد تركيبها البلوري بتحديد العناصر البلورية وحجم البلورات ونقاء الاطوار وتداخلها (Bunaciu et al., 2015).

7.2.3 تشخيص المركبات الفعالة بجهاز كروماتوغرافيا الغاز ومطياف الكتلة

Gas chromatography-Mass Spectrometry Analysis(GC-MS)

شخص مستخلص نبات اكليل الجبل كيميائياً بواسطة جهاز كروماتوغرافيا الغاز -مطياف الكتلة (GC-MS) في مركز الامين التابع للعتبة العلوية المقدسة في النجف الاشرف وحسب الظروف التالية :

1- استعمل غاز الهليوم بنقاوة 99.99 كحامل للمواد الفعالة.

2- استعمل عمود الفصل من نوع HP-5ms ultra Inert بحسب الأبعاد (بطول 30 ملم وقطرها 25 ملم) وبقطر داخلي 0.25 مايكرومتر) يعمل في وضع Electron Affect Mode 70-EV (كاشف ثابت إلكترونيًا)

3- حقن الجهاز بـ 1 مايكرو لتر من مستخلص نبات اكليل الجبل.

4- ضبطت درجة حرارة الحاقن عند 250 مئوية في مدى مسح 500 -50 مئوية/ضغط.

5- الضغط 11.93 رطل/ بوصة مربعة.

6- درجة حرارة AUX 310 مئوية.

7- تبدأ درجة حرارة الفرن من 80 مئوية، ثم ترتفع بمعدل 10 مئوية / الدقيقة لمدة 10 دقائق لتصل إلى 180 مئوية في المنحدر الاول، ثم ترتفع بمعدل 10 مئوية / دقيقة ولمدة 10 دقائق لتصل إلى 280 مئوية في المنحدر 2, ثم ترتفع بمعدل 5 مئوية /الدقيقة لتصل إلى 300 درجة مئوية في المنحدر.

8- بلغ إجمالي الوقت المستغرق في تحليل العينة 24 دقيقة.

9- تم تحديد المركبات بمقارنة أطياها بتلك الموجودة في مكتبات الطيف الكتلي عن طريق مقارنة مؤشرا الاحتفاظ بها وأنماط تجزئة أطياها الكتلة بتلك المخزنة على مكتبة الكمبيوتر.

8.2.3 التضحية بالحيوانات وجمع عينات الدم

Sacrifice animals and collect blood samples

وزنت الحيوانات عند بداية التجربة كما وزنت في نهاية التجربة بعد (24) ساعة من إعطائها آخر جرعة ، بعد ذلك منع عنها الأكل طوال الليل ثم خدرت بالكلوروفورم وتم سحب الدم من القلب عن طريق ما يسمى بطعنة القلب Heart puncture للحصول على الكمية الكافية منه ووضع في أنابيب اختبار خالية من المادة المانعة للتخثر (Gel tube) ثم ترك لمدة (30) دقيقة لحين تخثره ونقل بعد ذلك إلى جهاز الطرد المركزي لفصل المصل وبسرعة (3000) دورة / دقيقة لمدة (15) دقيقة، وُزِع المصل على عدة أنابيب نظيفة ومعقمة وحُفظ في الثلاجة بدرجة -20 درجة مئوية لحين إجراء الاختبارات الخاصة بهرمونات التكاثر (T,FSH,LH) ومضادات الأكسدة (CAT, GSH, SOD , MDA)، بعد سحب الدم شرحت الحيوانات بفتح التجويف البطني باستخدام مشرط ومقص حاد وتم استئصال الخصى و البرايخ ، و وضعت في طبق بترى حاوي على محلول الملح الفسيولوجي لمنع جفافها ثم أزيلت المواد الدهنية الملتصقة بها وأخذت أوزانها بواسطة ميزان الكتروني حساس ،و ثبتت الخصية اليمنى والبريخ الأيمن لكل حيوان في مثبت الفورمالين (10%) لمدة (24) لغرض تحضير المقاطع النسجية لتلك العينات في حين استخدمت الخصية اليسرى والبريخ الأيسر لدراسة معايير النطف .

parameters of study

3.3 معايير الدراسة

Change of Weights

1.3.3 التغيرات الوزنية

Body Weight (g)

1.1.3.3 وزن الجسم (غم)

تم قياس أوزان الحيوانات قبل وبعد انتهاء التجربة باستعمال الميزان الالكتروني، وتم حساب معدل الكسب الوزني وفقاً للمعادلة التالية :

$$\text{معدل الكسب الوزني} = \text{معدل الوزن النهائي} - \text{معدل الوزن الابتدائي}$$

2.1.3.3 وزن الأعضاء التكاثرية Weight of Reproductive Organs

بعد استئصال الأعضاء التناسلية (الخصى والبرابخ) وإزالة الأنسجة والأجزاء الدهنية المحيطة بها، تم وزن هذه الأعضاء التناسلية المأخوذة) باستخدام الميزان الحساس وتم حساب وزن الأعضاء

$$\text{التناسلية وفقاً للمعادلة التالية} = \frac{\text{وزن العضو (ملغم)}}{\text{وزن الجسم (كغم)}} \times 100 \text{ (احمد ، 2006)}$$

2.3.3 المعايير الفسيولوجية للخصوبة physiological parameters of fertility

1.2.3.3 دراسة معايير النطف في البربخ

Study of sperm standards in the epididymis

بعد استئصال البربخ الأيسر تم عزل ذيل البربخ وغمره بـ (1) مل من المحلول الفسيولوجي الدافئ، وهرسه على شريحة زجاجية بوساطة مشرط حاد إلى قطع صغيرة جداً لغرض تحرير النطف الموجودة فيه (Hinting, 1989) ، تركت لمدة دقيقة في درجة (37) درجة مئوية، وبعدها تم وضع قطرة من الخليط (النطف البربخية + المحلول الملحي الفسيولوجي الدافئ) بوساطة ماصة باستور على شريحة زجاجية أخرى نظيفة وجافة غطيت القطرة بـ Cover slid وفحصت تحت المجهر X 200 لحساب معالم النطف البربخية التالية:

Sperm concentration

تركيز النطف

Sperm Motility

حركة النطف

Sperm Vitality

النطف الحية

Abnormal Sperms

النطف الغير طبيعية

3.3.3 تقدير مستويات الهرمونات Estimation of hormones levels

استخدمت طريقة التقدير المناعي الممتص المرتبط إنزيمياً Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) والتي وضعت من قبل الباحث Wisdom (1976) لتقدير مستويات الهرمونات في المصل وقد قرأت الامتصاصية على الطول الموجي (450) نانوميتر في جهاز ELISA Reader إذ تم قياس مستويات هرمون الشحمون الخصوي والهرمونين المحفز للخلايا البينية والمحفز للجريبات باستخدام عدة التحليل (Kit) الخاصة بكل من تلك الهرمونات.

1.3.3.3 تقدير مستوى هرمون الشحمون الخصوي Estimation of T hormone levels

أ- المبدأ Principle

يقوم مبدأ الاختبار على الارتباط بين المستضدات والأجسام المضادة فعند إضافة كاشف الإنزيم Enzyme Reagent وكاشف البيوتين Biotin Reagent (الجسم المضاد) إلى الحفر الحاوية على المحاليل القياسية أو عينات المصل فإن الأخير يتفاعل مع هرمون الشحمون الخصوي ومع كاشف الإنزيم كل على حدة ، كما أنه يتفاعل بعد ارتباطه بهذه المستضدات مع مركب الـ Streptavidin المرتبط بالحفر لتكوين معقد سندويج مرتبط بالطور الصلب ، وأخيراً تضاف المادة الأساس وتقرأ الامتصاصية عند طول موجي (450) نانومتر.

ب- طريقة العمل Procedure

- 1- يثبت العدد المناسب من الحفر على المسند الخاص بها، والمجهز مع طقم الهرمون .
- 2- يؤخذ (20) ملي مايكرون من المحلول القياسي أو عينات المصل وتوضع في الحفر المخصصة لها.
- 3- يضاف (50) ملي مايكرون من الكاشف الأنزيمي للهرمون إلى كل حفرة.
- 4- ترج الحفر بلطف لمدة (20-30) ثانية لغرض المزج.
- 5- يضاف (50) ملي مايكرون من كاشف البيوتين إلى كل حفرة.
- 6- ترج الحفر بلطف لمدة (20-30) ثانية لغرض المزج.
- 7- تغطي الصفيحة وتحضن لمدة 60 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة.
- 8- تزال محتويات الحفر بالنقر أو باستخدام ورق ماص.
- 9- تغسل الصفيحة بوساطة بفر الغسيل خمس مرات.

10- يضاف (100) ملي مايكرون من محلول المادة الاساس إلى كل حفرة.

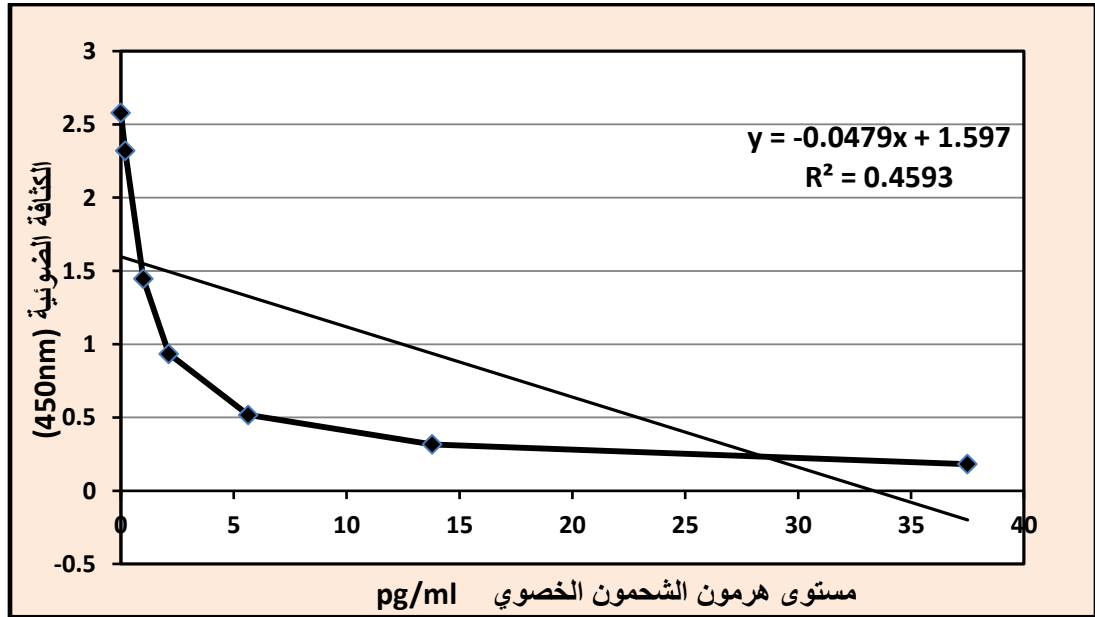
11- تحضن في درجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة.

12- يضاف (50) ملي مايكرون من محلول الايقاف إلى كل حفرة ويمزج بلطف لمدة (20-15) ثانية.

13- تقرأ الامتصاصية في كل حفرة عند طول موجي (450)نانومتر خلال (30) دقيقة من إضافة محلول الايقاف.

ج- الحسابات calculation

يتم رسم منحنى المعايرة بين قيم التراكيز للمحاليل القياسية (على المحور السيني) وما يقابلها من قيم الكثافة الضوئية (Optical Density (OD) (على المحور الصادي) ثم يرسم أفضل خط مستقيم يمر على أغلب النقاط لكي يستخدم في تحديد تركيز الهرمون في عينات المصل بالاعتماد على قيم امتصاصيتها, أو تستخرج معادلة المستقيم باستخدام الكمبيوتر ثم تعتمد تلك المعادلة في استخراج تركيز الهرمون بعد ادخال قيمة الكثافة الضوئية للعينة, كما في الشكل (1-3).



شكل(1-3) المنحنى القياسي لتقدير تركيز هرمون الشحمون الخصوي T

2.3.3.3 تقدير مستوى الهرمون المحفز للخلايا البينية و الهرمون المحفز للجريب :

Estimation of LH and FSH levels

أ- المبدأ Principle

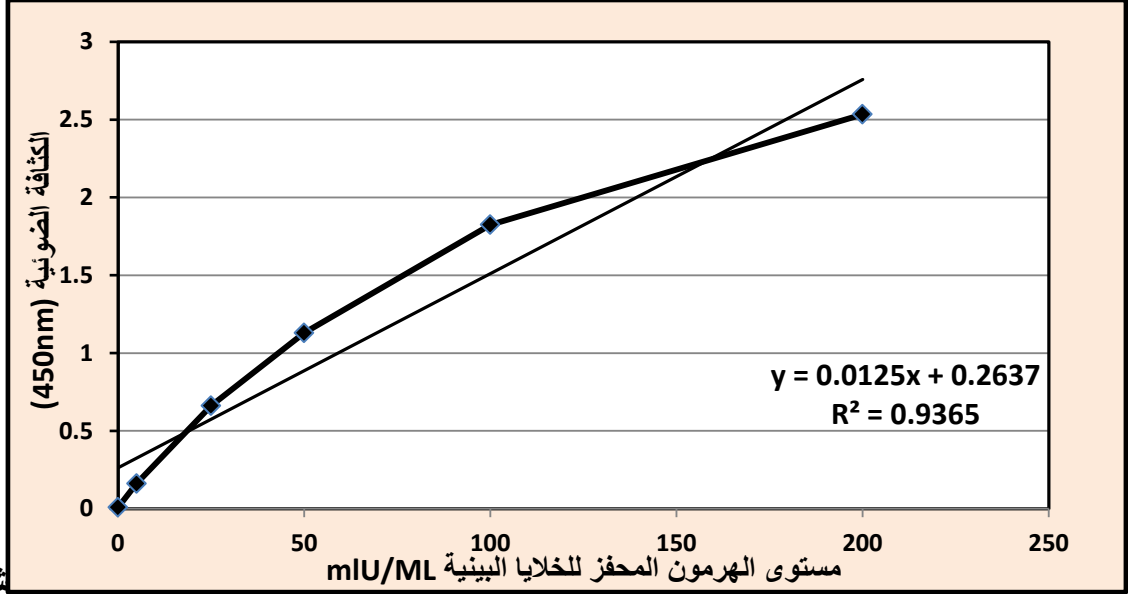
يقوم مبدأ الاختبار على أساس التفاعل بين المستضد Antigen (الهرمون في المحلول القياسي أو المصل) وبين الإنزيم والجسم المضاد (Biotinylated Monoclonal antibody) الموجودان ضمن الكاشف الإنزيمي الهرمون اللوتيني LH -Enzyme Reagent (مجهز ضمن عدة القياس) لتكوين معقد يشبه السندويج ، وفي نفس الوقت يتفاعل الجسم المضاد مع مركب Streptavidin المرتبط بالحفر فيصبح المعقد مرتبطاً بالطور الصلب (الحفر)، وأخيراً تضاف المادة الاساس للإنزيم الكاشف وتقرأ الامتصاصية عند طول (450)نانومتر.

ب- طريقة العمل Procedure

- 1- يثبت العدد المناسب من الحفر على المسند الخاص بها والمجهز مع طقم الهرمون .
- 2- تؤخذ (50)ملي مايكرون المحاليل القياسية أو عينات المصل وتوضع في الحفر المهيأة لها.
- 3- تضاف (100) ملي مايكرون من محلول الكاشف الأنزيمي للهرمون اللوتيني LH -Enzyme Reagent او الهرمون المحفز للجريب FSH لكل حفرة .
- 4- يتم الخلط بدقة لمدة (20-30) ثانية .
- 5- تحضن الحفر لمدة (60) دقيقة بدرجة حرارة الغرفة.
- 6- يُزال الخليط المحضون من الحفر بواسطة النقر بالأصبع أو بجهاز خاص لسحب الخليط .
- 7- تغسل الصفيحة بواسطة بفر الغسيل خمس مرات .
- 8- تضرب الصفيحة ذات المعايير الدقيقة بشدة على ورق مجفف لإزالة قطرات الماء المتبقية.
- 9- تضاف (100) ملي مايكرون من محلول المادة الاساس لكل حفرة ثم ترج برفق لمدة 10 ثوانٍ.
- 10- تحضن الصفيحة بمحتوياتها عند درجة حرارة الغرفة لمدة 15 ثانية .
- 11- تضاف (50)ملي مايكرون من المحلول الموقوف لكل حفرة وتمزج المحتويات بدقة لمدة (20-15) ثانية.
- 12- تقرأ الامتصاصية لكل حفرة عند طول موجي (450)نانومتر بواسطة جهاز ELISA Reader.

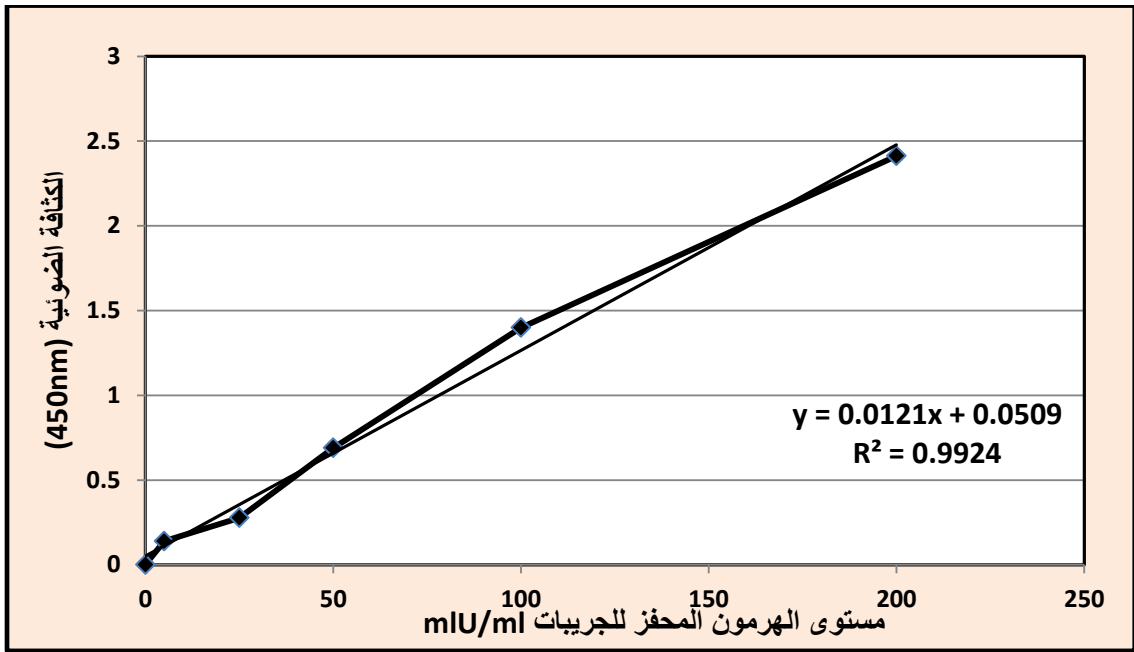
ج- الحسابات calculation

يتم رسم منحنى المعايرة بين قيم التراكيز للمحاليل القياسية (على المحور السيني) وما يقابلها من قيم الكثافة الضوئية OD (على المحور الصادي)، ثم يرسم أفضل خط مستقيم يمر على أغلب النقاط لكي يستخدم في تحديد تركيز الهرمون اللوتيني في عينات المصل بعد تحديد قيم امتصاصيتها، أو تستخرج معادلة المستقيم باستخدام الكمبيوتر ثم تعتمد تلك المعادلة في استخراج تركيز الهرمون بعد إدخال قيمة الكثافة الضوئية للعينة، كما في الشكل (2-3).



شكل 2-

(3) المنحنى القياسي لتحديد تركيز الهرمون المحفز للخلايا البينية LH



شكل (3-3) المنحنى القياسي لتحديد تركيز الهرمون المحفز للجريبات FSH

4.3.3 تقدير مستويات عوامل الاكسدة ومضادات الاكسدة في المصل

Estimation of MDA level

1.4.3.3 تقدير مستوى المألون ثنائي ألديهيد

• المبدأ الأساسي Basic Principle

تقدير مستوى بيروكسيد الدهون في المصل بشكل غير مباشر عن طريق قياس كمية المالون ثنائي الالديهيد (MDA) الذي يمثل الناتج النهائي لأكسدة الدهون باستعمال الطريقة المحورة المتبعة من قبل Jo و Ahn (1998) والتي تعتمد على التفاعل بين بيروكسيدات الدهون وبشكل رئيس (MDA) وبين حامض ثايوباربيوتريك (TBA) Thiobarbituric acid والذي يتم في وسط حامضي (PH=3.5-4) ويكوّن ناتجاً ملوناً تقاس شدة الامتصاصية له بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجي 532 نانومتر. كما في التفاعل التالي:



• الكواشف Reagents

- Sodium dodecyl sulfat (SDS)
- 1,1,3,3-tetramethoxy-Propane
- حامض الهيدروكلوريك HCL
- حامض ثلاثي كلورو أسيتيك (TCA) Trichloroacetic acid
- حامض ثايوباربيوتريك (TBA) Thiobarbituric acid
- محلول الكاشف العملي : يحضر بمزج (0.514) غرام من (TBA) و (25) غرام من (TCA) و (0.5) مل من (1 مولاري حامض الهيدروكلوريك ممزوج بـ (190) مل من الماء المقطر, ثم يضاف للمزيج (1) غرام من (SDS) ويكمل الحجم إلى (200) مل.

• طريقة العمل Procedures

- 1- تم مزج (100) ميكرو لتر من المصل و (2) مل من محلول الكاشف العملي في أنبوب الاختبار.
- 2- سخنت العينة في حمام مائي هزاز عند (90) درجة مئوية لمدة (15) دقيقة، ثم تركت لتبرد لمدة (10) دقائق.

3- أجريت عملية الطرد المركزي للعينه (2000 دورة /15دقيقة) وتم قياس الامتصاص الطيفي الضوئي للمادة الطافية بطول موجة (532) نانومتر مقابل كاشف فارغ. تم تحضير كاشف الكفى (بلانك) بذات الإجراء أعلاه باستثناء تغيير العينة بالماء المقطر.

• الحسابات Calculation

لحساب تركيز ناتج أكسدة الدهون (المالون ثنائي الالديهيد) استخدم القانون التالي:

$$D.F \cdot \epsilon \cdot c \cdot l = A$$

Molar absorptivity coefficient = $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
L : Light path = 1cm
D.F : Dilution factor

2.4.3.3 تقدير مستوى الكلوتاثيون في المصل Estimation GSH Level of serum

• المبدأ الأساس Basic Principle

يقوم مبدأ هذا الاختبار على اختزال مولد اللون (DTNB) 5,5 Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) بفعل مجموعة السلفهيدريل Sulfhydryl في الكلوتاثيون إلى مركب أصفر كثيف (TNB) 5-(Thio-2-nitrobenzoic acid) تتناسب كثافته الامتصاصية مع تركيز الكلوتاثيون. تقاس الامتصاصية عند 412 نانومتر (Burtis and Ashood, 1999).

• تحضير الكواشف Preparation of Reagents

1- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور 50% Trichloroacetic acid (TCA) : يحضر بإذابة (50) غم من حامض الخليك ثلاثي الكلور في الماء المقطر ويكمل الحجم إلى (100) مل.

2- محلول Ethylenediaminetetracetic acid-disodium (EDTA Na₂) (0.4 M) : يحضر بإذابة (148.9) غم من مركب EDTANa₂ في كمية من الماء المقطر ويكمل الحجم إلى لتر.

3- محلول (8.9) Tris-EDTA buffer pH (0.4 M) : يحضر بإذابة 48.458 غم مركب Tris في (800) مل ماء مقطر ثم يضاف له (100) مل محلول (0.4M) EDTANa₂ ويكمل الحجم بالماء المقطر إلى لتر. ينظم الـ pH عند (8.9) بإضافة (1) مولاري حامض الهيدروكلوريك (1N HCL) ويبقى هذا المحلول ثابتاً لمدة (10) أيام.

4- كاشف إلمان (DTNB Reagent (0.01M) : يحضر بإذابة (0.099) غم من مركب 5,5'-Dithiobis (DTNB) (2-nitrobenzoic acid) في (25) مل ميثانول مطلق كحجم نهائي، يبقى هذا الكاشف ثابتاً لمدة 13 أسبوع على الأقل عند درجة حرارة (4) درجة مئوية.

5- محلول الكلوتاثيون القياسي المركز GSH standard stock : يحضر محلول الكلوتاثيون القياسي (0.001 M) GSH بإذابة (0.0307) غم كلوتاثيون في (100) مل محلول Tris-EDTA buffer pH (0.4 M) 8.9) كحجم نهائي، ومن هذا المحلول تُحضر التخفيفات القياسية الأخرى (2.5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60) مايكرومول (بإضافة كمية المحلول المنظم إلى كمية من المحلول القياسي المركز وفقاً للمعادلة الآتية :

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

إذ أن : تركيز المحلول = N

V = حجم المحلول

يجب تحويل وحدات المحلول القياسي المركز إلى مايكرومول بضربها في (10⁶) كما يجب أن تحضر تلك المحاليل القياسية في نفس اليوم.

• طريقة العمل Procedure

1- توضع العينات والمحاليل القياسية في انابيب كما موضح أدناه :

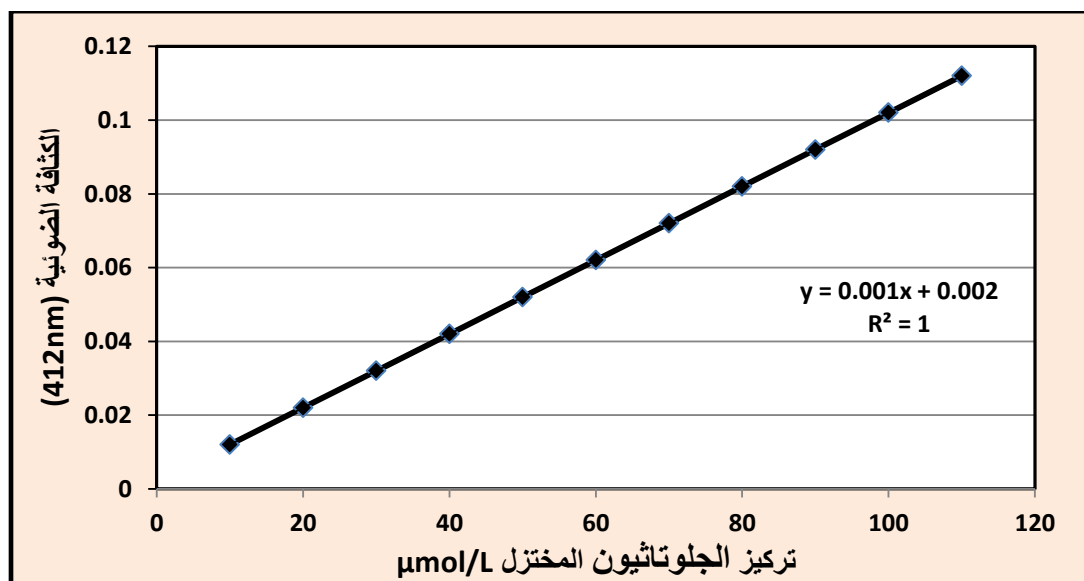
المحلول القياسي Standard	انبوب الكفاء Blank	انبوب النموذج Sample	الكواشف Reagents
-----	-----	100 مايكرولتر	المصل Serum
100 مايكرولتر	-----	-----	المحلول القياسي Standard
800 مايكرولتر	900 مايكرولتر	800 مايكرولتر	ماء مقطر DW
100 مايكرولتر	100 مايكرولتر	100 مايكرولتر	TCA
تمزج الانابيب لمدة (15) دقيقة وبشكل متقطع ثم توضع في جهاز الطرد المركزي لمدة (15) دقيقة بسرعة (3000) دورة.			
400	400	400	الجزء الطافي Supernatant

800	800	800	Tris-EDTA buffer
20	20	20	DTNB Reagent

2- تمزج محتويات الانابيب ثم يُصَفَّرُ جهاز المطياف بواسطة محلول أنبوب الكفاء عند طول موجي (412) نانومتر, بعدها تُقرأ امتصاصية عينات المحلول القياسي وعينات المصل خلال (5) دقائق من إضافة كاشف الـ DTNB .

• الحسابات Calculation

يتم رسم منحنى المعايرة الخطي بين قيم تركيز الجلوتاثيون في المحاليل القياسية (على المحور السيني) وما يقابلها من قيم الكثافة الضوئية OD (على المحور الصادي) لتحديد تركيز الجلوتاثيون المختزل في عينات المصل بالاعتماد على قيم امتصاصيتها كما في الشكل (3-5).



شكل (3-4) المنحنى القياسي لتقدير تركيز الجلوتاثيون المختزل GSH

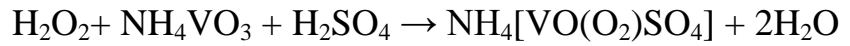
Estimation Activity of CAT

3.4.3.3 تقدير فعالية إنزيم الكاتليز

تم اعتماد طريقة القياس اللوني للباحثين Hadwan وkadhum , (2018) لتقييم نشاط الكاتليز.

• المبدأ الأساس Basic Principle

يقوم مبدأ الطريقة على تفاعل ميتافناديت الأمونيوم ammonium metavanadate مع بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) تحت الظروف الحمضية ، ويعتمد على اختزال Vanadium (V) إلى Vanadium III بواسطة (H_2O_2). على الرغم من اعتبار (H_2O_2) مؤكسداً قوياً إلا أنه يمكن أن يكون بمثابة عامل اختزال في ظل ظروف معينة من الأكسدة والاختزال، وفقاً لذلك يؤدي اختزال Vanadium إلى تشكيل مركب أحمر برتقالي (peroxovanadium) تكون أقصى شدة امتصاص له عند (452) نانومتر. يظهر التفاعل بين Vanadium و (H_2O_2) في المعادلة التالية :



تم تحديد نشاط إنزيم الكاتليز عن طريق تحديد امتصاصية معقد peroxovanadium الأحمر البرتقالي عند 452 نانومتر.

• تحضير الكواشف Preparation of Reagents

1-تم تحضير محلول حامض الكبريتيك (0.5 M) بالتخفيف المناسب لحامض الكبريتيك المركز في 200 مل من الماء المقطر.

2-تم تحضير محلول الأمونيوم ميتافناديت (0.01 M) بإذابة (0.2925) غم من الأمونيوم ميتافناديت في 200 مل من محلول حامض الكبريتيك المحضر في الخطوة 1.

3-تم تحضير محلول الفوسفيت المنظم Phosphate buffer بتركيز (50 Mm; pH 7.0) عن طريق مزج المحلول التاليين A و B بنسبة 1-1.5

أ- محلول (A) يحضر بإذابة (6.81) غم من KH_2PO_4 في لتر ماء مقطر.

ب- محلول (B) يحضر بإذابة (8.9) غم من $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ في لتر ماء مقطر.

4-تم تحضير محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (10) ملي مول (1134) مل من H_2O_2 30% مع (100) مل من الفوسفيت المنظم وتمت معايرة المحلول إلى (10) ملي مول باستعمال معامل الامتصاصية المولية لبيروكسيد الهيدروجين عند (240) نانومتر.

5-تم تحضير محلول الكاتليز القياسي بإذابة (20) ملغم من مسحوق انزيم الكاتليز في (100) مل من محلول الفوسفيت المنظم (7.0) pH ; (50) ملي مول.

• طريقة العمل Procedure

خفف المصل بنسبة 1-10 بمحلول الفوسفيت المنظم وتمت طريقة العمل وفقاً للخطوات الآتية :

الكواشف	العينة	الانبوب القياسي	بلائك
مخفف المصل	1 مل	-----	-----
محلول الفوسفيت المنظم		1 مل	3 مل
بيروكسيد الهيدروجين	2 مل	2 مل	-----
بعد الخلط ، تحضن أنابيب الاختبار لمدة دقيقتين عند (37) درجة مئوية ثم يضاف الكاشف التالي :			
كاشف الامونيوم ميتافناديت	2 مل	2 مل	2 مل
بعد الخلط، تحضن الانابيب لمدة عشر دقائق عند (25) درجة مئوية ، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجي (452) نانومتر مقابل الكاشف الكفى.			

• الحسابات Calculation

تم حساب نشاط إنزيم الكاتليز من المعادلة التالية:

$$Catalase \text{ Activity of test } kU = \frac{2.303}{t} * \log \frac{S^o}{S}$$

إذ إن: معدل سرعة التفاعل K:

امتصاصية الانبوب القياسي: S^o

امتصاصية أنبوب العينة S:

الوقت t :

4.4.3.3 تقدير مستوى انزيم سوپر أوكسايد ديسميوتيز

Estimation of superoxide dismutase Activity (SOD)

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

بوصفه متبناً للبيروكسيديز (Durak et al., 1996).

ب- المحاليل الكيميائية :

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

a-محلول A: فوسفات الهيدروجين ثنائية البوتاسيوم K_2HPO_4 , هذه المحاليل جهزت بإذابة (8.709) غم من K_2HPO_4 في (250) ماء منزوع الأيونات واكمال الحجم إلى (1) لتر .

b-محلول B : فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (50) ملي مول: وتحضر من أذابه (6.805) غم KH_2PO_4 في (250) ماء منزوع الأيونات و ثم 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 (1% v/w) يذاب في ماء منزوع الأيونات

3-Nitroblue tetrazolium-2HCL (1.73nM)

و جهزت بإذابة (0.0141) غم من NBT-

2HCL في (10) مل من الماء منزوع الأيونات .

4-محلول الميثيونين L-Methionine solution (0.2) مل 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 (0.0011) غم 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-2HCL و (1.25) مل من محلول الميثيونين.

ج طريقة العمل :

1- تم تجهيز ثلاثة من الأنابيب على النحو الآتي:

Sample	Control	Blank	Reagent
3ml			خليط تفاعل
0.04ml			سيانيد الصوديوم
0.15ml			العينة
0.52ml			محلول العمل
مزجت جيداً ثم أضيف لها			
0.038ml	0.038ml	0.038ml	رايوفلافين

2- مزجت جميع الأنابيب ، وقرأت امتصاصية العينة والسيطرة عند طول موجي (560) نانومتر

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 (560) نانومتر .

د- الحسابات :

تم حساب تركيز الإنزيم وفق المعادلات الآتية:

النسبة المئوية للتنشيط

النسبة المئوية للتنشيط (%) = (الامتصاص في المجموعة الضابطة - الامتصاص في المجموعة التجريبية) /
الامتصاص في المجموعة الضابطة × 100

نشاط إنزيم SOD

نشاط إنزيم SOD (وحدة/مل) = (النسبة المئوية لتثبيط العينة) / (0.5 من نسبة التثبيط من المنحنى القياسي، 37%)

حساب الامتصاص

* C: الامتصاص للمجموعة الضابطة = الامتصاص بعد الإضاءة - الامتصاص قبل الإضاءة

* T: الامتصاص للعينة التجريبية = الامتصاص بعد الإضاءة - الامتصاص قبل الإضاءة

5.3.3 الدراسة النسجية Histological study

1.5.3.3 تحضير المقاطع النسجية Preparation of histological section

تم تحضير المقاطع النسجية للخصى والبرابخ لمعرفة التغيرات النسجية التي طرأت عليها خلال مدة التجربة ، حفظت العينات بمحلول الفورمالين (10%) بعدها استخرجت العينات من الفورمالين وغسلت عدة مرات بالماء حسب الطريقة الموصوفة لـ Suvarna وجماعته (2018) وكما يلي:

1- الإنكاز Dehydration

تم سحب الماء من النسيج وذلك بتمرير النماذج في سلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الايثيلي (70%، 80%، 90%، 100%، 100%) ولمدة ساعتين في كل تركيز.

2- الترويق Cleaning

رُوقت العينات بمحلول الزايلين Xylene مرتين ولمدة (10) دقائق لإزالة محلول الإنكاز وجعل العينات أكثر شفافية.

3- التشريب Infiltration

بعد الانتهاء من عملية الترويق نقلت النماذج إلى قناني حاوية على خليط من شمع البرافين Paraffin wax المنصهر (57-60) درجة مئوية والزايلين بنسبة (1-1) لمدة نصف ساعة داخل فرن كهربائي درجة حرارته (60) درجة مئوية وذلك لإبقاء الشمع منصهراً وضمان تحقق التشريب الكامل للنماذج بالشمع ثم نقلت بعد ذلك إلى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين داخل الفرن ايضاً لمدة ساعة واحدة نقلت بعدها مرة اخرى إلى قناني جديدة حاوية على شمع البرافين لمدة ساعة واحدة أيضاً.

4- الطمر Embedding

تم عمل قوالب من الشمع حاوية على العينات وذلك بصب الشمع في قوالب بلاستيكية خاصة طمرت فيها النماذج وتركت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ثم فصلت عن القالب وحفظت حتى وقت تقطيعها.

5- التقطيع Sectioning

قطعت النماذج باستخدام جهاز المشراح اليدوي Rotary microtome بسمك (5) مايكرومتر ثم ثبتت اشربة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة باستعمال لاصق ماير Mayers albumin adhesive بعد ان وضعت تلك الاشربة في حمام مائي درجة حرارته (45-50) درجة مئوية لمدة (2-1) دقيقة لضمان فرشها, بعدها تركت الشرائح على صفيحة ساخنة Hot Plate بدرجة حرارة (37) درجة مئوية لكي تجف.

6- التلوين والتحميل Staining and mounting

لونت جميع المقاطع النسجية باستخدام ملون الهيماتوكسولين-هارس والأيوسين الكحولي Harris's haematoxylin and alcoholic eosin إذ وضعت الشرائح في الزايلين لمدة (5) دقائق للتخلص من الشمع ثم مررت بسلسلة تراكيز تنازلية من الكحول الأثيلي (100%, 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%) لمدة دقيقتين في كل تركيز بعدها لونت بملون الهيماتوكسولين لمدة (10) دقائق ثم غسلت بالماء المقطر لمدة دقيقتين، ثم لونت بملون الأيوسين لمدة (10) دقائق، نقلت بعدها إلى سلسلة تراكيز تصاعديّة من الكحول الأثيلي (50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 100%) لمدة دقيقتين في كل تركيز ما عدا التركيز الأخير فقد وضعت فيه مدة خمس دقائق، ثم روقت بالزايلين بمرحلتين (10) دقائق لكل مرحلة بعدها أجريت عليها عملية التحميل باستخدام مادة الـ (DPX) Distrene plastisizer xylene لتثبيت غطاء الشريحة ثم تركت على صفيحة ساخنة بدرجة (37) درجة مئوية لكي تجف وتكون جاهزة للفحص.

2.5.3.3 الفحص والتصوير المجهرى Histological Examination and Microscopic Imaging

تم فحص جميع الشرائح المحضرة للأعضاء المدروسة (الخصى والبرابخ) تحت المجهر لتحديد التغيرات المرضية - النسجية فيها باستخدام مجهر ضوئي نوع Human scope مزود بكاميرا عالية الدقة من نوع Canon وبعد الفحص تم التقاط عدد من الصور لبعض المقاطع النسجية وعلى قوى تكبير (200 x و 400 x).

3.5.3.3 القياسات النسجية Histological Measurements

1.3.5.3.3 الخصى Testis

اشتملت دراسة التغيرات الفسلجية النسجية لمقاطع الخصى على:

* حساب أقطار الخلايا المكونة للنطف وأعداد خلايا لايدك تم حساب أعداد الخلايا المكونة للنطف المتمثلة بسليقات النطف والخلايا النطفية وأرومات النطف الموجودة داخل النبيب المنوي وبواقع عشرة نبيبات منوية لكل حيوان بواسطة العدسة الشيئية بقوة (40 x) وأخذ المعدل لها، كما تم احتساب أعداد خلايا لايدك المتواجدة بين كل ثلاث نبيبات منوية وكررت عشرة قراءات لكل حيوان باستعمال العدسة الشيئية بقوة (x) 40 واتبعت طريقة Alwachi وجماعته (1986) لحساب معدل أعداد تلك الخلايا.

*قياس أقطار النبيبات الناقلة للمنى و سمك الطبقة الجرثومية تم قياس أقطار النبيبات ناقلة المنى بواقع ستة حيوانات لكل مجموعة تجريبية باستعمال المقياس الدقيق العيني Ocular micrometer بعد معايرته بالمقياس المتصدي الدقيق Stage micrometer وبقوة (40 x) وتم حساب معدل عشرة أقطار للنبيبات المنوية بشكل دائري قدر الإمكان في كل مقطع، ثم حساب المعدل العام لاستخراج معدل القطر للنبيب الناقل للمنى. كذلك تم قياس سمك الطبقة الجرثومية وذلك بقياس السمك من الغشاء القاعدي الى التجويف الأنثوي وبواقع خمس قراءات لكل حيوان ثم استخراج المعدل العام لها (Akdere et al., 2015) .

2.3.5.3.3 البرابخ Epididymis

تم قياس أقطار البرابخ للحيوانات باستعمال المقياس العيني الدقيق وبقوة (40 x) إذ قيست أقطار النبيبات الدائرية أو القريبية من الدائرية وبمعدل عشرة قراءات لكل حيوان، ثم استخراج المعدل العام لها. كما تم قياس سمك الطبقة الطهارية المبطنة للبربخ من غشاء البربخ إلى تجويف البربخ وبمعدل عشرة قراءات لكل حيوان ثم استخراج المعدل العام لها (Balash et al., 1987) .

4.3 التحليل الاحصائي The statistical analysis

تم تحليل جميع نتائج الدراسة إحصائياً لمعرفة الاختلافات المعنوية بين المعدلات وقد استعمل لهذا الغرض برنامج الإحصائية للعلوم الاجتماعية Statistical package for the Social Sciences (SPSS) الإصدار (26) ، وطبقاً لبيانات الدراسة تم حساب المتوسط الحسابي والخطأ القياسي لكل مؤشر واستعمل اختبار تحليل التباين الأحادي (ANOVA) One way analysis of variance مع حساب قيمة أقل فرق معنوي (LSD) Least Significant difference لمعرفة الاختلافات المعنوية بين المتوسطات والتي حددت عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) .

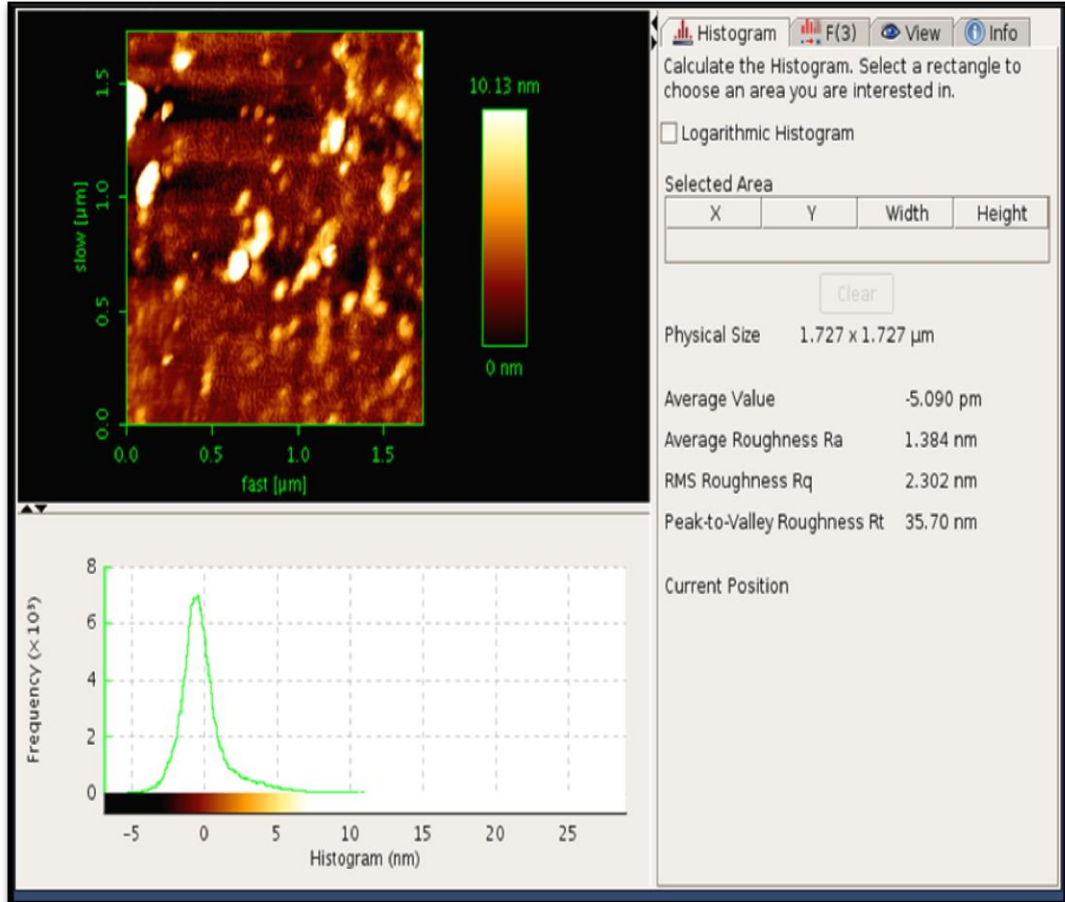
الفصل الرابع
النتائج والمناقشة

RESULTS
and
DISCUSSION

1.4 نتائج تشخيص المستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل

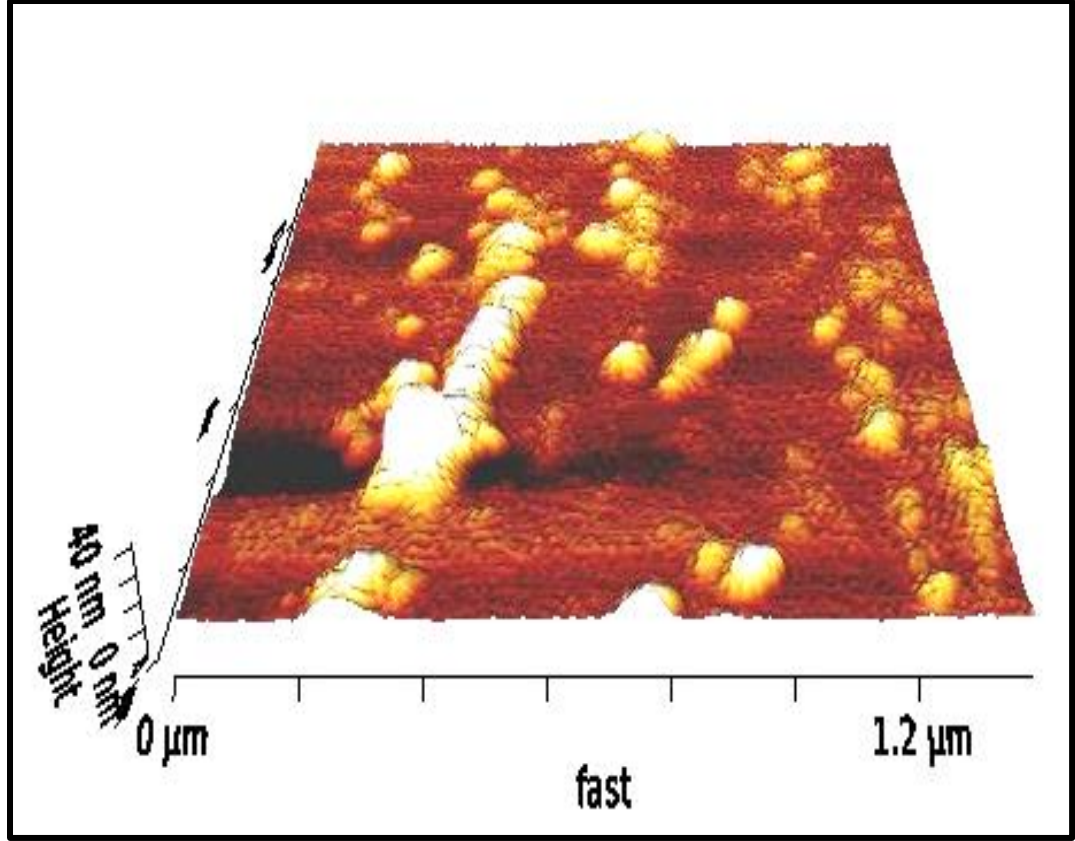
1.1.4 مجهر القوة الذرية (AFM)

اظهرت نتائج تحليل مجهر القوة الذرية (AFM) في الشكل (1-4) الكشف عن طبيعة سطح الدقائق النانوية المصنعة، ميرزا خشونة السطح وشكل وحجم الدقائق المختلفة ومدى تكتلها. وقد بينت النتائج ان معدل خشونة السطح (Ra) بلغ 1.384 نانومتر، مع اقصى ارتفاع للجسيمات (Rt) وصل الى 35.70 نانومتر مما يشير الى توزيع للأحجام يتراوح من بضع نانومترات الى 35 نانومتر ، تؤكد هذه البيانات ان الجسيمات تقع في النطاق النانوي ولها تضاريس سطحية معقدة كما هو موضح في صورة الارتفاع ثلاثية الابعاد (2-4) هذه النتائج جاءت متوافقة مع ما ورد في دراسة (Ramesh et al ., 2021).



الشكل 1-)

4) تحليل الهستوكرام لجسيمات اوكسيد الزنك النانوية المحضرة بواسطة المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل

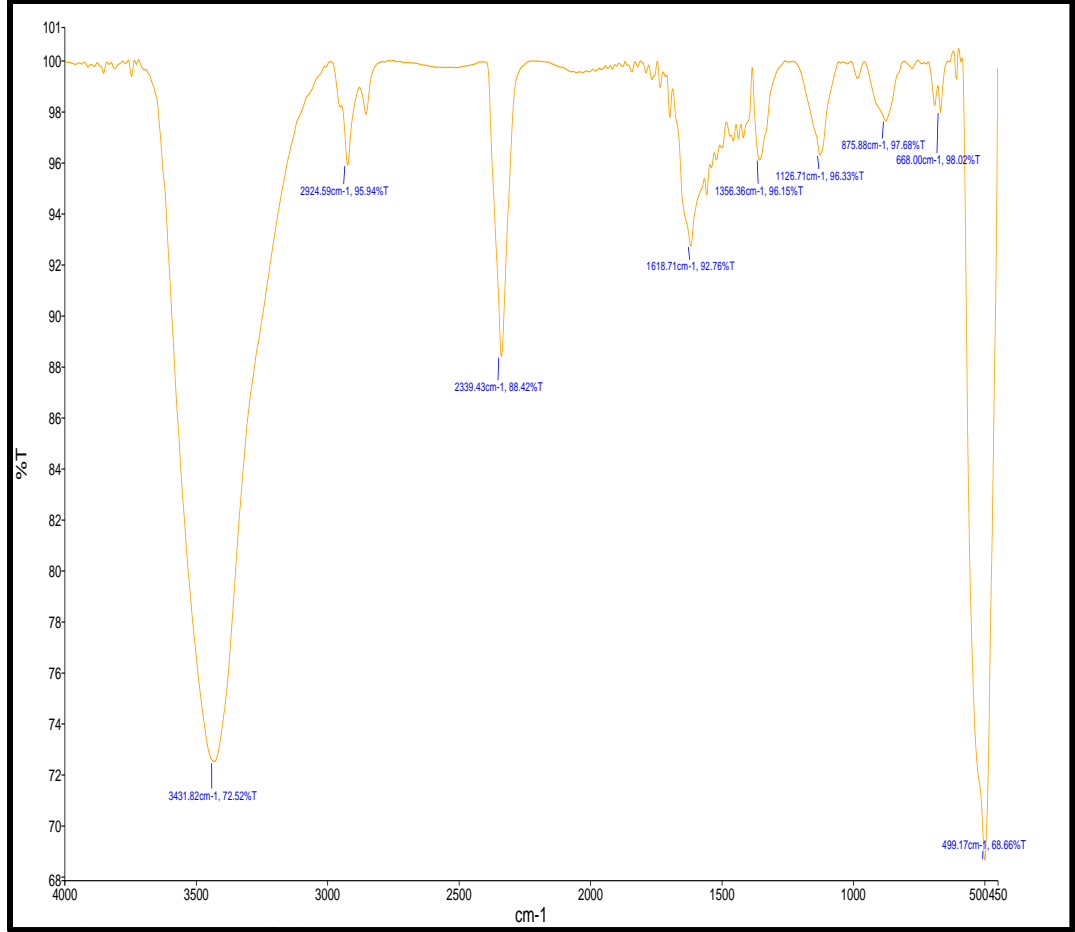


الشكل (2-4) صورة ثلاثية الابعاد تم التقاطها بواسطة مجهر AFM لجسيمات أكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص المائي لاوراق نبات اكليل الجبل.

2.1.4 تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء (FT-IR)

Fourier transform infrared spectrometer

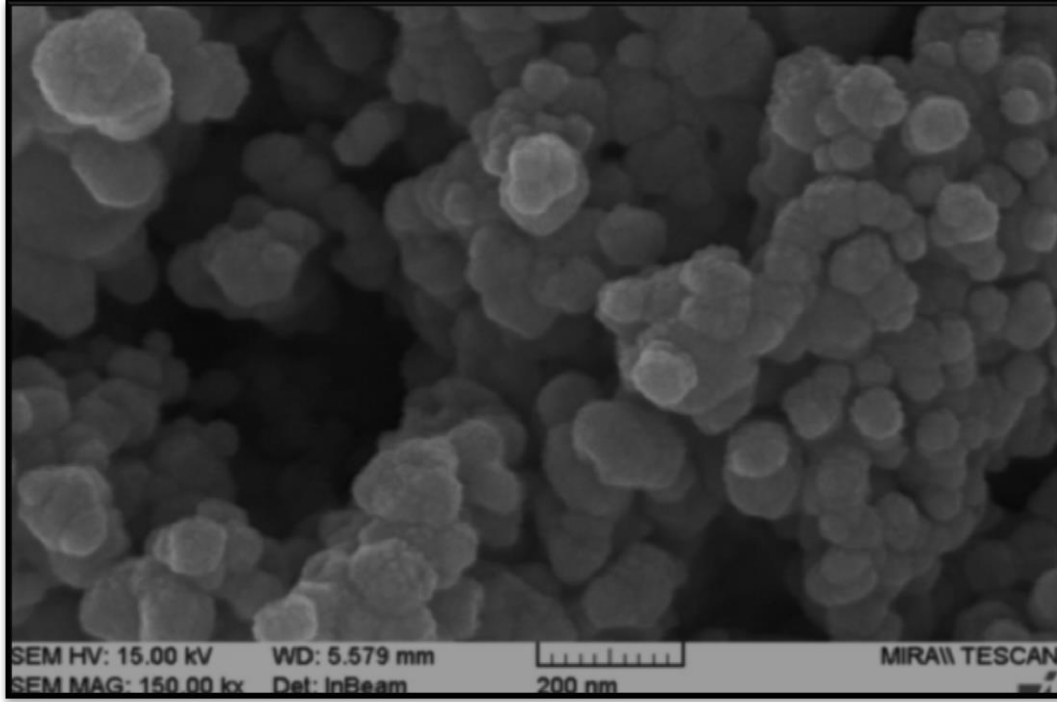
أظهرت نتائج الشكل (3-4) للدراسة الحالية ظهور العديد من المنحنيات والتي تدل على وجود أواصر بين المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل وجسيمات أكسيد الزنك. اذ اظهر طيف FT-IR قمة عريضة عند (3411) سم⁻¹ تشير الى وجود مجموعات OH- من المركبات الفينولية ، كما ظهرت قمم عند (2924، 1618، 1356 و 1126) سم⁻¹ تدل على وجود روابط C=O ، C-H ، C=C مما يؤكد تغليف الجسيمات بمركبات نباتية ، اما القمة (499) سم⁻¹ تمثل اهتزاز n-OZ اذ تشير هذه النطاقات الاهتزازية الممتدة الى المركبات المسؤولة عن التغطية الفعالة وتثبيت ZnONPs، وكانت هذه النتائج متفقة مع (Uysal et al.,2024).



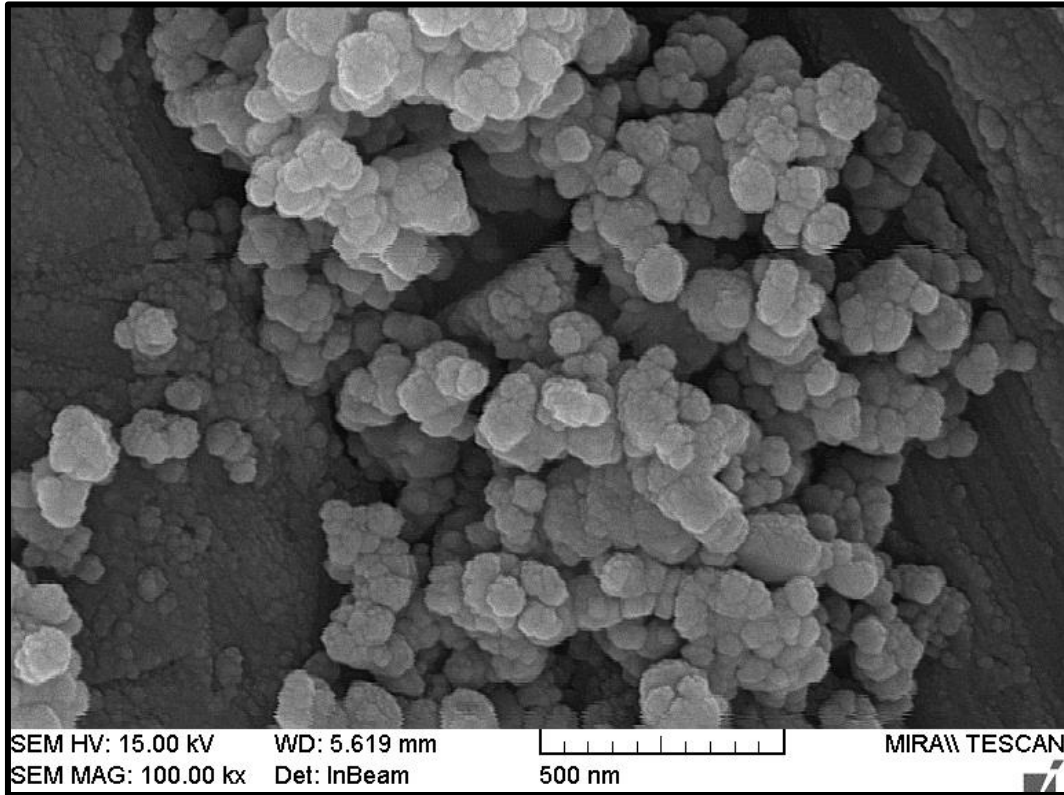
شكل (3-4) التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared لجسيمات أكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل

3.1.4 المجهر الالكتروني الماسح (SEM) Scanning Electron Microscope

اشارت نتائج الدراسة الحالية والتي اوضحتها الصور الملتقطة بواسطة المجهر الالكتروني الماسح ان احجام جسيمات المستخلص النانوي المتكون من أوراق نبات اكليل الجبل واوكسيد الزنك النانوي تراوحت بين (30- 90 نانومتر) وكان متوسط حجم الجسيمات النانوية (60 نانومتر) وكانت اشكال تلك الجسيمات كروية بصورة مفردة او مجتمعة وكما موضح في الشكل رقم (4-4) و (5-4) كانت النتائج الحالية مطابقة مع نتائج دراسة Uysal وجماعته (2024) اذ بلغ حجم الجسيمات النانوية المصنعة من نبات اكليل الجبل بحدود (20-90 نانومتر) ويتراوح حجم الجسيمات النانوية ما بين (1-100) نانومتر وكلما كان حجم الجسيمات النانوية اصغر كلما كانت اكثر اختراقا للانسجة المستهدفة (Shehzad *et al.*, 2021)



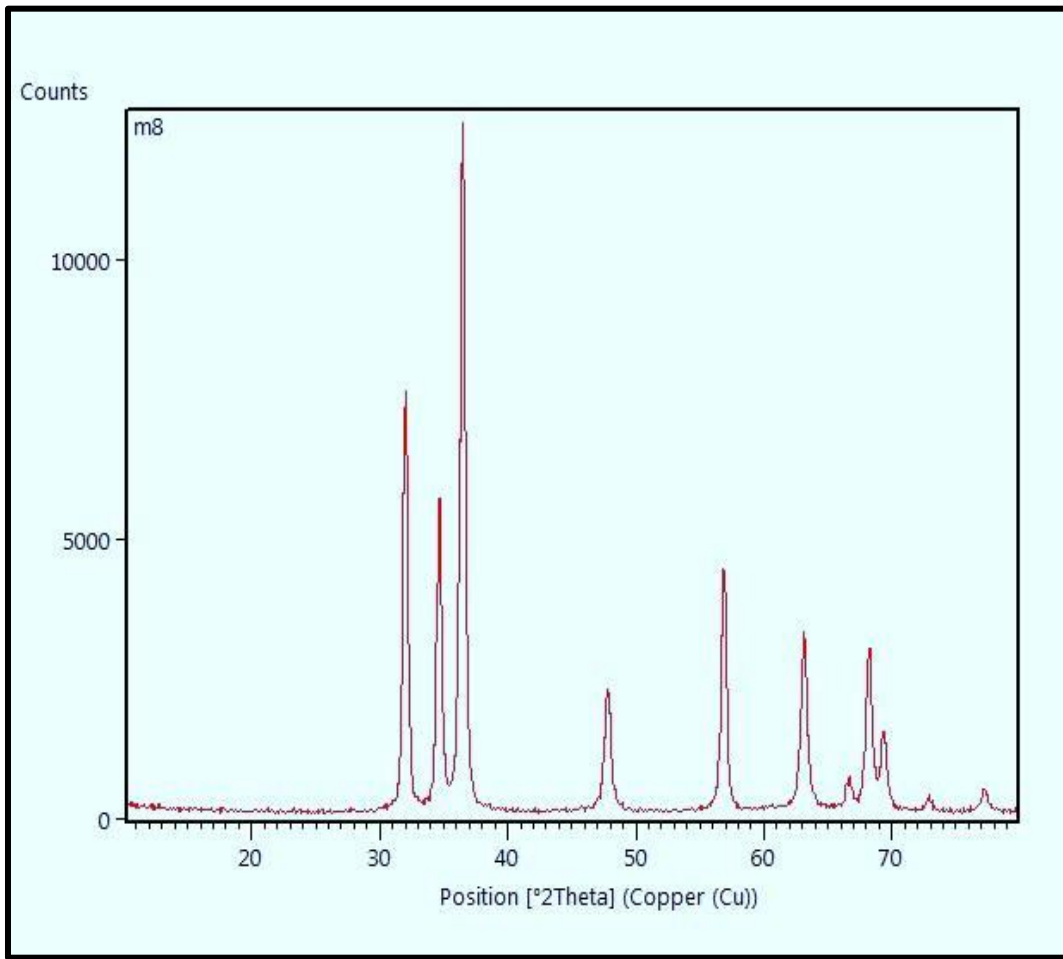
الشكل (4-4) صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لجسيمات أكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل عند حدود 200 نانومتر
الشكل(4-5) صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لجسيمات أكسيد الزنك النانوي المحضرة



بواسطة المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل عند حدود 500 نانومتر

4.1.4 الحيود بالاشعة السينية (XRD)

استخدمت هذه التقنية لتحديد التركيب البلوري للمواد مثل المواد النانوية ، اظهر تحليل حيود الاشعة السينية لجسيمات ZnO النانوية المحضرة باستخدام مستخلص اوراق اكليل الجبل نمطا بلوريا واضحا يتطابق مع التركيب السداسي المعروف لأكسيد الزنك وفقا لبطاقة JCPDS رقم 1451-36 تم تحديد قمم الانعكاس المميزة 36.2° ، 34.4° ، 31.7° ، 47.5° ، 56.6° ، 62.8° كما في الشكل (4-6)، مما يدل على نقاء العينة وغياب الاطوار البلورية الاخرى ، باستخدام معادلة شيرر (Schere Equation) تم حساب متوسط حجم البلورات النانوية اذ بلغت حوالي (35 نانومتر) وهو ما يتماشى مع نتائج المجهر الإلكتروني الماسح وهذه النتائج تتوافق مع Noukelag وجماعته (2020)



شكل (4-6) نمط حيود الاشعة السينية (XRD) لجسيمات اكسيد الزنك النانوية المحضرة باستخدام المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل.

2.4 نتائج تحليل تقنية ال GC-MS

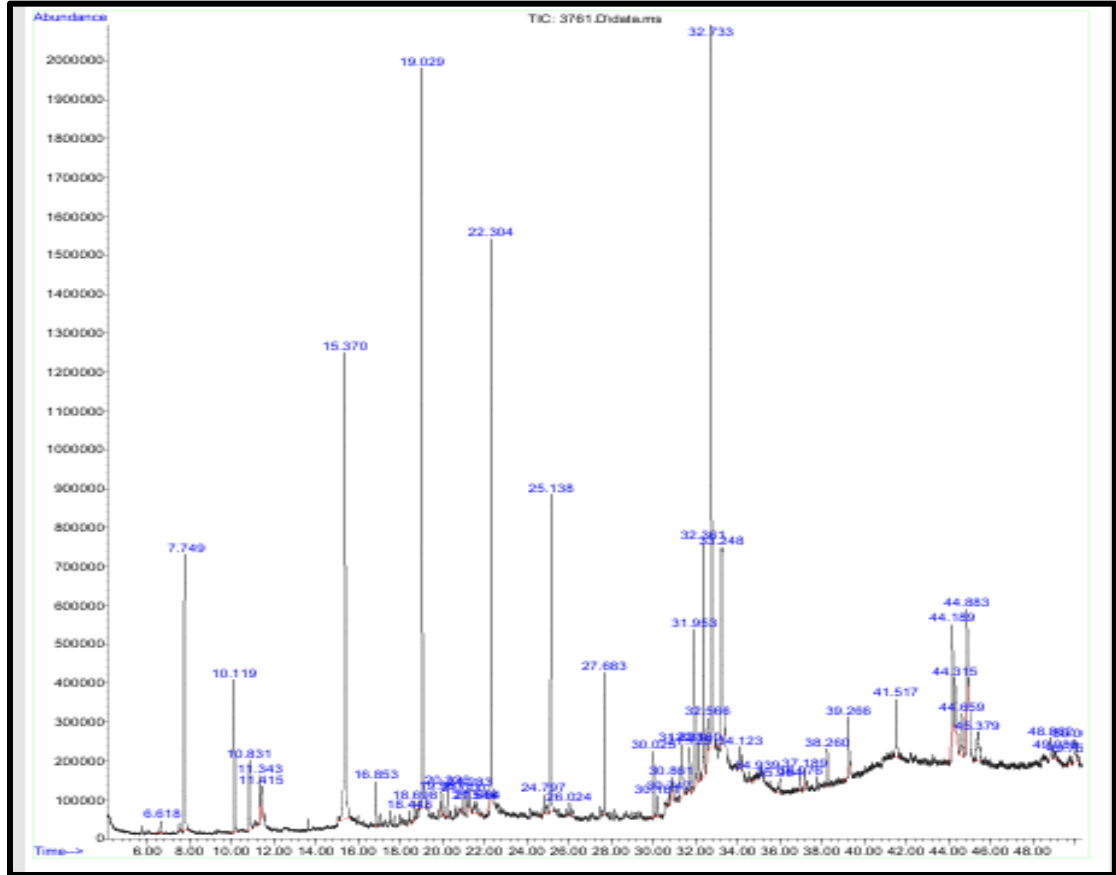
اظهرت نتائج تحليل تقنية GC-MS ان النبات يحتوي على 48 مركب فعال وكما مبين في الجدول (1-4) اذ كانت اعلى مساحة بنسبة 16.58% عند زمن احتجاز 32.733 دقيقة للمركب الفعال Guaiol ، اما قيمة اقل مساحة كان 0.22% في زمن احتجاز 24.795 دقيقة للمركب الفعال Neophytadiene كما في شكل (4-7).

الجدول (1-4) المركبات الفعالة لنبات اكليل الجبل والنسبة المئوية لمساحتها ووزنها حسب تحليل تقنية GC-MS

NUMBER	RT (min)	Area%	Name	Quality	CAS Number
1	6.619	0.34	Sabinene	94	003387-41-5
2	7.75	4.27	1,8-Cineole	99	000470-82-6
3	10.121	2.30	Camphor	98	000076-22-2
4	10.832	1.22	1-BORNEOL	90	000464-45-9
5	11.341	0.31	Cyclopentasiloxane, decamethyl-	94	000541-02-6
6	11.413	0.58	ALPHA-TERPINEOL	95	010482-56-1
7	15.372	11.01	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	94	000540-97-6
8	16.851	0.72	trans-Caryophyllene	99	000087-44-5
9	18.444	0.28	α -acorenol	25	121067-32-1
10	18.698	0.30	Epicubebol	95	039029-41-9
11	19.03	11.54	Hexadecamethyl-cyclooctasiloxane	50	000995-82-4
12	19.969	0.25	4-Pentyloxylaniline	47	039905-50-5
13	20.223	0.41	Galantamin	98	000489-86-1
14	21.002	0.26	.beta.-cadinene	83	000523-47-7
15	21.282	0.44	Eremophilene	95	010219-75-7
16	21.547	0.32	Pseudosolasodine diacetate	50	000000-00-0
17	21.656	0.24	β -Eudesmol	83	077869-53-5
18	22.304	7.53	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	53	000000-00-0

19	24.795	0.22	Neophytadiene	62	000000-00-0
20	25.137	4.67	Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	83	020997-50-6
21	26.024	0.25	Methyl palmitate	91	000112-39-0
22	27.685	1.99	Heptasiloxane, hexadecamethyl	53	000000-00-0
23	30.025	0.90	Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane	81	018919-94-3
24	30.18	0.37	Morphine	46	056771-83-6
25	30.86	0.35	Trimethylsilylestrone	72	000000-00-0
26	31.322	1.77	Tetra-O-methylscutellarein	90	000000-00-0
27	31.727	1.05	Ferruginol	90	000514-62-5
28	31.955	3.15	(10.beta.H)-Des-a-urs-12-en-5-one	95	000000-00-0
29	32.163	0.65	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	43	080964-24-5
30	32.36	3.60	Pyrido[2,3-b]indole	80	000000-00-0
31	32.567	0.94	Retinol	58	088038-06-6
32	32.733	16.58	Guaiol	43	027460-18-0
33	33.247	6.77	trans-Totarol	58	000000-00-0
34	34.124	0.42	4,6-Androstadien-3 β -ol-17-one, acetate	22	038147-00-1
35	35.987	0.40	Heptasiloxane, hexadecamethyl-	38	054965-43-4
36	36.978	0.27	3-Methylheneicosane	43	006418-47-9
37	37.19	0.27	Demecolcine	45	093103-70-9
38	38.259	0.57	PERFLUORO-2-METHYLPENTENE-2	49	000000-00-0
39	39.266	0.74	Cycloartenol acetate	83	131072-70-3
40	41.518	1.33	D,.alpha.-Tocopherol	95	000000-00-0
41	44.19	1.87	Norolean-12-ENE	87	000000-00-0
42	44.314	1.81	.alpha.-Amyrin	64	000638-95-9
43	44.657	1.33	.beta.-Amyrene	43	000471-68-1
44	44.885	1.98	3-KETO-URS-12-ENE	97	000000-00-0
45	45.378	11.3	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	46	000541-05-9
46	48.86	0.79	Benzene, 1,4-BIS(TRIMETHYLSILYL)-	47	000000-

					00-0
47	49.088	0.24	Hexadecamethylheptasiloxane	50	055012-80-1
48	50.001	1.09	Hydromethylsiloxane	53	001873-88-7



الشكل (7-4) يمثل منحنى زمن ظهور المركبات الفعالة التي تم قياسها بجهاز GC-MS

كانت النتائج متفقة مع دراسة (Outaleb) وجماعته (2015) بوجود 48 مركب فعال ، اذ يعود الاختلاف في وجود المركبات الفعالة لنفس النبات في الدراسات المختلفة الى اسباب عديدة منها الاصل الجغرافي للنبات طرق الاستخلاص الظروف البيئية موسم نمو النبات مدة الاستخلاص وكذلك الاختلاف نوع التربة والمغذيات واحتمالية وجود طفرات وراثية (Zia-Ul-Haq *et al.*; 2012)

3.4 التجربة الأولى تحديد التركيز الأكثر فعالية لمستخلص اكيل الجبل النانوي

عند تقييم فعالية المستخلص النانوي لاكليل الجبل على تركيز انزيم SOD من بين ثلاث تراكيز امانة منه (50، 100، 150) ملغم / كغم ، اظهرت نتائج التجربة الاولى وجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى نشاط انزيم SOD للمجموعة الوقائية الثانية والثالثة اذ كانت المجموعة الوقائية الثانية اعلى احصائيا قياسا مع المجموعة الوقائية الثالثة وعليه تم اختيار المجموعة الوقائية الثانية مقارنة مع مجموعة السيطرة.

بالمقابل، لم تكن هنالك فروق معنوية ($P \geq 0.05$) في مستوى نشاط انزيم SOD في مجموعة الوقائية الاولى عند المقارنة مع مجموعة السيطرة ، قد يعود السبب في ذلك الى عدة اليات محتملة تفسر سبب تأثير جرعة 100 ملغم / كغم هي الاكثر فعالية في تعزيز نشاط انزيم SOD من المحتمل ان يكون الامتصاص الخلوي والتوافر البيولوجي لمستخلص النانو في افضل حالاته عند التركيز النصفى لان من المحتمل التركيز المنخفض جدا يؤدي الى عدم كفاية كمية المستخلص للتأثير بشكل فعال، في المقابل قد يؤدي التركيز العالي جدا الى تجمع الجسيمات النانوية وبالتالي تشبع اليات الامتصاص الخلوي .

الجدول (2-4) : تأثير ثلاثة تراكيز من المستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل على مستوى نشاط انزيم SOD في مصل الدم لدى ذكور الجرذان البيضاء ولمدة 30 يوما.

مجاميع التجربة	SOD U/ml مستوى نشاط انزيم
مجموعة السيطرة	32.11± 0.55 b
مجموعة الوقاية الاولى (50 ملغم / كغم)	34.13±1.55 b
مجموعة الوقاية الثانية (100 ملغم / كغم)	46.98± 0.63 a
مجموعة الوقاية الثالثة (150 ملغم / كغم)	43.11±0.69 a
LSD	9.11

- تمثل القيم الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي
- تشير الحروف المختلفة بين المتوسطات الى وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$)
- تشير الحروف المتشابهة بين المتوسطات الى عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.05$) ذات دلالة إحصائية .

يعد انزيم SOD احد اهم الانزيمات في منظومة الدفاع المضاد للاكسدة داخل الخلايا الحية، حيث يؤدي دورا رئيسيا في الدفاع الخلوي ضد الاجهاد التاكسدي اذ يعمل هذا الانزيم على التقليل من فعالية جذور الاوكسجين الحرة الفائقة مما يقلل من (O_2^-) عن طريق تحفيز تحويلها الى بيروكسيد الهيدروجين والاكسجين، اذ تكمن اهميته في قدرته على الحفاظ على التوازن التاكسدي والاختزالي داخل الخلايا وبالتالي حماية المكونات الخلوية الحيوية مثل الدهون والبروتينات والحمض النووي من التلف الناتج عن الاجهاد التاكسدي (Amjad *et al.*, 2020)

اوضحت النتائج المبينة في الجدول اعلاه فعالية المستخلص النانوي لاكليل الجبل بتركيز 100 ملغم / كغم في زيادة نشاط انزيم SOD في مصل الدم مقارنة بمجموعة السيطرة، كانت تلك النتائج متوافقة مع نتائج الباحث Mohammadifar وجماعته (2021) في دراسته التي تشير ان المستحلب النانوي المحتوي على زيت اكليل الجبل ساهم في تعزيز نشاط انزيم SOD وتقليل الاجهاد التاكسدي .

4.4 التجربة الثانية تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي (200) ملغم / كغم والمستخلص النانوي (100) ملغم / كغم لأكيل الجبل ضد السمية التكاثرية المستحثة بالبراسيتامول (25) ملغم / كغم لدى ذكور الجرذان البيضاء ولمدة 60 يوم.

1.4.4 التغيرات الوزنية في كل من وزن (الجسم، الخصية والبربخ)

Weight changes in body weight, testicular weight and epididymal weight

أوضحت نتائج الدراسة المبينة في الجدول (3-4) وجود انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في المتوسطات الحسابية لمقدار الكسب الوزني للجسم وعدم وجود فروق ذات دلالة معنوية ($P \geq 0.05$) في المتوسطات الحسابية لمقدار الكسب الوزني لكل من الخصى والبرابخ في مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة ، من الجانب الاخر اظهرت المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي للروزماري في G3، G4، G6 ارتفاع معنويا ($P \leq 0.05$) في معدل الكسب الوزني للجسم وعدم ظهور فروق ذات دلالة معنوية ($P \geq 0.05$) في معدل وزن كل من الخصى والبرابخ مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول ، اما المجموعات المعاملة بالمستخلص النانوي للروزماري G5 اظهرت تحسنا معنويا ($P \leq 0.05$) في معدلات الكسب الوزني للجسم والخصى والبرابخ مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول .

الجدول (3-4) تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والمستخلص والنانوي لنبات اكليل الجبل في معدل متوسطات الكسب الوزني لكل من وزن الجسم ، الخصى ، البرايخ في ذكور الجرذان البيضاء المعاملة بالبراسيتامول

معدل وزن البريخ (ملغم)	معدل وزن لخصية (ملغم)	الكسب الوزني للجسم (غم)	المعايير المعاملات
0.22± 0.00 a	0.37±0.01 b	84.10±0,10 c	G1 مجموعة السيطرة السالبة
0.24 ±0.00 a	0.38±0.00 b	18.60±0.50 f	G2 مجموعة العقار (25) ملغم/كغم
0.25±0.00 a	0.39±0.02 b	87.06±0.95 b	G3 مجموعة المستخلص المائي (200) ملغم/كغم
0.23±0.01 a	0.35±0.00 c	71.75±0.92 d	G4 مجموعة المستخلص المائي +العقار (25+200) ملغم/كغم
0.31± 0.00 a	0.49±0.01 a	88.40±0.95 a	G5 مجموعة المستخلص نانوي (100) ملغم/كغم
0.22± 0.00 a	0.38±0.02 b	81.91±0.66 e	G6 مجموعة المستخلص النانوي +العقار (25+100) ملغم/كغم
0.130	0.041	2.189	L.S.D

- تمثل القيم الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي
- تشير الحروف المختلفة بين المتوسطات الى وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى احتمالية (P ≤ 0.05)
- تشير الحروف المتشابهة بين المتوسطات الى عدم وجود فروق معنوية (P ≥ 0.05) ذات دلالة إحصائية

يعد الحفاظ على وزن الجسم الامثل وسلامة الاعضاء التناسلية وظيفيا وهيكليا امر بالغ الاهمية للكفاءة الانجابية الشاملة (Laru et al., 2022)

أوضحت نتائج الدراسة المبينة في الجدول (3-4) وجود انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في المتوسطات الحسابية لمقدار الكسب الوزني للجسم وعدم وجود فروق ذات دلالة معنوية ($P \geq 0.05$) في معدل وزن الخصى والبرابخ في مجموعة الحيوانات المعاملة الباراسيتامول تشير هذه النتائج الى الالية الرئيسية لفقدان وزن الجسم الناجم عن الباراسيتامول في الجرذان التي قد تعود الى تأثير غير مباشر ناتج عن انخفاض في استهلاك الطعام (فقدان الشهية)، وليس تأثيرا مباشرا للدواء على كتلة الجسم اذ اشارت دراسة Bauer وجماعته (2003) ان تناول الباراسيتامول للجرذان كمسكن للالم بعد الجراحة ادى الى فقدان في الوزن وانخفاضا موقتا في استهلاك السوائل وهو يتوافق مع دراستنا . او قد يعود السبب في انخفاض الوزن الناتج عن تناول الباراسيتامول بجرعات عالية يؤدي الى تلف في الكبد بسبب تراكم النواتج الايضية السامة مثل NAPQI والجذور الحرة هذا الضرر يؤدي الى تراجع في القدرة الايضية للجسم وانخفاض في كفاءة تحويل العناصر الغذائية وبالتالي يسبب فقدان الوزن وضعف النمو لدى الجرذان وبالتالي ممكن ان يؤدي الى تراجع الشهية وضعف في امتصاص العناصر الغذائية مما يزيد من تفاقم فقدان الوزن.

كذلك توصلت الدراسة في الجدول اعلاه ان استخدام الباراسيتامول لم يؤثر بشكل واضح على اوزان الخصى والبرابخ مقارنة بمجموعة الباراسيتامول يشير هذا ان تأثير الباراسيتامول على وزن الخصى والبرابخ قد يكون معتمدا بشكل كبير على الجرعة اذ يكون الانخفاض بشكل اساسي عند الجرعات العالية والتي قد تكون سامة (Ratnasooriya, and Jayakody,2000)،على الرغم من ذلك بين van den Driesche وجماعته (2015) ان التعرض المطول للبراسيتامول بجرعات تعادل الاستخدام العلاجي البشري يقلل من انتاج التستوستيرون ووزن الحويصلات المنوية مع عدم ملاحظة فروق معنوية في الوزن الكلي للخصى،على النقيض من ذلك، اشارت دراسة عند التعرض المبكر للبراسيتامول اثناء النمو (اثناء الحمل والرضاعة) عن زيادة معنوية في اوزان خصى ذكور الجرذان عند الفطام ومع ذلك ارتبطت هذه الزيادة بشكل متناقض بانخفاض في عدد الحيوانات المنوية في وقت لاحق من مرحلة البلوغ (في عمر 10 اشهر) (Jacqueson et al., 1984)، قد يعود الانخفاض في وزن الخصى عند الجرعات العالية مقابل زيادة اثناء النمو وعدم وجود تأثير عند الجرعات العلاجية الى مقدار الجرعة و مدة التعرض.

تشير نتائج الدراسة الحالية الى ان التحسن في معدل الكسب الوزني للجسم في الجرذان لمستخلص اكليل الجبل بعد التعرض للبراسيتامول يرتبط بعدة اليات تساهم في استعادة التوازن الايضي من ابرزها تعزيز نشاط مضادات الاكسدة الطبيعية مثل الكارنوسول الذي يتفاعل مع الجذور الحرة ويحولها الى مركبات مستقرة مما يعمل على تقليل الضرر التاكسدي الناجم عن الباراسيتامول Elmetwally et al., (2024). وهذا يتوافق مع ما توصلت اليه الدراسة الحالية، كما وتساهم مركبات اكليل الجبل النشطة في تحسين بنية الامعاء وزيادة افراز الانزيمات الهاضمة مما يؤدي الى تعزيز كفاءة الهضم وامتصاص العناصر الغذائية (Huang et al., 2025) بالاضافة الى ذلك يمتلك اكليل الجبل خصائص واقية للكبد مما يعمل على تحسين التمثيل الغذائي للدهون والبروتينات (Madsen et al.,2023) .

وأشارت دراسات الى دور المستخلص المائي لاكليل الجبل في ذكور الجرذان البالغة عن عدم وجود تغيير معنوي في الاوزان المطلقة او النسبية للخصى والبرابخ (Heidari-Vala *et al.*, 2013) وهذا يتوافق مع نتائج دراستنا الحالية، اذ لا تؤدي مستخلصات الروزماري عموما الى زيادة في وزن الخصى والبرابخ بشكل ملحوظ الا ان هناك ادلة على تاثيراتها الوقائية والترميمية على شكل النسيج للخصى وسلامة الخلايا خاصة عندما تكون الخصيتين تحت تأثير الاجهاد التأكسدي او التلف المستحث Modaresi, and (Emadi, 2018)، وهذا يعني ايضا ان الروزماري بذلك يمكن ان يحسن من صحة ووظيفة الخصيتين ويدعم تكوين الحيوانات المنوية في الخلايا، بالإضافة الى ذلك ان الوظائف الحيوية للبربخ في نضج الحيوانات المنوية وتخزينها يمكن ان تتاثر بشكل ايجابي باكليل الجبل (Ali *et al.*, 2024)، بذلك قد تكون التأثيرات الايجابية اكليل الجبل على كل من الوظائف الاساسية للخصى والبرابخ اكثر موثوقية وحساسية للتاثير الانجابي من وزن العضو الاجمالي.

اما من ناحية التفوق المعنوي للمستخلص النانوي في زيادة معدلات الكسب الوزني للجسم ، الخصى والبرابخ يمكن استنتاج ذلك عبر قدرة جسيمات اوكسيد الزنك النانوية حتى بدون مستخلص اكليل الجبل على تخفيف السمية التناسلية عبر قدرتها المضادة للاكسدة (Shehata *et al.*, 2021) ، كذلك يمكن ان ترجع القدرة لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحملة باكليل الجبل في التخفيف من التاثيرات الناجمة عن البراسيتامول على وزن الجسم والاعضاء التناسلية الى احتواء نبات اكليل الجبل على مضادات الاكسدة والتي قللت من الاجهاد التأكسدي الناجم عن البراسيتامول ، بينما تعزز جسيمات اوكسيد الزنك النانوي توصيل وتوافر وفعالية هذه المركبات الفعالة الى الانسجة المستهدفة وبهذا يمكن ان تؤدي الى نتائج متفوقة مقارنة بالمستخلصات لوحدها.

2.4.4 التغيرات في معالم الحيوانات المنوية بما في ذلك (التركيز ، الحركة ، الحيوية ونسبة الحيوانات المنوية الغير طبيعية)

Changes in sperm parameters, including concentration, motility, viability, and the proportion of abnormal sperm

أوضحت نتائج الدراسة المبينة في الجدول (4-4) وجود انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى تركيز النطف ، وحيوية النطف وحركتها وزيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في نسبة النطف اللاسوية في مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة ، من الجانب الاخر اظهرت المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لاكليل الجبل ارتفاعا معنويا واضحا ($P \leq 0.05$) في كل من حركة النطف ، حيوية النطف وتركيز النطف مع انخفاض معنوي ملحوظ ($P \leq 0.05$) في نسبة النطف اللاسوية مقارنة مع الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول، اما المجموعات المعاملة بالمستخلص المائي لاكليل الجبل مع البراسيتامول والمجموعات المعاملة بالمستخلص النانوي لاكليل الجبل مع البراسيتامول اظهرت تحسنا معنويا في معالم النطف مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول اذ سجلت هذه المجاميع ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في كل من تركيز النطف وحركة النطف وحيويتها مع انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في نسبة النطف اللاسوية.

تشير هذه النتائج الى ان مستخلصات الروزماري المائية والنانوية اظهرت قدرة واضحة على الحد او التقليل من التأثيرات السلبية للبراسيتامول على معايير السائل المنوي لذكور الجرذان مع الاخذ بنظر الاعتبار هنالك تفوق ملحوظ في المجاميع المعاملة بالمستخلص النانوي في تحسين تلك المعايير

الجدول (4-4) تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والمستخلص والنانوي في معايير النطف (التركيز، الحيوية، الحركة، النطف اللاسوية) في ذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول

النطف لاسوية Sperm Abnormal	الحيوية Vitality	الحركة Movment	التركيز Concentration	المعايير المعاملات
0.64±0.15 f	71.76±0.50 e	76.19± 0.08 e	80.75±0.15 c	G1 السيطرة السالبة
22.76±0.89 a	48.07±0.78 f	52.16±0.56 f	61.96±0.44 f	G2 مجموعة العقار (25) ملغم/كغم
5.20±0.38 e	78.13±0.66 b	87.56±0.73 b	92.40±0.32 b	G3 مجموعة المستخلص المائي (200) ملغم/كغم
16.59±0.16 c	62.49±0.17 d	74.24±0.079 d	86.37±0.78 d	G4 مجموعة المستخلص المائي+العقار (25+200) ملغم/كغم
7.96±0.18 d	80.73±0.17 a	89.10±0.25 a	97.83±0.76 a	G5 مجموعة المستخلص نانوي (100) ملغم/كغم
9.36±0.11 b	75.08±0.26 c	84.23±0.14 c	88.98±2.13 b	G6 مجموعة المستخلص النانوي+العقار (25+100) ملغم/كغم
1.226	1.437	1.173	1.488	L.S.D

- تمثل القيم الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي
- تشير الحروف المختلفة بين المتوسطات الى وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$)
- تشير الحروف المتشابهة بين المتوسطات الى عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.05$) ذات دلالة إحصائية .

تشير النتائج المبينة في الجدول أعلاه الى وجود انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في كل من تركيز النطف، الحركة والحيوية في البربخ ووجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للنطف اللاسوية لدى مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، اذ تمتد تأثيرات البراسيتامول الى جوانب متعددة من وظيفة النطف بدءا من تكوينها وحتى حيويتها وحركتها وجاءت هذه النتائج متفقه مع (Banihani, 2018) التي ربط فيها بين استخدام البراسيتامول وانخفاض جودة السائل المنوي وخاصة شكل الحيوانات المنوية وقدرتها على الاخصاب في النماذج الحيوانية. يعود السبب وراء اضعاف عملية تكوين النطف الى الاجهاد التأكسدي الذي يسببه عقار البراسيتامول اذ يعمل على تعطيل التوازن بين الجذور الحرة ومضادات الاكسدة الذاتية مثل الكلوتاثيون مما يؤدي الى تلف الحمض النووي DNA Fragmentation واضطراب في وظيفة المايوتوكوندرريا وهو ما يتوافق مع دراسة (Smarr, 2017, *et al.*)، وكذلك بالتدخل الهرموني اذ يؤدي البراسيتامول الى تثبيط افراز الهرمونات المنشطة للخصى (LH, FSH) عبر التأثير على محور تحت المهاد -للغدة النخامية مما يؤدي الى تقليل من دعم خلايا سيرتولي وخلايا لايدك الضرورية لعملية تكوين النطف (Banihani 2018).

كذلك أظهرت النتائج في الجدول أعلاه ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في كل من تركيز و حركة وحيوية النطف و انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للنطف اللاسوية لدى حيوانات مجموعة المستخلص المائي والنانوي لاكليل الجبل بالمقارنة مع مجموعة السيطرة والبراسيتامول وتم ذلك عبر عكس معظم التأثيرات السلبية للبراسيتامول عن طريق محاربة الاجهاد التأكسدي الناتج عن البراسيتامول اذ تحتوي مستخلصات اكليل الجبل على مركبات فينولية فعالة مثل حمض الكارنوسيك والروزمارينيك والتي تعمل كمضادات اكسدة قوية لتقليل او تحييد عمل الجذور الحرة و انتاج مضادات الاكسدة مثل SOD و CAT كما اوضحته دراسة (Agatonovic-Kustrin *et al.*, 2021) التي توافقت مع دراستنا . أظهرت النتائج في الجدول أعلاه تفوق المستخلص النانوي معنويا ($P \leq 0.05$) على كل مجاميع التجربة بما فيها السيطرة، قد يعود السبب في ذلك ان الجسيمات النانوية توفر اختراقا افضل مما يسمح بوصول المركبات الفعالة بكفاءة اعلى الى الانسجة (Kashtiban *et al.*, 2024).

3.4.4 التغيرات في مستوى المؤكسدات (المالون ثنائي الديهايد) ومضادات الاكسدة (الكاتليز و الكلوتاثيون)

Changes in the level of oxidants (MDA) and antioxidants (CAT, GSH)

أوضحت نتائج الدراسة المبينة في الجدول (4-5) وجود انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى GSH, CAT, وزيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في مستوى MDA في مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة ، من الجانب الاخر اظهرت المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لاكليل الجبل زيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في كل من مستوى CAT, GSH و انخفاض معنوي ملحوظ ($P \leq 0.05$) في مستوى MDA مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول، اما المجموعات المعاملة بالمستخلص المائي للروزماري مع البراسيتامول والمجموعات المعاملة بالمستخلص النانوي لاكليل الجبل مع البراسيتامول اظهرت تحسنا معنويا في مستويات مضادات الاكسدة والمؤكسدات مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول اذ سجلت هذه المجاميع تحسنا معنويا ($P \leq 0.05$) في كل من CAT, GSH مع انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى MDA . تشير هذه النتائج الى ان مستخلصات الروزمري المائية والنانوية اظهرت قدرة واضحة على الحد او التقليل من التأثيرات السلبية للبراسيتامول على معايير مضادات الاكسدة والمؤكسدات في مصل الدم لدى ذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول مع الاخذ بنظر الاعتبار هنالك تفوق معنوي ملحوظ في المجاميع المعاملة بالمستخلص النانوي في تحسين تلك المعايير.

الجدول (4-5) تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والمستخلص والنانوي في مستوى (MDA, CAT, GSH) في مصل الدم لدى ذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول

MDA	CAT	GSH	المعايير المجاميع
7.16± 0.05 a	30.46± 2.08 b	76.96± 0.38 c	G1 السيطرة السالبة
18.00± 0.45 b	18.70± 0.28 f	45.56± 0.66 a	G2 مجموعة العقار (25) ملغم/كغم
3.25± 0.08 c	33.89± 0.33 a	86.25± 0.48 e	G3 مجموعة المستخلص المائي (200) ملغم/كغم
6.72± 0.33 a	25.45± 0.89 d	74.21± 1.61 d	G4 مجموعة المستخلص المائي +العقار (25+200) ملغم/كغم
3.15 ± 0.09 c	41.07 ± 0.53 c	93.42±0.56 e	G5 مجموعة المستخلص نانوي (100) ملغم/كغم
7.18 ± 0.92 a	28.32± 1.35 e	82.65±0.23 c	G6 مجموعة المستخلص النانوي +العقار (25+100) ملغم/كغم
0.702	3.194	2.329	L.S.D

- تمثل القيم الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي
- تشير الحروف المختلفة بين المتوسطات الى وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى احتمالية (P ≤ 0.05)
- تشير الحروف المتشابهة بين المتوسطات الى عدم وجود فروق معنوية (P ≥ 0.05) ذات دلالة إحصائية

يعد الاجهاد التاكسدي حالة فسيولوجية ناتجة عن خلل في التوازن بين الجذور الحرة وبين قدرة الجسم على موازنتها بوساطة مضادات الاكسدة ، الا ان زيادة هذه الجذور ونقص اليات الدفاع المضادة للاكسدة يؤدي الى فقدان او اختزال في وظائف الانسجة والأعضاء (Hajam *et al.*, 2022). تعد المؤشرات الحيوية مثل MDA ادوات قيمة لتقييم مستوى الاجهاد التاكسدي في الانسجة ، وبذلك يعد MDA احد النواتج النهائية لأكسدة الاحماض الدهنية الموجودة في اغشية الخلايا والذي يستخدم كمؤشر رئيسي لتلف الخلايا الناتج عن الاجهاد التاكسدي (Wang *et al.*, 2017).

أظهرت نتائج دراستنا في الجدول (4-5) ارتفاع معنوي ملحوظ ($P \leq 0.05$) في مستوى MDA في مجموعة الباراسيتامول مقارنة بالسيطرة. في المقابل اظهر المستخلص المائي لاكليل الجبل انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في MDA مقارنة بمجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول ، مما يدل على حدوث تلفا شديدا في الاغشية الخلوية للحيوانات المنوية نتيجة اكسدة الدهون ، تتوافق هذه النتائج مع دراسة سابقة ربطت بين البراسيتامول وزيادة الاجهاد التاكسدي في الخصية اذ اشارت دراسة Aksu وجماعته (2016) الى التحقيق من تاثيرات العلاج المسبق بالكريسين ضد سمية الباراسيتامول الانجابية في ذكور الجرذان واطهرت نتائجها ان سمية البراسيتامول زادت من مستويات MDA في الانسجة الخصوية وبذلك يكون لها تأثير مباشر على اكسدة دهون الخصية وهو ما يتوافق مع نتائجنا، مما يدل على إمكانية المكونات الفعالة الموجودة في النبات مثل الروزمارينيك تأثيرات كبيرة مضادة للاكسدة وبذلك يعمل على تثبيط انتاج الجذور الحرة وتثبيط الانزيمات المحفزة لأكسدة الدهون مما يقلل من تلف الخلايا المكونة للحيامن وذلك يؤدي الى تحسين حركة الحيوانات المنوية وهذا ما أكدته دراسة (Malo *et al.*, 2011). ان العلاج بمستخلص اكليل الجبل قد يخفف من الضرر التاكسدي والتغيرات الجزيئية في خصى الجرذان المعاملة Etoposide وذلك عبر عمل انخفاض كبير في التعبير الجيني ل DNA وبالتالي تحسين المؤشرات المرتبطة بالخصوبة (Tousson *et al.*, 2018).

اما من ناحية المستخلص النانوي الذي اكد تفوقه عبر احداث ادنى انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى MDA من بين جميع المجموعات، يرجع السبب في ذلك انه التركيبات النانوية لمستخلص اكليل تمتلك العديد من المزايا المحتملة مقارنة بالمستخلصات المائية التقليدية، اذ يمكن للناقلات النانوية ان تعزز قابلية الذوبان والاستقرار والتوصيل لمضادات الاكسدة مما قد يحسن فعاليته (Zazuli *et al.*, 2025).

بينت نتائج دراستنا انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في GSH و CAT في مجموعة الباراسيتامول ، اذ من الممكن ان يؤدي اعطاء الباراسيتامول الى انخفاض كبير في مستوياته في خصى الفئران (Wang *et al.*, 2017) اشار Ramachandran and Jaeschke (2021) الى ان تناول الباراسيتامول بشكل مفرط يؤدي الى التراكم للمستقلب السام (NAPQI) N-acetylp-benzoquinone imine والذي يستهلك كميات كبيرة من الكلوتاثيون داخل الخلايا الكبدية ، مما قد يتسبب في انخفاض مستويات مضادات الاكسدة الطبيعية ويضعف بذلك قدرة الخلية على مقاومة الاجهاد التاكسدي المرتفع. وبذلك تعزز هذه الدراسة مع ما ورد في نتائجنا.

في المقابل اظهر المستخلص المائي لاكليل الجبل تحسن معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى GSH و CAT ، ذكر Nagy وجماعته (2024) في دراسة حديثة اظهرت ان مستخلص اكليل الجبل يمتلك قدرة

وقائية فعالة ضد التلف التأكسدي في الخصيتين الناتج عن التعرض لثنائي كرومات البوتاسيوم، عبر تفعيل مسار Nrf2 وزيادة التعبير عن جيناته المستهدفة، مما يؤيد نتائج دراستنا الحالية.

اما من ناحية المستخلص النانوي للروزماري سجل زيادة معنوية عالية ($P \leq 0.05$) في GSH مقارنة بجميع مجموعات الدراسة بما فيها مجموعة السيطرة، قد يعود السبب في ذلك ان الجسيمات النانوية توفر اختراقا افضل وتوصيل مستهدف لانسجة الخصية مما قد يتغلب على تحديات الحاجز الدموي الخصوي ويؤدي هذا الى تحسن كبير في التوافر الحيوي و تأثير مضادات الاكسدة لمستخلص اكليل الجبل داخل الخصيتين مقارنة بالشكل المائي، مما قد يؤدي الى تأثيرات اكثر وضوحا على MDA و CAT و GSH.

4.4.4 التغيرات في مستويات هرمونات التكاثر (هرمون التستوستيرون، الهرمون اللبوتيني والهرمون المحفز للجريب)

Changes of reproductive hormones(T, FSH, LH)

أوضحت نتائج الدراسة المبينة في الجدول (4-6) وجود انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى هرمونات التكاثر (التستوستيرون FSH و LH) في مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة، من الجانب الاخر اظهرت المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي للروزماري زيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في كل من مستوى هرمون التستوستيرون، FSH و LH مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول، اما المجموعات المعاملة بالمستخلص المائي للروزماري مع البراسيتامول والمجموعات المعاملة بالمستخلص النانوي للروزماري مع البراسيتامول اظهرت ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في مستويات هرمونات التكاثر مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول . تشير هذه النتائج الى ان مستخلصات الروزماري المائية والنانوية اظهرت قدرة واضحة على الحد او التقليل من التأثيرات السلبية للبراسيتامول على معايير هرمونات التكاثر في مصل الدم لدى ذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول مع الاخذ بنظر الاعتبار هنالك تفوق معنوي ملحوظ في المجاميع المعاملة بالمستخلص النانوي في تحسين تلك المعايير.

الجدول (4-6) تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والمستخلص والنانوي في هرمونات التكاثر (التستوستيرون، LH و FSH) في مصل الدم لدى ذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول

follicle stimulating hormone (FSH)(mIU/ml)	Luteinizing (LH) (mIU/ml)	Testosterone (T) (ng/mL)	المعايير المجاميع
88.36±0.49 a	41.80± 0. 88 c	4.31± 0.15 b	G1 السيطرة السالبة
63.86±0.90 b	31.88± 0. 58 e	2.19± 0. 24 f	G2 مجموعة العقار (25) ملغم/كغم
91.67±0.48 a	57.57± 0. 95 b	8.20± 0. 25 a	G3 مجموعة المستخلص المائي (200) ملغم/كغم
87.24±0.47 a	45.75± 0. 63 c	6.21± 0. 24 b	G4 مجموعة المستخلص المائي +العقار (25+200) ملغم/كغم
102.45±2.58 e	79.15± 1.40 a	12.61 ± 0. 48 a	G5 مجموعة المستخلص نانوي (100) ملغم/كغم
86.02±2.23 a	50.68± 2.41 b	6.26± 0. 22 b	G6 مجموعة المستخلص النانوي +العقار (25+100) ملغم/كغم
4.643	3.808	0.836	L.S.D

- تمثل القيم الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي
- تشير الحروف المختلفة بين المتوسطات الى وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى احتمالية (P ≤ 0.05)

• تشير الحروف المتشابه بين المتوسطات الى عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.05$) ذات دلالة احصائية

أظهرت دراستنا في الجدول أعلاه (4-6) ان مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول سجلت انخفاضا معنويا ذات دلالة إحصائية ($P \leq 0.05$) في تركيز كل من هرمون (FSH, LH T) مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة تتوافق هذه النتائج مع دراسة اشارت الى التأثير السلبي للبراسيتامول على المحور التناسلي للهامستر الذهبي الى ان التعرض للبراسيتامول قد يؤدي الى اضطرابات في الانشطة التناسلية، بما في ذلك التغير في مستويات بعض الهرمونات الجنسية ، كذلك ان التعرض للبراسيتامول خلال فترات الحمل والرضاعة يؤدي الى انخفاض في مستويات التستوستيرون و تأثيرات في بنية الخصيتين و تأثيرات سلبية على السلوك الجنسي للذكور البالغة (Lee et al., 2023)

كذلك أظهرت النتائج في الجدول أعلاه تحسنا في مستوى الهرمونات (FSH, LH, T) في مصل الدم لدى مجموعة الحيوانات المعاملة بالمستخلص المائي مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول، حيث اظهرت دراسة Khaki وجماعته (2012) ان حمض الروزمارينيك قد زاد من مستويات هرمون التستوستيرون في مصل الدم للفئران المعرضة للمجالات الكهرومغناطيسية، تعزى هذه الاثار المفيدة لاكليل الجبل الى خصائصه المضادة للاكسدة بما في ذلك حمض الكارنوسيك وحمض الروزمارينيك الذي يعمل كمنظم للمناعة وله خصائص مضادة للالتهاب ومضادة لموت الخلايا المبرمج (Nagy et al., 2024)، ان الالية الرئيسية لعمل اكليل الجبل في الخصيتين على الارجح نشاطه المضاد للاكسدة بواسطة مواد كيميائية نباتية يمكنها ازالة الجذور الحرة وتنظيم عمل انزيمات مضادات الاكسدة الداخلية او تأثير النبات على محور تحت المهاد – النخامي – الخصوي او عبر تأثيره على الهرمون الموجه للغدة التناسلية مما يساهم في تطوير خلايا الطبقة الجرثومية او عبر تأثيره على الاندروجينات الخ .

أظهرت دراستنا في الجدول أعلاه التفوق الوظيفي للمستخلص النانوي للروزماري في رفع مستويات هرمونات التكاثف مقارنة مع مجموعة البراسيتامول ويعزى ذلك للعديد من الأسباب التي من الممكن ان تدعم نتائجنا منها ، من الممكن ان تعزز الحوامل النانوية اختراق مضادات الاكسدة عبر الجلد وربما حواجز اخرى بما في ذلك الحاجز الدموي الخصوي (Zazuli et al., 2025) اذ تظهر الحوامل النانوية توافقا حيويا استثنائيا وقدرات اختراق الاغشية التي قد تستهدف بشكل رئيسي الحاجز الدموي الخصوي عبر تعديل الرابطة السطحية وبالتالي زيادة التوافر الحيوي للمركبات الفعالة .

5.4 الجانب النسجي

1.5.4 التغيرات في معدل اقطار سليفات النطف، الخلايا النطفية الاولية، ارومات النطف و خلايا سيرتولي لخصى الجرذان.

اوضحت نتائج الدراسة للقياسات الشكلية والنسجية المبينة في الجدول (4-7) و الصورة (4-1) في مجموعة السيطرة السالبة ان الخصى سليمة نسجيا، اذ ظهرت النبيبات المنوية بحالة منظمة ومرتبة بشكل طبيعي، مملوءة بالحيوانات المنوية الناضجة والطبقة الجرثومية مبنية بشكل سليم تحتوي على مختلف مراحل تكوين النطف بداية من الخلايا المنوية الاولية وحتى الحيوانات المنوية الناضجة، كما لوحظت خلايا لايدك بشكل واضح في النسيج الخلالي الى جانب خلايا سيرتولي داخل النبيبات، مما يدل على توازن في وظيفة الخصى وبنية نسجية صحية.

مجموعة الجرذان المعاملة بالبراسيتامول اظهرت تغيرات واضحة في القياسات الشكلية للخصى تمثلت بانخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في معدل اقطار سليفات النطف والخلايا النطفية الاولية وارومات النطف وخلايا سيرتولي مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة، تحت المجهر ظهرت علامات تلف واضحة على نسيج الخصى في الصورة (4-2) تمثلت بتحطم الغشاء القاعدي للنبيب المنوي، تفكك النسيج البيني مع تنكس خلايا لايدك وتناقص اعدادها، توسيع تجويف النبيب، قلة اعداد النطف، احتقان النسيج البيني، و تفجج في سليفات النطف.

اما من ناحية المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي للروزماري صورة (4-3) والمستخلص النانوي صورة (4-5) لوحظ تحسن معنوي ملحوظ ($P \leq 0.05$) في معدل اقطار سليفات النطف والخلايا النطفية الاولية وارومات النطف وخلايا سيرتولي مقارنة مع مجموعة الباراسيتامول، بينت المقاطع النسيجية في مجاميع الوقاية للمستخلص المائي والمستخلص النانوي للروزماري اختزالا كبيرا للاضرار التي لوحظت لدى مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول اذ ظهرت البنية الطبيعية في معظم الانابيب المنوية والتي تميزت بالانتظام، المحتوى الطبيعي من الخلايا المولدة للنبيبات المنوية، سلامة الاغشية القاعدية وعدم انفصالها عن الطبقة الجرثومية، امتلاء اغلب تجاويف النبيبات بالنطف واحتواء النسيج الخلالي بين الانابيب على خلايا لايدك و اوعية دموية طبيعية.

تشير هذه النتائج الى ان مستخلصات الروزماري المائية والنانوية اظهرت قدرة واضحة على الحد او التقليل من التأثيرات السلبية للبراسيتامول على معدل اقطار كل من (سليفات النطف والخلايا النطفية الاولية وارومات النطف وخلايا سيرتولي) لذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول مع الاخذ بنظر الاعتبار هنالك تفوق معنوي ملحوظ في المجاميع المعاملة بالمستخلص النانوي في تحسين تلك المعايير.

الجدول (4-7) تأثير مجموعة المستخلص المائي والنانوي على قياس معدلات اقطار كل من سليفات النفط والخلايا النفطية الاولية وارومات النفط ومعدل اقطار خلايا سيرتولي في النبيبات الناقلة للمني مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول

معدل اقطار خلايا سيرتولي μM	معدل اقطار ارومات النفط μM	معدل اقطار الخلايا النفطية الاولية μM	معدل اقطار سليفات النفط μM	المعايير المجاميع
7.90±0.32 b	4.76±0.07 c	6.69±0.11 b	4.51±0.14 b	G1 السيطرة السالبة
5.34±0.12 d	2.51±0.11 d	4.53±0.08 d	2.69±0.07 d	G2 مجموعة العقار (25) ملغم/كغم
8.41±0.14 b	5.30±0.33 a	6.50±0.11 c	4.47±0.14 b	G3 مجموعة المستخلص المائي (200) ملغم/كغم
8.02±0.25 b	4.43±0.18 c	6.34±0.17 c	3.41±0.12 c	G4 مجموعة المستخلص المائي +العقار (25+200) ملغم/كغم
10.12±0.19 a	6.54±0.09 b	7.60±0.14 a	5.59±0.096 a	G5 مجموعة المستخلص نانوي (100) ملغم/كغم
8.37±0.12 b	5.28±0.19 a	6.89±0.03 b	4.30±0.22 b	G6 مجموعة المستخلص النانوي +العقار (25+100) ملغم/كغم
1.918	1.737	1.116	1.348	L.S.D

- القيم تمثل الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي
- تشير الحروف المختلفة بين المتوسطات الى وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$)

- تشير الحروف المتشابه بين المتوسطات الى عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.05$) ذات دلالة احصائية

2.5.4 التغيرات في معدل اقطار النبيبات الناقلة للمني، قطر التجويف وسمك الطبقة الجرثومية لخصى الجرذان.

اوضحت نتائج الدراسة للقياسات الشكلية والنسجية المبينة في الجدول (4-8) في مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول تغيرات واضحة في القياسات الشكلية للخصى تمثلت بانخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في اقطار النبيبات المنوية بشكل ملحوظ وكذلك سمك الطبقة الجرثومية مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة، وكذلك وجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في قطر التجويف الداخلي للنبيب المنوي.

اما من ناحية المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي للروزماري والمستخلص النانوي للروزماري لوحظ تحسن معنوي ($P \leq 0.05$) في معدل اقطار النبيبات المنوية بشكل ملحوظ وكذلك سمك الطبقة الجرثومية مقارنة مع مجموعة الباراسيتامول، وكذلك وجود انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في قطر التجويف الداخلي للنبيب المنوي.

تشير هذه النتائج الى ان مستخلصات الروزماري المائية والنانوية اظهرت قدرة واضحة على الحد او التقليل من التأثيرات السلبية للبراسيتامول على معدل اقطار كل من (النبيبات الناقلة للمني وتجاويفها ومعدل سمك الطبقة الجرثومية لذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول مع الاخذ بنظر الاعتبار هنالك تفوق معنوي ملحوظ في المجاميع المعاملة بالمستخلص النانوي في تحسين تلك المعايير.

الجدول (4-8) تأثير مجموعة المستخلص المائي والنانوي على قياس معدلات اقطار كل من النيببات الناقلية للمني، قطر التجويف ومعدل سمك الطبقة الجرثومية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول .

معدل سمك الطبقة الجرثومية μM	معدل قطر التجويف μM	معدل اقطار النيببات الناقلية للمني μM	المعايير المجاميع
112.92±1.90 d	116.23 ±1.45 e	331.50±6.14 c	G1 السيطرة السالبة
85.50±2.91 f	285.90 ±1.0 a	211.80±2.90 f	G2 مجموعة العقار (25) ملغم/كغم
121.06±1.89 c	128.46 ±1.99 d	331.55±6.13 c	G3 مجموعة المستخلص المائي (200) ملغم/كغم
104.80±2.17 e	185.75 ±0.91 c	270.30±5.52 e	G4 مجموعة المستخلص المائي +العقار (25+200) ملغم/كغم
135.75±2.91 b	126.75 ±6.00 d	359.15±4.61 b	G5 مجموعة المستخلص نانوي (100) ملغم/كغم
108.29±2.23 d	172.48 ±0.85 c	287.00±6.44 d	G6 مجموعة المستخلص النانوي +العقار (25+100) ملغم/كغم
6.490	15.869	15.869	L.S.D

- تمثل القيم الوسط الحسابي \pm الخطأ القياسي
- تشير الحروف المختلفة بين المتوسطات الى وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$)
- تشير الحروف المتشابهة بين المتوسطات الى عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.05$) ذات دلالة إحصائية

ان الجرعات الزائدة او الاستخدام طويل الامد للبراسيتامول قد يضر بالخصوبة الذكرية عن طريق تغيير جودة السائل المنوي ، وخاصة الحيوانات المنوية وبالتالي يضعف قدرتها على الاخصاب. وبذلك تعد الخصية حساسة بشكل خاص للتلوث الناتج عن العوامل العلاجية والسامة المختلفة (Khayyat , 2021)

بينت نتائج الدراسة الحالية للقياسات الشكلية و النسجية المبينة في جدول (7-4) (8-4) و صورة (2-4) لخصى مجموعة الجرذان المعاملة بالبراسيتامول تغيرات واضحة على المستوى النسيجي تمثلت بانخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في اقطار النبيبات المنوية ، سمك الطبقة الجرثومية ، معدل اقطار سليفات النطف ، الخلايا النطفية الاولية ، ارومات النطف وخلايا سيرتولي مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة، وكذلك وجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في قطر التجويف الداخلي للنبيب المنوي. تحت المجهر ظهرت علامات تلف واضحة على نسيج الخصى تمثلت بتحطم الغشاء القاعدي للنبيب المنوي، تفكك النسيج البيني مع تنكس خلايا لايدك وتناقص اعدادها ، توسيع تجويف النبيب، قلة اعداد النطف، احتقان النسيج البيني، و تفجج في سليفات النطف ، تتفق هذه التغيرات النسجية المرضية والتغيرات الشكلية مع نتائج دراسات اخرى منها دراسة (Khayyat , 2021) التي بينت ان البراسيتامول يسبب ضررا وضمور في النبيبات المنوية وغالبا ما يصاحبه استنزاف للخلايا الظهارية وغياب للحيوانات المنوية. اشارت دراسة (Alshailabi et al., 2024) ان البراسيتامول يؤدي الى حدوث تغيرات نسجية ضارة في الخصية منها ضمور الانابيب المنوية وفقدان الحيوانات المنوية والخلايا الجرثومية وكذلك فقدان البنية الطبيعية لنسيجها مما يعكس تاثيره السمي عند تناوله بجرعات عالية ، ان تناول البراسيتامول بجرعة 7.5 ملغم / كغم يوميا ولمدة 6 اسابيع اثر سلبا على جودة الحيوانات المنوية في ذكور الجرذان شملت انخفاض في حركة الحيوانات المنوية وعددها وكذلك زيادة في نسبة الحيوانات المنوية المشوهة (Oyedeji et al., 2013).

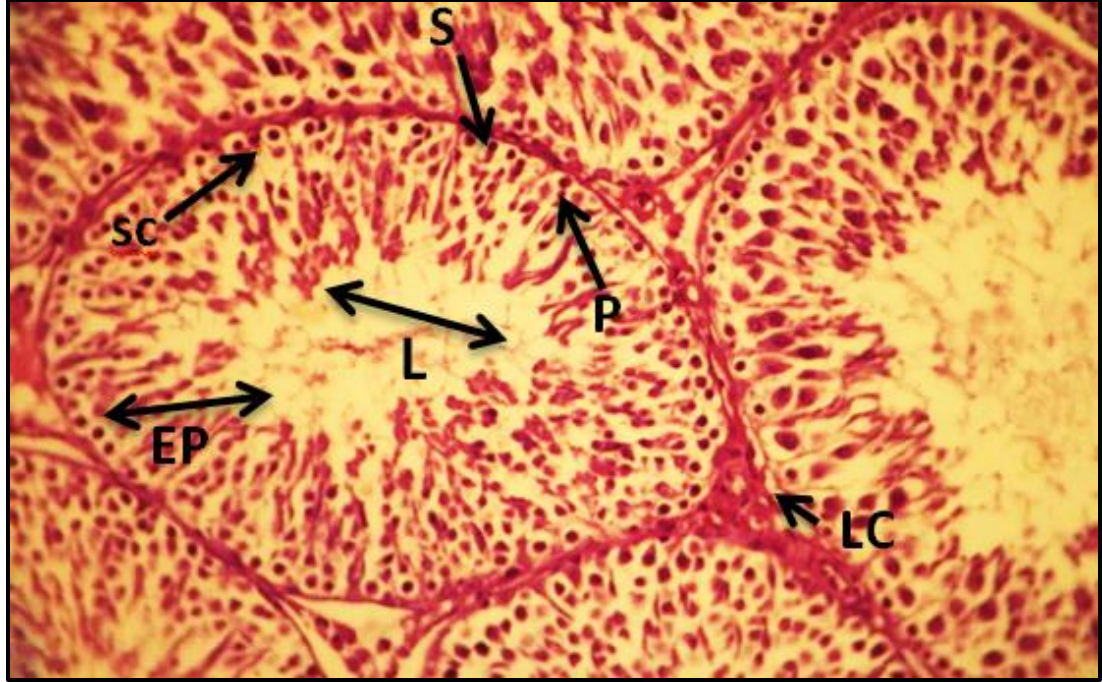
كذلك التغيرات النسجية المرضية الملحوظة و المتمثلة بتحطم جدران النبيبات المنوية وتفكك الطبقات الخلوية ويرجع ذلك الى الاجهاد التأكسدي وموت الخلايا المبرمج مما يؤثر على وظيفة الخلايا الداعمة الاساسية مثل خلايا سيرتولي اذ ان الزيادة في قطر التجويف وترقق الظهارة تشير الى استجابة مرضية لفقدان الخلايا اذ يمكن ان يؤدي هذا التوسع الى تفاقم الضرر (Mohammed and Sabry, 2020) ، كما وان التلف في جدران النبيبات المنوية يشير الى احتمال اختلال الحاجز الدموي الخصوي وهو ما أكدته دراسة (Smith and Braun, 2012) التي اوضحت الدور الحيوي لخلايا سيرتولي في الحفاظ على سلامة هذا الحاجز. وان النقص الملحوظ في خلايا لايدك يعود بشكل اساسي الى قمع او خفض تخليق هرمون التستوستيرون وهو من الهرمونات المهمة لبدء واعادة تكوين الحيوانات المنوية وايضا لصحة الجهاز التناسلي بصورة عامة. وكذلك وجود الاحتقان بين المسافات البينية يشير الى الاستجابة الالتهابية التي سببها البراسيتامول اذ ان الاجهاد التأكسدي والالتهاب يضران بخلايا لايدك مما يؤدي الى خفض انتاج هرمون التستوستيرون وبذلك يزيد من اضعاف عملية تكوين الحيوانات المنوية المتضررة (Dutta et al., 2021).

بينما تظهر نتائج الدراسة الحالية في الجداول اعلاه (7-4) (8-4) والصور (3-4) (5-4) ان مستخلص اكليل الجبل المائي والنانوي قد خفف بشكل كبير من تلف الخصية الناجم عن الباراسيتامول تعزى التأثيرات الوقائية لاكليل الجبل الى تركيبته الغنية بالمركبات الحيوية وبالأخص مضادات الاكسدة القوية مثل حمض الكارنوسيك وحمض الروزمارنيك و الكارنوسول و الفلافونويدات ، اذ تعمل هذه المركبات تاثيراتها العلاجية عبر النشاط المضاد للاكسدة اذ تقوم هذه المركبات بتقليل انواع الاكسجين التفاعلية مباشرة عن طريق التبرع

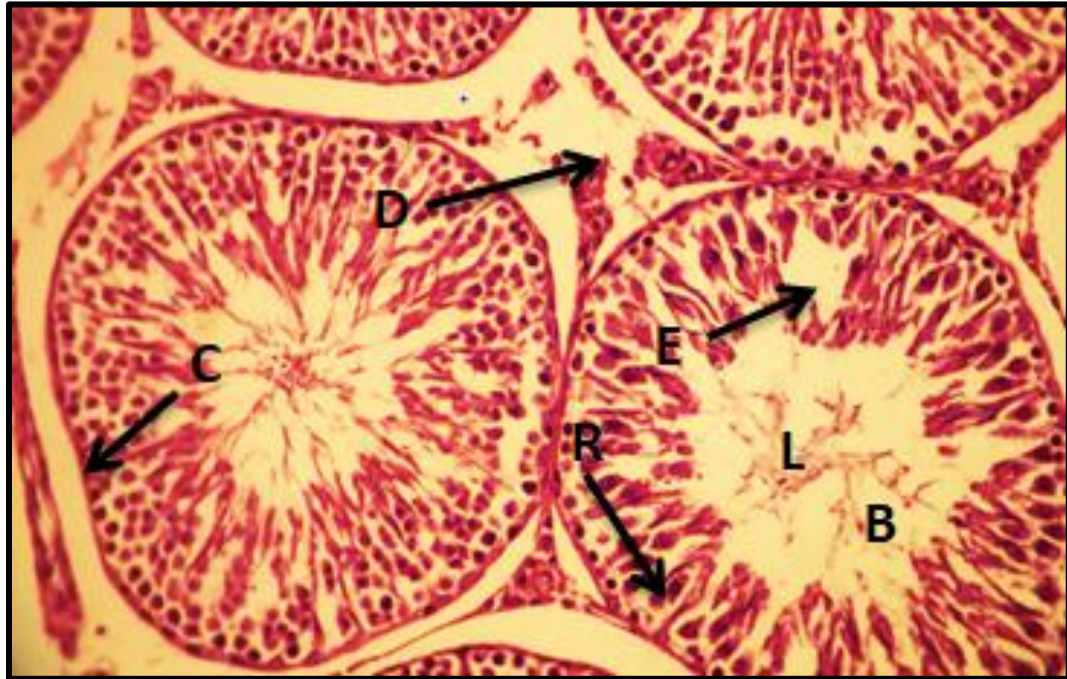
او التخلص من الجذور وبالتالي الحد من اكسدة الدهون وحماية الجزيئات الاخرى من التلف التأكسدي كما وتعزز انظمة الدفاع المضادة للاكسدة الداخلية مما يزيد من نشاط الانزيمات المضادة للاكسدة مثل SOD و CAT و GSH اذ يعد امر بالغ الاهمية نظرا لدوره الرئيس في تحييد سمية البراسيتامول وكذلك تمارس هذه المركبات الفعالة دورها من عبر النشاط المضاد للالتهابات اذ ان من المعروف ان مركبات مثل الكارنوسول وحمض الكارنوسيك وحمض الاوروسوليك وحمض الاولينوليك تمنع انتاج الوسطاء المؤدين للالتهابات مثل اوكسيد النتريك وتقلل من مستويات الساييتوكينات الالتهابية وبهذا يتم التخفيف بشكل فعال من الاستجابة الالتهابية والتي تساهم بشكل كبير في تلف الانسجة (de Macedo *et al.*, 2020)

ان مستخلص اكليل الجبل يمكن ان يزيد من مستويات هرمون التستوستيرون ويساعد على استعادة اعداد الخلايا المنوية وقد ثبت ايضا انه يحسن من نسيج الخصية بما في ذلك قطر الانابيب وارتفاع الظهارة ويزيد من عدد خلايا سليفات النطف (Aghamiri *et al.*, 2023)، ان مستخلص اكليل الجبل اظهر نشاطا كبيرا مضاد للعقم ومضاد للاكسدة مما ادى الى استعادة تكوين الحيوانات المنوية (Ali Hasan and Al-Rikaby, 2023) ، (2023) بالاضافة الى ذلك ان حمض الروزمارنيك يحمي خصى الجرذان من الاجهاد التأكسدي الناجم عن الاشعاع مما يؤدي الى التحسين من قطر النبيبات المنوية وانخفاض قطر التجويف وارتفاع الظهارة وزيادة اعداد سليفات النطف والخلايا النطفية الاولية (Fatahi Asl, 2024) وبهذا تتوافق هذه النتائج مع دراستنا الحالية.

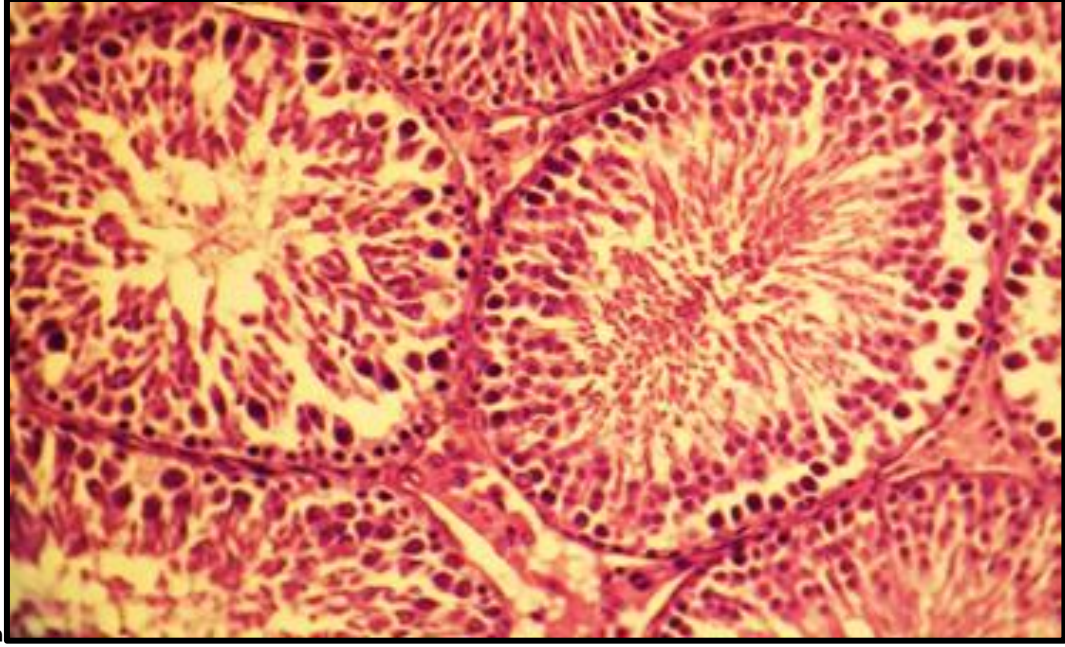
تعرف جسيمات الاعشاب النانوية بتحسين توافرها البيولوجي واستقرارها المعزز بالاضافة الى قابليتها على تخفيف السمية الناتجة عن العوامل المختلفة بشكل اكبر عند مقارنتها مع المستخلصات العادية (Ai *et al.*, 2024) اذ اظهرت نتائج الدراسة الحالية في اعلاه تفوق مستخلص اكليل الجبل النانوي مقارنة بنظيره المائي في تخفيف تلف الخصية الناجم عن البراسيتامول، ثم اظهرت دراسة Kasem وجماعته (2025) ان توصيل مضادات الاكسدة مثل الـثيموكينون والكيرسيتين الى الخصية باستخدام تقنية النانو حسن بشكل كبير من فعاليتها ضد السمية والاجهاد التاكسدي مقارنة بأشكالها التقليدية ويعزى ذلك الى تحسين التوافر البيولوجي والاستقرار الذي يوفره نظام توصيل الجسيمات النانوية التي تحسن العديد من معايير الحيوانات المنوية والقدرة على الاخصاب عن طريق تعزيز كفاءة القدرة الكلية المضاد للاكسدة والعلامات المرتبطة بالاجهاد التأكسدي (Bakr *et al.*, 2024).



صورة (1-4) مقطع عرضي من نسيج الخصية لجرذ من مجموعة السيطرة السالبة يلاحظ فيه سليفات النطف (S) والخلايا النطفية الاولية (P) وخلايا سرتولي (SC) وتظهر طبقة الخلايا الجرثومية (EP) وخلايا لايدك (LC) والتجويف (L) ملئ بالنطف (قوة التكبير 200X، H&E Stain)



صورة (2-4) مقطع عرضي من نسيج الخصية لجرذ من المجموعة المعاملة بالبراسيتامول (25) ملغم / كغم يلاحظ فيها كبر حجم التجويف (L) مع قلة النطف (B) ، تفكك النسيج البيني مع قلة خلايا لايدك (D)، انفصال في النبيب (C)، تفجج في سليفات النطف (E) وقلة وانخفاض سمك الطبقة الجرثومية (R) (قوة التكبير 200X ، H&E Stain)

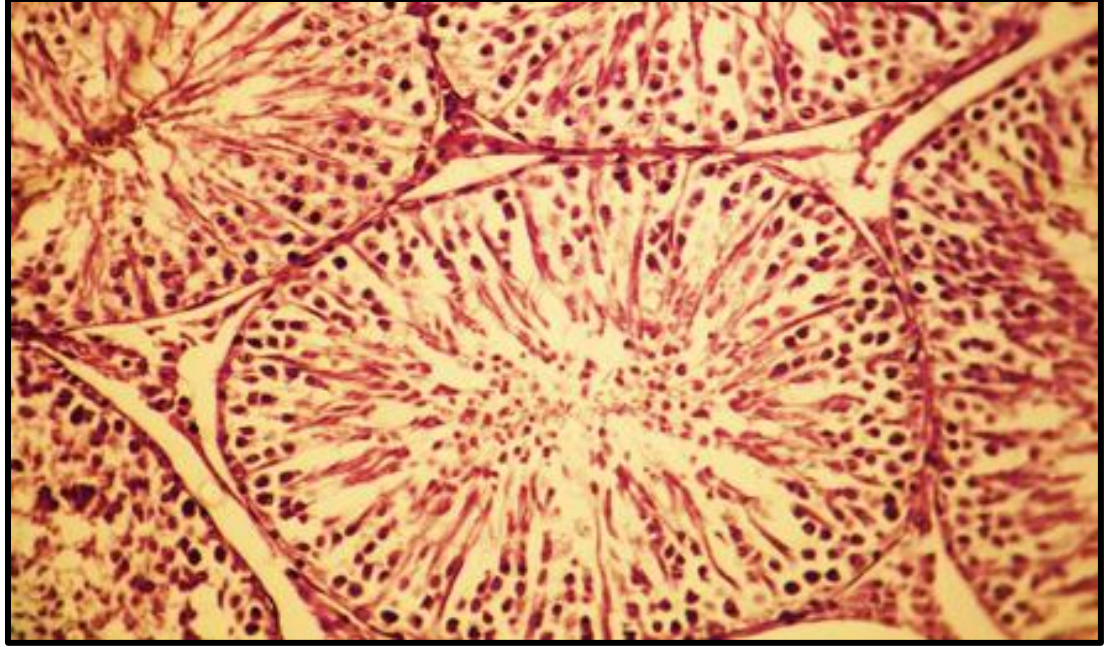


صورة

(3-4) مقطع من نسيج الخصية لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات اكليل الجبل بتركيز (200) ملغم / كغم يلاحظ النسيج طبيعي للخصية مع النبيبات المنوية الممتلئة بالنطف مع وجود تكاثر لخلايا لايدك في النسيج البيني وقلة في قطر التجويف (قوة التكبير 200X ، H&E Stain)



صورة (4-4) مقطع عرضي من نسيج الخصية لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لاكليل الجبل بتركيز (200) ملغم / كغم مع البراسيتامول بتركيز (25) ملغم/ كغم يلاحظ فيها النبيبات المنوية تظهر طبيعية مع انتظام شكلها وممتلئة بالنطف مع صغر حجم التجويف (M) مع قلة في خلايا لايدك (قوة التكبير 200X ، H&E Stain).



صورة (4-5) مقطع من نسيج الخصية لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل بتركيز (100) ملغم / كغم يلاحظ النسيج طبيعي للخصية مع النيببات المنوية الممتلئة بالنطف مع وجود تكاثر لخلايا لايدك في النسيج البيني وقلّة في قطر التجويّف)، (قوة التكبير 200X، H&E Stain)



صورة (4-6) مقطع عرضي من نسيج الخصية لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لاكليل الجبل بتركيز (100) ملغم / كغم مع البراسيتامول بتركيز (25) ملغم/ كغم يلاحظ فيها النيببات المنوية تظهر طبيعية مع انتظام شكلها وممتلئة بالنطف مع صغر حجم التجويّف وقلّة في خلايا لايدك (قوة التكبير 200X، H&E Stain) .
3.5.4 معدل اقطار كل من (البربخ، تجويّف البربخ، ارتفاع الظهارة البربخية)

اظهرت الدراسة للقياسات الشكلية والنسجية في الجدول (4-9) والصورة (4-7) لبربخ يعود لمجموعة السيطرة اذ ظهر نسيج البربخ بالقياسات الطبيعية بدون وجود اي علامات مرضية اذ تبدو قنوات البربخ في الفحص المجهرى تتالف من نبيب طويل كثير الالتواءات يكون مبطن بنسيج ظهاري عمودي مهذب مطبق كاذب يتالف من خلايا قاعدية صغيرة وخلايا عمودية طويلة واهداب طويلة ثابتة كما ويظهر تجويف البربخ طبيعي وملئ ب النطف.

بينت نتائج الدراسة الحالية للقياسات الشكلية والنسجية المبينة في جدول (4-9) وصورة (4-8) لبرابخ مجموعة الجرذان المعاملة بالبراسيتامول تغيرات واضحة على المستوى النسجي تمثلت بانخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في اقطار البربخ والظهارة البربخية بينما اظهرت وجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في قطر تجويف البربخ مقارنة مع مجموعة السيطرة ، بينما اظهرت نتائج الفحص الخلوي خلو او قلة تجاويف البربخ من النطف، كبر حجم الفراغات بين النبيبات، ارتشاح للخلايا الالتهابية، تحطم للاهداب ، تنكس للخلايا المبطنة للنبيب، فرط تنسج داخلي و حدوث نزف.

من الجانب الاخر اظهرت نتائج الدراسة الحالية للقياسات الشكلية والنسجية المبينة اعلاه في المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي والمستخلص النانوي للروزماري تحسنا معنويا ملحوظا ($P \leq 0.05$) في اقطار البرابخ وتجاويفها والظهارة البربخية للذيل مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بالبراسيتامول ، كما اظهرت نتائج الفحص المجهرى في الصورة (4-9)(4-11) تأثيرات ايجابية ملحوظة على نسيج البربخ وظهوره بالشكل الطبيعي و ترتيب الخلايا في ظهارة البربخ بشكل سليم والاهداب ثابتة مع امتلاء تجاويف البرابخ بالنطف.

تشير هذه النتائج الى ان مستخلصات الروزماري المائية والنانوية اظهرت قدرة واضحة على الحد او التقليل من التأثيرات السلبية للبراسيتامول عبر ارتفاع معدل اقطار كل من البربخ، وصغر تجويف البربخ و ارتفاع الظهارة البربخية لذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول مع الاخذ بنظر الاعتبار هنالك تفوق معنوي ملحوظ في المجاميع المعاملة بالمستخلص النانوي في تحسين تلك المعايير.

الجدول (9-4) تأثير مجموعة المستخلص المائي على قياس معدلات اقطار كل من البربخ ، تجويف البربخ، الظهارة البربخية مقاسة بالمايكرومتر لذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول

الظهارة البربخية μM	قطر تجويف البربخ μM	اقطار البربخ μM	المعايير المجموعات
23.33± 0. 28 b	121.10± 1.99 e	246.56± 6.91 d	G1 السيطرة السالبة
13.23± 0. 57 d	242.40± 3.74 a	146.24±11.23 f	G2 مجموعة العقار (25) ملغم/كغم
23.53± 0. 60 b	175.09± 10.76 c	253.01±4.57 a	G3 مجموعة المستخلص المائي (200) ملغم/كغم
19.12± 0.16 c	190.95 ±2.92 b	244.00±3.67 d	G4 مجموعة المستخلص المائي +العقار (25+200) ملغم/كغم
29.20± 0. 37 a	162.00±7.34 d	261.00±2.44 a	G5 مجموعة المستخلص نانوي (100) ملغم/كغم
17.64± 0. 50 c	185.17±3.19 b	253.00±5.147 b	G6 مجموعة المستخلص النانوي +العقار (25+100) ملغم/كغم
41,28	54.92	12.39	L.S.D

- تمثل القيم الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي
- تشير الحروف المختلفة بين المتوسطات الى وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى احتمالية (P ≤ 0.05)

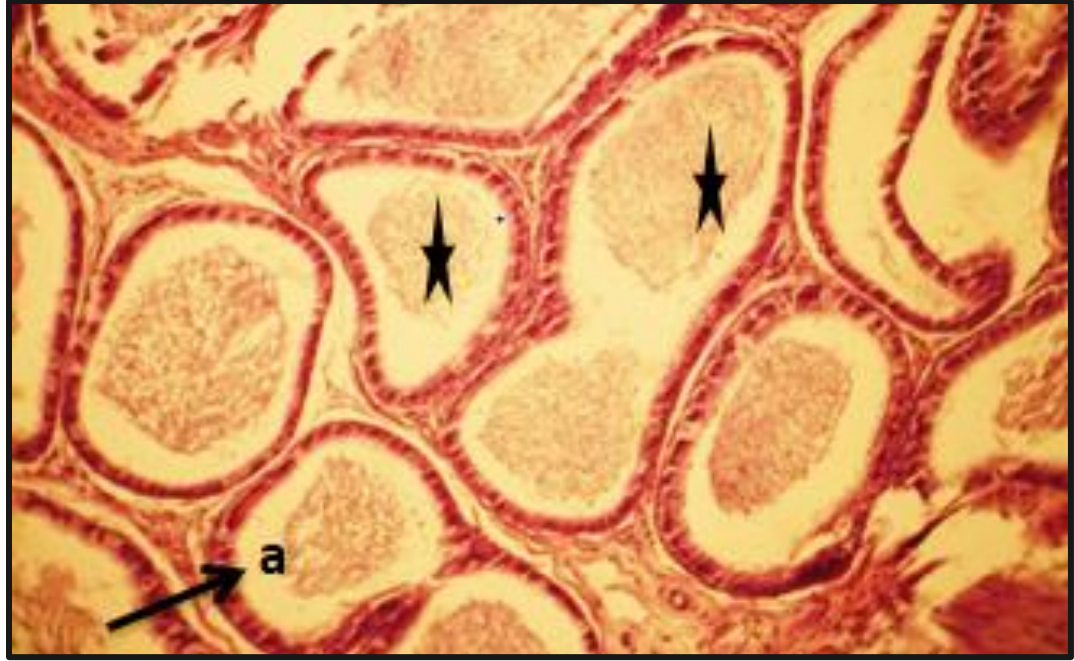
● تشير الحروف المتشابهة بين المتوسطات الى عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.05$) ذات دلالة احصائية.

يتميز التسمم بالبراسيتامول بزيادة كبيرة في انواع الاوكسجين التفاعلية مما يؤدي الى اجهاد تاكسدي واضح داخل الانظمة البيولوجية ويتم تأكيد ذلك عبر المستويات المرتفعة من MDA في مصل الدم لدى ذكور الجرذان المعاملة بالبراسيتامول وهو مؤشر حيوي رئيسي لأكسدة الدهون الى جانب انخفاض ملحوظ في مضادات الاكسدة (Aksu et al., 2016)، مما يؤدي الى تحفيز الباراسيتامول لاستجابة التهابية في الجسم (Abdallah et al., 2023)، في الجهاز التناسلي الذكري لا يعد الالتهاب والاجهاد التأكسدي عوامل مستقلة عن بعضها البعض بل تحفز احدهما الاخرى مما يؤدي هذا التحفيز الى اضعاف السلامة الهيكلية والوظيفية لانسجة الجهاز التناسلي ولاسيما البرابخ (Dutta et al., 2021)

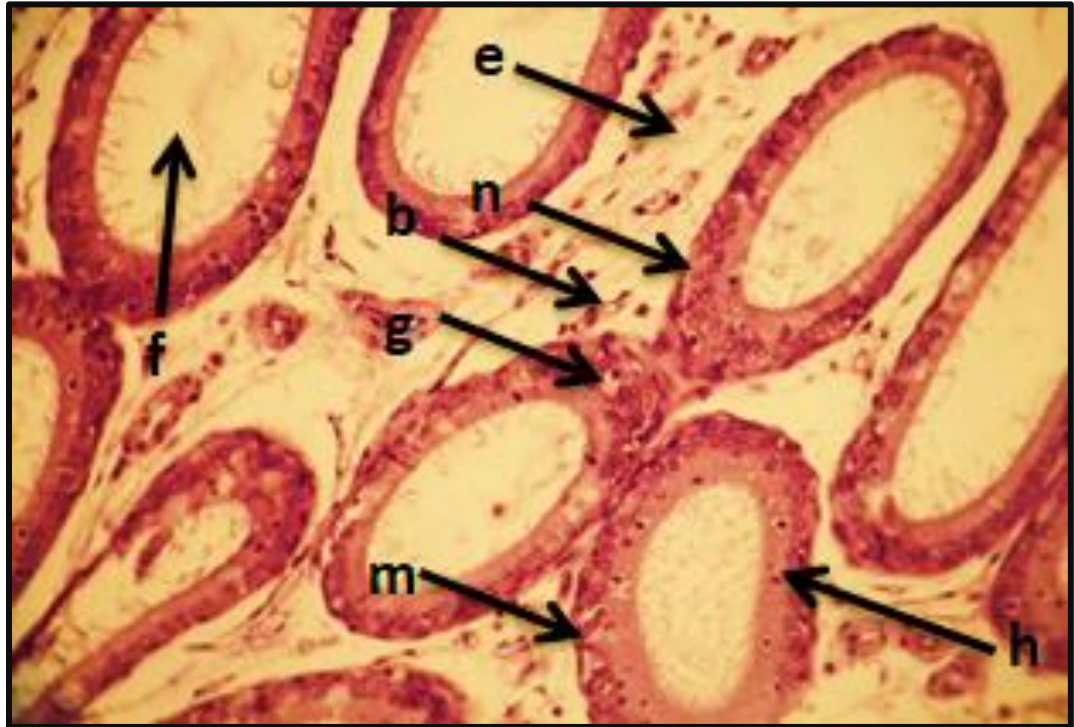
بينت نتائج الدراسة الحالية للقياسات الشكلية والنسجية المبينة في جدول (4-9) وصورة (4-7) لبرابخ مجموعة الجرذان المعاملة بالبراسيتامول تغيرات واضحة على المستوى النسيجي تمثلت بانخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في اقطار البربخ والظهارة البربخية وزيادة معدل اقطار تجاويفه مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة، بينما اظهرت نتائج الفحص الخلوي خلو تجاويف البربخ من النطف وانخفاض في قطر البربخ وكذلك سمك الطبقة الظهارية ووجود مسافات بينية كبيرة بين النبيبات كما وبينت الصورة حدوث تنكس لبعض الخلايا الجرثومية، ان الجرعات العالية او الاستخدام المطول للباراسيتامول يلحق الضرر بالجهاز التناسلي مما يؤدي الى ضعف جودة السائل المنوي بما في ذلك تقليل قدرة الحيوانات المنوية على الاخصاب وتغيير شكلها يتوسط هذه التأثيرات انخفاض في تخليق هرمون التستوستيرون وزيادة الاجهاد التأكسدي اما من الناحية النسجية تظهر الانابيب المنوية توفقا في الانقسام الاختزالي وتحتوي فقط على خلايا سيرتولي وخلايا منوية بدائية وخلايا المرحلة الاولى من تكوين الحيوانات المنوية مما يشير الى اضطراب شديد في تكوين الحيوانات المنوية (Lee et al., 2023)، ان الاجهاد التأكسدي يمكن ان يؤدي الى تغيرات نسجية واضحة في البربخ ففي نموذج الفئران المصابة بدوالي الخصية لوحظ ان الاجهاد التأكسدي سبب في بنية ظهارية غير منظمة وانخفاضا في عدد الخلايا الظهارية في البربخ (Bai et al., 2019)، وفي دراسة اخرى هدفت الى تقييم تأثير التعرض لمادة Epichlorohydrin على الجهاز التناسلي الذكري ادت الى تحفيز الاجهاد التأكسدي مما قد يؤثر سلبا على بنية ووظيفة البربخ (Shin et al., 2010) وبذلك تتوافق هذه الدراسات مع نتائجنا الحالية.

من الجانب الاخرى اظهرت نتائج الدراسة الحالية للقياسات الشكلية والنسجية المبينة في الجدول (4-9) للمجاميع المعاملة بالمستخلص المائي تحسنا في اقطار البرابخ وتجاويفها والظهارة البربخية للذيل مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بالباراسيتامول، كما اظهرت نتائج الفحص المجهرى (4-9) تأثيرات ايجابية ملحوظة، ان مستخلصات اكليل الجبل لها تأثيرات وقائية ضد الاجهاد التأكسدي في نماذج حيوانية مختلفة ففي الفئران المصابة بالسكري عن طريق التحفيز بوساطة الالوكسان ادى الى زيادة الاجهاد التأكسدي في انسجة البربخ ولكن المعاملة باستخدام زيت اكليل الجبل وزيت الخزامى ادى الى تقليل مستويات MDA وبيروكسيد الهيدروجين وزيادة نشاط الانزيمات مما ادى الى تحسنا ملحوظا في حالة البرابخ (Sebai et al., 2015)

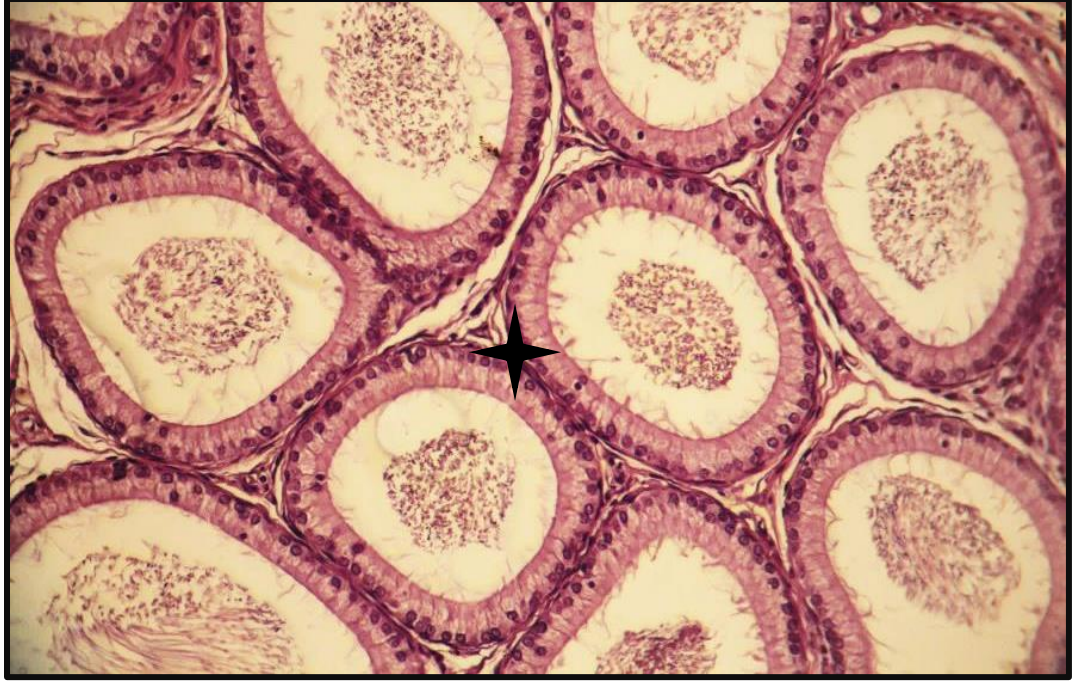
ان دمج مستخلص الروزماري مع جسيمات اوكسيد الزنك النانوية اظهر تعزيزا ملحوظا في الانشطة البيولوجية مما يبرز تفوقه مقارنة بالمستخلص المائي وهذا ما اظهرته نتائجننا اعلاه في الجدول (4-9) والصورة (4-11) ،اذ تظهر نشاطا قويا في ازالة الجذور الحرة مما يقلل من فعالية الجذور الحرة التي تسبب تلفا خلويا وتساهم في الامراض المزمنة ويعود هذا النشاط المعزز المضاد للاكسدة للمركبات الفينولية الموجودة في الروزماري بالتآزر مع النشاط التحفيزي لجسيمات اكسيد الزنك النانوية نفسها حيث اظهرت نشاطا كبيرا في ازالة الجذور الحرة متفوق عند مقارنتها بجسيمات اكسيد الزنك النانوية المخلقة بمستخلصات نباتية مختلفة (Xue et al., 2023) ، كذلك تتضمن قدرة سطح الجسيمات النانوية على الاحتفاظ بالمركبات المتطايرة للروزماري مما يضمن تاثير مضاد للميكروبات يدوم فترة اطول (Motelica et al., 2023) وهو بذلك يمنع التدهور السريع او تبخر المكونات النشطة، وكذلك يساهم الحجم الصغير للجسيمات في مساحة سطح كبيرة والتي يمكن ان تؤثر بشكل كبير على معدل اطلاق الدواء (Hilweh et al., 2023).



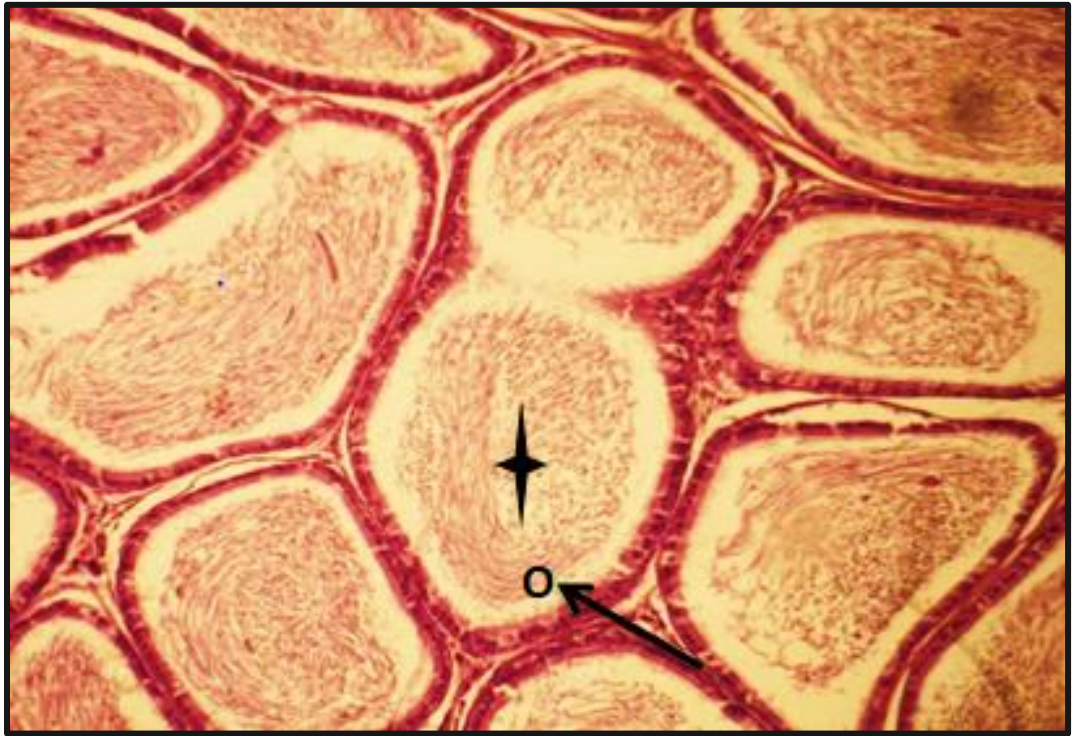
صورة (7-4) مقطع عرضي لنبيب ذيل البربخ لجرذ من مجموعة السيطرة السالبة يلاحظ فيه النسيج طبيعي لقناة البربخ وامتلاء التجويف بالنطف () ووجود الاهداب ثابتة وخلايا عمودية مبطننة للنبيب (a)، (قوة التكبير H&E Stain ،200X)



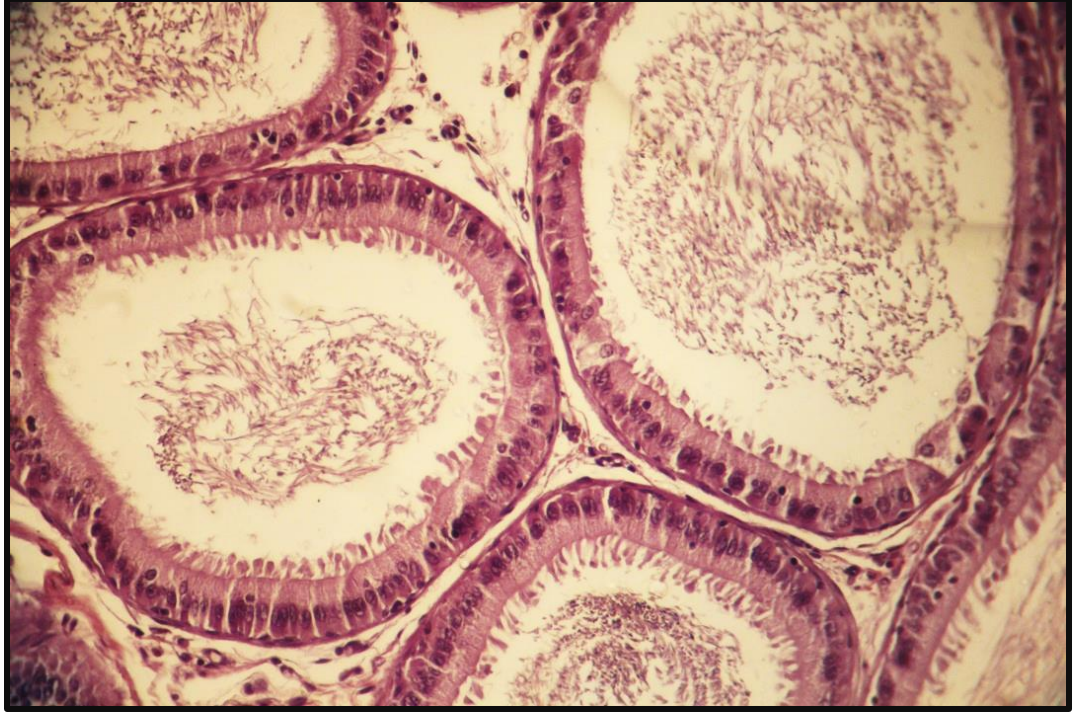
صورة (8-4) مقطع عرضي لنبيب البربخ لجرذ من المجموعة المعاملة بالبراسيتامول (25) ملغم / كغم يلاحظ فيها كبر حجم الفراغات بين النبيبات (e)، انعدام او قلة النطف (f)، ارتشاح للخلايا الالتهابية (g)، تحطم الاهداب (h)، تنكس الخلايا المبطننة للنبيب (m)، نزف (b)، فرط تنسج (n) (قوة التكبير H&E Stain ،200X)



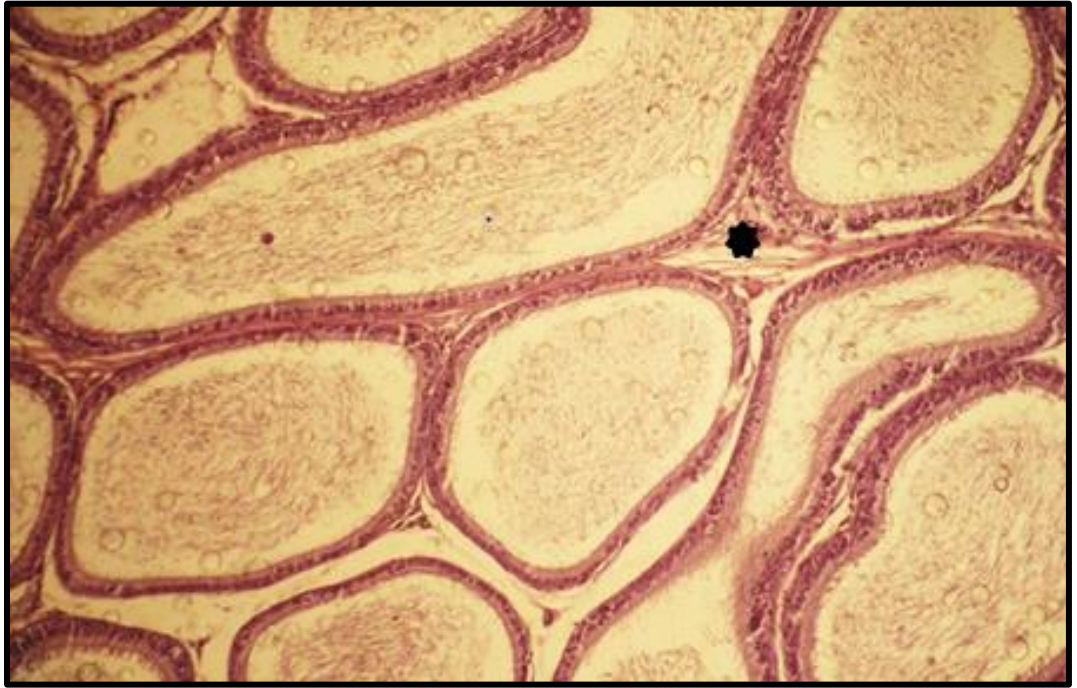
صورة (9-4) مقطع عرضي لنسيب البربخ لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات اكليل الجبل (200) ملغم / كغم يظهر فيه النسيج الطبيعي للبربخ وامتلاء التجاويف بالنطف الناضجة (★) ووجود الاهداب الساكنة واللياف العضلات الملساء (قوة التكبير 200X، H&E Stain)



صورة (10-4) مقطع عرضي لنسيب البربخ لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لاكليل الجبل (200) ملغم / كغم مع الباراسيتامول (25) ملغم / كغم وجود النطف و الاهداب (O) (قوة التكبير 200X، H&E Stain)



صورة (4-11) مقطع عرضي لنسبب البربخ لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل (100) ملغم / كغم يظهر فيه النسيج الطبيعي للبربخ وامتلاء التجاويف بالنطف الناضجة ووجود الاهداب الساكنة والياف العضلات الملساء (قوة التكبير 200X، H&E Stain)



صورة (4-12) مقطع عرضي لنسبب البربخ لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لاكليل الجبل(100) ملغم / كغم مع الباراسيتامول (25) ملغم / كغم يلاحظ فيها نزيف بسيط وفرط تنسج بسيط () وارتشاح للخلايا (قوة التكبير 200X، H&E Stain)

الاستنتاجات
والتوصيات

**Conclusions
and
Recommendations**

الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات Conclusions

- 1- ان المستخلص المائي والنانوي لاكليل الجبل يمتلك خصائص مضادة للاكسدة تساهم في تقليل الاضرار التناسلية الناتجة عن البراسيتامول .
- 2- ان المستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل يمتلك فعالية مضادة للاكسدة بالتركيز 100 ملغم / كغم مقارنة بالتركيزين 50 ، 150 ملغم / كغم .
- 3- ان عقار الباراسيتامول اظهر تأثيرات سمية تمثلت في تحفيزه للاجهاد التأكسدي مما ادى الى تلف في الانسجة .
- 4- ان استخدام البراسيتامول لفترات طويلة وبجرعات علاجية ادى الى حدوث تغيرات وزنية وفسلجية ونسجية في الجهاز لتناسلي الذكري للجرذان البيض .
- 5- المستخلص المائي والنانوي لنبات اكليل الجبل يمتلك القابلية على منع او اختزال التغيرات في اوزان الخصى والبرابخ ومعايير النطف ، هرمونات التكاثر، عوامل ومضادات الاكسدة ، والتغيرات النسجية المرضية التي تنتج عن تناول الباسيتامول بجرع زائدة عن الحاجة .
- 6- اظهرت الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك المحملة بمستخلص اكليل الجبل كفاءة علاجية اعلى من المستخلص المائي مما يدل على ان تحميل المستخلصات على جسيمات نانوية يعزز من تأثيرها البيولوجي بشكل واضح.

التوصيات Recommendations

- 1- دراسة تأثير المركبات الفعالة لنبات اكليل الجبل بشكل مستقل عن بعضها البعض لمعرفة تأثيرها الوقائي والعلاجي على الجهاز التناسلي الذكري والانثوي.
- 2- تعزيز استخدام تقنية التحميل النانوي للمستخلصات النباتية في الابحاث الدوائية الوقائية.
- 3- تصنيع جسيمات نانوية اخرى من المستخلصات النباتية ودراستها على الامراض المختلفة.
- 4- ضرورة دراسة التداخلات المحتملة بين الجسيمات النانوية والمستقبلات الحيوية في الجسم لتحديد الاثار الجانبية المحتملة .
- 5- دراسة التأثير الوقائي للمستخلص النانوي لنبات اكليل الجبل على الكبد بعد المعاملة بالبراسيتامول .
- 6- تطوير منتجات صيدلانية تعتمد على هذه التقنية بعد التحقق من الامان الحيوي عبر الدراسات السمية طويلة الامد .
- 7- دراسة اليه عمل المستخلص النانوي على المستوى الجزيئي مثل التعبير الجيني .

المصادر

References

المصادر العربية

- احمد ، سهى محمود وتوفيق ، فدوى ، خالد (2006). تأثير المعاملة بحامض الاستيل سالسيلييك على خصائص النطف والغدد الجنسية للاحقة في ذكور الجرذان البالغة . المؤتمر العلمي الرابع ، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل ، ص 261-269
- المختار، كواكب عبد القادر والراوي، عبد الحكيم احمد (2000). علم النّسج. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر، بغداد.
- إبراهيم ، حوة (2013). دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الاكسدة. رسالة ماجستير ، كلية العلوم والتكنولوجيا وعلوم المادة، جامعة قاصدي مرباح – الرياض
- التميمي، وداد عبد الجواد (2003). دراسة نسجية للحوادث الدورية للخلايا المنشئة للنطف في النبيبات المنوية لخنزير غنيا. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة القادسية
- عبد اللطيف ، سعد حمد والبازي ، وفاق جبوري (2005). النظام الهرموني في اللبائن . مطبعة وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . ص180

المصادر الاجنبية

Abdallah, A. A. M., Bafail, R., Zaman, A. Y., Aldhafiri, A. J., Alalawi, A., Omran, F. M., Baghdadi, H. H., Abdellah, W. A., Alsharif, A. M., Al Thagfan, S. S., Abdel-Rahman, I. M., El-Sawy, S. A., Abd Elmoniem, M. M., El Sayed, S. M., and Abdel-Latif, H. M. (2023). Acute paracetamol toxicity-induced inflammatory and oxidative effects are relieved by Aleppo galls: a novel experimental study. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, 15(1), 1–11.

Agarwal, A., Saleh, R. A., and Bedaiwy, M. A. (2003). Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and sterility*, 79(4), 829-843.

Agarwal, H.; Nakara, A.; Menon, S.; and Shanmugam, V. (2019). Eco-friendly synthesis of zinc oxide nanoparticles using Cinnamomum Tamala leaf extract and its promising effect towards the antibacterial activity. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101212.

Agatonovic-Kustrin, S., Balyklova, K. S., Gegechkori, V., and Morton, D. W. (2021). HPTLC and ATR/FTIR Characterization of Antioxidants in Different Rosemary Extracts. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(19), 6064.

Aghamiri, S. M.; Eslami Farsani, M.; Seyedebrahimi, R.; Sarikhani, M. J.; Ababzadeh, S. (2023). Synergic Effects of Rosemary Extract and Aerobic Exercise on Sperm Parameters and Testicular Tissue in an Aged Rat Model. *Gene, Cell and Tissue*, 10(3), e130832.

- Ahmadi Shadmehri, A.; and Namvar, F. (2020).** A Review on Green Synthesis, Cytotoxicity Mechanism and Antibacterial Activity of ZnO-NPs. *Journal of Research in Applied and Basic Medical Sciences*, 6(1), 23–31.
- Ai, S., Li, Y., Zheng, H., Zhang, M., Tao, J., Liu, W., ... and Wang, Y. (2024).** Collision of herbal medicine and nanotechnology: a bibliometric analysis of herbal nanoparticles from 2004 to 2023. *Journal of Nanobiotechnology*, 22(1), 140.
- Aitken, R. J., and Baker, M. A. (2020).** Oxidative stress, spermatozoa and leukocytic infiltration: Insights into pathology and prevention. *Human Reproduction Update*, 26(1), 1-19.
- Aitken, R. J., Gibb, Z., Baker, M. A., Drevet, J., and Gharagozloo, P. (2016).** Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa. *Reproduction, Fertility and Development*, 28(2), 1-10.
- Akdere, H., Yurut Caloglu, V., Tastekin, E., Caloglu, M., Turkkan, G., Mericliler, M., and Mehmet Burgazli, K. (2015).** Acute histopathological responses of testicular tissues after different fractionated abdominal irradiation in rats. *Postgraduate Medicine*, 127(1), 73–77.
- Aksu, E. H., Özkaraca, M. U. S. T. A. F. A., Kandemir, F. M., Ömür, A. D., Eldutar, E., Küçükler, S., and Çomaklı, S. (2016).** Mitigation of paracetamol-induced reproductive damage by chrysin in male rats via reducing oxidative stress. *Andrologia*, 48(10), 1145-1154.
- Al Jaafreh, A. M. (2024).** Evaluation of antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and different types of solvent extractions. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 17(1), 89–102

- Alahmadi, A. A., and Alahmadi, B. A. (2024).** Rosemary leaf extract alleviates testicular impairment, oxidative stress, and apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 23(7), 1055-1061
- Albert, O., Jegou, B., and Toppari, J. (2021).** Endocrine disruptors and male fertility. *Nature Reviews Endocrinology*, 17(2), 135-150.
- Ali Hasan, S., and Al-Rikaby, A. A. (2023).** Evaluating the Influence of Rosemary Leaves Extract on Hormonal and Histopathological Alterations in Male Rabbits Exposed to Cypermethrin. *Archives of Razi Institute*, 78(3), 797–805.
- Ali, M. E., Zainhom, M. Y., Monir, A., and Awad, A. A. (2024).** Dietary supplementation with rosemary essential oil improves genital characteristics, semen parameters and testosterone concentration in Barki rams. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 85, 45.
- Ali, S. S., Ahsan, H., Zia, M. K., Siddiqui, T., and Khan, F. H. (2020).** Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *Journal of food biochemistry*, 44(3), e13145.
- Alshailabi, E. M., Abdalally, O. A., and Mohammed, F. A. (2024).** The protective role of ascorbic acid on the testis tissue damage induced by paracetamol in albino rats. *Al-Kitab Journal for Pure Sciences*, 8(01), 19-28.
- Alwachi, S. N., Al-Kobaisi, M. F., Mahmoud, F. A., and Zahid, Z. R. (1986).** Possible effect of nicotine on the spermatogenesis and testicular activity of the mature male albino mice. *Journal of Biological Science Research*, 17(3), 185–194.

- Amjad, S., Rahman, M. S., and Pang, M. G. (2020).** Role of antioxidants in alleviating bisphenol A toxicity. *Biomolecules*, 10(8), 1105.
- Anadón, A., Martínez-Larranaga, M. R., Martínez, M. A., Ares, I., García-Risco, M. R., Senorans, F. J., and Reglero, G. (2008).** Acute oral safety study of rosemary extracts in rats. *Journal of food protection*, 71(4), 790-795
- Ashraf, A.; Abd-el Tawab; Fatma, I; EL-Hofy; ELHam, A. Mobarez; hesham, S. Taha and Nancy, Y. Tawkol . (2015).** Synergistic effect between some antimicrobial agents and rosemary (*rosmarinus officinalis*) toward staphylococcus aureus ,in-vitro. *BVMJ*,: 28 (2), 195-201
- Aziza ,K .G ; Haiko , H ; Artur ,S .J ; and Simone , M .S(2008) .**Rosmary (*Rosmarinus Officinalis*) a study of composition ,antioxidant an antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon- dioxide .*Cienc . Technol . Ailment .Campinas .Vol 28(2) ,463-469*
- Bai, G. W., Han, D. Y., Yang, Q. Y., Xie, Y., Guo, Z. X., Zhou, W. L., ... and Sun, X. Z. (2019).** Oxidative stress induces damage to epididymal epithelial tight junction protein ZO-1 and impairs epididymal function in varicocele rats. *Zhonghua nan ke xue= National Journal of Andrology*, 25(5), 302-308.
- Bakr, A. F., El-Shiekh, R. A., Mahmoud, M. Y., Khalil, H. M. A., -Alyami, M. H., Alyami, H. S., Galal, O., and Mansour, D. F. (2024).** Efficacy of Quercetin and Quercetin Loaded Chitosan Nanoparticles of Oxidative AgainstCisplatin-Induced Renal and Testicular Toxicity via Attenuation Stress, Inflammation, and Apoptosis. *Pharmaceuticals*, 17(10), 1384.

- Balash, K. J., Al-Omar, M. A., and Abdul Latif, B. M. (1987).** Effect of chlordane on testicular tissues of Swiss mice. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 39, 434–442.
- Bally, M., Dendukuri, N., Rich, B., Nadeau, L., Helin-Salmivaara, A., Garbe, E., and Brophy, J. M. (2017).** Risk of acute myocardial infarction with NSAIDs in real world use: bayesian meta-analysis of individual patient data. *bmj*, 357.
- Banihani S. A. (2018).** Effect of paracetamol on semen quality. *Andrologia*, 50(1), 10.1111/and.12874.
- Bannwarth, B., and Péhourcq, F. (2003).** Pharmacologic basis for using paracetamol: Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues. *Drugs*, 63(Special Issue 2), 5–13.
- 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.
- Bauer, D. J., Christenson, T. J., Clark, K. R., Powell, S. K., and Swain, R. A. (2003).** Acetaminophen as a postsurgical analgesic in rats: a practical solution to neophobia. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 42(2), 20-25.
- Bayda, S.; Adeel, M.; Tuccinardi, T.; Cordani, M.; and Rizzolio, F. (2019).** The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112.
- Bobbu, P.; Netala, V. R.; Aishwarya, S.; Reddy, I. R. M.; Kotakadi, V. S.; and Tartte, V. (2016).** Rapid synthesis of silver nanoparticles using aqueous

leaf extract of *Achyranthes aspera* and study of their antimicrobial and free radical scavenging activities. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(5), 341–346.

Bunaciu, A. A., UdriȘTioiu, E. G., and Aboul-Enein, H. Y. (2015). X-ray diffraction: instrumentation and applications. *Critical reviews in analytical chemistry*, 45(4), 289-299

Burtis, C. A., and Ashood, E. R. (1999). Text book of clinical chemistry 3 rd ed. Vol.(2) W. Sanders Company, 1003, 1059–1060.

Caparrotta, T. M., Antoine, D. J., and Dear, J. W. (2018). Are some people at increased risk of paracetamol-induced liver injury? A critical review of the literature. *European journal of clinical pharmacology*, 74, 147- 160

Chauhan, N. (2013). Endogenous and exogenous antioxidants status in seminal plasma of infertile men. *Fluoride*, 46(1), 38–42.

Cheignon, C., Tomas, M., Bonnefont-Rousselot, D., Faller, P., Hureau, C., and Collin, F. (2018). Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox biology*, 14, 450-464.

Chen, C., Zhou, W., Lin, Z., and Wu, X. (2023). Acetaminophen-induced liver injury: Molecular mechanism and therapeutic implications. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1122632.

Chen, S. J., Allam, J. P., Duan, Y. G., and Haidl, G. (2013). Influence of reactive oxygen species on human sperm functions and fertilizing capacity including therapeutical approaches. *Archives of gynecology and obstetrics*, 288(1), 191-199.

- Chrois, K. M., Larsen, S., Pedersen, J. S., Rygg, M. O., Boilsen, A. E. B., Bendtsen, F., and Dela, F. (2020).** Acetaminophen toxicity induces mitochondrial complex I inhibition in human liver tissue. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 126(1), 86–91.
- Clasadonte, J., and Prevot, V. (2018).** The special relationship: glia–neuron interactions in the neuroendocrine hypothalamus. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(1), 25.
- de Macedo, L. M., Santos, É. M. d., Militão, L., Tundisi, L. L., Ataide, J. A., Souto, E. B., and Mazzola, P. G. (2020).** Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) and Its Topical Applications: A Review. *Plants*, 9(5), 651.
- Drobnis, E. Z., Nangia, A. K., Drobnis, E. Z., and Nangia, A. K. (2017).** Male reproductive functions disrupted by pharmacological agents. *Impacts of Medications on Male Fertility*, 13-24.
- Dubey, M., Bhadauria, S., and Kushwah, B. S. (2009).** Green synthesis of nanosilver particles from extract of *Eucalyptus hybrida* (safeda) leaf. *Dig J Nanomater Biostruct*, 4(3), 537-543.
- Durak, I., Canbolat, O., Kavutçu, M., Öztürk, H. S., and Yurtarslani, Z. (1996).** Activities of total, cytoplasmic, and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 10(1), 17–20.
- Dutta, S., Majzoub, A., and Agarwal, A. (2019).** Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management. *Arab journal of urology*, 17(2), 87-97.

- Dutta, S., Sengupta, P., Slama, P., and Roychoudhury, S. (2021).** Oxidative stress, testicular inflammatory pathways, and male reproduction. *International journal of molecular sciences*, 22(18), 10043.
- Eisenberg, M. L., Esteves, S. C., Lamb, D. J., Hotaling, J. M., Giwercman, A., Hwang, K., and Cheng, Y. S. (2023).** Male infertility. *Nature Reviews Disease Primers*, 9(1), 49.
- El Hajj, I. I., Malik, S. M., Alwakeel, H. R., Shaikh, O. S., Sasatomi, E., and Kandil, H. M. (2009).** Celecoxib-induced cholestatic liver failure requiring orthotopic liver transplantation. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 15(31), 3937.
- EL Saied Azab, A; Fetouh,F.A and ALBasha, M.O. (2014).** Nephroprotective effects of curcumin, rosemary and propolis against gentamicin induced toxicity in guinea pigs: Morphological and biochemical study. *American Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2(2), 28-35.
- Elmetwally, E. M., Mousa, Z. M., Ibrahim, S. R., & Gohari, S. T. (2024).** Protective Effect of *Gymnema Sylvestre* and *Rosmarinus Officinalis* Leaves Against Hepatorenal Toxicity of Paracetamol in Experimental Rats. *Journal of Studies and Research in Home Economics Education*, 10(2), 407–431.
- Fatahi Asl, J., Goudarzi, M., Mansouri, E., and Shoghi, H. (2024).** Rosmarinic Acid Protects the Testes of Rats against Cell Phone and Ultra-high Frequency Waves Induced Toxicity. *Iranian journal of medical sciences*, 49(4), 237–246.
- Ganong W. F. (2010).** Review of medical physiology. 23st Ed. Lange medical Books/ McGraw Hill. United States of America.

- Gharagozloo, P., and Aitken, R. J. (2011).** The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Human Reproduction*, 26(7), 1628–1640.
- Giordani, R., and Sestito, S. (2020).** Rosmarinus officinalis L. (Rosemary): A review of its phytochemistry, pharmacology, and therapeutic potential. *Phytotherapy Research*, 34(7), 1541–1554.
- Go, Y. M., Chandler, J. D., and Jones, D. P. (2015).** The cysteine proteome. *Free Radical Biology and Medicine*, 84, 227-245.
- González-Vallinas, M., Reglero, G., and Ramírez de Molina, A. (2015).** Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract as a potential complementary agent in anticancer therapy. *Nutrition and cancer*, 67(8), 1223-1231.
- Graham, G. G., and Scott, K. F. (2003).** Mechanism of action of paracetamol. *Inflammopharmacology*, 11(4), 401–413.
- Graham, G. G., Davies, M. J., Day, R. O., Mohamudally, A., and Scott, K. F. (2013).** The modern pharmacology of paracetamol: Therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. *Inflammopharmacology*, 21(3), 201–232.
- Guha, G., Rajkumar, V., Ashok Kumar, R., and Mathew, L. (2011).** Therapeutic potential of polar and non-polar extracts of *Cyanthillium cinereum* in vitro. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, (1), 784826.
- Gupta, R. and Xie, H. (2018).** Nanoparticles in daily life: applications, toxicity and regulations. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 37(3).

Guyton, A. C. and Hall, J. E. (2006). Text book of Medical physiology .11th edition W.B.Saunders; company ,Philadelphia

Hadwan, M. H., and kadhun Ali, S. (2018). New spectrophotometric assay for assessments of catalase activity in biological samples. *Analytical Biochemistry*, 542, 29–33.

Hajam, Y. A., Rani, R., Ganie, S. Y., Sheikh, T. A., Javaid, D., Qadri, S. S., ... and Reshi, M. S. (2022). Oxidative stress in human pathology and aging: molecular mechanisms and perspectives. *Cells*, 11(3), 552.

Hample, R., Drábková, P., Kand'ár, R., and Stěpán, J. (2012). Impact of oxidative stress on male infertility. *Ceska gynekologie*, 77(3), 241-245.

Hegazy, A. M., Abdel-Azeem, A. S., Zeidan, H. M., Ibrahim, K., and Sayed, E. E. (2018). Hypolipidemic and hepatoprotective activities of rosemary and thyme in gentamicin-treated rats. *Human and experimental toxicology*, 37(4), 420-430

Heidari-Vala, H., Ebrahimi Hariry, R., Sadeghi, M. R., Akhondi, M. M., Ghaffari Novin, M., and Heidari, M. (2013). Evaluation of an Aqueous-Ethanollic Extract from *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) for its Activity on the Hormonal and Cellular Function of Testes in Adult Male Rat. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*, 12(2), 445–451.

Henkel, R. R. (2011). Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function and male fertility. *Asian journal of andrology*, 13(1), 43.

Hernández-Pérez, M., R. E. López-García, R. M. Rabanal, V. Darias, and A. Arias. (1994). “Antimicrobial Activity of *Visnea Mocanera* Leaf Extracts.” *Journal of Ethnopharmacology* 41(1–2):115–19

- Hilweh, B., Soliman, H., & Alajlani, M. M. (2023).** Green Synthesis of ZnO-NPs Using Rosemary Leaves. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *12*(7), 43–49. DOI: 10.20959/wjpps20237-25214.
- Hinting, A. (1989).** *Methods of semen analysis in: assessment of human sperm fertilizing ability*. Ph. D. thesis by Hinting, A., University of Michigan state.
- Hodgman, M. J., and Garrard, A. R. (2012).** A review of acetaminophen poisoning. *Critical care clinics*, *28* (4), 499-516
- Hooker, C.W. (1970).**The intratubular tissue of testes. part 1. Chapter 8.: 483-556. printed in U.S.A.
- Horvathova, E., Navarova, J., Galova, E., Sevcovicova, A., Chodakova, L., Snahnicanova, Z., ... and Slamenova, D. (2014).** Assessment of antioxidative, chelating, and DNA-protective effects of selected essential oil components (eugenol, carvacrol, thymol, borneol, eucalyptol) of plants and intact *Rosmarinus officinalis* oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, *62*(28), 6632-6639.
- Hotaling, J. M., and Patel, Z. (2014).** Male endocrine dysfunction. *Urologic Clinics*, *41*(1), 39-53.
- Hu, J.; and Xianyu, Y. (2021).** When nano meets plants: A review on the interplay between nanoparticles and plants. *Nano Today*, *38*, 101143.
- Huang, Y., Xu, L., He, H., Peng, L., Liao, Q., Wan, K., ... and Zhang, J. (2025).** Effects of rosemary extract and its residue on production, immune performance, and gut microbiota in geese. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1483626.

- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., and Rahu, N. (2016).** Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us?. *Oxidative medicine and cellular longevity*. (1), 7432797.
- Ighodaro, O. M., and Akinloye, O. A. (2018).** First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Iloamaeke, I. M., and Iwuozor, O. K. (2018).** Quality assessment of selected paracetamol tablets sold at bridge head market, Onitsha, Nigeria. *Br J Pharm Med Res*, 3(5), 8.
- Jacqueson, A., Semont, H., Thevenin, M., Warnet, J. M., Prost, R., & Claude, J. R. (1984).** Effects of daily high doses of paracetamol given orally during spermatogenesis in the rat testes. In J. V. Parke (Ed.), *Disease, Metabolism and Reproduction in the Toxic Response to Drugs and Other Chemicals* (pp.164–166). *Archives of Toxicology. Supplement*, 7. Springer Berlin Heidelberg.
- Jawad, A. M., Allawi, A. K., and Ewadh, H. M. (2018).** Essential oils of rosemary as antimicrobial agent against three types of bacteria. *Medical journal of Babylon*, 15(1), 53-56.
- 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.

- Józwiak-Bebenista, M., and Nowak, J. Z. (2014).** Paracetamol: Mechanism of action, applications and safety concern. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 71(1), 11–23
- Kaman, P. K., and Dutta, P. (2019).** Synthesis, characterization and antifungal activity of biosynthesized silver nanoparticle. *Indian Phytopathology*, 72, 79–88.
- Kasem, E. A., Hamza, G., El-Shafai, N. M., Ghanem, N. F., Mahmoud, S., Sayed, S. M., Alshehri, M. A., Al-Shuraym, L. A., Ghamry, H. I., Mahfouz, M. E., and Shukry, M. (2025).** Thymoquinone-Loaded Chitosan Nanoparticles Combat Testicular Aging and Oxidative Stress Through SIRT1/FOXO3a Activation: An In Vivo and In Vitro Study. *Pharmaceutics*, 17(2), 210.
- Kashtiban, A. E., Okpala, C. O. R., Karimidastjerd, A., and Zahedinia, S. (2024)** Recent advances in nano-related natural antioxidants, their extraction methods and applications in the food industry. *Exploratory Research and Hypothesis in Foods and Foodomics*, 2,125-154.
- Khaki, A., Imani, S. A. M., & Golzar, F. S. (2012).** Effects of rosmarinic acid on male sex hormones (testosterone–FSH–LH) and testis tissue apoptosis after exposure to electromagnetic field (EMF) in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(4), 248–252.
- Khan, I.; Saeed, K.; and Khan, I. (2019).** Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908–931.

- Khayyat L. I. (2021).** Extra Virgin Olive Oil Protects the Testis and Blood from the Toxicity of Paracetamol (Overdose) in Adult Male Rats. *Biology*, 10(10), 1042.
- Klein, D. M., and Cherrington, N. J. (2014).** Organic and inorganic transporters of the testis: A review. *Spermatogenesis*, 4(2), e979653.
- Kompelly, A., Kompelly, S., Vasudha, B., and Narender, B. (2019).** *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(1), 323-330
- Kuiri-Hänninen, T.; Sankilampi, U., and Dunkel, L. (2014).** Activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in infancy: minipuberty. *Hormone research in paediatrics*, 82(2): 73-80.
- Kulkarni, N., and Muddapur, U. (2014).** Biosynthesis of metal nanoparticles: a review. *Journal of Nanotechnology*, (1), 510246.
- Laru, J., Ojaniemi, M., Franks, S., Järvelin, M. R., Korhonen, E., Piltonen, T. T., ... & Morin-Papunen, L. (2022).** An optimal growth pattern during pregnancy and early childhood associates with better fertility in men. *European Journal of Endocrinology*, 187(6), 847-858.
- Lee, C. Y., Hwang, H., Park, J. S., Lee, S. H., Park, C. E., Cheon, Y. P., and Choi, D. (2023).** Effects of Acetaminophen on Reproductive Activities in Male Golden Hamsters. *Development and Reproduction*, 27(1), 25.
- Lindgren, I., Giwercman, A., Axelsson, J., and Giwercman, Y. L. (2012).** Association between follicle-stimulating hormone receptor polymorphisms and reproductive parameters in young men from the general population. *Pharmacogenetics and genomics*, 22(9), 667-672.

- Liu, H. H., Shih, T. S., Chen, I. J., and Chen, H. L. (2008).** Lipid peroxidation and oxidative status compared in workers at a bottom ash recovery plant and fly ash treatment plants. *Journal of Occupational Health*, 50(6), 492-497.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and Chandra, N. (2010).** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.
- Louiza, D., Yamina, Z., and Amina, E. (2024).** Histomorphometric Comparison of The Male Reproductive System of The Wild Brown Rat (*Rattus norvegicus*) and the White Wistar Rat. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, D. Histology and Histochemistry*, 16(2), 79-92.
- Lucarini, R ; Bernardes, A ; Tozati, G; Filho, A; Silva, A; Momo, C ; Crotti, M ; Martins, H and Cunha, R.(2014)** . Hepatoprotective effect of *Rosmarinus Officinalis* and rosmarinic acid on acetaminophen – induced liver damage. *Emmir.J. Food AgricBrazil* . 26 (10) , 878-884 .
- Madsen, S., Bak, S. Y., Yde, C. C., Jensen, H. M., Knudsen, T. A., Bæch-Laursen, C., ... and Hedemann, M. S. (2023).** Unravelling Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract on Hepatic Fat Accumulation and Plasma Lipid Profile in Rats Fed a High-Fat Western-Style Diet. *Metabolites*, 13(9), 974.
- Maher, O.W; , Raslan Y.A. , Amany A.E. Ahmed , Eman M. Raafat and Gehan S. Georgy. (2016).** The Ameliorative Effect of Ellagic Acid and Rosemarinic Acid against Cardio-nephrotoxicity Induced by Doxorubicin in Rats. *International Journal of Scientific and Research Publications*,: 6, (2) , 2250-2258

- Malo, C., Gil, L., Cano, R., Martínez, F., and Galé, I. (2011)** Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on boar epididymal spermatozoa during cryopreservation. *Theriogenology*, 75(9),1735-1741.
- Mannucci, A., Argento, F. R., Fini, E., Coccia, M. E., Taddei, N., Becatti, M., and Fiorillo, C. (2022).** The impact of oxidative stress in male infertility. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 799294.
- Mansouri Torghabeh, F., Rostamzadeh, P., Davoudi, S., Keivan, M., and Shokri-Asl, V. (2022).** Effects of *Rosmarinus officinalis* on orchitis following spermatic cord torsion-detorsion in male mice with emphasis on anti-inflammatory and antioxidant properties. *Andrologia*, 54(1), e14252
- Mattia, C., and Coluzzi, F. (2009).** What anesthesiologists should know about paracetamol (acetaminophen). *Minerva anesthesiologica*, 75(11), 644- 653.
- McGill, M. R., and Jaeschke, H. (2013).** Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis *Pharmaceutical research*, 30(9), 2174-2187.
- Mecarthy, T; Kerry,J; Kerry, J; Blynch, P; Buckley, D .(2001)** .Evaluation of antioxidant potential of natural food / plant extracts compared with synthetic antioxidant and vitamin E, in raw and cooked pork patties. *Meat Sci.* 57, 45-52.
- Mitchell, M. J.; Billingsley, M. M.; Haley, R. M.; Wechsler, M. E.; Peppas, N. A.; and Langer, R. (2021).** Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(2), 101–124.

- Mitka, M. (2014).** FDA asks physicians to stop prescribing high-dose acetaminophen products. *Jama*, 311(6), 563-563.
- Mittal, A. K., Chisti, Y., and Banerjee, U. C. (2013).** Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*, 31 (2), 346-356.
- Modaresi, M., and Emadi, M. (2018).** The effects of rosemary extract on spermatogenesis and sexual hormones of mice under heat stress. *Trends Journal of Sciences Research*, 3(2), 69–74.
- Mohammadifar, M., Aarabi, M. H., Aghighi, F., Kazemi, M., Vakili, Z., Memarzadeh, M. R., and Talaei, S. A. (2021).** Anti-osteoarthritis potential of peppermint and rosemary essential oils in a nanoemulsion form: behavioral, biochemical, and histopathological evidence. *BMC complementary medicine and therapies*, 21(1), 57.
- Mohammadzadeh Saied, K., Kianirad, A., and Mosayeb, A. (2023).** Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil alleviates testis failure induced by Etoposide in male rats. *Tissue and Cell*, 81, 102016.
- Mohammed, H. O., and Sabry, R. M. (2020).** The possible role of curcumin against changes caused by paracetamol in testis of adult albino rat (histological, immunohistochemical and biochemical study). *Egyptian Journal of Histology*, 43(3), 819-834.
- Molayi-Jabdaragi, N., Esmailnejad, B., and Mohammadi, V. (2020).** Evaluation of oxidative/nitrosative stress biomarkers and DNA damage in buffaloes naturally infected with *Theileria annulata*. *Microbial Pathogenesis*, 138, 103821.

- Motelica, L., Vasile, B. S., Fikai, A., Surdu, A. V., Fikai, D., Oprea, O. C., Andronescu, E., Mustăţea, G., Ungureanu, E. L., and Dobre, A. A. (2023).** Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles Loaded with Essential Oils. *Pharmaceutics*, 15(10), 2470.
- Mukherjee, S., and Nethi, S. K. (2019).** Biological synthesis of nanoparticles using bacteria. *Nanotechnology for agriculture: advances for sustainable agriculture*, 37-51.
- Mwaheb, M.A; Sayed , O.N and Mohamed, S.H (2016) .** Protective Effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Extract on Lithium-Induced Renal and Testis Toxicity in Albino Rats. *J. Drug Metab.Toxicol.* 7, 216.
- Nagy, A. M., Abdelhameed, M. F., Rihan, S., Diab, K. A., El-Saied, M., Mohamed, S. S., El-Nattat, W. S., and Hammam, A. M. M. (2024).** *Rosemary officinalis* extract mitigates potassium dichromate-induced testicular degeneration in male rats: Insights from the Nrf2 and its target genes signaling pathway. *Toxicology reports*, 13, 10170.
- Nasrollahzadeh, M.; Sajadi, S. M.; Sajjadi, M. and Issaabadi, Z. (2019).** Applications of nanotechnology in daily life. *Interface Science and Technology*, 28, 113–143.
- Noukelag, S. K., Mohamed, H. E. A., Moussa, B., Razanamahandry, L. C., Ntwampe, S. K. O., Arendse, C. J., and Maaza, M. (2020).** Investigation of structural and optical properties of biosynthesized Zincite (ZnO) nanoparticles (NPs) via an aqueous extract of *Rosmarinus officinalis* (rosemary) leaves. *MRS Advances*, 5(45), 2349-2358.

- Nusier, M. K., Bataineh, H. N., and Daradkah, H. M. (2007).** Adverse effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on reproductive function in adult male rats. *Experimental biology and medicine*, 232(6), 809-813.
- Ogemdi, I. K. (2019).** A Review on the Properties and Uses of Paracetamol. *International Journal of Pharmacy and Chemistry*, 5(3), 31-35
- Outaleb, T., Hazzit, M., Ferhat, Z., Baaliouamer, A., Yekkour, A., Zitouni, A., and Sabaou, N. (2015).** Composition, antioxidant and antimicrobial activities of Algerian *Rosmarinus officinalis* L. extracts. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(3), 654-665
- Oyedeji, K. O., Bolarinwa, A. F., and Ojeniran, S. S. (2013).** Effect of Paracetamol (Acetaminophen) on haematological and reproductive parameters in male albino rats. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 4(6), 65–70 .
- 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.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., ... and Bitto, A. (2017).** Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*,. (1), 8416763
- Qiu, M.; Glass, Z.; Chen, J.; Haas, M.; Jin, X.; Zhao, X.; Rui, X.; Ye, Z.; Li, Y.; Zhang, F.; and Xu, Q. (2021).** Lipid nanoparticle-mediated codelivery of Cas9 mRNA and single-guide RNA achieves liver-specific in vivo genome

editing of Angptl3. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(10). <https://doi.org/10.1073/pnas.2020401118>

Qiu, Y., Benet, L. Z., and Burlingame, A. L. (1998). Identification of the hepatic protein targets of reactive metabolites of acetaminophen in vivo in mice using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Journal of Biological Chemistry*, 273(28), 17940-17953.

Rahman, M. M., Alam, M. B., Kim, K. H., and Lee, S. H. (2023). Protective effects of medicinal plants against oxidative stress-induced male infertility. *Phytomedicine*, 110, 154615.

Ramachandran, A., and Jaeschke, H. (2021). Oxidant Stress and Acetaminophen Hepatotoxicity: Mechanism-Based Drug Development. *Antioxidants and redox signaling*, 35(9), 718–733.

Ramesh, N., Jayalakshmi, P., Kumar, S. S., and Rajesh, K. M. (2021). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Rosmarinus officinalis* leaf extract and their antibacterial and antioxidant activities. *Materials Today: Proceedings*, 46(5), 2088–2093.

Reagan-Shaw, S., Nihal, M., and Ahmad, N. (2008). Dose translation from animal to human studies revisited. *The FASEB journal*, 22(3), 659-661

Rengan, A. K., Agarwal, A., van der Linde, M., and du Plessis, S. S. (2012). An investigation of excess residual cytoplasm in human spermatozoa and its distinction from the cytoplasmic droplet. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10 (1), 1-8.

Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A., FlaminiGuido, Kilinçarslan, Ö., and Bardaweel, S. K. (2019). Chemical composition and

bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *BMC complementary and alternative medicine*, 19, 1-10.

Ricci, G., Catizone, A., Esposito, R., Pisanti, F. A., Vietri, M. T., and Galdieri, M. (2009). Diabetic rat testes: *morphological and functional alterations*. *Andrologia*, 41(6), 361-368

Robaire, B., and Hermo, L. (1988). Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. *The physiology of reproduction*, 1, 999-1080.

Sabeti, P., Pourmasumi, S., Rahiminia, T., Akyash, F., and Talebi, A. R. (2016). Etiologies of sperm oxidative stress. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, 14(4), 231.

Saragiotto, B. T., Abdel Shaheed, C., and Maher, C. G. (2019). Paracetamol for pain in adults. *BMJ*, 367, 16693.

Sebai, H., Selmi, S., Rtibi, K., Gharbi, N., and Sakly, M. (2015). Protective effect of *Lavandula stoechas* and *Rosmarinus officinalis* essential oils against reproductive damage and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Food*, 18(2), 241–249.

Shahid, M.; Dumat, C.; Khalid, S.; Schreck, E.; Xiong, T.; and Niazi, N. K. (2017). Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. *Journal of Hazardous Materials*, 325, 36–58.

Shehata, A. M., Salem, F. M. S., El-Saied, E. M., Abd El-Rahman, S. S., Mahmoud, M. Y., and Noshay, P. A. (2021). Zinc Nanoparticles Ameliorate the Reproductive Toxicity Induced by Silver Nanoparticles in Male Rats. *International journal of nanomedicine*, 16, 2555–2568.

Shehzad, M. aamir, Khan, M. A.; Ali, A.; Mohammad, S.; Noureldeen, A.; Darwish, H.; Ali, A.; Ahmad, A.; Khan, T.; and Khan, R. S. (2021). Interactive effects of zinc oxide nano particles and different light regimes on growth and silymarin biosynthesis in callus cultures of *Silybum marianum* L. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 49(1), 523–535.

Sheng, A.; Lin, L.; Zhu, J.; Zhuang, J.; Li, J.; Chang, L.; and Cheng, H. (2021). Micro/nanodevices for assessment and treatment in stomatology and ophthalmology. *Microsystems and Nanoengineering*, 7(1), 1–19.

Shin, I. S., Lim, J. H., Kim, S. H., Kim, K. H., Park, N. H., Bae, C. S., ... and Kim, J. C. (2010). Induction of oxidative stress in the epididymis of rats after subchronic exposure to epichlorohydrin. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 84, 667-671.

Sies, H. (2018). On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development. *Current Opinion in Toxicology*, 7, 122-126.

Sikka, S. C. (2001). Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Current medicinal chemistry*, 8 (7), 851-862.

Skinner, M. K. (2019). Environmental epigenetics and male fertility: Effects on sperm and future generations. *Nature Reviews Urology*, 16(3), 193-206.

Smarr, M. M., Kannan, K., Chen, Z., Kim, S., and Buck Louis, G. M. (2017). Male urinary paracetamol and semen quality. *Andrology*, 5(6), 1082–1088.

Smith, B. E., and Braun, R. E. (2012). Germ cell migration across Sertoli cell tight junctions. *Science*, 338(6108), 798-802.

Soliman, H.E.A; Hozayen, W.G and Desouky, E.M. (2013). Potential protective effects of rosemary extract, against aspartame induced hepatotoxicity in male rats. *Egypt. J. Biochemistry and Mol. Biol.:* 31, 34- 40

Starkov, A. A. (2008). The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and signaling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1147 (1), 37-52.

Sun, Q., Li, J., and Le, T. (2018). Zinc oxide nanoparticle as a novel class of antifungal agents: current advances and future perspectives. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(43), 11209-11220.

Suvarna, K. S., Layton, C., and Bancroft, J. D. (2018). *Bancroft's theory and practice of histological techniques E-Book*. Elsevier Health Sciences.

Takayama, C., de-Faria, F. M., de Almeida, A. C. A., Dunder, R. J., Manzo, L. P., Socca, E. A. R., ... and Luiz-Ferreira, A. (2016). Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* essential oil and antioxidant action against gastric damage induced by absolute ethanol in the rat. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 6(8), 677-681.

Thompson, C. A. (2011). Spell out 'acetaminophen' for patients' sake, group says. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 68(19).

Tittarelli, R., Pellegrini, M., Scarpellini, M. G., Marinelli, E., Bruti, V., DI LUCA, N. M., ... and Zaami, S. (2017). Hepatotoxicity of paracetamol and related fatalities. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(1 Suppl), 95-101.

Toussaint, K., Yang, X. C., Zielinski, M. A., Reigle, K. L., Sacavage, S. D., Nagar, S., and Raffa, R. B. (2010). What do we (not) know about how paracetamol (acetaminophen) works?. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 35(6), 617-638.

Tousson, E., Bayomy, M. F., and Ahmed, A. A. (2018). Rosemary extract modulates fertility potential, DNA fragmentation, injury, KI67 and P53 alterations induced by etoposide in rat testes. *Biomedicine and pharmacotherapy = Biomedecine and pharmacotherapie*, 98, 769–774.

Turner, T. T. (1995). On the epididymis and its role in the development of the fertile ejaculate. *Journal of andrology*, 16(4), 292-298.

Uysal, Y., Görkem Doğaroğlu, Z., Çaylali, Z., and Karakulak, D. S. (2024). Rosemary-Mediated Green Synthesis of ZnO Nanoparticles and their Integration into Hydrogel Matrices: Evaluating Effects on Wheat Growth and Antibacterial Properties. *Global Challenges*, 8(11), 2400120.

van den Driesche, S., Macdonald, J., Anderson, R. A., Johnston, Z. C., Chetty, T., Smith, L. B., Mckinnell, C., Dean, A., Homer, N. Z., Jorgensen, A., Camacho-Moll, M. E., Sharpe, R. M., and Mitchell, R. T. (2015). Prolonged exposure to acetaminophen reduces testosterone production by the human fetal testis in a xenograft model. *Science translational medicine*, 7(288), 288ra80.

Visakh, P. M., and Morlanes, M. J. M. (2016). *Nanomaterials and nanocomposites: zero-to three-dimensional materials and their composites.* John Wiley and Sons.

- Wang, X., Wu, Q., Liu, A., Anadón, A., Rodríguez, J.-L. Martínez-Larrañaga, M.-R., Yuan, Z., and Martínez, M.-Á. (2017).** Paracetamol: Overdose-induced oxidative stress toxicity, metabolism, and protective effects of various compounds in vivo and in vitro. *Drug Metabolism Reviews*, 49(4), 395-437.
- White, G. (1976).** Reproduction in the male. In-veterinary physiology. Chapter 26. Printed in U.K. : 671-698
- Wilson, J.A. (1979).** principles of animal physiology. Macmillan publishing Company.:494-500. INC. New York..
- Wisdom, G. B. (1976).** Enzyme-immunoassay. *Clinical Chemistry*, 22(8), 1243–1255.
- Wnek, G., and Bowlin, G. (Eds.). (2008).** Encyclopedia of biomaterials and biomedical engineering. CRC Press.
- Xue, Y., bin Ismail, A. J., Lansing, M. G., and bin Mohd Hayati, M. F. (2023).** Novel green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Salvia rosmarinus* extract for treatment of human lung cancer. *Open Chemistry*, 21(1), 20230113.
- Yadav, D. K., Rai, R., Kumar, N., Singh, S., Misra, S., Sharma, P., ... and Pratap, R. (2016).** New arylated benzo [h] quinolines induce anti-cancer activity by oxidative stress-mediated DNA damage. *Scientific reports*, 6(1), 1-13.
- Yan, M., Huo, Y., Yin, S., and Hu, H. (2018).** Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions. *Redox biology*, 17, 274-283.

- Ying, S.; Guan, Z.; Ofoegbu, P. C.; Clubb, P.; Rico, C.; He, F.; and Hong, J. (2022).** Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environmental Technology and Innovation*, 26, 102336
- Zambonino, M. A., Torres, M. J., Muñoz, C., Requena, G., Mayorga, C., Posadas, T., ... and Corzo, J. L. (2013).** Drug provocation tests in the diagnosis of hypersensitivity reactions to non-steroidal antiinflammatory drugs in children. *Pediatric Allergy and Immunology*, 24(2), 151-159.
- Zazuli, Z., Hartati, R., Rowa, C. R., Asyarie, S., and Satrialdi. (2025).** The Potential Application of Nanocarriers in Delivering Topical Antioxidants. *Pharmaceuticals*, 18(1), 56.
- Zhang, D.; Ma, X.; Gu, Y.; Huang, H.; and Zhang, G. (2020).** Green synthesis of metallic nanoparticles and their potential applications to treat cancer. *Frontiers in Chemistry*, 8, 799.
- Zia-Ul-Haq, M.; Ahmad, S.; Calani, L.; Mazzeo, T.; Rio, D. Del, Pellegrini, N.; & Feo, V. De. (2012).** Compositional study and antioxidant potential of *Ipomoea hederacea* Jacq. and *Lepidium sativum* L. seeds. *Molecules*, 17(9), 10306–10321.

Abstract

The aim of this study is to investigate the protective effect of an aqueous and biosynthesized zinc oxide nanoparticle extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) against paracetamol-induced reproductive toxicity in male albino rats. This will be accomplished by examining changes in specific physiological and histological parameters. This study was conducted at the Postgraduate Laboratory in the Department of Biology Sciences, College of Education for Pure Sciences, University of Karbala, from April 13, 2024, to October 13, 2024. This study was conducted on 60 adult male rats and consisted of two experiments. The first experiment, using 24 rats (12-14 weeks old, weighing 200-250 g), aimed to determine the most effective concentration of the rosemary nano-extract among three safe doses. The rats were divided into four groups of six. Group 1 was the untreated control, while the other three groups were orally gavaged with the nano-extract at concentrations of 50, 100, and 150 mg/kg/day for 30 days. Blood samples were then collected to measure **superoxide dismutase** activity as a marker of effectiveness. The 100 mg/kg concentration showed a significant increase in SOD activity ($P \leq 0.05$), so it was selected for the second experiment.

The second experiment used 36 male albino rats of similar age and weight, randomly divided into six groups of six animals each: **Group1:**Negative control , **Group2:**Positive control, orally gavaged with paracetamol at 25 mg/kg , **Group3:**Orally gavaged with rosemary aqueous extract at 200 mg/kg , **Group4:**Protective group, orally gavaged with aqueous extract (200 mg/kg) followed by paracetamol (25 mg/kg) two hours later, **Group5:**Orally gavaged with rosemary nano-extract at 100 mg/kg, **Group6:**Protective group, orally gavaged with nano-extract (100 mg/kg) followed by paracetamol (25 mg/kg) two hours later. All groups were treated orally for 60 days. Animal weights were recorded at the beginning and end of the experiment. The animals were euthanized 24 hours after the last gavage. **Parameters and Results:** Blood samples were collected to measure the levels of **testosterone Sperrmatogenic stimulating hormone, Interstitial Cell-Stimulating Hormone, malondialdehyde, glutathione**, and the activity of the enzyme **catalase**. The testes and epididymis were also excised, weighed, and their parameters measured, including the diameter of the seminiferous tubules, lumen diameter, germinal layer thickness, and the number of spermatogonia, primary spermatocytes, spermatids, and Sertoli cells. Epididymal

parameters such as diameter, lumen diameter, and epithelial thickness were also measured.

Furthermore, other fertility parameters were studied, including sperm concentration, viability, and motility, as well as the percentage of abnormal sperm. Histological changes were also analyzed.

The results of the first experiment revealed a significant increase in SOD activity ($P \leq 0.05$) in the groups treated with 100 and 150 mg/kg of the nano-extract compared to the control group. There was no significant difference ($P \geq 0.05$) in SOD activity for the 50 mg/kg concentration.

The results of the second experiment showed a significant decrease ($P \leq 0.05$) in body weight, sperm concentration, sperm viability, motility, GSH, CAT, reproductive hormone levels (T, LH, FSH), testicular cell counts (spermatogonia, primary spermatocytes, spermatids, Sertoli cells), and epididymal diameters in the paracetamol-treated group (G2) compared to the control group (G1). In contrast, there was a significant increase ($P \leq 0.05$) in the percentage of abnormal sperm, MDA levels, and the diameter of the seminiferous tubule and epididymal lumens. No significant difference ($P \geq 0.05$) was observed in the absolute weight gain of the testes and epididymis in the paracetamol-treated group.

The study's results also indicated a significant increase ($P \leq 0.05$) in the absolute body, testicular, and epididymal weights, as well as in sperm concentration, viability, and motility, GSH, CAT, and reproductive hormone levels (T, LH, FSH) in the groups treated with the aqueous and nano-extracts (G4 and G6) compared to the paracetamol group (G2). There was also a significant increase in the diameters of the seminiferous tubules, spermatogonia, primary spermatocytes, spermatids, Sertoli cells, germinal layer thickness, and epididymal diameters and epithelial thickness. Conversely, there was a significant decrease ($P \leq 0.05$) in the percentage of abnormal sperm, MDA levels, and the lumen diameter of the seminiferous tubules and epididymis.

Histological analysis of the paracetamol-treated group showed pathological changes, including basal membrane damage of the seminiferous tubules, interstitial tissue degradation, degeneration of Leydig cells and a decrease in their number, widening of the tubule lumen, reduced sperm count, interstitial tissue congestion, and fragmentation of spermatogonia. Histological sections from the aqueous and nano-extract protective groups showed a significant reduction in these pathological changes. For the epididymis, the paracetamol group exhibited pathological changes

such as a lack or scarcity of sperm in the epididymal lumens, large interstitial spaces, inflammatory cell infiltration, ciliary damage, degeneration of the epithelial lining, internal hyperplasia, and hemorrhage. The histological sections of the protective groups (G4 and G6) showed a significant reduction in these changes compared to the paracetamol-treated group.

Conclusion: Based on these findings, we conclude that both the rosemary aqueous extract at 200 mg/kg and the nano-extract at 100 mg/kg have the ability to reduce the harmful effects of paracetamol-induced reproductive toxicity in male rats. The observed improvement indicates their protective role, which is likely due to their **antioxidant activity**.



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

Protective Role of Zinc Oxide Nanoparticles of *Rosmarinus officinalis* Against Paracetamol – Induced Oxidative Stress in Male Rat

A dissertation Submitted to the Council of the College of Education for Pure Sciences\University of Kerbala as a part of Requirements for the Degree of Doctorate of Philosophy in Biology-Zoology

Written by

Sara Saad Abdulameer Mahdi

B.Sc. Biology \ College of Education for Pure Sciences \ University of Kerbala \ 2013
M.Sc. Biology-Zoology \ College of Education for Pure Sciences University of Kerbala \2018

Supervised By

Prof .Dr. Rasha Abdul Amir Jawad

Supervised By

Prof .Dr. Nasser Merza Hamza

2025 A.D

1447 A.H