جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية –كلية التربية

قسم علوم الحياة

التقييم الفسيولوجي للأثر التآزري للكيورستين والهسبردين في كفاءة الجهاز التناسلي الذكري للجرذان البيض المعاملة بالإيتوبوسايد

اطروحة مقدمة إلى عمادة كلية التربية/ جامعة القادسية وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه فلسفة في

علوم الحياة/علم الحيوان

من قبل الطالب

علـــي عبد الامـير مظـــلوم جاسم العنبـــكي

ماجستير علوم حياة / 2014

إشراف

أ.د هادي مدلول حمزة المَيالِيّ و أ.د حسين خضير عبيس المَيالِيّ

2018م/شباط 1439هـ/جمادي الأول

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة نشهد أننا اطلعنا على هذه الأطروحة الموسومة بـ " **التقييم الفسيولوجي للأثر التآزري للكيورستين والهسبردين في كفاءة الجهاز التناسلي الذكري للجرذان البيض المعاملة بالإيتوبوسايد** " المقدمة من قبل طالب الدكتوراه (**علي عبد الأمير مظلوم**) وناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها وذلك بتاريخ 11 /1 / 2018 ونشهد بأنها جديرة بالقبول لنيل شهادة الدكتوراه في الفلسفة علوم الحياة / علم الحيوان بتقدير (امتياز) .

رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. ارشد نوري الدجيلي

المرتبة العلمية : أستاذ

جامعة الكوفة / كلية العلوم

التاريخ : 6 / 2 / 2018

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : **د. حسين جاسم عبد**

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

جامعة بابل / كلية العلوم

التاريخ : 5 / 2 / 2018

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. أحمد جاسم حسن

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

جامعة القادسية / كلية التربية /علوم حياة

التاريخ : 8 / 2 / 2018

عضواً ومشرفاً

التوقيع :

الاسم : د. حسين خضير الميالي

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

جامعة القادسية / كلية التربية /علوم حياة

التاريخ : 7 / 2 / 2018

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. جعفر عباس المعموري

المرتبة العلمية : أستاذ

جامعة واسط / كلية العلوم

التاريخ : 4 / 2 / 2018

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم :**د. هناء عناية ماهود**

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

جامعة القادسية / كلية التربية /علوم حياة

التاريخ : 7 / 2 / 2018

عضواً ومشرفاً

التوقيع :

الاسم : د. هادي مدلول حمزة الميالي

المرتبة العلمية : أستاذ

جامعة القادسية / كلية التربية /علوم حياة

التاريخ : 7 / 2 / 2018

مصادقة عمادة كلية التربية - جامعة القادسية

التوقيع :

الاسم : خالد جواد العادلي

المنصب : عميد كلية التربية

المرتبة العلمية : أستاذ دكتور

جامعة القادسية / كلية التربية

التاريخ : ١٥ / 2 / 2018

الخـلاصـــــة

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم الدور الوقائي والتآزري لمادتي الكيورستين والهسبردين في تقليل سمية عقار الإيتوبوسايد على وظيفة الجهاز التكاثري لذكور الجرذان البيض وعلى مستوى التعبير الجيني للجينات المصنعة للستيرويدات فضلاً عن دراسة بعض معايير الخصوبة .

تم اجراء هذه التجربة في البيت الحيواني /كلية الطب البيطري – جامعة القادسية ، إذ استخدم في هذه التجربة (80) ذكراً و(80) انثى من الجرذان البالغة بعمر (14-16) اسبوع ومعدل وزن (180-200) غم تقريباً وزعت عشوائيا على8 (مجاميع متساوية ، ضمت كل مجموعة (10) حيوانات، جرعت مجموعة السيطرة (C) بماء مقطر فقط D.W ، وأعطيت المعاملة الأولى (T1) عقار الإيتوبوسايد بتركيز (20) ملغم/كغم من وزن الجسم ، وأعطيت المعاملة الثانية (T2) عقار الإيتوبوسايد بتركيز (20) ملغم/كغم مضافاً إلية الكيورستين بتركيز (20) ملغم/كغم من وزن الجسم ، وأعطيت المعاملة الثالثة (T3) عقار الإيتوبوسايد بتركيز (20) ملغم/كغم مضافاً إلية الهسبردين بتركيز (25) ملغم/كغم من وزن الجسم ، كما أعطيت المعاملة الرابعة (T4) عقار الإيتوبوسايد بتركيز (20) ملغم/كغم مضافاً إليه الكيورستين بتركيز (20) ملغم/كغم ثم أعطيت الهسبردين بتركيز (25) ملغم/كغم من وزن الجسم ، وأعطيت المعاملة الخامسة (T5) الكيورستين فقط وبتركيز (20) ملغم/كغم من وز الجسم ، وأعطيت المعاملة السادسة (T6) الهسبردين فقط بتركيز (25) ملغم/كغم من وزن الجسم ، وأعطيت المعاملة السابعة (T7) الكيورستين بتركيز (20) ملغم/كغم مضافاً إليه الهسبردين بتركيز (25) ملغم/كغم من وزن الجسم ، وبعد انتهاء مدة التجربة (60 يوم) ، حيث تم أخذ نماذج الدم من الجرذ لغرض الحصول على المصل لقياس الهرمونات وبعدها شرحت خمسة حيوانات من كل مجموعة ، إذ عزل منها الغدة النخامية واحدى الخصى للتعبير الجيني ، بينما عزلت الخصى والبرابخ الأخرى للوزن ، بعدها قطع البربخ الأيسر لحساب معالم النطف ، وتم عزل خمسة ذكور من كل مجموعة عشوائياً لغرض إجراء اختبار الخصوبة عليها ، إذ تم وضع كل ذكر مع اثنتين من الإناث الناضجة جنسياً بعد أن تم توحيد دورة الشبق لتلك الإناث ، وذلك لدراسة القدرة الإخصابية للذكور وإحداث الحمل والتأكد من نسبة الحمل وعدد المواليد وأوزانها .

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان الاجهاد التأكسدي المستحدث بعقار الإيتوبوسايد (T1) بتركيز (20) ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة (60) يوماً قد سبب انخفاضاً معنوياً في معدل الكسب الوزني الجسم ووزني الخصى والبرابخ ، كذلك بينت النتائج انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستويات الجينات المصنعة للستيرويدات (CYP11A1 , LH subunit , LHr) ، في حين أشارت نتائج المعايير الهرمونية إلى حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل هرمون الشحمون الخصوي Tوالهرمون اللوتيني LH والهرمون المحفز للجريب FSH ، كما لوحظ انخفاض معنوي في تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية للنطف الحية والنسبة المئوية للنطف السوية ، أما بالنسبة لنتائج اختبار الخصوبة فقد لوحظ انخفاض معنوي في نسبة الإناث الحوامل بنسبة 30% في مجموعة الإيتوبوسايد (T1) وانخفاض في أعداد المواليد ، في حين لم تصل الفروق إلى مستوى المعنوية ($P>0.05$) في معدلات أوزان المواليد للإناث المخصبة من ذكور حيوانات التجربة في مجموعاتها الثماني .

بينما شهدت النتائج نتائج مضادات الاكسدة وبيروكسدة الدهون في ذكور الجرذان المعاملة بعقار الإيتوبوسايد (T1) الى حصول انخفاض معنوي($P<0.05$) في مستوى السوبر أوكسيد ديسميوتيز ، الكلوتاثيون ، الكاتليز وارتفاع معنوي($P<0.05$) في مستوى المالونداي الديهايد ، في حين أظهرت النتائج انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدلات كلاً من قطر النبيب ناقل المني وسمك الطبقة الجرثومية للنبيب ناقل المني كذلك معدل قطر ذيل البربخ ومعدل ارتفاع الخلايا الظهارية المبطنة له ، كما شهدت النتائج حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل أعداد الخلايا المولدة للنطف والخلايا النطفية وطلائع النطف وخلايا لايدك كذلك خلايا سرتولي عند المقارنة مع مجموعة السيطرة وبقية المجاميع الأخرى .

في حين سجلت نتائج الفحص النسيجي تغيرات امراضية في نسيجي الخصى والبرابخ في مجموعة الايتوبوسايد (T1) تمثلت بحدوث تثبيط جزئي أو شبة تام لعملية تكوين النطف Spermatogenesis ، وحصول تغيرات نسجية واضحة فيها إذ تظهر النبيبات المنوية صغيرة مع تنخراً وتنكساً فيها ، مع وجود حطام خلوي داخل النبيب مع قلة النطف او خلوها مع تفجي وتفكك في الخلايا المكونة للنطف Spermatogonia ، ووجود خثر واحتقان Congestion في الأوعية الدموية بين النبيبات المنوية ، اما بالنسبة لنسيج البربخ فقد بينت المقاطع شبة خلو النبيبات البربخية من النطف وضمور واضح فيها مع تكاثر النسيج الليفي في النسيج البيني ، مع التفكك والضمور في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيب البربخي وقلة ارتفاعها كذلك تحطم الاهداب فيها مع ملاحظة وجود خلايا عملاقة داخل النبيب البربخي .

من جانب آخر ، بينت النتائج إن إعطاء الحيوانات مركبي الكيورستين والهسبردين كلاً على حدة أو الإثنين معاً وبشكل متزامن مع عقار الإيتوبوسايد في المعاملات (T4 , T3, T2) قد أدى الى حصول تحسن ملحوظ في المعايير المدروسة مقارنة مع المعاملة (T1) التي جرعت الأيتوبوسايد وكانت وكانت قريباً في بعض الأحيان من مجموعة السيطرة وبالأخص في المعاملة (T4) التي أعطت أفضل النتائج بالنسبة للمعاملات الانفة الذكر نتيجة للفعل التآزري للكيورستين والهسبردين في تقليل التأثيرات التأكسدية التي سببها عقار الإيتوبوسايد ، كما قد اقتربت أنسجة الخصى والبرابخ في ترتيبها وشكلها من المقاطع المأخوذة من حيوانات المعاملة بالكيورستين والهسبردين كلاً على حدة أوكلاهما معاً (التركيبة التآزرية) بالتزامن مع الإيتوبوسايد من مقاطع حيوانات مجموعة بالسيطرة ، في حين اظهرت النتائج اختلافاً معنوياً للمعاملات (T7 , T6 , T5) بإعطاء افضل النتائج في كل معايير الدراسة نتيجة التأثير المضاد للأكسدة وذلك عند المقارنة مع بقية مجاميع التجربة وكانت قريبة في بعض الأحيان من مجموعة السيطرة .

ويمكن الاستنتاج أن في حالة أعطاء الكيوستين أو الهسبردين كلا على حدة أو الأثنين معاً (التركيبة التآزرية) وبشكل متزامن مع العقار له فعالية وكفاءة في تقليل الضرر التأكسدي الناتج عن السمية التي احدثها الإيتوبوسايد في وظيفة الجهاز التكاثري وبعض معايير الخصوبة وذلك من خلال تحسّن في مستوى التعبير للجينات المصنعة للستيرويدات ومعالم النطف ومراحل تكوينها ومستوى الهرمونات التكاثرية ومضادات الاكسدة وكذلك الصورة النسجية للخصى والبرابخ بالإضافة الى كفاءة الخصوبة وبشكل إيجابي .

ABSTRACT

The present study aimed at evaluating the synergistic and protective role of the compounds Quercetin and Hesperidin in the reduction of the toxicity of Etoposide on the reproductive system function of male white rats at the level of genes expression of steroidogenesis , LHr , LH subunit as well as study some fertility parameters .

This experiment was conducted in the Animal House / Faculty of Veterinary Medicine - University of Qadisiyah , In this experiment, 80 males and 80 females rats were used aged (14-16) weeks and average weight is about (200-180) g were randomly distributed to 8 equal groups, each containing 10 animals. The first treatment (T1) was given the drug Etoposide at a concentration of (20) mg / kg bw. The second treatment (T2) was given the drug Etoposide with a concentration of 20 mg / kg supplemented with Quercetin at a dose of (20) Mg / kg body weight. The third treatment (T3) was given the drug Etoposide with a dose of (20) mg / kg plus Hesperidin at a concentration of (25) mg / kg body weight ,The four treatment : was given Etoposide with a concentration of (20) mg / kg and Quercetin (20 mg / kg) and then given Hesperidin at a concentration of (25) mg / kg body weight , The fifth treatment (T5) was given only Quercetin with a concentration of 20 mg Kg / kg body weight. The sixth treatment (T6) was given only Hesperidin at 25 mg / kg body weight, while the seventh treatment (T7) was given Quercetin at a concentration of 20 mg / kg plus Hesperidin at a concentration of 25 mg / kg of the body weight. After the trial period (60 days), blood samples were taken for the purpose of obtaining the serum to measure the hormones. Afterwards, Done dissected five animals from each group, and isolated of the pituitary gland and one testis for the purpose of gene expression, While the testicular and of the epididymis others were isolated for the purpose of weights , then cut the left epididymis for the purpose of calculating the parameters of sperm, and five males were isolated from each group randomly for the purpose of the fertility test, as each male was placed with two sexually mature females after the unification of the oestrus cycle of female , to study the fertility capacity of males and occurrence pregnancy and ascertain the ratio of pregnancy and the number and weight of births.

The results of the statistical analysis showed that the oxidative stress induced by the drug T1 (20) mg / kg bw for 60 days resulted in a significant decrease in the rate of weight gain, and weight of the testes and the epididymis , As indicated results showed a significant decrease ($P < 0.05$) of the gene expression of steroidogenesis (CYP11A1, LH subunit, LHr) , The results of the hormonal parameters showed a significant decrease ($P < 0.05$) in the rate of testosterone hormone (T) and Luteinizing hormone (LH) and hormone stimulating the follicle (FSH), and a significant decrease ($P < 0.05$) in sperm characteristics, it was observed a significant decrease ($P < 0.05$) in both the sperm

concentration, percentage of sperm, The degree of sperm activity and motility, the percentage of live sperm and percentage of normal sperm, The results of the fertility test showed a significant decrease in the proportion of pregnant females by 30% in the T1 group and the decrease in the number of births, While the differences did not reach the moral level (P> 0.05) in the birth weights of fertile females from male animals experience in its eight groups.

While the results showed that antioxidant and lipid peroxidase in male rats treated with Etoposide (T1) showed a significant decrease (P <0.05) in the level of superoxide dismutase, Glutathione and Catalase , and significant increase (P <0.05) in the level of manoldialdehyde (MDA) in rats treatment with EPO (T1) . The results showed a significant decrease (p <0.05) in the rates of both diameter of seminal tubule and the thickness of the germinal layer of the seminal tubule as well as the rate diameter tail tubule of the epididymis and the rate of high epithelial cells lining of tail tubule of the epididymis in the first treatment (T1) , The results also showed a significant decrease (P<0.05) in the number of spermatogonia, spermatocyte , Spermatid , Leydig cells, and sertoli cells in male rats treated with Etoposide (T1) when compared with the control group and the rest of the other groups.

The results of the histopathological examination showed satisfactory changes in the testicular and epididymis tissues in the Etoposide group (T1), which resulted in a partial or almost complete inhibition of the spermatogenesis, As well as obvious changes in the tissues of the seminiferous tubules where the sections show necrosis and clear degeneration , and small diameter of the seminal tubules with filled by debris cellular with few or without sperm and the vacuolation and disintegration of Spermatogonia, and the presence of clotting and congestion in the blood vessels interstitial tissue between seminal tubules , As for the epidermal tissue in T1, the sections showed the absence of The epididymis tubule are empty or few of sperm , and the apparent atrophy in tubules epididymis with the proliferation of fibrous tissue in the interstitial tissue , With disintegration and atrophy in the epithelial cells lining of the epididymis and the low of thickness , as well as the damage of sterocilia, the presence of multinucleate giant cells within epididymis tubules .

On the other hand, the results showed that the animals were given both Quercetin and Hesperidin compounds either alone or together and Synchronously with etoposide in treatments (T2, T3, T4) Its has led to a marked improvement in the studied parameters compared to the T1 treatment, and were somewhat close to the control groups, especially in the T4 group, which gave the best results for the above treatments Aforementioned as a result of the synergistic act of Quercetin and Hesperidin in reducing the toxic effects

caused by the etoposide, While approached the tissues of testis and epididymis in their order and their shape from the sections from Quercetin and hesperidin treated animals separately or together and synchronously with Etoposide compared with control group and all experimental animals groups . While The results showed a significant difference of the groups (T5, T6, T7) by giving the best results in all parameters studied due to the anti-oxidant effects compared with all experimental groups and were sometimes close to the control group.

It can conclusion that, in the case of the administration of both Quercetin and Hesperidin together (the synergistic structure) or separately and simultaneously with the drug, as the effectiveness and efficiency in reducing the oxidative damage caused by the toxicity of Etoposide in the reproductive system function some fertility parameters by improving level of expression of the genes steroidogenic and on characteristics of the sperm and stages of composition and level of reproductive hormones and antioxidants , as well as on the histological image of the testes and epididymis as well as fertility efficiency and positive .