



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية – كلية التربية

قسم علوم الحياة

دراسة التأثير المحتمل لصبغة الكراميسين الغذائية على نمو الخصية في ذكور الجرذان البيض

البحث من إعداد الطلاب

ندى حميد جواد

بإشراف

حسين عباس سلمان الحميداوي

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

لَئِنْ شَكَرْتُمْ لَأَزِيدَنَّكُمْ

صَدَقَ اللّٰهُ الْعَلِیُّ الْعَظِیْمُ

الشكر والتقدير

اتقدم بالشكر لكل من ساهم معي في انجاز بحثي المتواضع

الى من يستحق الشكر والتقدير فعلا

القوات الامنية من الجيش والشرطة والحشد الشعبي

وبالاخص الى استاذي الذي لم يتوانى في مساعدتي

الدكتور (حسين عباس سلمان)

المشرف على بحثي والذي منحني الكثير من وقته ولم يبخل علي بالنصائح والملاحظات
القيمة لإنجاز هذا البحث

الاهداء

ابي وامي

زوجي

اخوتي واخواتي

الاقارب والاصدقاء وزميلاتي

من دعمني لإكمال مشواري هذا في كل الظروف وشجعني على انجاز سنوات الدراسة وبذلوا
من اجلي الغالي والنفيس.

اهدي اليكم بحثي المتواضع وشكري وتقديري سائلة المولى عز وجل ان لا يحرمني منكم
ويدميكم لي ومن تحبون..

لا انسى استاذي الفاضل الذي اشرف على بحثي ومدني بالكثير من العطاء الدكتور حسين
عباس سلمان.

Abstract الخلاصة

صبغة الكراميسين احد أنواع صبغات الأزو (Azo) الغذائية والتي تستخدم بشكل واسع في الاغذية والادوية، أجريت الدراسة الحالية لتحقيق من تأثير جرعة (٢٥٠ مغم /كغم من وزن الجسم) من صبغة الكراميسين على بعض معايير الخصوبة .

شملت الدراسة الحالية عشرة حيوانات وزعت بمجموعتين تضمنت مجموعة السيطرة (c) وشملت خمسة حيوانات وجرعت ماء الشرب الاعتيادي لمدة شهر ومجموعة المعاملة (T) والتي شملت خمسة حيوانات جرعت صبغة الكراميسين وبتركيز (٢٥٠ مغم /كغم من وزن الجسم) ولمدة شهر.

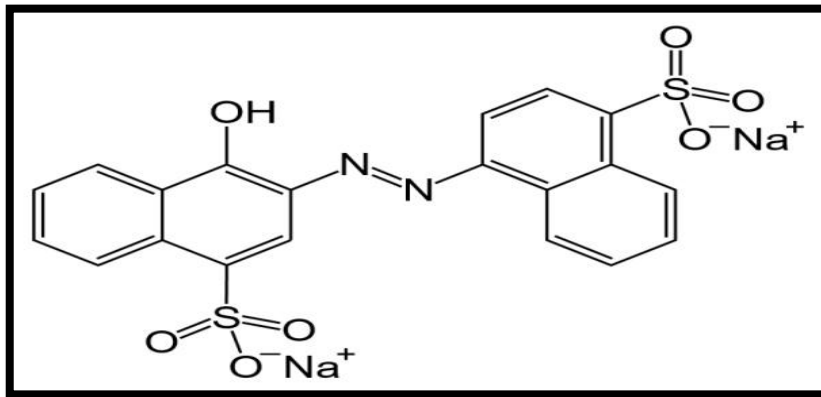
أوضحت نتائج الدراسة الحالية حصول انخفاض معنوي ($p < 0.05$) في معدل اعداد سليفات النطف ، ارومات النطف وخلايا لايدك في مجموعة المعاملة مع صبغة الكراميسين مقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما اشارة النتائج الى حصول انخفاض لم يصل الى درجة المعنوية في معدل اعداد الخلايا النطفية واقطار الانبيبات المنوية في مجموعة المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة.

نستنتج من الدراسة الحالية لصبغة الكراميسين تأثير سلبي على بعض معايير الخصوبة.

المقدمة واستعراض المراجع Review of Literature

بعد التطور الكبير الحاصل في مجال صناعة الأغذية وتسويقها وتزايد استهلاكها أصبح من الضروري إضافة الكثير من المواد لها مثل المواد الحافظة والصبغات والنكهات التي تزيد من قيمتها الغذائية و مذاقها فضلا عن جذب المستهلك إليها (Hirschbruch and Torres.,1988; Toledo., 1999 ; AL-Shinnawy., 2009). تعتبر الصبغات من المواد المضافة المهمة للأغذية والأدوية والتي تستخدم بشكل واسع بالوقت الحالي (Hirschbruch and Torres.,1988; Toledo., 1999). وهذه الصبغات قد تكون طبيعية او صناعية ، ولكن ٩٥% من الصبغات المستخدمة حاليا هي صبغات غذائية صناعية وذلك بسبب سهولة نتاجها ورخص ثمنها (Gautam et al., 2010). الصبغات الغذائية يتم إضافتها إلى الكثير من الأغذية الأساسية مثل الجبن ومنتجات الألبان الاخرى والأسماك المقلية ومنتجات اللحوم، الآيس كريم والعصائر، الحلويات والمربى (Madsen., 1997 and Tripathi et al., 2007). الكثير من الصبغات الغذائية الصناعية أصبحت مثيرة للجدل بسبب تأثيراتها السلبية علي الصحة العامة للانسان ولذلك منع استخدام الكثير منها، وهناك الكثير من الدراسات التي تناولت الاضطرابات الايضية والسمية التي تحدث بسبب هذه الصبغات الصناعية على الجرذان وبعض اللبائن الأخرى (Reyes et al., 1996; Tanaka, 2005 and Zraly et al., 2006). وان العديد من مركبات الازو (azo) لها تأثير سام اومسرطن على الحيوانات المختبرية (Haveland - Smith, 1982 and Sasaki Combes and et al., 2002).

صبغة الكارموسين Carmoisine Dye (E122) من الأصباغ الغذائية الصناعية التي تم إستخدامها لأول مرة في الولايات المتحدة الأمريكية سنة ١٩٣٩، تعتبر احدى مركبات الازو وهي ذات صيغة جزيئية $C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$ ووزن جزيئي يبلغ ٥٠٢,٤٤ غم/ مول إلى جانب الصيغة التركيبية (Zralý et al.,2006; Chanlon et al.,2005).



الشكل يبين الصيغة التركيبية لصبغة E122

تُحضَّر صبغة E122 من قطران الفحم أو من ملح الديزانيوم من خلال إرتباطه بمجموعة (-N=N-) إلى مركبات هيدروكربونية أروماتية شديدة التفاعل لها القابلية العالية على الذوبان في الماء معطيَّةً اللون الأحمر عند الذوبان مما تؤدي إلى تحسين اللون ووسيلة جذب للمستهلك؛ إذ تستخدم هذه الصبغة في العديد من المجالات منها معاجين الاسنان وبعد تناول الاغذية الحاوية على صبغة لكارمويسين سوف تختزل بواسطة إنزيمات Cytochromes P450 إلى أمينات عطرية (Amin et al.,2010; Montaser et al.,2013).

المواد وطرائق العمل Material and methods

حيوانات التجربة : Experimental animals

أُجريت هذه الدراسة في البيت الحيواني التابع لقسم علوم الحياة/ كلية التربية / جامعة القادسية وتم استخدام الجرذان البيض التي تم شراؤها من البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري /جامعة القادسية استُخدمت في هذه الدراسة ١٠ جردن سوي (Healthy) غير ناضجا جنسيا وبعمر خمسة أسابيع وكانت أوزانها بين (٨٠-٩٠) غم. وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية أبعادها ٥٠ × ٣٥ × ١٥ سم وبمعدل خمسة حيوانات للقفس الواحد في غرفة مساحتها ٣ × ٤ م . عرضت الحيوانات جميعها لنفس الظروف من درجة الحرارة ٢٠-٢٥ مً نظمت بواسطة مكيف الهواء .

تصميم التجربة Experiment design : قسمت الحيوانات إلى مجموعتين وكما يأتي :

- ١.مجموعة السيطرة (c) وشملت خمسة حيوانات وجرعت ماء الشرب الاعتيادي لمدة شهر
- ٢.مجموعة المعاملة (T) والتي شملت خمسة حيوانات جرعت صبغة الكراميسين وبتركيز (٢٥٠ مغم /كغم من وزن الجسم) ولمدة شهر .

صبغة الكراميسين : تم شراء هذه الصبغة من شركة () تعتبر احدى مركبات الازو وهي ذات صيغة جزيئية $C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$ ووزن جزيئي يبلغ ٥٠٢,٤٤ غم/مول. حضرت الجرعة اعتمادا على وزن الجسم، حيث وزنة الصبغة حسب وزن الجسم وذوبت في الماء وجرعت مباشرة باستخدام Stomach tube وبواقع واحد مل لكل حيوان.

التضحية بالحيوانات

تم اخذ وزن الحيوانات بعد نهاية التجربة ثم خدرت الحيوانات بمادة Chloroform شرحت الحيوانات وتم استئصال الخصية ثم وضعت في الفورمالين ١٠٪ لحين تحضير المقاطع النسجية.

الدراسات النسيجية Histological study

تم تحضير المقاطع النسيجية للخصية حسب طريقة (المختار وجماعته ، ١٩٨٢).

الدراسة النسجية للخصية:

تم فحص التغييرات التركيبية للشرائح النسجية للخصية بوساطة المجهر الضوئي. واختيرت ثلاث شرائح نسيجية لكل حيوان بصورة عشوائية وشملت الدراسة المعايير التالية حسب طريقة (AL-wachi و Balash, 1988).

• حساب أعداد خلايا النطف:

تم اتباع طريقة (Al-wachi و Balash, 1988) وذلك لحساب أعداد سليفات النطف والخلايا النطفية وطلائع النطف.

• حساب أعداد خلايا لايدك:

تم حساب خلايا لايدك الموجودة بين ثلاث انبيبات منوية ومن ثم كررت هذه العملية في عدة مواقع بالنسبة للنموذج الواحد.

التحليل الإحصائي.

أخضعت نتائج التحليل الإحصائي بهدف معرفة الفروق المعنوية بين مجموعة السيطرة

والمعاملات باستخدام اختبار (F) حددت تلك الفروق المعنوية عند مستوى احتمال ٥%)

الراوي وخلف الله، ٢٠٠٠).

النتائج والمناقشة

تعتبر الصبغات من المواد المضافة المهمة للأغذية والأدوية والتي تستخدم بشكل واسع في الكثير من الأغذية مثل الجبن ومنتجات الألبان والأسماك المقلية ومنتجات اللحوم، الأيس كريم والعصائر، الحلويات والمربى (Madsen., 1997 and Tripathi et al., 2007). وقد إشارة الكثير من البحوث ان الصبغات الغذائية تولد جذور حرة تسبب الكثير من المشاكل مثل التأثيرات ضارة على DNA ، انخفاض وزن الجسم والكولسترول HDL وزيادة أنزيمات الكبد في الدم (Abou EL-Zabhab and El-Khyat., 1997; Helal *et al.*, 2000;) (Hassan ., 2009).

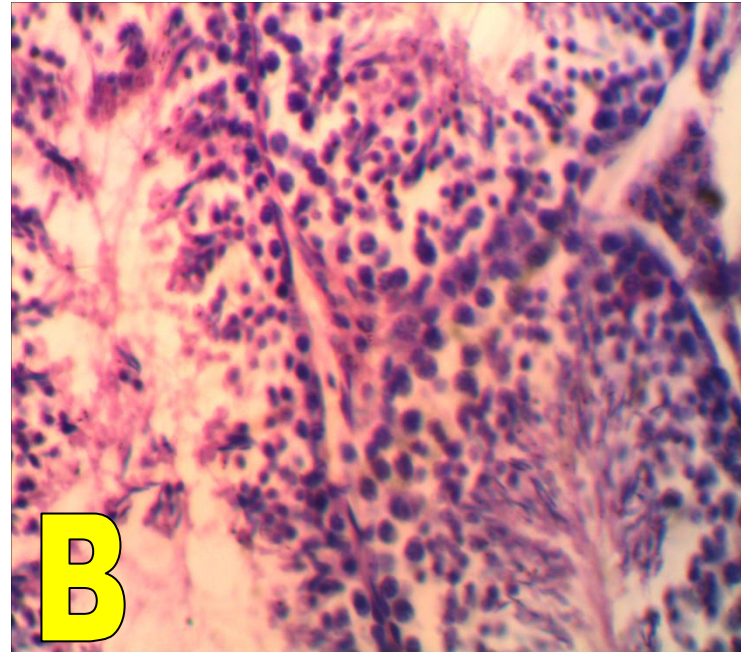
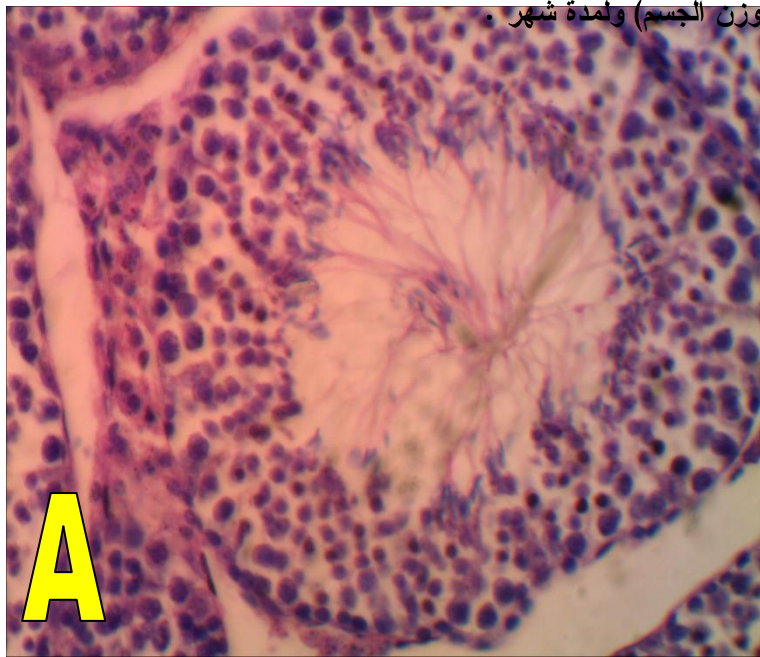
أظهرت النتائج الجدول (١) والشكل (١) حصول انخفاض معنوي ($p < 0.05$) في معدل اعداد سليفات النطف ، ارومات النطف وخلايا لايدك في مجموعة المعاملة مع صبغة الكراميسين مقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما اشارة النتائج الى حصول انخفاض لم يصل الى درجة المعنوية في معدل اعداد الخلايا النطفية واقطار الانبيبات المنوية في مجموعة المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة واتفقت بعض هذه النتائج مع (Gautam *et al.*, 2010) والذي اشار الى حصول انخفاض معنوي في العدد الكلي للنطف واعداد خلايا لايدك وحصول بعض التغيرات المرضية في معايير الخصوبة في الجرذان البيض ربما يعود سبب ذلك لتأثيرات السمية لصبغات الازو.

كما اشارة (Bawazir., 2012; Selman and Hassan., 2015; Fajer., 2017) الى ان صبغات الازو تولد جذور والتي تسبب اكسدة الدهون في اغشية الخلايا وبالتالي موت الخلايا وتلف الانسجة الكلية والكبد.

الجدول (١) يوضح تأثير صبغة الكراميسين على الخلايا النطفية وخلايا لايدك واقطار الانبيبات المنوية .

المجاميع	سليقات النطف	خلايا النطف الاولى والثانوية	ارومات النطف	خلايا لايدك	اقطار الانبيبات المنوية
مجموعة السيطرة	62.8±1.59*	85.2±1.2	109.4±3.04*	14.4±.81*	223.2±0.4
مجموعة المعاملة	53.2±2.63	74.6±0.67	98.6±1.02	10.0±1.3	203.00±1.8

- الأرقام تشير الى المعدل ± الخطأ القياسي
- C: مجموعة السيطرة وشملت حيوانات جرعة ماء الشرب الاعتيادي .
- T₁: مجموعة المعاملة وشملت حيوانات جرعة صبغة الكراميسين بتركيز (٢٥٠ مغم /كغم من



الشكل (١) يوضح تأثير صبغة الكراميسين على اعداد سليقات النطف ، خلايا النطف ، ارومات الخلايا النطفية واعداد خلايا لايدك ، الصورة (A) تمثل مقطع في خصية الجرذان مجموعة السيطرة و صورة (B) تمثل مقطع في خصية الجرذان مجموعة المعاملة.

المصادر Reference

الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز محمد. (٢٠٠٠). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، دار الكتب للنشر. جامعة الموصل.

المختار، كواكب عبد الرزاق؛ العلاف، سهيلة محمود و العطار، عدنان عبد الله. (١٩٨٢). التحضيرات المجهرية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد.

ALWachi, S. & Balash, K.J. (1988). Induced alteration in spermatogenesis of mature albino mice injected with caffeine. J. Biol. Sci. Res., 19: 457-468.

Zralý, Z., et al. "Effect of lupine and amaranth on growth efficiency, health, and carcass characteristics and meat quality of market pigs." Acta Veterinaria Brno 75.3 (2006): 363-372.

Chanlon, S., et al. "Determination of Carmoisine, Allura red and Ponceau 4R in sweets and soft drinks by Differential Pulse Polarography." Journal of Food Composition and Analysis 18.6 (2005): 503-515.

Amin, K. A., H. Abdel Hameid, and AH Abd Elsttar. "Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats." Food and Chemical Toxicology 48.10 (2010): 2994-2999.

Montaser, Metwally M., and Mohamed E. Alkafafy. "Effects of Synthetic Food Color (Carmoisine) on Expression of Some Fuel Metabolism Genes in Liver of Male Albino Rats." Life Science Journal 2 (2013): 10.

Toledo, M. C. F. (1999). Regulamentacao de uso de corantes Naturis . Arch . Lantinoam Nutr. 49 (1): 67-70.

Hirschbruch, M. D. and Torres, E. A. F. S. (1998). Toxicological de Alimentos : UmaDiscussao. Hig – Alim ., 12 (53):21-25.

AL-Shinnawy,M.S.(2009). Physiological effect of a food additive on some haematological and biochemical parameters of male albino rats. Egypt. Acad. J. biolog. Sci., 2 (1): 143-151.

Gautam.D.; **Sharma.,G. and Goyal.,R.P.(2010).** Evaluation of Toxic Impact of Tartrazine on Male Swiss Albino Mice. Pharmacologyonline 1: 133-140.

Reyes FG, Valim MF, Vercesi, AE. Effect of organicsynthetic food colours onmitochondrial respiration. Food Additives and Contaminants.1996; 13(1): 5.

Tanaka T. Reproductive and neurobehavioural toxicity study of tartrazine administration to mice in the diet. Food and Chemical Toxicology.2005; 5: 16-25.

Zrally., Z; Pisarikova B, Trckova M, Herzig I, Juzl M, Simeonovova J. Effect of lupin and amaranth on growth efficiency, health and carcass characteristics and meat squality of market pigs. Acta Veterinaria Brunenssis.2006; 75(3):363-372.

Combes RB, Haveland – Smith, A. A review of the genotoxicity of food, drug and cosmetic colours and other azo, triphenylmethane and xanthenes dyes. Mutation Research.1982; 98: 101-148.

Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshima M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S. The comet assay with 8 mouse organs: Results with 39 currently used food additives. Mutation Research. 2002; 519: 103-119.

.