DOI: 10.22092/vj.2024.363652.2088 No 144 Automn 2024

Veterinary Research & Biological Products

Original Article

The Impact of Camel Milk and Vitamin C on Oxidative Damage and Histopathological Changes in Testicular Tissue due to Cadmium Chloride Toxicity in Rat

Mohammadi Soleimanim, Mohadeseh
Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, IRAN.
Imani, Masoud*
Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, IRAN.
Mansouri Nezhand, Ladan
Department of Food Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, IRAN.
Eskandar Zadeh, Neda
Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, IRAN.
Kheirandish, Reza
Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, IRAN.
Iravani, Behzad
Student of Theriogenology, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, IRAN.

Received: 2023-10-21 **Accepted: 2024-02-01**
Revised: 2024-01-26 **Published: 2024-10-02**

*Email: masud.imani@uk.ac.ir

Abstract

Background: Studying the effect of natural antioxidants on male infertility is very important. Objectives: This study tries to investigate the efficacy of administering camel milk and vitamin C in mitigating the destructive effects of acute cadmium poisoning on the testes. Methods: A total of 50 adult male rats were randomly assigned to one of five experimental groups (n=10). The first group was considered as the control group, while the second to fifth groups were administered cadmium chloride intraperitoneally at a dose of 2 mg/kg on the 7th day after the start of the study. The second group was considered as cadmium- treated control group. The third group was administered oral treatment with camel milk from the first day of the study. The fourth group was treated with injectable vitamin C. Finally, the fifth group was treated with a combination of camel milk and vitamin C. Testicular tissue sampling was conducted after the commencement of the study to prepare histopathology sections and evaluate oxidative stress on days 12 and 21. Results: In the cadmium group, severe necrosis was observed in all germ cell lines of the seminif-erous tubules. The lesions observed in the camel milk and vitamin C treatment groups were com-parable to those observed in cadmium groups and no evidence of regeneration was noted compared to the abovementioned groups. Vitamin C treatment did not result in any discernible im-pact on glutathione peroxidase activity on days 5 and 14 following the induction of cadmium poisoning. Vitamin C treatment did not result in a notable reduction in malondialdehyde levels on day 5 after induction. On the 14th day, treatment with vitamin C was observed to reduce the malondialdehyde levels. Furthermore, the administration of camel milk also did not result in an improvement in oxidative stress indices in the testicular tissue of rats poisoned with cadmium chloride. Conclusions: Acute cadmium chloride poisoning at a dose of 2 mg/kg has such severe destructive effects on testicular tissue that could not be prevented by consuming camel milk and vitamin C in routine dosage.

Key words: *Cadmium; Camel milk; Oxidative stress; Testicular tissue*

DOI: 10.22092/vj.2024.363652.2088
شماره ۱۴۴ پاییز ۱۴۰۳
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

مقاله کامل

اثر شیر شتر و ویتامین ث بر آسیب اکسیداتیو و تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت بیضه در مسمومیت با کلرید کادمیوم در موش صحرایی

• **محدثه محمدی‌سلیمانی**
گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
• **مسعود ایمانی***
گروه علوم درمانگاهی ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
• **لادن منصوری‌نژند**
گروه بهداشت مواد غذایی و سلامت عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
• **ندا اسکندرزاده**
گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
• **رضا خیراندیش**
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
• **بهزاد ایروانی**
گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: ۲۹-۰۷-۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۲-۱۱-۱۴۰۲
تاریخ بازنگری: ۰۶-۱۱-۱۴۰۲ تاریخ انتشار: ۱۱-۰۷-۱۴۰۳
*Email: masud.imani@uk.ac.irs

چکیده

زمینه مطالعه: مطالعه‌ی تأثیر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر ناباروری مردان دارای اهمیت فراوان است. هدف: استفاده از شیر شتر و ویتامین ث برای کاهش اثرات مسمومیت حاد با کلرید کادمیوم در بیضه. روش کار: ۵۰ سر موش صحرایی بالغ نر در ۵ گروه مساوی قرار گرفتند. به جز گروه اول که به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد به سایر گروه‌ها در روز ۷ پس از شروع مطالعه کلرید کادمیوم با دوز ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد. گروه دوم به عنوان گروه کنترل کادمیوم، گروه سوم یا گروه درمان کادمیوم و شیر شتر (از روز اول مطالعه)، گروه چهارم تحت درمان ویتامین ث تزریقی قرار گرفت، گروه پنجم تحت درمان ترکیب شیر شتر و ویتامین ث قرار گرفت. در هرگروه ۵ سر موش صحرایی در روزهای ۱۲ و ۲۱ بعد از شروع مطالعه آسان‌کشی شد و پس از جمع‌آوری نمونه خون از هر حیوان، بافت بیضه جهت تهیه مقاطع بافت‌شناسی برای بررسی‌های هیستوپاتولوژی از بدن خارج و در محلول فرمالین ۱۰درصد قرار داده شد. همچنین نمونه سرم جهت اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدهید و گلوتاتیون پراکسیداز جداسازی گردید. نتایج: در گروه کادمیوم لوله‌های منی‌ساز تغییرات نکروتیک شدیدی را در تمامی رده‌های سلول‌های زایا نشان می‌دادند. ضایعات در گروه‌های درمان با شیر شتر، ویتامین ث و ترکیب شیر شتر و ویتامین ث شبیه به گروه کادمیوم بود و هیچ‌گونه بهبودی در اثر درمان مشاهده نشد. درمان با ویتامین ث تاثیري در میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در روز ۵ و ۱۴ بعد از القاي مسمومیت با کادمیوم نداشت. همچنین درمان با ویتامین ث باعث کاهش معني‌دار میزان مالون‌دي‌آلدهید در روز ۵ بعد از القا نشد. تنها در روز ۱۴ بعد از القاي مسمومیت با کادمیوم درمان با ویتامین ث به صورت معني‌دار میزان مالون‌دي‌آلدهید را کاهش داد. مصرف شیر شتر نیز باعث بهبود شاخص‌هاي استرس اکسیداتیو در بافت بیضه موش‌هاي صحرايي درگیر مسمومیت کلرید کادمیوم نشد. نتیجه‌گیری نهایی: مسمومیت حاد ناشي از کلرید کادمیوم با دوز ۲ میلي‌گرم به ازاي هر کیلوگرم در بافت بیضه آثار مخرب شدیدي دارد که با مصرف مقادیر معمول شیر شتر و ویتامین ث قابل پیشگیري نیست.

کلمات کلیدی: کادمیوم؛ شیر شتر؛ استرس اکسیداتیو؛ بافت بیضه

مقدمه

کاهش قدرت باروری در حال تبدیل شدن به یک مسأله فزاینده در سراسر جهان است. علت اصلی ناباروری مردان کاهش تعداد و نیز اختلال در عملکرد اسپرم‌ها است که در نهایت می‌تواند منجر به از دست دادن قابلیت باروری شود. بخشی از این اختلالات عملکردی اسپرم می‌تواند به علت استرس اکسیداتیو مهار نشده درون سلول باشد (۳۳). استرس اکسیداتیو به دلیل عدم تعادل اکسیدان‌ها و عوامل آنتی‌اکسیدان ایجاد می‌شود و نتیجه آن تولید بیش از حد گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و نیتروژن است (۳۰). افزایش استرس اکسیداتیو در مایع منی مردان نابارور، نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو در اختلالات ساختاري و عملکرد اسپرم از طریق مکانیسم‌هاي مختلف نقش مهمی را ایفاء می‌کند (۳۲،۱۰). در واقع، استرس اکسیداتیو یک عامل رایج در حدود نیمی از مردان نابارور است که تا به امروز مورد بررسی قرار گرفته است (۳۹).

کادمیوم جزء فلزات سنگین و عامل سمی و مخرب مهم برای محیط زیست است که می‌تواند به وسیله‌ی استخراج و فرآیند ساخت باطری‌ها و همچنین صنایع الکترونیک دیگر به خاک و نهایتا آب و غذا راه یابد (۴۲). این ماده از طریق تبدیل شدن به سولفید، کلراید و یا اکسید کادمیوم وارد جو می‌شود. همچنین میزان قابل توجهی از کادمیوم در دود سیگار وجود دارد (۱۱). علی رغم بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند: سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در بافت بیضه برای مقابله با استرس اکسیداتیو، اما میزان آنها در اثر قرار گرفتن در معرض کادمیوم بسیار کاهش می‌یابد (۳۸).

استفاده از کادمیوم جهت القای استرس اکسیداتیو از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تاثیر بر روند تولید اسپرم و تاثیر مستقیم بر اسپرم‌ها یک روش رایج و موثر است که می‌تواند به خوبی آسیب‌های رایج مربوط به ناباروری در مردان را شبیه‌سازی کند (۹).

آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند باعث جلوگیری و یا کاهش اثر استرس اکسیداتیو بر اسپرم شوند (۷) همچنین با توجه به پیشنهاد سازمان بهداشت جهانی مبنی بر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به جای آنتی‌اکسیدان‌های صنعتی، استفاده از روش‌ها و داروهای سنتی نیاز به تحقیقات بیشتری دارد (۳۱،۲۴).

شیر شتر علاوه بر اهمیت در حیات بیابان و مردمان ساکن بیابان از زمان‌های دور در خاورمیانه و بعضی مناطق آسیا و آفریقا برای اهداف درمانی استفاده شده است (۴۴). با آشکار شدن خواص شیر شتر، در سال‌های اخیر تحقیقات علمی به مطالعه شیر شتر، ترکیبات و استفاده‌های درمانی آن پرداخته‌اند. محققان دریافتند که شیر شتر نزدیک‌ترین شیر به شیر زن است (۴۸). شیر شتر غنی از ویتامین ث و پـروتئین‌های دارای خواص ضدباکتری و نیز تقویت‌کننده سیستم ایمنی مثل لاکتوفرین، لاکتوپراکسیداز و ایمونوگلوبولین و لیزوزیم است. از طرفی شیر شتر فاقد بتالاکتوگلوبولین است و بنابراین برای افراد مبتلا به عدم تحمل لاکتوز شیر گاو قابل استفاده است. شیر شتر درون خود عوامل آنتی‌اکسیدانی، ضدویروسی، ضد باکتریایی، ضدقارچی، ضدهپاتیت، ضددیابت و ضدآرتریت دارد و نیز برای درمان سل، جلوگیری از پیری، درمان بیماری‌های خود ایمن و آلرژی ایجاد شده توسط انواع غذاها، مفید است (۲۳).

طی مطالعاتی ثابت شده است که ویتامین ث از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند باعث پیشگیری و یا کاهش اثرات مخرب کادمیوم و استرس‌های اکسیداتیو بر بافت بیضه شود (۱۳، ۱۴، ۲۶، ۳۵، ۴۵). همچنین در مطالعه‌ی الهاشم و همکاران (۲۰۰۹) تجویز همراه کادمیوم و شیر شتر به مدت ۲۱ روز باعث بهبود معنی‌دار شاخص‌های استرس اکسیداتیو در جریان خون موش صحرایی گردید (۶). علاوه بر آن محمد و همکاران (۲۰۰۹) با تجویز شیر شتر در رت‌های درگیر کم خونی القاء شده توسط کادمیوم، بهبود شاخص‌های استرس اکسیداتیو و تخفیف شدت کم خونی را مشاهده کردند (۱۹). هدف از انجام این تحقیق مطالعه‌ی اثر درمانی شیر شتر و یک آنتی‌اکسیدان اثبات شده (ویتامین ث) بر اثرات مخرب استرس اکسیداتیو ناشی از تجویز کلرید کادمیوم بر روی بافت بیضه‌ی موش صحرایی است.

مواد و روش‌ها

۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۲۰۰-۱۵۰ گرم و سن ۲-۱/۵ ماه از مؤسسه تحقیقاتی رازی کرمان تهیه شدند. این حیوانات جهت تطابق با شرایط محیط آزمایش، به مدت یک هفته در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی دامپزشکی در قفس‌های پروپیلن با درب توری قرار گرفتند و در طول مدت مطالعه از پلت تجاری مخصوص جوندگان و با دسترسی آزاد به آب و غذا تغذیه شدند. شرایط نوری محیط نگهداری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای محیط ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. این حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه مساوی تقسیم شدند و به شرح زیر وارد آزمایش گردیدند (جدول۱).

گروه اول یا گروه کنترل (گروه C) که روزانه یک تجویز خوراکی ۲ سی‌سی آب در ساعت ۸ صبح و یک تجویز خوراکی آب در ساعت ۱۰ صبح به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. در روز هفتم مطالعه به این گروه یک سی‌سی نرمال سالین استریل به شکل داخل صفاقی تزریق گردید.

گروه دوم یا گروه کنترل کادمیوم (گروه Cad) که روزانه یک تجویز خوراکی آب در ساعت ۸ صبح و یک تجویز خوراکی آب ساعت ۱۰ صبح به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. در روز هفتم مطالعه کلرید کادمیوم با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به شکل داخل صفاقی تزریق گردید.

گروه سوم یا گروه درمان کادمیوم به همراه شیر شتر (گروه Cad+M) که روزانه یک تجویز خوراکی شیر شتر در ساعت ۸ صبح به میزان ۱۰ سی‌سی به ازای هر کیلوگرم و یک تجویز خوراکی آب ساعت ۱۰ صبح به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. در روز هفتم مطالعه کلرید کادمیوم با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به شکل داخل صفاقی تزریق گردید.

گروه چهارم یا گروه درمان کادمیوم به همراه ویتامین ث (گروه Cad+Vit) که روزانه یک تجویز خوراکی آب در ساعت ۸ صبح به میزان ۲ سی‌سی و یک تجویز خوراکی ویتامین ث با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ساعت ۱۰ صبح به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. در روز هفتم مطالعه کلرید کادمیوم با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به شکل داخل صفاقی تزریق گردید.

گروه پنجم یا گروه کادمیوم به همراه ویتامین ث و شیر شتر (گروه Cad+M+Vit) که روزانه یک تجویز خوراکی شیر شتر در ساعت ۸ صبح به میزان ۱۰ سی‌سی به ازای هر کیلوگرم و یک تجویز خوراکی ویتامین ث با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ساعت ۱۰ صبح به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. در روز هفتم مطالعه کلرید کادمیوم با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به شکل داخل صفاقی تزریق گردید (جدول ۱).

در این مطالعه از کلرید کادمیوم (CAS No: ۱۰۱۰۸ -۶۴ -۲) ساخت شرکت سیگما-آلدریچ و ویتامین ث بصورت آمپول ساخت شرکت داروپخش کشور ایران استفاده شد. همچنین شیر تازه شتر بصورت روزانه از یک مزرعه پرورش شتر تهیه و استفاده شد.

دو بار نمونه‌گیری در روزهای ۱۲ و ۲۱ پس از شروع مطالعه (به عبارت بهتر در روزهای ۵ و ۱۴ پس از تجویز کلرید کادمیوم) به منظور ارزیابی اثرات درمان روی بافت بیضه در هر کدام از گروه‌ها انجام شد. در هر نوبت نمونه‌گیری ۵ سر رت از هر گروه با روش قطع نخاع گردنی آسان‌کشی شدند. بیضه راست هر حیوان پس از گشودن اسکروتوم از بدن جدا شده و در ظرف حاوی بافر فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت فرمالین تعویض گردید و از این نمونه‌ها مطابق روش معمول، مقاطع بافتی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شدند و به روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی گردیدند. علاوه بر ارزیابی پاتولوژی مقاطع تهیه شده، رتبه‌بندی جانسون نیز انجام شد (۳۵). برای ارزیابی رتبه‌بندی جانسون در هر مقطع ده عدد از گردترین لوله‌های منی‌ساز انتخاب شد و براساس جدول مربوط به رتبه‌بندی جانسون امتیاز مربوط به هر لوله ثبت گردید (جدول ۲). بیضه چپ پس از جدا شدن از بدن بلافاصله در داخل میکروتیوب قرار گرفت و تا زمان انجام آزمایشات بیوشیمیایی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جهت آماده‌سازی نمونه‌ها به منظور ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو، ۲۰ میلی‌گرم از بافت بیضه در بافر PBS معلق شد و سپس بر روی یخ هموژن گردید. محلول هموژن حاصله به مدت ۱۰دقیقه در نیروی گرانش۶۰۰۰ g× سانتریفیوژ گردید و محلول رویی آن به عنوان نمونه مورد آزمایش در نظر گرفته شد.

ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو شامل فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و میزان ماده مالون‌دی‌آلدهید طبق روش استاندارد و پروتکل کیت‌های تجاری کیازیست ساخت ایران انجام شد. برای استانداردسازی داده‌ها در گروه‌های مختلف، میزان پروتئین بافت بر اساس روش برادفورد با استفاده از کیت شرکت کیازیست ساخت ایران مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس اعداد مربوط به شاخص‌های آنزیمی هر نمونه بر اساس میزان پروتئین همان نمونه تصحیح گردید.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

به منظور آنالیز آماری داده‌ها از ویرایش ۱۶/۰ نرم‌افزار SPSS استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با بکار بردن آزمون Kolmogorov–Smirnov بررسی شد. میانگین‌ها در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آماری One-way ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey و با در نظر گرفتن سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

نتایج هیستوپاتولوژی

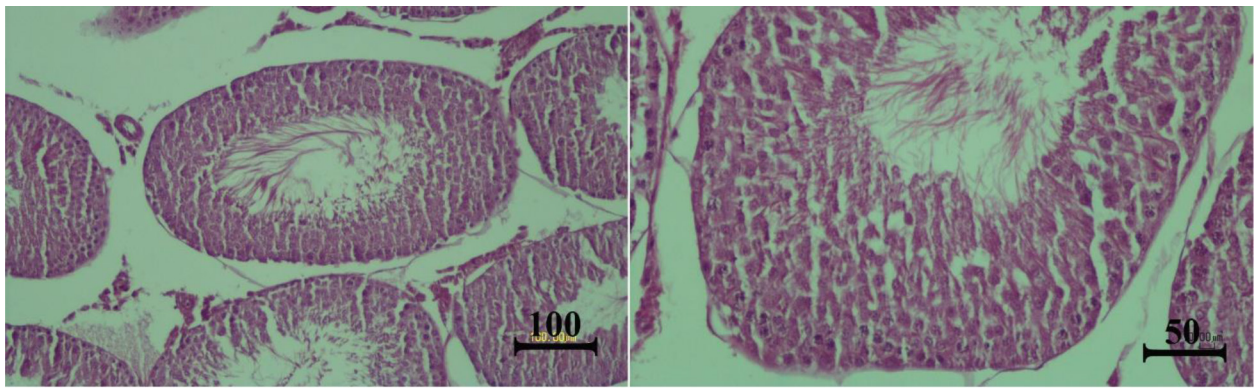
روز دوازدهم

در گروه کنترل، بافت طبیعی بیضه مشاهده گردید. لوله‌های منی‌ساز کاملا گرد یا بیضی شکل بودند و سلول‌های لایه زایای آنها سالم و به صورت منظم دیده شد. در بافت بینابینی، سلول‌های لیدیگ سالم وجود داشت (تصویر ۱). در گروه کنترل کادمیوم لوله‌های منی‌ساز تغییرات نکروز شدیدی را نشان می‌دادند. تمامی رده‌های سلول‌های زایا دچار نکروز شده بودند به طوری که سیتوپلاسم آنها قرمزتر و هسته‌ها دچار کاریولیز و پیکنوز شده بودند. بافت بینابینی حاوی مایع خیز صورتی رنگ بود و تعداد کمی سلول آماسی هم در آن وجود داشت. سلول‌های لیدیگ از بین رفته و قابل مشاهده نبودند (تصویر ۲). در بعضی لوله‌های منی‌ساز مبتلا به آسیب خفیف‌تر، سلول‌های چند هسته‌ای مرکب از اسپرماتیدهای دژنره شده دیده می‌شد (تصویر ۲). در گروه درمان با شیر شتر نکروز اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز مشاهده گردید و اختلاف چشم‌گیری نسبت به گروه کنترل کادمیوم دیده نشد (تصویر ۳). در گروه درمان ویتامین ث نکروز سلول‌های لایه زایای لوله‌های منی‌ساز به همراه خیز در بافت بینابینی با شدت مشابه گروه کنترل کادمیم دیده شد(تصویر ۴). ضایعات گروه درمان همزمان با شیر شتر و ویتامین ث شبیه به گروه کادمیوم و گروه درمان با شیر شتر و گروه درمان با ویتامین ث بود و تمامی لوله‌های منی‌ساز تغییرات نکروتیک شدیدی را نشان می‌دادند و بافت بینابینی حاوی خیز و رشته‌های فیبرین بود (تصویر ۵). امتیاز مربوط به رتبه‌بندی جانسون در همه گروه‌های دریافت کننده کلرید کادمیوم در روز ۱۲ مطالعه نسبت به گروه کنترل به صورت شدید و معنی‌دار کاهش یافت اما بین گروه‌های درمان شده با شیر شتر، ویتامین ث و ترکیب شیر شتر و ویتامین ث و گروه دریافت کننده‌ی کلرید کادمیوم به تنهایی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

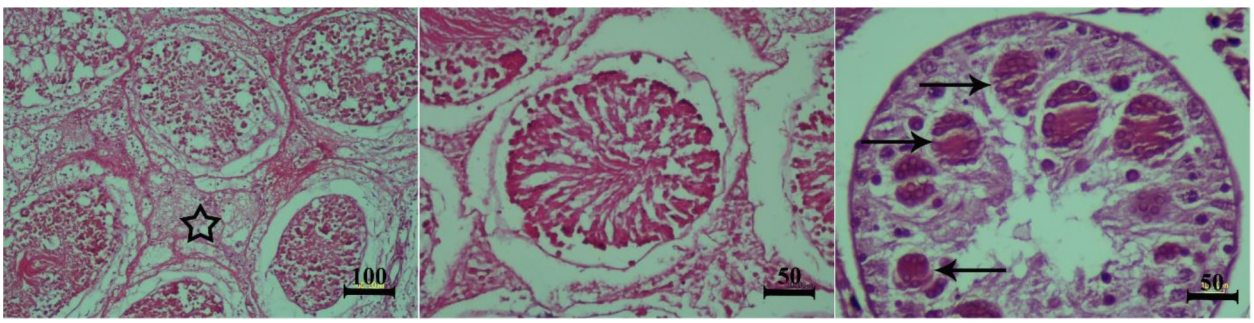
روز بیست و یکم

در گروه کنترل ساختار طبیعی بافت بیضه شامل لوله‌های منی‌ساز با بافت پوششی منظم و بافت بینابینی سالم مشاهده گردید. در گروه کادمیوم لوله‌های منی‌ساز حاوی بقایای اپی‌تلیوم نکروز شده به صورت توده‌های ائوزینوفیلیک بی‌شکل بودند. بعضی از لوله‌ها به دلیل تخلیه سلول‌های نکروزه کولاپس شده و چروکیده به نظر می‌رسیدند. ادم بافت بینابینی نسبت به گروه کادمیوم روز ۱۲ کاهش محسوسی یافته بود (تصویر ۶).

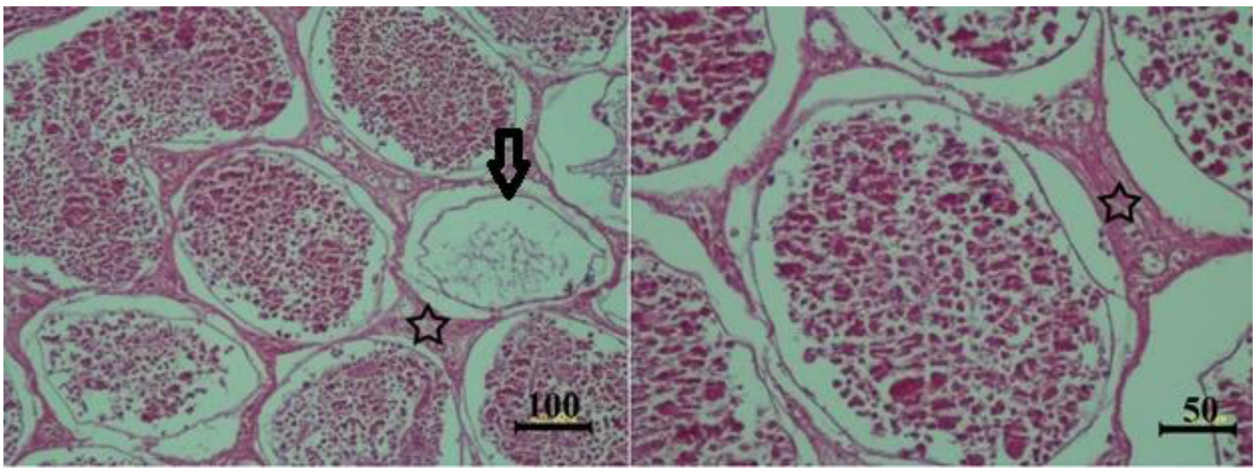
در گروه درمان با شیر شتر ضایعات نکروتیک لوله‌های منی‌ساز مشهود بود و اثری از تغییرات نوزایی و بازسازی لوله‌های منی‌ساز مشاهده نگردید. بافت بینابینی دارای ادم مختصری بود و سلول‌های لیدیگ نکروزه بودند. ضایعات این گروه نسبت به گروه کادمیوم اختلاف محسوسی را نشان نمی‌داد (تصویر ۷). در گروه درمان با ویتامین ث لوله‌های منی‌ساز چروکیده بوده و حاوی بقایای نکروتیک بودند. در بسیاری از لوله‌ها، فضاهای خالی ناشی از پاکسازی سلول‌های نکروتیک وجود داشت. ضایعات این گروه نسبت به گروه کادمیوم و گروه با درمان شیر شتر اختلاف بارزی نداشت (تصویر ۸). ضایعات گروه درمان با شیر شتر و ویتامین ث شبیه به گروه‌های کادمیوم و درمان با شیر شتر و درمان با ویتامین ث در روز ۲۱ بود و هیچ گونه بهبودی نسبت به گروه‌های فوق وجود نداشت، به جز اینکه در بعضی از مناطق در بافت بینابینی فیبروز محدودی وجود داشت (تصویر ۹). در روز ۲۱ نیز امتیاز رتبه‌بندی جانسون در گروه‌های دریافت‌کننده کلریدکادمیوم به صورت معنی‌دار پایین‌تر از گروه کنترل بود اما شدت ضایعات در این گروه‌ها در حدی بود که در هیچکدام از لوله‌های منی‌ساز هیچ رده سلولی قابل مشاهده نبود (جدول ۳).



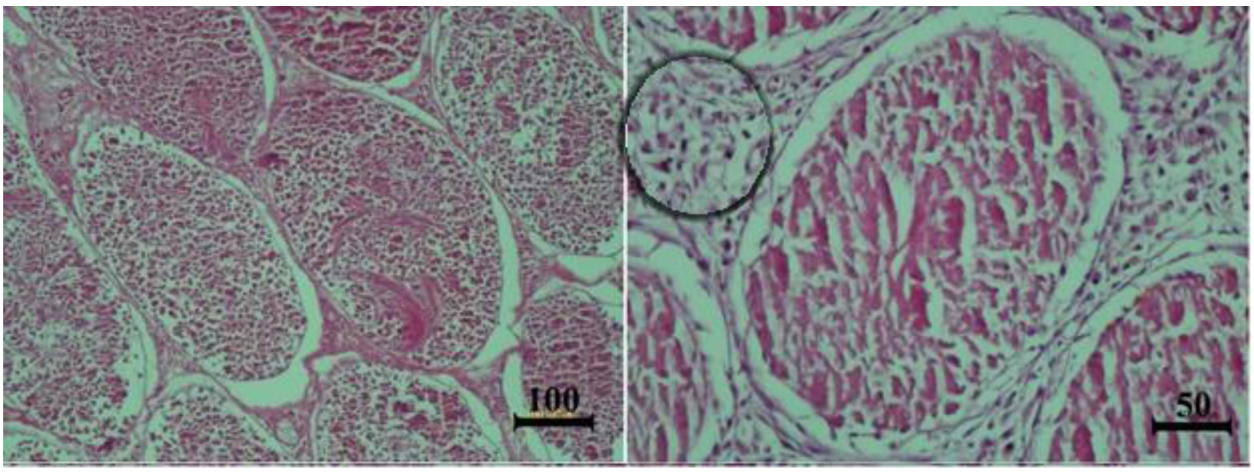
تصویر ۱ - گروه کنترل، ساختار طبیعی لوله‌های منی‌ساز و حضور تمام رده‌های سلولی زایا (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



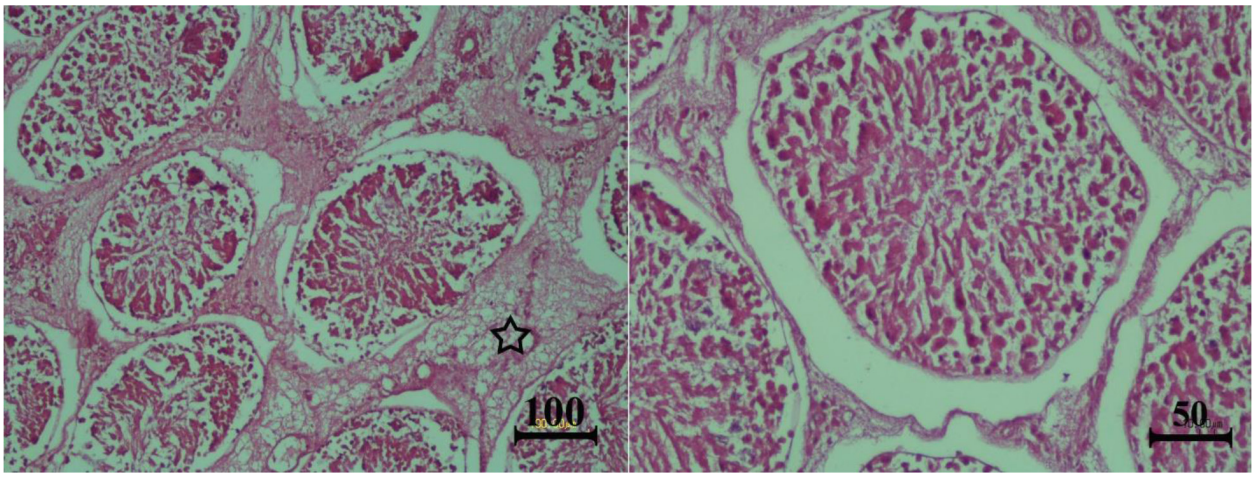
تصویر ۲ - گروه کادمیوم روز ۱۲، تصویر سمت چپ: نکروز شدید سلول‌های زایا در لوله‌های منی‌ساز و ادم بینابینی (ستاره) ، تصویر وسط: در این مقطع از لوله‌های منی‌ساز نکروز شدید بافت پوششی به صورت قرمزتر شدن سطح مقطع مشاهده می شود ، تصویر سمت راست: در این تصویر تشکیل سلول‌های چند هسته‌ای سلول‌ها سلول‌هامشاهده می‌شود (نوک پیکان‌ها) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین)



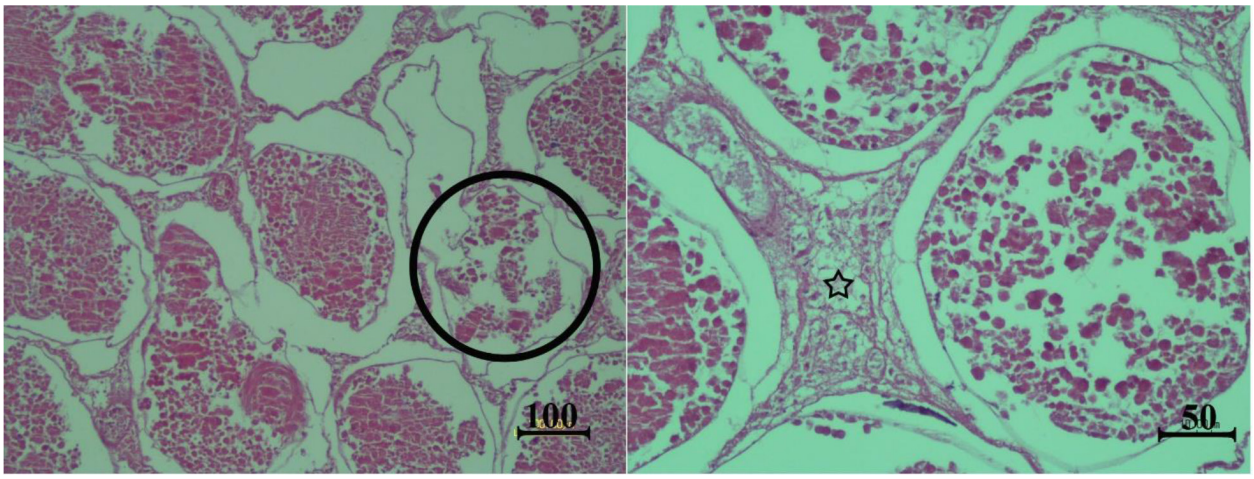
تصویر ۳ - گروه درمان با شیر شتر روز ۱۲، نکروز شدید بافت پوششی لوله‌های منی‌ساز و ادم بینابینی متوسط (ستاره) همچنین از بین رفتن تمام رده های سلول‌های زایا در تعدادی از لوله‌ها (نوک پیکان) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



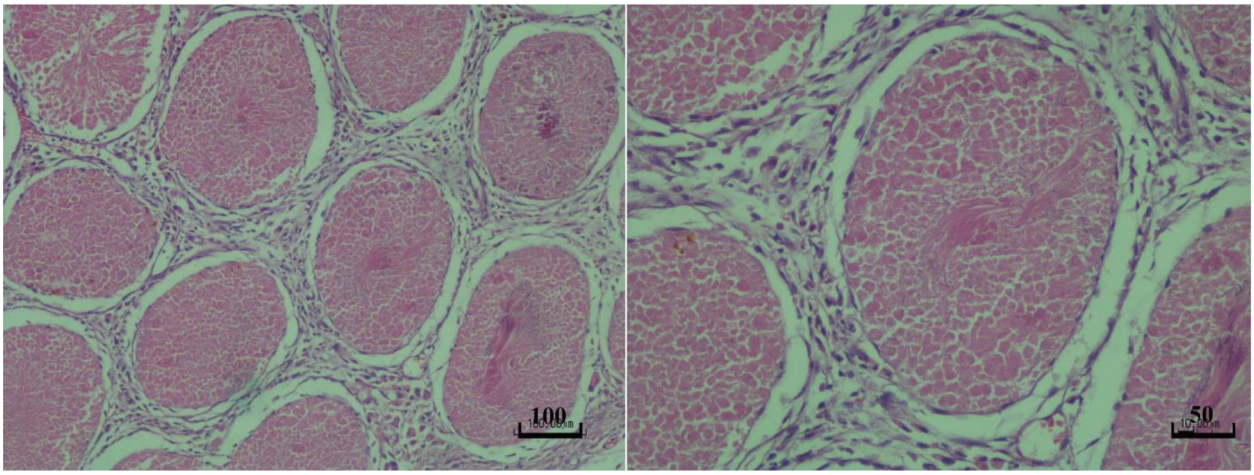
تصویر ۴ - گروه درمان با ویتامین ث روز ۱۲: تغییرات نکروتیک شدید در لوله‌های منی‌ساز فیبروز بینابینی در تصویر سمت راست (دایره) مشاهده می‌شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



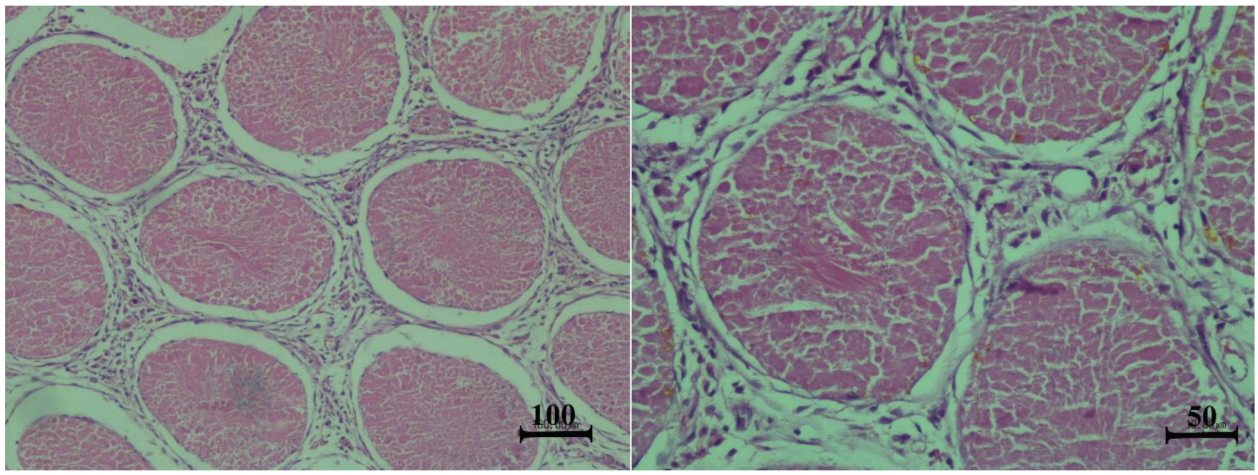
تصویر ۵ - گروه درمان ترکیب شیر شتر و ویتامین ث روز ۱۲: نکروز شدید بافت پوششی لوله‌های منی‌ساز و ادم بینابینی (ستاره) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



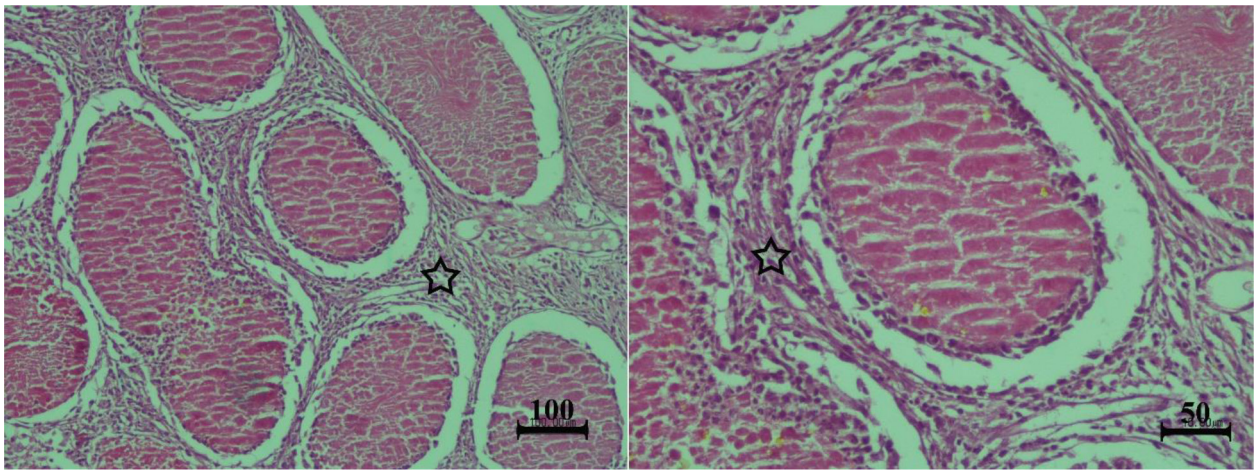
تصویر ۶ - گروه کادمیوم روز۲۱: تصویر سمت چپ، نکروز مشخص بافت پوششی لوله‌های منی‌ساز دیده می‌شود. همچنین مجرای بعضی لوله‌ها با حذف بقایای نکروز شده، کولاپس شده است (دایره) ، تصویر سمت راست: ادم و رشته‌های فیبرین در بافت بینابینی دیده می‌شود (ستاره) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



تصویر ۷ - گروه درمان با شیر شتر روز ۲۱، وجود نکروز در لوله‌های منی‌ساز و فقدان هرگونه بازسازی در آن‌ها به همراه میزان متوسطی از بافت همبند در بین لوله‌ها (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



تصویر ۸ - گروه درمان با ویتامین ث روز ۲۱، نکروز کامل لوله‌های منی‌ساز و فیبروز متوسط بافت بینابینی مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



تصویر ۹ - گروه درمان ترکیب شیر شتر و ویتامین ث روز ۲۱، نکروز کامل لوله‌های منی‌ساز به همراه فیبروز گسترده در بافت بینابینی (ستاره) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).

شاخص‌های استرس اکسیداتیو

در مقایسه میانگین میزان مالون‌دی‌آلدئید و گلوتاتیون پراکسیداز در بافت بیضه موش در گروه های مختلف، ۵ روز پس از تزریق کلرید کادمیوم وقایع به شرح زیر است (جدول ۴):

مالون‌دی‌آلدئید: میزان این ماده در تمام گروه های درمان اعم از گروه‌های Cad+Vit، Cad+M، Cad و Cad+M+Vit به صورت معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). بین گروه‌های درمان شامل درمان با شیر شتر، درمان با ویتامین ث و شیر شتر به همراه ویتامین ث و گروه کنترل کادمیوم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵)، به این مفهوم که درمان‌های انجام شده باعث بهبود شاخص مالون‌دی‌آلدئید نشد.

گلوتاتیون پراکسیداز: سطح گلوتاتیون پراکسیداز در گروه‌های دریافت کننده کلریدکادمیوم به صورت معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). درمان‌های انجام شده با شیر شتر، ویتامین ث و ترکیب شیر شتر با ویتامین ث باعث بهبود این شاخص نشد.

در مقایسه میانگین میزان مالون‌دی‌آلدئید و گلوتاتیون پراکسیداز در بافت بیضه در گروه‌های مختلف، ۱۴ روز پس از تزریق کلریدکادمیوم وقایع به شرح زیر است (جدول۵):

مالون‌دی‌آلدئید: میزان این ماده در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی کلرید کادمیوم به صورت معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). درمان با ویتامین ث در گروه Cad+Vit و نیز گروه Cad+M+Vit باعث کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید نسبت به گروه کادمیوم شد (P< ۰/۰۵). درمان با شیر شتر در گروه Cad+M تاثیری در بهبود میزان مالون‌دی‌آلدئید نسبت به گروه کادمیوم نداشت.

گلوتاتیون پراکسیداز: اگرچه میزان این آنزیم در تمام گروه‌های دریافت کننده کلریدکادمیوم به صورت معنی‌دار پایین‌تر از گروه کنترل بود اما درمان با شیر شتر، ویتامین ث و ترکیب شیر شتر با ویتامین ث تاثیری در بهبود این شاخص نداشت.

بحث

مسمومیت با کادمیوم باعث اختلال در سنتز تستوسترون توسط سلول‌های لیدیگ می‌گردد. تستوسترون برای انجام فرآیند اسپرماتوژنز، بلوغ اسپرم‌ها در اپیدیدیم و عملکرد غدد ضمیمه جنسی بسیار ضروری است و کمبود آن باعث اختلال در باروری می‌شود (۲۸).

علاوه‌براین، مسمومیت با کادمیوم نقش مهمي در القاي استرس اکسیداتیو در بافت بیضه دارد به گونه‌اي که با تولید مقادیر زیادی از رادیکال‌هاي آزاد اکسیژن و به دنبال آن برهم زدن تعادل آنتی‌اکسیدانی زمینه‌ي وارد شدن آسیب به ساختارهاي سلولي در بافت بیضه را فرآهم مي‌کند (۴). در مطالعه‌ی حاضر القاي مسمومیت حاد کادمیوم با دوز ۲ میلي‌گرم به ازاي هر کیلوگرم وزن بدن باعث کاهش شدید و معني‌دار میزان گلوتاتیون پراکسیداز و نیز افزایش شدید و معني‌دار مالون‌دي‌آلدهیدگردید که این نشانه‌اي از بر هم خوردن تعادل اکسیداتیو در بافت بیضه است. عنصر کادمیوم به تنهایي قادر به ایجاد رادیکال‌های آزاد نیست اما به صورت غیرمستقیم باعث تولید رادیکال‌هاي سوپراکسید، هیدروکسیل و نیتریك اکساید مي‌شود (۲۲).

همچنین مسمومیت با کادمیوم باعث آزاد شدن پراکسید هیدروژن از غشاي سلول‌ها مي گردد که از طریق واکنش فنتون (Fenton) منجر به آزاد شدن رادیکال‌هاي آزاد اکسیژن مي‌گردد (۴۱). همچنین کادمیوم با جلوگیري از عملکرد آنزیم‌هایي که باعث تجزیه و کاهش سطح پراکسید هیدروژن در سلول مي‌شوند از جمله آنزیم‌هاي گلوتاتیون ردوکتاز، کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز، باعث تجمع بیش از اندازه پراکسید هیدروژن در سلول‌ها مي‌گردد. یانگ و همکاران (۲۰۰۳) مشاهده کردند که مسمومیت با کادمیوم در بافت بیضه باعث افزایش مقادیر مالون‌دي‌آلدئید در بافت بیضه مي‌شود (۴۶). در مطالعه‌اي دیگر، مسمومیت کادمیوم باعث افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید در اثر پراکسیداسیون لیپیدهاي غشاي سلولي و کاهش آنزیم‌هاي سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز شده است (۴۰). مکانیسم جالب دیگري که کادمیوم به واسطه‌ی آن باعث القاي استرس اکسیداتیو مي‌شود این است که کادمیوم جایگزین آهن و مس موجود در پروتئین‌هاي داخل سیتوپلاسم و غشاي سلول مي‌گردد و در نتیجه آهن و مس آزاد شده باعث تولید رادیکال‌هاي آزاد از طریق واکنش فنتون مي‌شوند (۱۷, ۳۴). کادمیوم علاوه بر القاء استرس اکسیداتیو در بافت بیضه با کاهش بیان ژن های موثر در فرآیند استروئیدوژنز مانند Star، Hsd۳b۱ و Hsd۱۷b۳ باعث کاهش سنتز و ترشح تستوسترون می‌گردد (۳۸).

بر اساس مستندات بالا به نظر مي‌رسد استرس اکسیداتیو نقش فعالي در القاي تخریب ناشي از مسمومیت کادمیوم در سلول‌هاي بافت بیضه دارد و تاکنون مطالعات زیادي از ترکیبات مختلفي که داراي تاثیر آنتي‌اکسیداني هستند براي مقابله با آثار مخرب کادمیوم در بافت بیضه استفاده کرده‌اند. نشان داده شده است که یکبار تجویز زیرپوستی کلرید کادمیوم با دوز ۲mg/kg در عرض ۲۴ ساعت باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در بافت بیضه می-شود و در نتیجه سد خونی-بیضه‌ای را تخریب می‌کند اما تجویز ویتامین ث با افزایش فسفوریلاسیون MAPK p۳۸ وافزایش فعالیت TGF-β۳ از تخریب سد خونی- بیضه ای توسط کلرید کادمیوم جلوگیری می‌کند (۱۸). فاکتور رشد TGF-β۳ و آنزیم پروتئین کیناز MAPK p۳۸ در تنظیم عملکرد اتصالات محکم (tight junction) در محل سد خونی-بیضه‌ای نقش مهمی دارند و کاهش عملکرد این دو فاکتور باعث تخریب سد خونی-بیضه‌ای می‌شود (۴۳،۲۹). در یکي از مطالعاتي که در سال ۲۰۱۷ انجام شده، بابك نژاد و همکاران با استفاده از روي و منیزیم اثرات مخرب ناشي از تزریق طولاني مدت کادمیوم در بافت بیضه را کاهش دادند (۱۲). عنصر روي با پیوند با رادیکال‌هاي آزاد باعث کاهش اثر تخریبي ناشي از آن‌ها شده و نیز باعث افزایش بیان ژن هاي مربوط به آنزیم هاي آنتي‌اکسیدان در داخل سلول‌ها مي‌گردد (۲). همچنین روي هم به صورت مستقیم و هم به صورت غیر مستقیم و از طریق افزایش پروتئین متالوتیونین با کادمیوم آزاد باند شده و آن را از دسترس سلول دور نگه مي‌دارد (۱۵). سن کاپتا و همکاران (۲۰۰۴) نیز نشان دادند که تجویز ویتامین E و ویتامین ث باعث محافظت از بافت بیضه در برابر اثرات مخرب رادیکال‌هاي آزاد در مسمومیت حاد با کادمیوم مي‌شوند (۳۸). همچنین در مطالعات بي‌شمار دیگري که ذکر تمامي

آن‌ها در این مطلب کوتاه نمي‌گنجد انواعي از ترکیبات آنتي‌اکسیدان براي مقابله با اثرات مخرب کادمیوم در بافت بیضه به کار رفته است از جمله: سلنیوم، ملاتونین، انواع ویتامین‌ها و .... (۱, ۸،۱۶،۲۵،۲۶). در مطالعه‌ی حاضر از ویتامین ث با دوز ۵۰ میلي‌گرم به ازاي هر کیلوگرم روزانه استفاده شد ولي در بررسي پاتولوژي باعث جلوگیري از تخریب بافتي ناشي از مسمومیت حاد القا شده با کادمیوم نگردید. درمان با ویتامین ث تاثیري در میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در روز ۵ و ۱۴ بعد از القاي مسمومیت با کادمیوم نداشت. همچنین درمان با ویتامین ث باعث کاهش معني‌دار میزان مالون‌دي‌آلدئید که شاخصي از پراکسیداسیون لیپیدهاي غشاي سلولي در بافت بیضه مي‌باشد، در روز ۵ بعد از القا نشد. تنها در روز ۱۴ بعد از القاي مسمومیت با کادمیوم درمان با ویتامین ث به صورت معني‌دار میزان مالون‌دي‌آلدئید را کاهش داد. همانطور که در مقالات متعدد به آن اشاره شده است این اثر ویتامین ث ناشي از خواص آنتي‌اکسیداني آن در موارد مسمومیت القا شده با کادمیوم مي‌باشد. با توجه به اینکه اکثر آنتی‌اکسیدان‌های مورد استفاده در مقالات باعث بهبود جزیی و یا کامل بافت بیضه در موارد مسمومیت با کلریدکادمیوم شده‌اند، به نظر می‌رسد که مهم‌ترین روش کلریدکادمیوم برای ایجاد تخریب، آزاد شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن است (۴۷). در مطالعه‌ی حاضر تجویز ویتامین ث به جز اثری که در کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید در روز ۱۴ داشت که نشان دهنده‌ی خواص آنتی‌اکسیدانی آن است (مطابق با نتایج مطالعات قبلی)، نتوانست اثرات مخرب ناشی از کلریدکادمیوم در بافت بیضه را کاهش دهد. با توجه به اینکه طبق گفته‌های قبلی، مکانیسم اصلی تخریب ناشی از کلرید کادمیوم تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت بیضه می‌باشد، در مطالعه‌ی حاضر ویتامین ث با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم نتوانسته است این اثر را خنثی کند و یا تخفیف دهد. این یافته با نتایج بررسی پارامترهای استرس اکسیداتیو در مطالعه‌ی حاضر نیز همخوانی دارد.

شیر شتر داراي محدوده‌ی وسیعي از خواص بیولوژیك مختلف از جمله فعالیت‌هاي ضدمیکروبي، آنتي‌اکسیداني، ضدترومبوتیك، کاهش‌دهنده‌ی فشار خون و تنظیم فعالیت سیستم ایمني مي‌باشد (۳۷). در طب سنتي از شیر شتر براي درمان بیماري‌هاي یرقان، اختلالات طحال، آسم، کم خوني و دیابت استفاده مي‌کنند (۲۷، ۳۶). شیر شتر داراي مقادیر بالایي لاکتوفرین مي‌باشد که از خانواده گلیکوپروتئین‌هاي انتقال‌دهنده‌ی آهن است و عمده‌ی خواص آنتي‌اکسیداني، ضدسرطاني و ضدالتهابي شیر شتر را مربوط به این ماده مي‌دانند (۲۰). شیر شتر مي‌تواند از طریق ایجاد تغییراتي در فعالیت آنزیم‌هاي آنتي‌اکسیدان و مقادیر مولکول‌هاي آنتي‌اکسیداني منجر به کاهش استرس اکسیداتیو شود (۳). در مطالعه‌ی الهاشم و همکاران (۲۰۰۹) تاثیرات مثبت شیر شتر در کاهش تخریب ناشي از مسمومیت کادمیوم در بافت‌هاي کبد و کلیه نشان داده شده است (۶). آن‌ها در پژوهش خود این گونه نتیجه‌گیري کردند که مصرف شیر شتر از دو راه مي‌تواند عوارض ناشي از مسمومیت با کادمیوم را کاهش دهد:۱- .باند شدن ترکیبات موجود در شیر شتر با کادمیوم آزاد و ۲-. خواص آنتي‌اکسیداني قوي شیر شتر (۲۱). گزارش شده است که شیر شتر داراي مقادیر بالاي ویتامین‌هاي B۲، A، C و E و نیز مقادیر بالاي منیزیم مي‌باشد (۲۷). این ویتامین‌ها باعث خواص آنتي‌آکسیداني شیر شتر براي محافظت از بافت‌ها در برابر مسمومیت با فلزات سنگین مي‌شود. از طرفي منیزیم باعث محافظت از سلول‌ها در برابر مسمومیت با فلزاتي مانند آلومینیوم، جیوه، سرب، کادمیوم، بریلیوم و نیکل مي‌گردد. کمبود منیزیم باعث تولید رادیکال‌هاي آزاد اکسیژن (ROS) در بافت‌ها مي‌شود (۳۰). دالاك و همکاران نشان دادند که مصرف شیر شتر در موش‌هاي صحرایي دچار کم خوني القا شده توسط کادمیوم باعث کاهش رادیکال‌هاي آزاد و تخفیف استرس اکسیداتیو مي‌شود (۱۹). همچنین تجویز شیر شتر باعث بهبود شاخص‌هاي استرس اکسیداتیو و همچنین تخریب ایجاد شده در بافت بیضه در اثر مسمومیت با کلرید آلومینیوم شده است (۵). در مطالعه‌ي حاضر مصرف شیر شتر باعث بهبود شاخص‌هاي استرس اکسیداتیو در بافت بیضه‌ی موش‌هاي صحرایي مسموم شده با کلریدکادمیوم نشد. همچنین در بررسي‌های پاتولوژیك بهبود نسبي در ضایعات ایجاد شده در بافت بیضه موش‌هاي صحرایي مسموم شده با کلریدکادمیوم ایجاد نکرد. این نتایج در تناقض با نتایج مطالعات قبلي مي‌باشد که همگي تاثیرات مثبت ناشي از شیر شتر بر بافت بیضه را مشاهده کرده بودند.

نتیجه گیري

مصرف شیر شتر نمي‌تواند در مدت ۱۴ روز از تخریب ایجاد شده در بافت بیضه در اثر مسمومیت حاد القا شده با کلریدکادمیوم جلوگیری کند. تنها مصرف ویتامین ث باعث کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدهاي غشاي سلول در بافت بیضه در روز ۱۴ بعد از القاء مسمومیت حاد با کلریدکادمیوم گردید. نتایج بدست آمده از بررسی شاخص‌هاي استرس اکسیداتیو نشان داد که مصرف شیر شتر و ویتامین ث و همچنین ترکیب این دو ماده نمی‌تواند بر استرس اکسیداتیو ناشی از تجویز کلریدکادمیوم با دوز ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم غلبه کند. از آنجاکه مکانیسم اصلی تخریب ناشی از مسمومیت با کلریدکادمیوم ایجاد استرس اکسیداتیو است، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که شیر شتر و ویتامین ث در مقادیر مصرف شده در این مطالعه نمی‌تواند باعث خنثی کردن کامل رادیکال‌های آزاد ناشی از تجویز کلرید کادمیوم و نهایتا بهبود ضایعات بافتی در بیضه گردد. در راستای تکمیل مطالعه‌ی اخیر می‌توان از فرم خوراکي کلریدکادمیوم با دوزهای پایین‌تر براي القاي مسمومیت مزمن طولاني مدت در بافت بیضه استفاده کرد، چراکه معمولا مسمومیت‌های مربوط به کلریدکادمیوم از این نوع هستند و در انسان در طول زمان در اثر مصرف سیگار یا مواد آلوده به کلریدکادمیوم ایجاد می‌گردد و اثرات تخریبی خفیف‌تری نسبت به القاء حاد مسمومیت با کلریدکادمیوم در شکل تزریقی دارد. همچنین می توان با مطالعه براي مدت طولاني‌تر و بررسي شاخص‌هاي مربوط به ارزیابي اسپرم در بازه‌هاي ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز بعد از شروع مطالعه نتایج را مورد ارزیابی قرار داد.

جدول ۱ - نحوه طراحی گروه‌های مختلف مطالعه بصورت خلاصه.

گروه	پروتکل درمانی	تجویز روزانه
کنترل (C گروه)	روز صفرشروع درمان-روز۷ تزریق ۱سی سی نرمال سالین داخل صفاق-روز ۱۲نمونه گیری ۵ سر رت-روز ۲۱ نمونه گیری ۵ سر رت	ساعت ۸صبح:۲ سی سی آب آشامیدنی بصورت خوراکی ساعت۱۰صبح:۲ سی سی آب آشامیدنی بصورت خوراکی
کنترل کادمیوم (Cad)	روز صفر شروع درمان- روز ۷ تزریق کلرید کادمیوم (۲mg/kg) داخل صفاق- روز ۱۲ نمونه گیری ۵ سر رت- روز ۲۱ نمونه گیری ۵ سر رت	ساعت ۸صبح:۲ سی سی آب آشامیدنی بصورت خوراکی ساعت۱۰صبح:۲ سی سی آب آشامیدنی بصورت خوراکی
کادمیوم+ شیر شتر (Cad+M)	روز صفر شروع درمان- روز ۷ تزریق کلرید کادمیوم (۲mg/kg) داخل صفاق- روز ۱۲ نمونه گیری ۵ سر رت- روز ۲۱ نمونه گیری ۵ سر رت	ساعت ۸ صبح شیر شتر(۱۰cc/kg) به صورت خوراکی ساعت۱۰صبح:۲ سی سی آب آشامیدنی بصورت خوراکی
کادمیوم+ ویتامین ث (Cad+vit)	روز صفر شروع درمان- روز ۷ تزریق کلرید کادمیوم (۲mg/kg) داخل صفاق- روز ۱۲ نمونه گیری ۵ سر رت- روز ۲۱ نمونه گیری ۵ سر رت	ساعت ۸ صبح:۲ سی سی آب آشامیدنی بصورت خوراکی ساعت ۱۰ صبح: ویتامین ث (۵۰mg/kg)به صورت خوراکی
کادمیوم+ویتامین ث+شیر شتر (Cad+M+Vit)	روز صفر شروع درمان- روز ۷ تزریق کلرید کادمیوم (۲mg/kg) داخل صفاق- روز ۱۲ نمونه گیری ۵ سر رت- روز ۲۱ نمونه گیری ۵ سر رت	ساعت ۸ صبح: شیر شتر(۱۰cc/kg) به صورت خوراکی ساعت ۱۰ صبح: ویتامین ث (۵۰mg/kg) به صورت خوراکی

جدول ۲ - نحوه امتیاز دهی در بررسی رتبه بندی جانسون.

رتبه بندی	یافته های هیستوپاتولوژیک
۱	عدم وجود هرگونه سلول داخل لوله ها
۲	عدم وجود هر گونه سلول زایایی داخل لوله ها، فقط حضور سلول های سرتولی
۳	فقط حضور سلول های اسپرماتوگونی و سلول های سرتولی
۴	تعداد زیادی سلول اسپرماتوگونی، کمتر از پنج عدد سلول اسپرماتوسیت، عدم وجود سلول های اسپرماتید و اسپرماتوزوآ
۵	تعداد زیادی سلول اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت، عدم وجود سلول های اسپرماتید و اسپرماتوزوآ
۶	تعداد زیادی سلول اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت، ۵-۲۰ عدد سلول اسپرماتید، عدم وجود اسپرماتوزوآ
۷	تعداد زیادی سلول اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید، عدم وجود اسپرماتوزوآ
۸	حضور ۵-۱۰ عدد اسپرماتوزوآ
۹	تعداد زیادی اسپرماتوزوآ، اپیتلیوم زایای نامرتب با سلول های زایای فاصله دار، از هم گسیختگی لومن لوله ها
۱۰	اسپرماتوژنز کامل، تعداد زیاد اسپرماتوزوآ، اپیتلیوم زایای کاملا مرتب و قطر طبیعی لومن لوله ها

جدول ۲ - رتبه بندی جانسون در گروه های مختلف در روز ۱۲ و ۲۱ درمان.(موارد دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده ی تفاوت آماری معنی‌دار (p≤ ۰/۰۵) در بین گروه‌ها می‌باشد.

گروه	میانگین امتیاز جانسون±خطای استاندارد (روز ۱۲)	میانگین امتیاز جانسون±خطای استاندارد (روز ۲۱)
کنترل	۸/۹۸ ± ۰/۱۴ [a]	۹/۲۳ ± ۰/۰۹ [a]
کادمیوم	۲/۱۳ ± ۰/۱۱۹ [b]	۱ [b]
کادمیوم+شیرشتر	۱/۹۸ ± ۰/۰۵ [b]	۱ [b]
کادمیوم+ویتامین ث	۲/۱۱ ± ۰/۰۷ [b]	۱ [b]
کادمیوم+شیرشتر+ویتامین ث	۲/۳۱ ± ۰/۱۶ [b]	۱ [b]

جدول ۳ - میانگین میزان مالون دی آلدهید(MDA) و گلوتاتیون پراکسید(Gpx) در بافت بیضه بصورت میانگین±خطای استاندارد در گروه های مختلف در روز ۵ بعد از تزریق کادمیوم.(موارد دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده ی تفاوت آماری معنی دار(p≤ ۰/۰۵) در بین گروه ها می باشد.

گروه	میزان (nmol/mg)MDA ± SE	میزان (mU/mg)Gpx±SE
کنترل	۴/۴۳۹ ± ۰/۵۴۶ [a]	۳۰۲ ± ۱۴ [a]
کادمیوم	۲۱/۶۵۰ ± ۱/۴۱۹ [b]	۱۸۹ ± ۳۱ [b]
کادمیوم+شیرشتر	۲۲/۲۸۸ ± ۱/۶۴۰ [b]	۲۰۱ ± ۲۴ [b]
کادمیوم+ویتامین ث	۲/۸۴۹ ± ۰/۷۲۰ [b]	۲۱۰ ± ۱۷ [b]
کادمیوم+شیرشتر+ویتامین ث	۲۱/۳۱۳ ± ۱/۲۶۰ [b]	۱۹۲ ± ۲۳ [b]

جدول ۴ - میانگین میزان مالون دی آلدهید(MDA) و گلوتاتیون پراکسید (Gpx) در بافت بیضه بصورت میانگین±خطای استاندارد در گروه‌های مختلف در روز ۱۴ بعد از تزریق کادمیوم. موارد دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده ی تفاوت آماری معنی دار (p≤ ۰/۰۵) در بین گروه ها می باشد.

گروه	میزان (nmol/mg)MDA±SE	میزان (mU/mg)Gpx±SE
کنترل	۲/۴۹۹ ± ۰/۳۴۴ [a]	۳۶۸ ± ۲۱ [a]
کادمیوم	۱۸/۶۴۱ ± ۱/۲۴۲ [b]	۱۵۶ ± ۱۳ [b]
کادمیوم+شیرشتر	۱۹/۹۳۲ ± ۱/۵۳۲ [b]	۱۶۸ ± ۱۹ [b]
کادمیوم+ویتامین ث	۱۰/۰۷۸ ± ۰/۲۲۷ [c]	۱۹۵ ± ۱۵ [b]
کادمیوم+شیرشتر+ویتامین ث	۱۲/۱۸۲ ± ۰/۹۰۴ [c]	۱۷۲ ± ۱۳ [b]

منابع مورد استفاده

1. Acharya, U. R., M. Mishra, J. Patro and M. K. Panda. 2008. Effect of vitamins C and E on spermatogenesis in mice exposed to cadmium. Reproductive Toxicology 25(1):84-88.

2. Ahmadi, S., R. Bashiri, A. Ghadiri-Anari, A. Nadjarzadeh. 2016. Antioxidant supplements and semen parameters: An evidence based review. International Journal of Reproductive Biomedicine 14(12):729.

3. Al-Ayadhi, L. Y. and N. E. Elamin. 2013. Camel milk as a potential therapy as an antioxidant in autism spectrum disorder (ASD). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 13:1-8

4. Al-Azemi, M., F. E. Omu, E. O. Kehinde, J. T. Anim, M. A. Oriowo and A. E. Omu. 2010. Lithium protects against toxic effects of cadmium in the rat testes. Journal of Assisted Reproduction and Genetics 27:469-476

5. Al-Hashem, F. H. 2009. Camel's milk alleviates oxidative stress and lipid peroxidation induced by chronic aluminum chloride exposure in rat's testes. American Journal of Applied Sciences 6(11):1868.

6. Al-Hashem, F., M. Dallak, N. Bashir, M. Abbas, R. Elessa, M. Khalil and M. Al Khatib . 2009. Camel's milk protects against cadmium chloride induced toxicity in white albino rats. American Journal of pharmacology and toxicology 4(3):107-117.

7. Allamaneni, S.S. 2004. Oxidants and antioxidants in human fertility. Middle East Fertility Society Journal 9(3): 136-145.

8. Amara, S., H. Abdelmelek, C. Garrel, P. Guiraud, T. Douki, J. L. Ravanat, A. Favier, M. Sakly and K. Ben Rhouma. 2008. Preventive effect of zinc against cadmium-induced oxidative stress in the rat testis. Journal of Reproduction and Development 54(2):129-134.

9. Arabi, M. Cadmium as an etiology of sperm dysfunction in Holstein bulls. 2006. Iranian Journal of Veterinary Research 16: 29-36.

10. Arbabian, M., M. Amirzadegan, M. Tavalaee and M. H. Nasr-Esfahani. 2018.Oxidative Stress and Its Effects on Male Infertility: A Review Study. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences 17(3):253-274.

11. ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services; Atlanta, GA: 2008. Cadmium toxicity - Case Studies in Environmental Medicine.

12. Babaknejad, N., S. Bahrami, A, A, Moshtaghie, H. Nayeri, P. Rajabi and F. G. Iranpour. 2018. Cadmium testicular toxicity in male Wistar rats: protective roles of zinc and magnesium. Biological Trace Element Rresearch 185:106-115.

13. Behairy, A., N.I. El-Sharkawy, T.M. Saber, M.M. Soliman, M.M.M. Metwally, G.I. Abd El-Rahman, Y.M. Abd-Elhakim and M.M. El Deib. 2020. The Modulatory Role of Vitamin C in Boldenone Undecylenate Induced Testicular Oxidative Damage and Androgen Receptor Dysregulation in Adult Male Rats. Antioxidants 9(11): 1053-1069.

14. Bhardwaj, J.K., P. Kumari, P. Saraf and A.S. Yadav. 2018. Anti-apoptotic effects of vitamins C and E against cypermethrin-induced oxidative stress and spermatogonial germ cell apoptosis. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology 32(8): e22174

15. Bonda, E., T. Włostowski and A. Krasowska. 2004. Testicular toxicity induced by dietary cadmium is associated with decreased testicular zinc and increased hepatic and renal metallothionein and zinc in the bank vole (Clethrionomys glareolus). Biometals 17:615-624.

16. Burukoğlu, D. and C. Bayçu. 2008. Protective effects of zinc on testes of cadmium-treated rats. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 81:521-524.

17. Casalino, E., C. Sblano and C. Landriscina. 1997. Enzyme activity alteration by cadmium administration to rats: the possibility of iron involvement in lipid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics 346(2):171-179.

18. Chen, N., P. Su, M. Wang and Y.M. Li. 2018. Ascorbic acid inhibits cadmium-induced disruption of the blood-testis barrier by regulating oxidative stress-mediated p38 MAPK pathways. Environmental Science and Pollution Research 25: 21713–21720.

19. Dallak M. 2009. Camel's milk protects against cadmium chloride-induced hypocromic microcytic anemia and oxidative stress in red blood cells of white albino rats. American Journal of Pharmacology and Toxicology 4(4):134-141.

20. Faye, B. and P. Esenov. Desertification combat and food safety: the added value of camel producers: IOS Press; 2005.

21. Galali, Y. and H. Al-Dmoor. 2019. Miraculous properties of camel milk and perspective of modern science. Journal of Family Medicine and Disease Prevention 5(1):1-7.

22. Galán, A., L. García-Bermejo, A. Troyano, N. E. Vilaboa, C. Fernández, E. de Blas and P. Aller. 2001. The role of intracellular oxidation in death induction (apoptosis and necrosis) in human promonocytic cells treated with stress inducers (cadmium, heat, X-rays). European journal of cell biology 80(4):312-320.

23. Hammam, A. R. 2019. Compositional and therapeutic properties of camel milk: a review. Emirates Journal of Food and Agriculture 19:148-52.

24. Hasani-Ranjbar, S., B. Larijani and M. Abdollahi. 2009. A systematic review of the potential herbal sources of future drugs effective in oxidant-related diseases. Inflammation & Allergy-Drug Targets 8(1):2-10.

25. Kara, H., A. Cevik, V. Konar, A. Dayangac and M. Yilmaz. 2007. Protective effects of antioxidants against cadmium-induced

oxidative damage in rat testes. Biological Trace Element Research 120:205-211.

26. Kini, R. D., Y. Tripathi, C. Raghuveer, S. A. Pai, C. Ramaswamy and P. Kamath. 2011. Role of vitamin C as an antioxidant in cadmium chloride induced testicular damage. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology 2: 484-488.

27. Knoess, K.Milk production of the dromedary. Workshop on camels, Khartoum, Sudan, 18-20 December 1979; 1980: International Foundation for Science.

28. Laskey, J. and P. Phelps. 1991. Effect of cadmium and other metal cations on in vitro Leydig cell testosterone production. Toxicology and applied pharmacology 108(2):296-306.

29. Lui, W.Y., W.M. Lee and C.Y. Cheng. 2001 Transforming growth factor-beta3 perturbs the inter-Sertoli tight junction permeability barrier in vitro possibly mediated via its effects on occludin, zonula occludens-1, and claudin-11. Endocrinology 142:1865–1877.

30. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in plant science 7(9):405-410.

31. Naseri, M. 2004. Traditional Iranian medicine (TIM) and its promotion with guidelines of world health organization. Daneshvar Scientific-Research Journal of Shahed University 2004 52:66-53.

32. Palani, A. and A. Alahmar. 2020. Impact of oxidative stress on semen parameters in normozoospermic infertile men: a case–control study. African Journal of Urology 26: 50-57.

33. Pastuszak, A. W., A.S. Herati, M. L. Eisenberg, C. Cengiz, P. H. Langlois, T. P. Kohn, D. J. Lamb and I. L. Larry. 2019. The risk of birth defects is not associated with semen parameters or mode of conception in offspring of men visiting a reproductive health clinic. Human Reproduction 34(4):733-9.

34. Price, D. J. and J. Joshi. 1983. Ferritin. Binding of beryllium and other divalent metal ions. Journal of Biological Chemistry 258(18):10873-10880.

35. Raeeszadeh, M., M. Fallah and E. Salimi naghani. 2018. The Comparison of the Effect of Origanum Vulgar Aqueous Extract and Vitamin C on the Control of Cadmium Chloride Damage in Testicular Tissue in Male Rats. Journal of Babol University od Medical Sciences 20 (8):44-50

36. Rao, M., R. Gupta and N. Dastur. 1970. Camels' milk and milk products. Indian Journal of Dairy Science 23(2):71-78.

37. Saltanat, H., H. Li, Y. Xu, J. Wang, F. Liu and X. Geng. 2009. The influences of camel milk on the immune response of chronic hepatitis B patients. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology 25(5):431-433.

38. Sen Gupta, R. S., E. S. Gupta, B.K. Dhakal, A. R. Thakur and J. Ahnn. 2004. Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species. Molecules and cells 17(1):132-139.

39. Siu, E. R., D.D. Mruk, C.S. Porto and C.Y. Cheng. 2009. Cadmium-induced testicular injury. Toxicology and applied pharmacology 238(3):240-249.

40. Toplan, S., D. Ozcelik, N. Dariyerli, and M. C. Akyolcu. 2003. Oxidant and antioxidant status of cadmium administered rats. Journal de Physique Archives 107: 1309-1312.

41. Watanabe, M. and T. Suzuki. 2002. Involvement of reactive oxygen stress in cadmium-induced cellular damage in Euglena gracilis. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 131(4):491-500.

42. WHO. Air Quality Guidelines. World Health Organization.Regional Office for Europe; Copenhagen, Denmark: 2000. Cadmium.

43. Xia, W., D.D. Mruk, W.M. Lee and C.Y. Cheng. 2006. Differential interactions between transforming growth factor-beta3/TbetaR1, TAB1, and CD2AP disrupt blood-testis barrier and Sertoli-germ cell adhesion. The Journal of Biological Chemistry 281:16799–16813.

44. Yagil, R.R. 2013. Comparative Alternative Medicinal (CAM) Properties in Camel Milk for Treatment of Epidemic Diseases. Journal of Agricultural Science and Technology 3:575–580.

45. Yang, H.S., D. K. Han, J. R. Kim and J. C. Sim. 2006. Effects of α-tocopherol on cadmium-induced toxicity in rat testis and spermatogenesis. Journal of Korean Medical Science 21(3):445-451.

46. Yang, J. M., M. Arnush, Q. Y. Chen, X. D. Wu, B. Pang and X. Z. Jiang. 2003. Cadmium-induced damage to primary cultures of rat Leydig cells. Reproductive toxicology 17(5):553-560.

47. Zhu, Q., X. Li and R.S. Ge. 2020. Toxicological Effects of Cadmium on Mammalian Testis. Frontiers in Genetics 26)11(:527-536.

48. Zibaee, S., S.M. Hosseini, M. Yousefi, A. Taghipour, M.A. Kiani and M.R. Noras. 2015. Nutritional and Therapeutic Characteristics of Camel Milk in Children: A Systematic Review. Electronic Physician 7(7):1523-1528.