



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

تأثير الجوسيبول في فسلجة مبايض الجرذان: دور الكورستين والكرمين

محمود أحمد عبدالله المحمود

رسالة ماجستير

الطب البيطري / فسلجة بيطرية

بإشراف

الأستاذ الدكتور

فدوى خالد توفيق

تأثير الجوسيبول في فسلجة مبايض الجرذان: دور الكورستين والكرمين

رسالة تقدم بها

محمود أحمد عبدالله المحمود

إلى

مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل

في اختصاص الطب البيطري / فسلجة بيطرية

وهي جزء من متطلبات شهادة الماجستير

بإشراف

الأستاذ الدكتور

فدوى خالد توفيق

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

اقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ ﴿1﴾ خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ

﴿2﴾ اقْرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ ﴿3﴾ الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ ﴿4﴾ عَلَّمَ

الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ ﴿5﴾

صدق الله العظيم

سورة العلق الايات (1-5)

إقرار المشرف

أشهد أنّ إعداد هذه الرسالة قد جرى بإشرافي في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في إختصاص الطب البيطري / فسلجة بيطرية.

التوقيع:

المشرف: أ. د. فدوى خالد توفيق

التاريخ: / / ٢٠٢٢ م

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أنّ هذه الرسالة الموسومة تأثير الجوسيبول في فسلجة مبايض الجرذان: دور الكورستين والكرميين قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر لإسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم: م. د. عبير طارق ظاهر

التاريخ: / / ٢٠٢٢ م

إقرار رئيس فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والادوية

بناءً على التوصيتين المقدمتين من قبل المشرف والمقوم اللغوي، أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ. د. نشأت غالب مصطفى

التاريخ: / / ٢٠٢٢ م

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات المقدمة من قبل المشرف والمقوم اللغوي ورئيس فرع الفسلجة و الكيمياء الحياتية والادوية ، أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ. د. رعد عبد الغني السنجري

التاريخ: / / ٢٠٢٢ م

إقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة التقويم والمناقشة قد أطلعنا على هذه الرسالة وناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ / / ٢٠٢٢ م وأنه جدير لنيل شهادة الماجستير في اختصاص الفسلجة البيطرية.

عضو لجنة المناقشة	عضو لجنة المناقشة
أ.م.د. هيام نذير متي	أ.م.د. رنا عامر عاصم
التاريخ: / / ٢٠٢٢ م	التاريخ: / / ٢٠٢٢ م

عضو لجنة المناقشة (المشرف)	رئيس لجنة المناقشة
أ. د. فدوى خالد توفيق	أ. د. براء نجم العقيلي
التاريخ: / / ٢٠٢٢ م	التاريخ: / / ٢٠٢٢ م

قرار مجلس الكلية

أجتمع مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل بجلسته () والمنعقدة بتاريخ / / ٢٠٢٢ م وقرر منحه شهادة الماجستير في اختصاص الفسلجة البيطرية.

عميد الكلية	مقرر مجلس الكلية
أ. د. ظافر محمد عزيز	أ. د. رعد عبد الغني بشير
التاريخ: / / ٢٠٢٢ م	التاريخ: / / ٢٠٢٢ م

الإهداء

إلى من شرفني بحمل اسمه ، والذي رحمه الله تعالى ...
من بذل الغالي والنفيس في سبيل وصولي لدرجة علمية عالية
ورحل قبل ان يرى ثمرة غرسه...
إلى نور عيني وضوء دربي ومهجة حياتي
أمي ثم أمي ثم أمي.. من كانت دعواتها وكلماتها رفيق الألق والتفوق ..
إلى رفيقة دربي واقرب الناس لنفسي التي لم تبخل بوقت
او جهد لمساعدتي ... زوجتي الغالية
إلى السند والعضد والساعد إخواني وأخواتي
أزف لكم الاهداء حبا ورفعة وكرامة

الباحث

شكر وتقدير

بسم الله الرحمن الرحيم، والصلاة والسلام على خير خلق الله سيدنا محمد وعلى آله وصحبه الطيبين الطاهرين ..

فبعد أن أنهيت دراستي لا يسعني إلا أن أحمد الله وأشكره على رحمته التي وسعت كل شيء وأسأله أن يعم الخير والسلام على عراقنا.

أتقدم بالشكر الجزيل إلى جامعة الموصل و عمادة كلية الطب البيطري والسيد رئيس فرع الفلسفة والكيمياء الحياتية والادوية لجهودهم الطيبة في توفير المواد والمستلزمات المطلوبة لإجراء البحث.

و اتوجه بخالص الشكر والثناء الى مشرفتي أ. د. فدوى خالد توفيق التي مهدت لي طريق العلم والمعرفة ومدت لي يد العون والمساعدة طوال مدة البحث.

كما اتوجه بالشكر والعرفان إلى كل من اعانني في اتمام هذه الرسالة ، وأقدم اعتزازي وشكري الجزيل الى عائلتي واهلي و اصدقائي لدورهم الكبير في دعمي ماديا ومعنويا أثناء مسيرة البحث.

الباحث

الخلاصة

هدفت الدراسة الى التقصي عن تأثير الجوسيبول على بعض الوظائف الفسلجية للمبايض فضلا عن التحري عن الدور الوقائي لكل من الكورستين والكرميين ضد تأثير الجوسيبول. استخدم في التجربة ثمانٍ وأربعون من إناث الجرذان البيض، قسمت الى ست مجاميع شملت مجموعة السيطرة (زيت الذرة)، الجوسيبول (40 ملغم/كغم من وزن الجسم)، الكورستين (100 ملغم/ كغم من وزن الجسم)، الكرميين (200 ملغم / كغم من وزن الجسم)، الجوسيبول + الكورستين (40 و 100 ملغم / كغم من وزن الجسم)، الجوسيبول + الكرميين (40 و 200 ملغم / كغم من وزن الجسم). كانت جميع المعاملات عن طريق الفم باستخدام التغذية الانبوبية من عمر 21 يوما واستمرت 35 يوماً. حيث اوضحت نتائج معاملة اناث الجرذان بالجوسيبول حدوث انخفاض معنوي في وزن الجسم، وزن المبايض، وزن الرحم، مستوى الكلوتاتايون، اعداد الاجسام الصفر، اعداد الجريبات الغارية مقارنة بمجموعة السيطرة. في حين كان هناك ارتفاع معنوي في مستوى المالوندايالديهيد وانزيم الكاسبيز-3 في نسيج المبيض واعداد الجريبات النامية مقارنة بمجموعة السيطرة. ادت المعاملة بالكورستين وحده الى انخفاض معنوي في اعداد الاجسام الصفر مع ارتفاع معنوي في اعداد الجريبات النامية وجريبات ما قبل ظهور الغار مقارنة بمجموعة السيطرة. كذلك ادت المعاملة بالكرميين وحده الى ارتفاع معنوي في مستوى الهرمون المضاد للمولر، اعداد الاجسام الصفرة وجريبات ما قبل ظهور الغار مع انخفاض معنوي في اعداد الجريبات الغارية مقارنة بمجموعة السيطرة. فضلا عن ذلك لوحظ في المعاملة بالجوسيبول مع الكورستين عدم حدوث فرق معنوي في وزن الجسم، وزن المبايض، وزن الرحم، مستوى انزيم الكاسبيز-3 واعداد الاجسام الصفر مقارنة مع مجموعة الجوسيبول. في حين حدث انخفاض معنوي في مستوى المالوندايالديهيد واعداد الجريبات النامية مع ارتفاع مستوى الكلوتاتايون واعداد الجريبات الغارية مقارنة بمجموعة الجوسيبول. اما بالنسبة للمعاملة بالجوسيبول مع الكرميين فلم يكن هناك فرق معنوي في وزن الجسم، وزن الرحم، مستوى انزيم الكاسبيز-3، واعداد الاجسام الصفر مقارنة مع مجموعة الجوسيبول. لكن كان هناك ارتفاع معنوي في وزن المبايض، مستوى الكلوتاتايون، اعداد جريبات ما قبل ظهور الغار والجريبات الغارية مقارنة مع مجموعة الجوسيبول. فضلا عن حدوث انخفاض معنوي في مستوى المالوندايالديهيد واعداد الجريبات النامية مقارنة بمجموعة الجوسيبول. نستنتج من الدراسة الحالية ان المعاملة بالجوسيبول قد سببت تأثيرات ضارة

ب

على المعايير المدروسة، وسببت المعاملة بالكورستين و الكركمين في المعاملات المزدوجة تحسنا ملحوظا في بعض المعايير، في حين لم تتمكن من تحسين المعايير الاخرى بهذه الجرعة و مدة المعاملة.

ثبت المحتويات

الصفحة	الموضوع
أ - ب	الخلاصة
ج - د	ثبت المحتويات
هـ - و	ثبت الاشكال
ز	ثبت الملاحق
1	الفصل الأول: المقدمة
3	اهداف الدراسة
4	الفصل الثاني: استعراض المراجع
4	1.2 الجوسيبول Gossypol
5	2.2 التركيب الكيميائي للجوسيبول Chemical structure of gossypol
7	3.2 الكورستين Quercetin
9	4.2 التركيب الكيميائي للكورستين Chemical structure of quercetin
10	5.2 الكركمين Curcumin
13	6.2 الكرب التاكسدي Oxidative stress
15	7.2 مضادات الاكسدة Antioxidants
16	8.2 الكلوتاثايون (GSH) Glutathione
17	9.2 المالوندايالديهايد (MDA) Malondialdehyde
18	10.2 تكوين الجريبات Folliculogenesis
19	1.10.2 المراحل التطورية للجريبات المبيضية Developmental stages of ovarian follicles
21	2.10.2 السيطرة الهرمونية في عملية تكوين الجريبات المبيضية Hormonal control on folliculogenesis
22	11.2 الهرمون المضاد للمولر (AMH) Antimullerian hormone
23	12.2 الموت الخلوي المبرمج Apoptosis
24	13.2 انزيمات الكاسبيز caspase enzymes
26	الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل Materials and Methods
26	1.3 المواد المستخدمة
27	2.3 الاجهزة والعدد المستخدمة
28	3.3 تصميم التجربة
29	4.3 الخطوات المتبعة لتقييم الكفاءة التناسلية لاناث الجرذان
29	1.4.3 وزن الحيوانات و الاعضاء التناسلية
29	2.4.3 تحضير المقاطع النسيجية للمبايض
30	5.3 التحاليل الكيموحيوية و تقدير مستوى الهرمونات
30	1.5.3 تقدير مستوى الكلوتاثايون المختزل (GSH) في مصل الدم
31	2.5.3 تقدير مستوى المالوندايالديهايد (MDA) في مصل الدم
33	3.5.3 تقدير مستوى الهرمون المحفز للجريبات FSH في مصل الدم

34	4.5.3 تقدير مستوى الهرمون المضاد للمولر AMH في مصل الدم
35	5.5.3 تقدير مستوى انزيم الكاسبيز-3 في نسيج المبيض
36	6.3 التحليل الاحصائي
37	الفصل الرابع: النتائج Results
37	1.4 وزن الجسم
37	2.4 وزن المبايض
38	3.4 وزن الرحم
38	4.4 مستوى الكلوتاثايون GSH في مصل الدم
39	5.4 مستوى المالوندايالديهيد MDA في مصل الدم
40	6.4 مستوى الهرمون المحفز للجريبات FSH في مصل الدم
40	7.4 مستوى الهرمون المضاد للمولر AMH في مصل الدم
41	8.4 مستوى انزيم الكاسبيز-3 في نسيج المبيض
42	9.4 اعداد الاجسام الصفر في المبايض
43	10.4 اعداد الجريبات المبيضية
44	11.4 معدل اقطار الجريبات المبيضية
49	الفصل الخامس: المناقشة Discussion
58	الفصل السادس: الاستنتاجات والتوصيات Conclusion and Recommendation
58	1.6 الاستنتاجات
59	2.6 التوصيات
60	المصادر Refrences

ثبت الاشكال

الصفحة	العنوان	الشكل
7	التركيب الكيميائي للجوسيبول	1
10	التركيب الكيميائي للكورستين	2
12	التركيب الكيميائي للكرمين	3
37	تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين ، الكركمين، جوسيبول+كورستين و جوسيبول+ كركمين على وزن الجسم	4
38	تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على اوزان المبايض و الرحم	5
39	تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على مستوى الكلوتاثايون GSH و MDA المالوندايالديهيد في مصل الدم	6
40	تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على مستوى الهرمون المحفز للجريبات FSH في مصل الدم	7
41	تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على مستوى الهرمون المضاد للمولر AMH في مصل الدم	8
42	تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على مستوى انزيم Caspase-3 في نسيج المبيض	9
43	تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على اعداد الاجسام الصفر في المبايض	10
44	تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على اعداد الجريبات المبيضية	11
45	تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على معدل اقطار الجريبات المبيضية	12
46	مقطع نسجي لمبيض من مجموعة السيطرة، H&E ، قوة التكبير 100X.	13

46	مقطع نسجي لمبيض من مجموعة الجوسبيول، H&E ، قوة التكبير .100X	14
47	مقطع نسجي لمبيض من مجموعة الكورستين، H&E ، قوة التكبير .100X	15
47	مقطع نسجي لمبيض من مجموعة الكركمين، H&E ، قوة التكبير .100X	16
48	مقطع نسجي لمبيض من مجموعة الجوسبيول + الكورستين ،H&E ، قوة التكبير .100X	17
48	مقطع نسجي لمبيض من مجموعة الجوسبيول + الكركمين ،H&E ، قوة التكبير .100X	18

قائمة الملاحق

العنوان	الرقم
تأثير الجوسيبول، الكورستين، الكركمين، الجوسيبول + الكورستين، الجوسيبول + الكركمين عن طريق الفم على اوزان الجسم، الرحم و المبايض في اناث الجرذان.	1
تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، الجوسيبول + الكورستين، الجوسيبول + الكركمين عن طريق الفم على مستوى الكلوتاثيون، المالوندايالديهيد، انزيم الكاسبيز-3 في المبيض، الهرمون المحفز للجريبات و الهرمون المضاد للمولر في اناث الجرذان.	2
تأثير المعاملة بالجوسيبول ، الكورستين، الكركمين، الجوسيبول + الكورستين، الجوسيبول + الكركمين عن طريق الفم على اعداد الجريبات المبيضية و اعداد الاجسام الصفرة في اناث الجرذان.	3
تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، الجوسيبول + الكورستين، الجوسيبول + الكركمين على معدل اقطار الجريبات المبيضية في اناث الجرذان.	4

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

ازداد الاهتمام في السنوات الحديثة بالاعتماد على الصناعة لانتاج مواد أولية زراعية أو مواد صديقة للبيئة لاستعمالها كبدايل أو بشكل دائم ، من هذه المواد بروتين بذور القطن (كمادة أولية عالية القيمة للعديد من الاستعمالات) كنتاج عرضي لانتاج الياف القطن حيث ان القطن مادة صناعية ينتج منها ملايين الاطنان سنويا وتستخدم منتجات بذور القطن التي تمثل الزيت و الدقيق و القشور و مستخلص النوى و ما يتبقى كمصدر للطاقة أو البروتين لحيوانات المزرعة و الأسماك، ومع ان بروتين بذور القطن من اكبر مصادر البروتين النباتي لكن هناك مشكلة تحيط باستعماله و توفره بشكل تجاري واسع و هي وجود مادة الجوسيبول التي تمنع استعماله كغذاء وقد حصل بروتين بذور القطن الخالي من الجوسيبول على اعتراف منظمة الغذاء و الدواء لاستعماله كغذاء او علف في عام 2020 (Cheng *et al.*, 2020).

الجوسيبول مركب تربينويدي terpenoid موجود طبيعيا في القطن وهي مادة طاردة للحشرات و تختلف كمية الجوسيبول باختلاف مخصبات النتروجين المضافة الى التربة (Nagalakshmi *et al.*, 2007) كذلك الظروف الجوية وانواع القطن (Gadelha *et al.*, 2014a) واستنادا الى الظروف الجوية يرتبط انتاج الجوسيبول بصورة موجبة مع معدل هطول الامطار، و بصورة سلبية مع درجة الحرارة (Wani and Nazir, 2022).

لقد سجلت حالات التسمم بالجوسيبول في حيوانات المزرعة و خصوصا المجترات غير البالغة، حيث ان المجترات البالغة تكون اكثر مقاومة و عموما فان التسمم بالجوسيبول يحدث في الابقار عالية الانتاج للحليب و الماعز الحلوبة، و قد سجلت ايضا في الكلاب التي تتغذى على اغذية حاوية على بذور القطن (Soto-Blanco,2008). وقد كرس العديد من الدراسات في طرق هندسة و تكاثر النبات لانتاج قطن خال أو فيه القليل من مستويات الجوسيبول لتأثيراته الفسيولوجية غير المرغوب فيها، حيث إن الهدف هو الحصول على بروتين بذور القطن الخالي من الجوسيبول عن

طريق الهندسة الوراثية لتوفير حاجة البروتين في غذاء الانسان و الحيوان (Wedegaertner and Rathore, 2015).

قد عرف أن الجوسيبول يؤثر على الوظيفة التكاثرية للأناث، ولكن كانت الدراسات و البحث عن تأثيراته محدودة على عكس الذكور (Yang and Wu, 1987). وقد وجد ان الجوسيبول يؤثر على دورات شبق القوراض (Lin et al., 1985) ، و وظيفة الخلايا الحبيبية في مبايض اناث الخنازير (Basini et al., 2009). كما اثر الجوسيبول على تكوين ستيرويدات المبيض steroidogenesis في المختبر *in vitro* (Lin et al., 1994). فضلا عن توسع الركامة cumulus للبيضة البقرية و نزوج النواة (Lin et al., 1994). و اظهرت الدراسات ان للجوسيبول فعالية سامة للخلايا الحبيبية (Randel et al., 1992).

تعزى فعاليته السامة لهذه الخلايا الى انتاج اصناف الاوكسجين الفعالة التي تؤدي الى حدوث الكرب التاكسدي (Santana et al., 2015) ، واضطراب الاتصال بين الخلايا intercellular communication (Herve et al., 1996) و تحفيز الموت الخلوي المبرمج (Cengiz et al., 2010). ان لانخفاض الخصوبة و تشوهات القناة التناسلية تأثيرات ضارة على الاقتصاد و المجتمع، و بالتالي كان من المهم دراسة وتحديد و توصيف المواد السامة او ذات التأثيرات الضارة على الخصوبة فضلا عن تقييم تأثيرات و مخاطر هذه المركبات والكشف عن تأثيراتها على جهاز الغدد الصم الذي يتأثر بعوامل متعددة منها الجرعة و أوقات التعرض، و يكون تأثير هذه المواد على محور تحت المهاد -النخامية - والمبيض بطرائق عدة، و تؤدي الى حدوث تغييرات في القناة التناسلية الانثوية في المهبل و الرحم و المبيض، و تنعكس تأثيراتها على النمو و التطور أو على الدورة الشبقية ضمن فسلجة الجسم الطبيعية (Shabanian et al., 2016). وكما معروف فان المبيض عضو ديناميكي تحدث فيه تغييرات مستمرة في الحجم و الفعالية خلال الحياة التكاثرية، فقد يؤدي التعرض لبعض المواد الى حدوث حالة فشل المبيض يفقد فيها وظائفه الفسيولوجية، التي تعد من اهم المشاكل التكاثرية إذ ينتج عنها فقدان الخصوبة بسبب استنزاف الجريبات و زيادة سرعة انحلال خلايا البيضة (Lass and Brinsden, 1999).

لاصناف الاوكسجين الفعالة الدور المهم في تثبيط النمو و الموت المبرمج، الذي تسببه أو تحدته السموم الكيميائية في الجريبات الغارية في الاطباق الزرعية، في حين تعمل مضادات الاكسدة على إضعاف تأثيرها السمي الخلوي، فضلا عن أن لها دورا حاميا و وقائيا لخلايا المبيض من خلال

المحافظة على بقاء و سلامة الخلايا الجريبية المبيضية على قيد الحياة، و المحافظة على وظيفة المبيض (Wu *et al.*, 2008; Gao *et al.*, 2017).

مثال على ذلك مادة الكورستين إذ تعد إحدى المواد الكيميائية النباتية التي تعمل عن طريق العديد من المسارات و الاشارات داخل الخلية و بالتالي تقلل من الأذى الذي تحدثه أصناف الاوكسجين الفعالة والذي يعمل على تنظيم عملية الموت الخلوي المبرمج (Wang *et al.*, 2018). اما الكركمين فهو أيضا أحد المواد الكيميائية الطبيعية الفعالة بايولوجيا إذ يعمل كمضاد اكسدة بالتقليل من انتاج اصناف الاوكسجين الفعالة (Zhang *et al.*, 2011).

اهداف الدراسة:

- دراسة تأثير مادة الجوسيبول على فسلجة المبايض التي تشمل خزين الجريبات المبيضية ، حدوث الموت المبرمج ، مستوى الهرمونات، و مؤشرات الكرب التأكسدي.
- الكشف عن امكانية عكس تأثيرات الجوسيبول الضارة و غير المرغوب فيها باستخدام مضادات الأكسدة الكورستين و الكركمين.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Review of Literature

1.2 الجوسيبول Gossypol

إن القطن (*Gossypium species*) نبات شجري من عائلة Malvaceae و هو واحد من أقدم النباتات التي زرعها و استخدمها الانسان منذ اكثر من 4000 عام ، يزرع بشكل اساسي لاليافه التي تستخدم في صناعة النسيج و الحصول على الزيت من بذوره، وعند انتاج الياف القطن و زيته يتم الحصول على منتجات ثانوية byproducts غنية بالدهون و البروتينات تستخدم في تغذية الحيوانات ، الا ان هذا النبات يحتوي على مركب سام هو الجوسيبول (Soto-Blanco,2008). والجوسيبول مركب متعدد الفينول تنتجه الغدد الصمغية في جذور، سيقان، اوراق، بذور وبراعم القطن (*Gossypium species*)، وظيفة هذا المركب طرد الحشرات المختلفة من التغذي على القطن (Gadelha et al., 2011; 2014a).

في بداية الخمسينات من القرن الماضي اقترح استخدام الجوسيبول كوسيلة لمنع الحمل عندما ارتفع تسجيل معدلات العقم في عدة مناطق من الصين (Singla and Garg, 2013)، و ربطت الدراسات الوبائية هذه الحقيقة كنتيجة لاستخدام الزيت الخام المستخلص من بذور القطن في الطهي (Bender et al., 1988). و تختلف الانواع و الاصناف من نبات القطن في تركيز الجوسيبول الموجود في بذورها (Jacobs et al., 2022).

ذكر العديد من الباحثين عن تأثيرات الجوسيبول على خصوبة الذكور و الاناث في انواع الحيوانات غير المجتررة (Bender et al. 1988; Randel et al. 1992; Olabiyi et al. 2006). وان تأثيره البيولوجي في الحيوانات غير المجتررة يكون تراكميا (Berardi and Cumulative Goldblatt, 1969). و تشمل علامات التسمم بالجوسيبول انخفاضا في معدل النمو، القهم anorexia، صعوبة التنفس difficult to breath و ضيق التنفس dyspnea (Gadelha et al., 2014a). و تأثيرات أخرى تشمل تلف damage خلايا الكبد (Fonseca et al., 2013) ، وسمية الخلايا اللمفية و التي تؤدي الى نقص المناعة (Xu et al., 2009).

يرتبط تأثير الجوسيبول المضاد للخصوبة بكفاءة عبوره في الدورة الدموية لحاجز القند gonadal barrier (Dabrowski *et al.*, 2000). و يثبط الجوسيبول عملية تكوين الحيوانات المنوية بتقليل عددها و حركتها و حيويتها (Gadelha *et al.*, 2014b) viability. وان سبب عدم خصوبة الذكور هو ضعف و انخفاض حركة وتراكم الحيوانات المنوية، و أذى المتقدرات في ذيل الحيوانات المنوية، و تحطم الظهارة الجرثومية (Hatamoto-Zervoudakis *et al.*, 2018). و تتضمن آلية اضطراب الحيوانات المنوية المحدثة بالجوسيبول تثبيط اطلاق و استخدام الطاقة من قبل الحيوانات المنوية (Hatamoto-Zervoudakis *et al.*, 2018). فضلا عن ان الجوسيبول يثبط دخول الكالسيوم Ca influx ، ونشاط مضخة المغنيسيوم Mg-ATPase ، و مضخة الكالسيوم والمغنيسيوم Ca-Mg-ATPase في الاغشية البلازمية للحيوانات المنوية (Lestari *et al.*, 2018). ويسبب الجوسيبول انتاج حيوانات منوية غير طبيعية بسبب تغييرات في التركيب الدقيق للغشاء النووي، و الشبكة البلازمية الداخلية و المتقدرات (Lim *et al.*, 2019).

وقد عرف ان الجوسيبول يؤثر على الوظيفة التكاثرية للأنثى، ولكن كانت الدراسات و البحث عن تأثيراته محدودة على عكس الذكور (Yang and Wu, 1987). على الرغم من انه قد وجد أن الجوسيبول قد غير دورات التكاثر، و اعاق الحمل، و الاداء الانجابي لإنات الجرذان (Lagerlof and Tone 1985)، الا انه لا يعد وسيلة فعالة لمنع الحمل في الانثى (Pan *et al.*, 1987). و هناك دراسات حول تأثير الجوسيبول على مستويات الهرمونات في الدم، و التركيب الدقيق لبطانة الرحم للإناث، التي تشير الى تأثيره المباشر على وظيفة المبيض (Peng-di *et al.*, 1984). و تمت الإشارة الى دور الجوسيبول في احداث دورات شبق متقطعة في اناث الجرذان (Gadelha *et al.*, 2014b) ، فضلا عن تثبيط عملية غرس الاجنة في اناث الجرذان (Lin *et al.*, 1985) ، وتأخير عملية تطور الاجنة في الماشية (Zirkle *et al.*, 1988). وقد تمت الإشارة لوجود تأثيرات للجوسيبول على الخلايا اللوتينية و الحبيبية (Gu *et al.*, 1991; Jimenez *et al.*, 2019).

2.2 التركيب الكيميائي للجوسيبول Chemical Structure of Gossypol

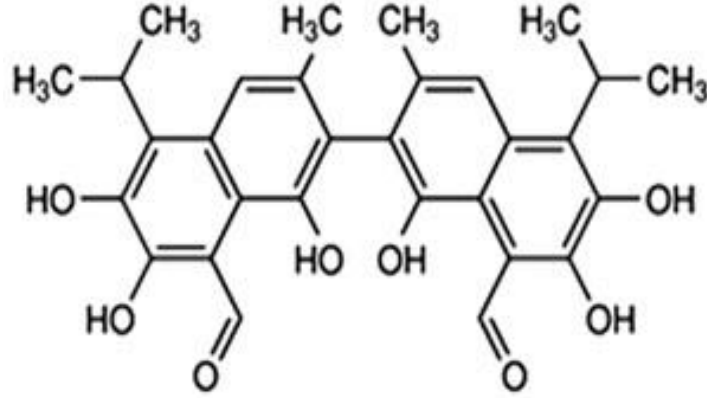
إن الجوسيبول مركب فينولي تم عزله لأول مرة في عام 1899 ، اشتق الاسم من اسم جنس النبات العلمي (*Gossypium*) مقترنا بالنهاية "OL" للدلالة على الفينول (Soto-Blanco, 2008). يبلغ الوزن الجزيئي للجوسيبول 518.55 دالتون، له صبغة صفراء، بلوري، غير قابل للذوبان في

الماء و الهكسان، قابل للذوبان في الالاسيتون، الكلوروفورم، الايثروالمثيل اثيل كيتون methyl ethyl (butanone) ketone، وهو قابل للذوبان جزئيا في زيوت الخضراوات الخام (Gadelha *et al.*, 2014a).

الصيغة الكيميائية، C₃₀H₃₀O₈ والصيغة الكيميائية البنائية، 2, 2'-bis (8-formyl-1, 6, 7-trihydroxy-5-isopropyl-3-methylnaphthalene) (Liu *et al.*, 2022). يتم انتاج الجوسيبول بوساطة الغدد الصبغية في سيقان، أوراق، بذور و براعم زهور نبات القطن، و الغدد الصبغية بقع سوداء صغيرة موزعة في جميع أجزاء نبات القطن ولكنها تتركز في البذور (Zeng *et al.*, 2019). وإن بذور القطن *G. barbadense* قد تحتوي 34 غم /كغم من الجوسيبول (Percy *et al.*, 1996). و للجوسيبول العديد من التأثيرات السامة في الفقاريات vertebrates ولكنه يوفر لنبات القطن مقاومة للحشرات (Hagenbucher *et al.*, 2019).

الجوسيبول خليط من اثنين من النظائر enantiomers، الجوسيبول السالب (-) و الموجب (+) (Lordelo *et al.*, 2007; Kakani *et al.*, 2010). ويكون طرح الجوسيبول السالب بطيئاً جدا (Wu *et al.*, 1986)، على الرغم من انه الشكل الاكثر نشاطا بايولوجيا وبالتالي فهو اكثر سمية من الجوسيبول الموجب (+) (Kakani *et al.*, 2010). و تنتج أنواع القطن كلا النظيرين بنسب متفاوتة و التي يتم تحديدها وراثيا (Soto-Blanco, 2008). ويكون الجوسيبول بشكلين شكل حر و اخر مرتبط (Alexander *et al.*, 2008).

يتأثر اجمالي انتاج الجوسيبول بعوامل عدة تتضمن الظروف الجوية و انواع القطن (Gadelha *et al.*, 2014a). واستنادا الى الظروف الجوية يرتبط انتاج الجوسيبول بصورة موجبة مع معدل هطول الامطار، و بصورة سلبية مع درجة الحرارة (Wani and Nazir, 2022). وفيما يتعلق بالاختلاف بين انواع القطن يحتوي *G. barbadense* على الجوسيبول بتركيز اعلى من *G. hirsutum*، من ناحية اخرى فان تخزين القطن يقلل من محتوى الجوسيبول الحر (Soto-Blanco, 2008).



الشكل (1) التركيب الكيميائي للجوسيبول (Singh *et al.*, 2019)

3.2 الكورستين Quercetin

إن الكورستين أحد مركبات الفلافونويد الرئيسية التي يمكن استخدامها في تغذية الحيوانات (Santini *et al.*, 2009). و للكورستين خصائص مضادة للاكسدة ضد الامراض المختلفة، بما في ذلك اضطرابات القلب و الاوعية الدموية، و تصلب الشرايين، و تليف الكبد و تشمعه، و إصابة الكلى، و إنسداد القنوات الصفراوية (Miltonprabu *et al.*, 2017). و ازداد الاهتمام و التركيز حديثاً على الكورستين للمديات الواسعة لتأثيراته الصحية و التي اكدت على انه مركب مهم لتطوير اغذية وادوية فعالة وظيفياً (Lin *et al.*, 2014).

للكورستين تأثيرات حيوية واسعة تشمل مضاداً للأكسدة، مضاداً للإلتهابات، مانعاً لموت الخلايا المبرمج وله تأثيرات واقية للكبد، الكلى، الاعصاب و القلب (Salehi *et al.*, 2020). إذ اظهرت العديد من الدراسات ان مادة الكورستين قادرة على حماية الكبد من التلف الناتج عن المعادن الخطرة (Liu *et al.*, 2012; Cai *et al.*, 2021). و لا يعمل الكورستين كمضاد للاكسدة فقط لقدرته المباشرة على التبرع بذرات الهيدروجين و كبح أصناف الاوكسجين الفعالة reactive oxygen species (ROS)، بل ينشط النظام الدفاعي الداخلي المضاد للأكسدة بصورة مباشرة من خلال تفاعله مع سلسلة الاشارات داخل الخلايا ذات الصلة بوظيفة مضادات الاكسدة (Xu *et al.*, 2019).

للكورستين تأثيرات عديدة على الحالة الفسيولوجية و الصحية بسبب خصائصه المضادة للاكسدة (Chen *et al.*, 2010a; David *et al.*, 2016; Sharma *et al.*, 2018). إن خصائص

و اليات عمل الكورستين في التكاثر غير مدروسة بشكل كاف، وقد اظهرت الدراسات نتائج مثيرة للجدل controversial حول الموضوع (Sirotkin *et al.*, 2019). لقد ذكر العديد من الباحثين التأثير التحفيزي للكورستين على وظائف المبيض، و ان التغذية باضافة الكورستين قللت من موت الخلايا المبرمج في المبيض، و حفزت تكاثر الخلايا وزيادة وزن المبيض و حسنت نوعية البويضات oocyte quality و حجم المواليد في الفئران (Shu *et al.*, 2011; Beazley and Nurminskaya, 2016).

من ناحية أخرى اشارت دراسات الى تثبيط الكورستين لوظائف التكاثر و عرقلة دورات الشبق disrupted estrous cycles وتثبيط تكوين الجريبات و الإباضة و زيادة رتق جريبات المبيض follicular atresia وتغيير افراز محرضات القند gonadotropins و تقليل حجم المواليد في الفئران المسنة old mice (Shu *et al.*, 2011). و يمكن استخدام الكورستين لتنظيم وظائف الجهاز التناسلي بما في ذلك تكوين الجريبات ، و نضج البويضات و الإباضة، وبالتالي قد يكون مفيدًا في علاج الاضطرابات التناسلية (Stochmalova *et al.*, 2013).

يمكن للكورستين تعزيز قدرة المبيض المضادة للأكسدة من خلال التنظيم العالي-up-regulation للجينات المرتبطة بالكرب التأكسدي في الجرذان (Wang *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2022) و أشار Rice *et al.* (2006) إلى أن الكورستين يمكن أن يؤثر على وظائف المبيض ويتداخل مع الأنشطة الستيرويدية، وتولد الأوعية steroidogenic and angiogenic activities للخلايا . و أكدت الدراسات ان الكورستين يمكن أن يقلل من الاضطرابات الأيضية والهرمونية التي تحدث في متلازمة تكيس المبايض (pcos) poly cystic ovary syndrome (Jahan *et al.*, 2018).

ذكرت بعض الدراسات دور الكورستين في وظائف المبيض في نماذج حيوانية مختلفة، إذ اشار Naseer *et al.* (2017) ان الكورستين حسن بشكل كبير من تطور الجريبات، و قلل موت الخلايا الحبيبية المبرمج في الارانب المعرضة للإجهاد الحراري. و وجدت دراسة أخرى أجراها Nna *et al.* (2017) ان العلاج بالكورستين اظهر تأثيرات وقائية في الرحم والمبايض في التسم المحدث بالكادميوم في الجرذان، لتأثيره المضاد للاكسدة و الموت المبرمج. لقد أشار Amidi *et al.* (2019) الى أن الكورستين يعمل كعامل مضاد للالتهابات والموت الخلوي المبرمج ومضاد للأكسدة

والسرطان. وقد ذكر David *et al.* (2016) أن للكورستين دوراً معنوياً في تثبيط سرطان الثدي والبروستات والمبيض وبطانة الرحم والكبد والمخ والقولون.

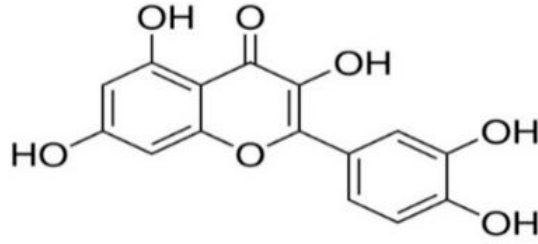
فضلا عن ذلك سجلت دراسات أجريت في المختبر *in vitro* تأثير الكورستين على خلايا المبيض حيث أوقف الكورستين التحطم التأكسدي و الموت المبرمج المحدث بالكادميوم للخلايا الحبيبية الماخوذة من الخنازير و الدجاج في الطبق (Jia *et al.*, 2011; Capcarova *et al.*, 2015). و كذلك وجد Chen *et al.* (2010b) ان للكورستين تأثيرات إيجابية على احتياطي جريبات المبيض ovarian follicular reserve في الجرذان المسنة ، ولم يتم توضيح الية عمل الكورستين ضد شيخوخة المبيض.

يملك الكورستين التكوين الأمثل لكسح الجذور الحرة (Boots *et al.*, 2008). علاوة على ذلك يثبط الكورستين نشاط انزيم الزانثين أوكسيديز xanthine oxidase الذي يؤدي إلى تلف تاكسدي أثناء الإصابة injury ، و نقص التروية ischemia ، والكرب التأكسدي (Alrawaiq and Abdullah, 2014). فضلا عن ذلك فهو يثبط عملية بيروكسيده الدهن lipid peroxidation ويمنع اتساع السلاسل chain propagation و يقلل من إنتاج المزيد من الجذور الحرة (Lakhanpal and Rai, 2007; Jia *et al.*, 2011).

4.2 التركيب الكيميائي للكورستين Chemical Structure of Quercetin

إن الكورستين من مركبات الفلافونويد flavonoids التي تم الحصول عليها من الكورستيم quercetum ويستخدم على نطاق واسع (Nweze *et al.*, 2022). الفلافونويدات تراكيب فينولية تتواجد في الفواكه، لحاء الشجر bark roots، الخضراوات، الحبوب، الجذور و الأزهار (Roy *et al.*, 2022).

تم تعريف الكورستين على أنه 3,3',4',7,5-pentahydroxyflavone من قبل الاتحاد الدولي للكيمياء البحتة والتطبيقية International Union of Pure and Applied Chemistry (Rashidi *et al.*, 2021). و الكورستين بلورات صفراء غير قابلة للذوبان في الماء البارد وقابلة للذوبان بشكل معتدل في الماء الساخن ولكنها قابلة للذوبان في الكحول (Rashidi *et al.*, 2021).



الشكل (2) التركيب الكيميائي للكورستين (Bathia *et al.*, 2020)

5.2 الكركمين Curcumin

إن الكركم Turmeric هو الاسم الشائع لنوع من التوابل الهندية التي تنتمي لعائلة الزنجبيل Ginger Family (Jyotirmayee and Mahalik, 2022). فضلا عن ذلك فهو يستخدم كمادة ملونة وحافظة للغذاء، و يستخدم في الطب التقليدي لعلاج اعتلالات مختلفة كالتهاب المفاصل،القرح،اليرقان،الجروح،الحمى و الكلم فضلا عن الامراض الجلدية كالصدفية (Lal, 2021).

الكركمين مركب متعدد الفينول كاره للماء و هو المكون الرئيسي النشط للكركم Turmeric، بالإضافة الى الكركمين، يحتوي الكركم أيضا على مكونات أخرى تسمى الكركمينات curcuminoids (Abd El-Hack *et al.*, 2021). الكركمين، ديميثوكسي كركمين demethoxycurcumin، ثنائي ديميثوكسي كركمين bisdemethoxycurcumin، و السايكلوكركمين cyclocurcumin و هي الكركمينات الرئيسية المعزولة من الكركم Turmeric (Joshi *et al.*, 2021). وقد اظهرت العديد من الدراسات ان الكركمين اكثر نشاطا من الاديمثوكسي كركمين او ثنائي ديميثوكسي كركمين (Teymouri *et al.*, 2018)

أكد Lampe and Milobedeska (1913) تركيبه الكيميائي وهو bis- α , β -unsaturated β -diketone, named (E, E)-1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5 dione. وتناولت الدراسة الاولى استخدام الكركمين في الامراض التي تصيب الانسان عام 1937 (Oppenheimer, 1937).

على مدى السنوات الستين الماضية اثبتت اكثر من 3000 دراسة احتواء الكركمين على مضادات للاكسدة، للجراثيم، للفطريات، للفيروسات، للالتهابات، لتكاثر الخلايا antiproliferative، سابق الموت الخلوي المبرمج pro-apoptotic و مضاد لتصلب الشرايين و له فوائد طبية ضد

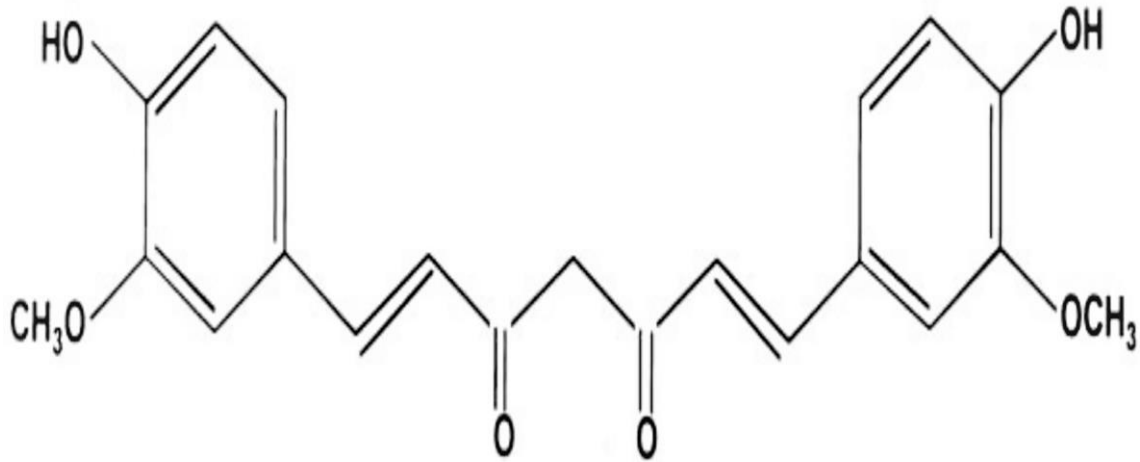
الأمراض التنكسية العصبية neurodegenerative diseases ، التهاب المفاصل ، الحساسية ، مرض التهاب الأمعاء ، السمية الكلوية ، أمراض القلب و الاوعية الدموية و تليف الرئة (Sharma *et al.*, 2005; Shishodia *et al.*, 2005; Aggarwal and Harikumar, 2009) و الكركمين أحد المركبات المضادة للأكسدة التي حظيت باهتمام كبير (Abrahams *et al.*, 2019). و تشير مجموعة من الأدلة إلى التأثيرات المختلفة للكركمين المضادة للأكسدة ، السرطان والالتهابات من خلال العديد من النماذج الخلوية والحيوانية لاضطرابات مختلفة (Pulido-Moran *et al.*, 2016)، فضلا عن ذلك فإن التعديل الكيميائي chemical modification لهذا المركب يمكن أن يزيد من توافره البيولوجي bioavailability وثباته تركيبه structural stability وفعالته (Oliveira *et al.*, 2015). ومع ان للكركمين العديد من الخصائص الوقائية فإن ضعف الامتصاص المعوي، وعدم ثباتية التركيب، ومحدودية اختراق الحاجز الدموي الدماغي و تفككه السريع في الجسم يحد من إمكانية استخدامه كعنصر علاجي في التجارب السريرية (Ullah *et al.*, 2017).

تقلل طبيعة الكركمين الكارهة للماء hydrophobic nature من قدرته على الذوبان في المحاليل المائية مما يشكل تحديًا لتحسين توافره البيولوجي لذلك بحثت الدراسات في تأثير تعديل تركيب الكركمين لتحسين توافره البيولوجي دون المساس بخصائصه الوقائية (Abrahams, 2019). و حاولت الدراسات تحويل التركيب الكيميائي للكركمين او ارتباطه مع الدهون عن طريق تغليفه بجزيئات متناهية الصغر nanoparticles وتركيب معقدات مع المنغنيز او اعطائه مع البيبيرين piperine لتحسين توافره البيولوجي (Chen *et al.*, 2011, 2018; Sandhir *et al.*, 2014; Squillaro *et al.*, 2018). في بعض الحالات فان للكركمين المحور modified curcumin قابلية مضادة للاكسدة أعلى مع معدلات ذوبان و امتصاص اسرع مقارنة بالكركمين الحر (Jangra *et al.*, 2016; Shelat and Acharya, 2016).

في الآونة الأخيرة ، تم استخدام مضادات اكسدة مشتقة من النباتات مثل مسحوق جذور الكركم turmeric rhizome powder على نطاق واسع كإضافات علفية لتعزيز وظائف الجسم وتخفيف أضرار الكرب (Akhavan-Salamat and Ghasemi, 2016). إذ يمكن استخدام الكركمين ككاسح للجذور الحرة المؤكسدة بسبب تركيبه الفينولي، و بذلك يمكن استخدامه كمضاد غذائي يومي (Aggarwal and Mishra, 2010).

للكرمين تأثير واقٍ لإصلاح تلف الحامض النووي منقوص الاوكسجين protective effect on deoxy ribonucleic acid (DNA) damage repair ومنع موت الخلايا المبرمج للخلايا المولدة للحيوانات المنوية spermatogenic cells (Bulku *et al.*, 2012). و في حيوانات المزرعة ، تم استخدام الكركمين لتحسين فعالية انزيمات الكبد والحالة المضادة للأكسدة (Emadi and Kermanshahi, 2007; Ahmadi, 2010). و تمت الاشارة الى أن الحملان المرضعة المغذاة على أعلاف مضاف اليها الكركمين حسنت بشكل معنوي من زيادة الوزن اليومية وأداء الإنتاج والايض الغذائي والأداء المناعي (Molosse *et al.*, 2019). و تم تأكيد التأثيرات المثبطة للكرمين على بيروكسدة الدهن عن طريق كسحه لجذر السوبر اوكسيد superoxide anion و جذورالهيدروكسيل hydroxyl radicals (Alabdali *et al.*, 2021).

أشارت العديد من الدراسات إلى الآثار المفيدة للمكملات الغذائية الحاوية على الكركمين أو الكركم على جودة اللحم، وثباتها وفعالية إنزيمات الكبد والاستجابة المناعية (Zhang *et al.*, 2015)، ونوعية السائل المنوي في الطيور (Yan *et al.*, 2017). و أشارت الدراسات الى فعالية الكركمين لتخفيف الاثار الضارة لاشعاع كما (Hamzavi *et al.*, 2014) gamma-radiation، و التعرض للرصاص (Kosari *et al.*, 2012) والزرنيخ (Seadawy *et al.*, 2014) على جوانب التكاثر في القوارض.



الشكل (3) التركيب الكيميائي للكرمين (Neyestani *et al.*, 2019)

6.2 الكرب التاكسدي Oxidative stress

يعرف الكرب التاكسدي بأنه اختلال في التوازن لصالح أنظمة الاكسدة مقارنة بمضادات الاكسدة، بشكل خاص يؤدي الى نشوء مشتقات سامة مثل أصناف الاوكسجين الفعالة (ROS)، وأصناف النتروجين الفعالة reactive nitrogen species (RNS) (Pizzino *et al.*, 2017). إن أصناف الاوكسجين الفعالة أصناف كيميائية مؤكسجة مثل جذور السوبر اوكسيد، والايوكسجين المفرد Single oxygen، وبيروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide، وجذور الهيدروكسيل والتي تظهر كنواتج عرضية لعملية الايض الطبيعي للاوكسجين، و بالتالي تلعب دورا مهما في التواصل بين الخلايا communication between the cells (Patel *et al.*, 2018). و في المقابل فإن أصناف النتروجين الفعالة بما في ذلك جذراوكسيد النتريك nitric oxide، وبيروكسي نايتريت peroxynitrite و ثنائي أوكسيد النتروجين nitrogen dioxide تلعب أدوارا فسيولوجية مهمة (Pizzino *et al.*, 2017; Patel *et al.*, 2018).

يمكن ان تنتج كل من ROS و RNS من مصدر داخلي المنشأ endogenous او مصدر خارجي المنشأ exogenous (Bakadia *et al.*, 2021). و يعد الاجهاد الذهني، واسباب غذائية كنقص الفيتامينات والعناصر النادرة، و زيادة في العوامل المؤكسدة، او حالات عرضية كالالتهابات، العدوى او اسباب وراثية كلها اسباب اساسية لحدوث الكرب التاكسدي (Gunther *et al.*, 2018). للجذور الحرة بما في ذلك ROS و RNS العديد من الوظائف المفيدة التي تم اكتشافها اضافة الى دورها في عملية البلعمة (Patel *et al.*, 2018). إذ تشارك في عمل بعض الانزيمات، و ايصال transduction الاشارات الخلوية، و المناعة ضد الممرضات، و تفسير خلايا الاورام عن طريق موت الخلايا المبرمج، ودورة الخلية cell cycle، و تمايز الخلايا cell differentiation و السيطرة على توسع الاوعية الدموية الشعرية capillary dilation (Bakadia *et al.*, 2021).

على النقيض من ذلك وعلى المستوى البايولوجي السريري فان الجذور الحرة تكون خطرة و تلعب دوراً في العديد من الامراض كأمراض الجهاز التنفسي، والكروي، والسرطان وامراض القلب و الاوعية الدموية، و الامراض العصبية وتأخر النضوج الجنسي بينما تكون من هذه الاصناف ما هي ضرورية للحياة (Pizzino *et al.*, 2017). و يحدث الكرب التاكسدي بسبب زيادة إنتاج أصناف الاوكسجين الفعالة التي ترتبط بمكونات خلوية مختلفة مثل الحامض النووي منقوص الاوكسجين و

الحامض النووي الرايبوزي RNA ribonucleic acid والدهون والبروتينات، ويعمل على تعطيل أنظمة دفاع مضادات الاكسدة وإتزان الاكسدة والاختزال redox homeostasis، والتداخل مع الاشارات الخلوية cellular signaling (Patel et al., 2018).

في حالة الكرب التاكسدي تستخدم الخلايا العديد من الجزيئات المضادة للاكسدة مجمعة في أنظمة انزيمية و غير انزيمية (Moussa et al., 2019). هناك ثلاثة انواع رئيسية من الانزيمات المضادة للاكسدة تشمل السوبر اوكسيد ديسميوتيز (SOD) superoxide dismutase ، الكلوتاتايون بيروكسيديز (GSH-px) glutathione peroxidase و الكاتاليز (CAT) catalases (Moussa et al., 2019). و يحفز ال SOD اختفاء جذور السوبر اوكسيد من خلال التفاوت disproportionation الذي ينتج عنه تكوين بيروكسيد الهيدروجين (Sheng et al., 2014) ، والذي يقوم الكاتاليز بتحويله الى ماء واوكسجين (Nandi et al., 2019) ، بينما يربط الكلوتاتايون بيروكسيديز اختزال بيروكسيد الهيدروجين مع اكسدة الكلوتاتايون المختزل reduced glutathione (GSH) (Lubos et al., 2011).

إن الكلوتاتايون من أهم الأنظمة غير الانزيمية الداخلية، و وظيفة الثايول في الكلوتاتايون تعطيه دور العامل المختزل تجاه أنواع معينة من أصناف الاوكسجين الفعالة وهو من مضادات الاكسدة غير الانزيمية ذات المصدر الغذائي food-borne (Moussa et al., 2019) ، مثل الفيتامينات، الفلافونويدات، الكاروتينات والكرامين أيضا توفر تأثيرات وقائية مهمة.

لقد كان هناك اهتمام كبير بدور أصناف الاوكسجين الفعالة والكرب التاكسدي في تكاثر الاناث (Shkolnik et al., 2011; Talukder et al., 2017). فضلا عن ذلك ، أن الزيادة المفرطة في إنتاج أصناف الاوكسجين الفعالة تؤدي إلى فقدان الجريبات الابتدائية primordial follicles السريع، ورتق الجريبات مما يؤدي إلى اختلال وظيفي في التكاثر (Shen et al., 2017; Yan et al., 2022). و تحافظ المستويات الفسيولوجية لأصناف الاوكسجين الفعالة على مسارات نقل الاشارات الطبيعية في عملية تكوين الجريبات folliculogenesis، ونسوج البويضة و الاباضة (Shkolnik et al., 2011) ، لكن المستويات المرتفعة من أصناف الاوكسجين الفعالة تؤدي الى تحطم تاكسدي (Rizzo et al., 2012). إذ اثبتت الدراسات ان تراكم أصناف الاوكسجين الفعالة في المبايض يؤدي الى تحطم الجريب الغاري antral follicle و اختلال وظيفي لخلية البيضة في الفئران (Sobinoff et al., 2013). و وجد في الجرذان أن الكرب التاكسدي يحث الموت المبرمج للخلايا الحبيبية و رتق

الجريبات الغارية antral follicles atresia (Stanley *et al.*, 2014). و اظهرت دراسة أخرى ارتباط الكرب التأكسدي بالخلل الوظيفي في الخلايا الحبيبية، وموت الخلايا المبرمج وانخفاض خصوبة الاناث المرتبط بالعمر (Cabry *et al.*, 2014).

7.2 مضادات الاكسدة Antioxidants

تعرف مضادات الأكسدة بأنها أي مادة قادرة على التخلص من أصناف الاوكسجين الفعالة ، وأصناف النتروجين الفعالة أو أصناف الكبريت الفعالة reactive sulfur species (RSS) بشكل مباشر أو غير مباشر، وتعمل كمنظم دفاع مضاد للأكسدة أو مثبط لإنتاج الاصناف الفعالة (-Mut Salud *et al.*, 2016). إن أصناف الاوكسجين الفعالة عبارة عن مجموعة جزيئات ينتجها الأيض الخلوي بفعل انزيمات الاكسدة في المتقدرات mitochondrial oxidases action أو عن طريق الأجزاء الخلوية الأخرى إذ يرتفع هذا الإنتاج مع تحطم المتقدرات (Salehi *et al.*, 2018). و تنتج أصناف النتروجين وأصناف الكبريت الفعالة على التوالي من التفاعل بين أصناف الاوكسجين الفعالة واوكسيد النيتريك والثايولات (Mut-Salud *et al.*, 2016).

يمكن تصنيف وظيفة مضادات الاكسدة إلى خطوط دفاع متميزة ، على وفق آليات عملها :

- 1- العوامل الوقائية التي تثبط تكوين الجذور الجديدة، وتشمل الإنزيمات مثل SOD و CAT و GSH-px ، والبروتينات التي تربط المعادن مثل الفيريتين والسيرولوبلازمين ، والمعادن مثل السيلينيوم والنحاس والزنك.
- 2- عوامل الكسح الجذري التي تثبط بدء السلسلة أو انتشارها و تشمل الكلوتاثيون والألبومين والفيتامينات C و E والكاروتينات والفلافونويدات.
- 3- إصلاح وتجديد الإنزيمات التي تعمل على إصلاح وإعادة تكوين أغشية الخلايا و تشمل اللايبيليز lipase والبروتياز protease وإنزيمات إصلاح الحمض النووي والانزيمات الناقلة .transferases
- 4- عوامل التكيف adaptation agents التي تولد الإنزيمات المضادة للأكسدة المناسبة ونقلها إلى موقع العمل الأساسي (Lawenda *et al.*, 2008; Mut-Salud *et al.*, 2016).

يعد توازن الأكسدة والاختزال ضروريًا في ادامة البيئة الخلوية الدقيقة cellular microenvironment maintenance (Salehi *et al.*, 2018).

تعرف مضادات الاكسدة تحت الظروف الطبيعية بانها جزيئات كاسحة scavenging تعمل على تحويل اصناف الاوكسجين الفعالة الى ماء لمنع زيادة انتاج اصناف الاوكسجين الفعالة، و هناك نوعان من مضادات الأكسدة في الجسم : مضادات الأكسدة الأنزيمية ومضادات الأكسدة غير الأنزيمية (Van Langendonck *et al.*, 2002; Pierce *et al.*, 2004). وتعرف مضادات الأكسدة الأنزيمية أيضا بمضادات الأكسدة الطبيعية natural فهي تعادل الزيادة في اصناف الاوكسجين الفعالة وتمنعها من تحطيم التركيب الخلوي. فضلا عن ذلك تعرف مضادات الأكسدة غير الأنزيمية أيضا باسم مضادات الأكسدة الصناعية أو المكملات الغذائية، و يتأثر نظام مضادات الأكسدة المعقد في الجسم بالمدخول الغذائي كمضادات الاكسدة من الفيتامينات والمعادن مثل فيتامين C وفيتامين E والسيلينيوم والزنك والتورين والهايبوتورين والكلوتاثيون والبيتا كاروتين والكاروتين (Van Langendonck *et al.*, 2002; Szczepanska *et al.*, 2003; Pierce *et al.*, 2004).

8.2 الكلوتاثيون (GSH) Glutathione

ببتيد ثلاثي (سيستين ، كلايسين و حامض الكلوتاميك) يوجد بتركيز عالية نسبيا في العديد من أنسجة الجسم (Raj Rai *et al.*, 2021). وهو مضاد الاكسدة الاساسي في الخلية (Adeoye *et al.*, 2018). و يلعب دورا محوريا في تقليل الكرب التاكسدي والحفاظ على توازن الأكسدة والاختزال، وتعزيز إزالة السموم الأيضية وتنظيم جهاز المناعة (Raj Rai *et al.*, 2021). وقد وجد ارتباط بين الامراض المزمنة و الامراض المتعلقة بالعمر، كتلك المتعلقة بالتنكس العصبي والخلل الوظيفي في المتقدرات وحتى السرطان بمستويات الكلوتاثيون القليلة او دون المستوى الطبيعي (Franco *et al.*, 2007; Ballatori *et al.*, 2009; Pizzorno, 2014).

للكلوتاثيون فائدة في التخفيف من أذى السموم في الجسم من خلال قدرته على تعزيز التحويل الكبدي وطرح المركبات مثل الزئبق والملوثات العضوية الثابتة persistent organic pollutants (Minich and Brown, 2019). إن للكلوتاثيون العديد من الوظائف داخل الخلايا ليس فقط في الدفاعات المضادة للأكسدة ولكن أيضا في العديد من عمليات التمثيل الغذائي (Van Meter *et al.*, 2022).

يمكن للكلوتاثيون كسح الجذور الحرة مباشرة، والمشاركة في اختزال بيروكسيد الهيدروجين، وبيروكسيدات الدهون كعامل مساعد للكلوتاثيون بيروكسيديز glutathione peroxidase وبيروكسي ريدوكسين peroxiredoxine، وإزالة سمية السموم المحبة للكهرباء electrophilic toxicants كعامل مساعد للكلوتاثيون ترانسفيريز glutathione transferase (Ashhar *et al.*, 2022).

إن الكلوتاثيون مهم في حماية جريبات المبيض الناضجة من محفزات موت الخلايا المبرمج (Kreheova *et al.*, 2021). و يحمي الكلوتاثيون البويضات من التلف الناتج عن الكرب التأكسدي أثناء تكوّن الجريبات folliculogenesis وبالتالي تعتمد جودة البويضات عليه (Adeoye *et al.*, 2018). و أظهرت الدراسات أن البويضات الحاوية على المستويات الأعلى من الكلوتاثيون داخل الخلايا تنتج أجنة أقوى وأكثر صحة (Mukherjee *et al.*, 2014). ولوحظ في دراسة أخرى أن في الأعمار الصغيرة تكون مبايض الاناث حاوية على مستويات أعلى من الكلوتاثيون داخل الخلايا (Kankofer *et al.*, 2013). و تمت الإشارة الى أن لنقص الكلوتاثيون إرتباط بالشيخوخة المبكرة للمبيض بل و بسرطان المبيض (Lim *et al.*, 2013). و في دراسات أخرى ، تبين أن الكلوتاثيون كمضاد أكسدة ومضاد للشيخوخة يمكن أن يكون له تأثير محتمل على صحة البويضة وهي واحدة من أكثر الخلايا تأثراً بعملية الشيخوخة (Fujii *et al.*, 2005). و يمكن أن يقلل الكلوتاثيون من الكرب التأكسدي من خلال محاربة تكوين الجذور الحرة الضارة في الجهاز التناسلي (Li *et al.*, 2021).

9.2 المالوندايديهايد (MDA) Malondialdehyde

إن المالوندايديهايد مؤشر حيوي مستخدم على نطاق واسع للكرب التأكسدي في الكائنات الحية فضلا عن كونه مؤشر تقييم لدرجة أكسدة الدهون في زيوت الطعام وهو مشتق من أكسدة الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة و يعتبر المنتج النهائي الأكثر أهمية لأكسدة الدهون (Gorelik *et al.*, 2008; Ma and Liu, 2017). و للمالوندايديهايد خصائص سمية ومطفرة للجينات genotoxic and mutagenic properties (Voulgaridou *et al.*, 2011) ، فضلا عن ارتباطه بأمراض القلب والأوعية الدموية (Sousa *et al.*, 2017).

لوحظ أن إعطاء المالوندايديهايد بتركيز 0.1-10 مايكروغرام / يوم اظهر تغيرات ورمية في الكبد اعتمدت على الجرعة (Draper *et al.*, dose dependent neoplastic changes

(Kim *et al.*, 1986). و تمت الاشارة إلى أن نصف عمر المألوندايالديهيد 1.5 يوم في الجرذان (Kim *et al.*, 2015). ويستخدم بنطاق واسع في البحوث السريرية والدراسات الوبائية البيئية وخاصة في تقييم الكرب التأكسدي استجابة لأنواع المختلفة من الملوثات و المجهادات (Gong *et al.*, stressors 2013).

قد تحتوي العينة البيولوجية على بروتينات وأحماض نووية يمكن أن تتحد مع المألوندايالديهيد الحر الناتج عن بيروكسدة الدهن (Hageman *et al.*, 1992). ويكون الانتاج الداخلي الرئيسي للمألوندايالديهيد من أكسدة الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة بأكثر من أصرتين مزدوجتين (Del Rio *et al.*, 2005). إلى جانب شكل المألوندايالديهيد غير المقترن (المألوندايالديهيد الحر) ، و يمكن أن يوجد المألوندايالديهيد أيضا بأشكال مقترنة عن طريق تكوين اواصر تساهمية مع مجاميع sulph hydral SH- ومجموعة الامين -NH₂ للبروتينات والاحماض الامينية (Agarwal *et al.*, 1994; Mooradian *et al.*, 1996).

10.2 تكوين الجريبات Folliculogenesis

إن المبيض عضو وظيفي أساسي في الجهاز التناسلي الانثوي، و يلعب دورين فسيولوجيين رئيسيين أولهما أن المبيض مسؤول عن التمايز واطلاق خلية البيضة الناضجة mature oocyte للإخصاب (McGee and Hsueh, 2000)، والوظيفة الثانية مسؤوليته عن تصنيع وافراز الهرمونات الضرورية لتطور الجريبات، الدورة الشبقية وادامة القناة التناسلية و وظيفتها (Hirshfield, 1991).

تعد عملية تكوين الجريبات و هي التراكيب الاساسية لمبايض الثدييات إحدى أهم المراحل المهمة في تطور الاعضاء التناسلية الانثوية بدءاً من الحياة الجنينية (Blocinska, 2010). و تتزامن عملية تطور جريبات المبيض مع بداية الانقسام الاختزالي في الخلية الاولى للبيضة oogonium وتكوين البيضة ، و تتحرك العناصر الجسدية somatic elements لجريب المبيض باتجاه تكوين البيضة البالغة ovum (Rybska *et al.*, 2018). ويبدأ تكوين الجريبات قبل الولادة في بعض أنواع الثدييات (الأبقار والأغنام والجاموس) (Peters and McNatty, 1980)، أو بعد الولادة بفترة قصيرة في أنواع أخرى (الفئران والجرذان والهامستر) (Peters and McNatty, 1980; Merchant- Larios and Chimal- Monroy, 1989). وفي هذا الوقت تكون جميع الخلايا

الجرثومية في المبايض عبارة عن بويضات أولية والتي ستبقى في هذه المرحلة حتى سن البلوغ بعدها تنتقل الجريبات المختارة في كل دورة إلى الإباضة (Picton, 2001). و تكون خلية البيضة oocyte في البداية محاطة بطبقة واحدة من الخلايا الحبيبية المسطحة التي يدعمها الغشاء القاعدي وان التراكيب التي تشكلت بهذه الطريقة هي الجريبات الأولية primary follicle التي تخضع لمزيد من عمليات النمو و التمايز التي توفر للبويضة بيئة مثلى، و حماية ضد المواد الضارة التي تفرز في مجرى الدم (Knox, 2005; Chachula *et al.*, 2016).

تبدأ عملية تكوين الجريبات في مبايض اناث اللبائن خلال الحياة الجنينية و تستمر حتى نهاية القابلية التكاثرية reproductive capacity و تمتاز بتطور و تمايز الخلايا (McGee and Hsueh, 2000; Monniaux *et al.*, 2014). وهي العملية التي تتطور وتنضج خلالها الخلية الجرثومية الأنثوية ضمن الخلايا الجسدية somatic cells للمبيض لتصبح بويضة قابلة للتخصيب (Burns and Matzuk, 2004).

يعد تطور الجريب أمراً معقداً ويعتمد على تكامل الإشارات من عدة اعضاء، بينما توجه عملية تكوين الجريبات المبكرة بتاثير إشارات من المبيض فضلاً عن أن هرمونات الغدة النخامية ضرورية في تكوين الجريبات في المرحلة المبكرة، وإن المبيض ينتج عدداً من هرمونات الاستجابة الراجعة والاندفاعية feedforward التي تنظم فسيولوجية الغدة النخامية (Rajkovic *et al.*, 2006) ، بالإضافة لوجود تداخل داخل المبيض في كل مرحلة ضمن التطور الطبيعي بين خلية البيضة oocyte و بين خلايا القراب theca cell و الخلايا الحبيبية granulosa cell المشتقة من الخلايا الجسدية (Matzuk *et al.*, 2002). و يتعلق تكوين الجريبات بعملية تطور طويلة يمر بها الجريب ، من الوقت الذي يغادر فيه التجمع الاحتياطي ، ويبدأ في النمو عن طريق تكاثر الخلايا وتكوين الغار ، حتى الإباضة أو الرتق atresia (Saumande, 1991).

1.10.2 المراحل التطورية للجريبات المبيضية Developmental stages of ovarian follicles

1. الجريبات الابتدائية Primordial follicles

يعد الجريب الابتدائي أصغر جريب داخل المبيض، ويحتوي على بويضة محاطة بطبقة واحدة من الخلايا الجسدية somatic المسطحة (Hsueh *et al.*, 2015). يحدث تكوين الجريبات

الابتدائية في القوارض في وقت قريب من الولادة (Hirshfield, 1991). وتعمل الجريبات الابتدائية التي تم تكوينها خلال الحياة الجنينية كمصدر للبيوضات القابلة للتخصيب في الثدييات طوال مدة العمر الإنجابي (Chakravarthi *et al.*, 2020). تنتهي الحياة الإنجابية للإناث عندما تتوقف عملية تكوين الجريبات بسبب فقدان الجريبات الابتدائية (Li *et al.*, 2015). و يلعب تنظيم السكون والتنشيط الانتقائي للجريبات الابتدائية دورا مهما في تحديد العمر الإنجابي للإناث (Adhikari, 2013).

2. الجريبات الأولية Primary follicles

يعرف الجريب الأولي بوجود خلية حبيبية مكعبة واحدة أو أكثر مرتبة على شكل طبقة واحدة تحيط بالبيضة. وتشمل الأحداث التطورية الرئيسة التي تحدث في الجريب الأولي التعبير عن مستقبلات الهرمون المحفز للجريبات follicle stimulating hormone (FSH) ونمو و تمايز البويضات (Williams and Erickson, 2015).

3. الجريبات الثانوية Secondary follicles

تشمل التغييرات الرئيسة التي تحدث أثناء تطور الجريب الثانوي تراكم أعداد متزايدة من الخلايا الحبيبية التي تشكل طبقات متعددة حول خلية البيضة وتكوّن الخلايا القرابية theca cells. و يتطور الجريب الأولي إلى جريب ثانوي كامل النمو بتأثير عملية تنظيمية فعالة ذاتية الإفراز /autocrine جنينية الإفراز paracrine، والتي تشمل عوامل النمو التي تنتجها خلية البيضة (Williams and Erickson, 2015).

4. الجريبات الغارية Antral follicles

يتميز الجريب الغاري بوجود تجويف أو "غار" يحتوي على سائل يسمى السائل الجريبي و هو عبارة عن محيط صغير microenvironment مكون من نضحة بلازما و افرازات من خلية البيضة و الخلايا الحبيبية (Edwards, 1974). وهو الوسط الذي تبقى فيه خلية البيضة و الخلايا الحبيبية، و تمر خلاله الجزيئات المنظمة بطريقها من والى هذا الوسط، ويمتاز بدء تطور الغار بظهور التجويف الحاوي على السائل في قطب واحد لخلية البيضة (Williams and Erickson, 2015).

2.10.2 السيطرة الهرمونية في عملية تكوين الجريبات المبيضية Hormonal control on folliculogenesis

تخضع عملية تكوين الجريبات المبيضية للجهاز الصمي وتشارك عدة هرمونات في هذه العملية إما بطريقة التغذية الاسترجاعية الموجبة او السالبة Positive or negative feedback mechanism لتنظيم عملية تكوين الجريبات المبيضية والهرمونات المنظمة لعملية تكوين الجريبات (Gougeon., 1996):

1- الهرمون المحرر لمحفزات القند (GnRH) Gonadotropin-releasing hormone

يفرز من تحت المهاد، و يحفز افراز الهرمون المحفز للجريبات و الهرمون اللوتيني (LH) lutenizing hormone من الفص الامامي للغدة النخامية.

2- الهرمون المحفز للجريبات (FSH) Follicle stimulating hormone

يفرز من الفص الامامي للغدة النخامية، و يعمل على تحفيز نمو الجريبات المبيضية و وصولها الى مرحلة الاباضة.

3- الهرمون اللوتيني (LH) Luteinizing hormone

يفرز من الفص الامامي للغدة النخامية، و يحفز حدوث عملية الاباضة للجريبات الناضجة و يعمل على تكوين الجسم الاصفر corpus luteum.

4- هرمون الاستروجين Estrogen hormone

يفرز من خلايا القراب الداخلي internal theca cell للجريبات المبيضية تحت تأثير تحفيز هرمون الFSH، و يعمل على المساعدة في نمو الجريبات المبيضية و بدأ دورة الشبق estrous cycle.

5- هرمون البروجستيرون Progesterone hormone

يفرز من الجسم الاصفر corpus luteum بعد عملية الاباضة استجابة لهرمون LH ، ويعمل البروجستيرون على تهيئة بطانة الرحم endometrium لعملية الغرس.

11.2 الهرمون المضاد للمولر (AMH) Anti-mullerian hormone

الهرمون المضاد للمولر (AMH)، و يعرف أيضا بالمادة المثبطة للمولر mullerian inhibiting substance (MIS) عضو في ال super family المسماة عامل النمو المحول بيتا transforming growth factor beta، وعرف بداية بوظيفته في إحداث تكوص regression لقناة مولر في الثدييات (Vigier *et al.*, 1984; Behringer *et al.*, 1994). فضلا عن احداثه كوصاً لقناة مولر أثناء التمايز الجنسي فهو يعبر عنه أيضا في الغدد التناسلية البالغة وتحديداً الخلايا الحبيبية في المبيض وخلايا سيرتولي في الخصية (Ueno *et al.*, 1989; Hirobe *et al.*, 1992). يتم إنتاج الهرمون المضاد للمولر من الخلايا الحبيبية للجريبات النامية قبل ظهور الغار growing preantral، والجريبات الغارية الصغيرة كبروتين سكري ثنائي dimeric glycoprotein (La Marca *et al.*, 2009). و لوحظ ان أعلى تعبير عن ال AMH في الخلايا الحبيبية للجريبات في مرحلة ما قبل ظهور الغار و الجريبات الغارية الصغيرة إذ ينخفض التعبير عنه في الجريبات الغارية المتأخرة late antral (Gruijters *et al.*, 2003; Visser and Themmen, 2005).

أكدت الدراسات عدم وجود تعبير لل AMH في الجريبات الابتدائية و الرتيقية (Durlinger *et al.*, 2002a) و ينظم الهرمون المضاد للمولر خطوتين تنظيميتين لتكوين الجريبات: فهو يمنع تنشيط الجريبات البدائية، ويقلل من حساسية جريبات ما قبل ظهور الغار الكبيرة والجريبات الغارية الصغيرة للهرمون المحفز للجريبات FSH (Durlinger *et al.*, 2002a). و يستخدم هرمون AMH لمراقبة مخزون جريبات المبيض خلال فترة ما قبل انقطاع الطمث للنساء في مراكز التكنولوجيا المساعدة على الإنجاب (Visser *et al.*, 2006; Robertson, 2008).

أظهرت الدراسات أن للهرمون المثبط للمولر AMH تأثيرات متعددة في الغدد التناسلية بما في ذلك تثبيط جمع الجريبات follicle assembly (Nilsson *et al.*, 2011)، وبدء نمو الجريب الابتدائي في الإناث (Durlinger *et al.*, 2002b)، وتعزيز تكوين الستيرويدات في خلايا لايدك عند الذكور (Wu *et al.*, 2005).

12.2 الموت الخلوي المبرمج Apoptosis

إن الموت الخلوي المبرمج apoptosis مأخوذ من الكلمة اليونانية "a-po-toe-sis" التي تعني حرفيا السقوط (Kerr, 2002). اكتشف العالم والفيلسوف الألماني كارل فوغت Carl Vogt في عام 1842 هذه الظاهرة ولكنه لم يبحث عنها كثيرا بعد أن لاحظ اختفاء الخلايا الموجودة داخل الحبل الظهري notochord، واستبدالها أثناء عملية التطور، و في عام 1951 افترض كلوكسمان Glucksmann أن موت الخلية شرط أساسي لنمو وموت الكائن الحي، و في وقت لاحق لوحظت هذه الظاهرة والتنبؤات من قبل كيرو ويلي وكوري Kerr, Wyllie and Currie في عملهم إذ وصفوا الظاهرة أولا على أنها سلسلة شكلية متعاقبة واضحة المعالم لموت الخلايا (Obeng,2020).

إن موت الخلايا المبرمج عملية تنظيم تسلسلي لموت الخلية، و لذلك يسمى بموت الخلية المبرمج الذي اكتشف لأول مرة في عام 1964 قبل فكرة أن موت الخلية لا يحدث عرضيا أو بالصدفة (Lockshin and Williams, 1964). و برهنت مجموعة من الدراسات أن هذه العملية بالغة الأهمية ودرجة للتطور و الاتزان البدني (Hassan *et al.* 2014). وعلى الرغم من وصف أشكال أخرى لموت الخلايا إلا أن الظروف المحيطة بهذه الظاهرة جذبت انتباه العلماء واهتمامهم (Obeng, 2020).

قد يثار الموت الخلوي المبرمج بتكاثر الخلايا غير المسيطر عليه و تحطم الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA أو كنتيجة لبعض الأمراض والحالات مثل مرض الزهايمر ، و باركنسون ، و ضمور العضلات الشوكي spinal muscular atrophy و الإجهاد أو السموم، مما يدل على أهميته للحفاظ على تعداد الخلايا والدفاع ضد مثل هذه الحالات أو الامراض (Leist and Jaattela, 2001; Zaman *et al.*, 2014; Lopez and Tait, 2015). و يمكن أن يحدث كل من الموت الخلوي المبرمج و التخر في نفس الوقت، وتعتمد الطريقة التي سببتهما على مستوى و شدة المحفز ، و السم ، و العدوى ، و الكلم trauma او قلة كمية الاديونسين ثلاثي الفوسفات adenosine triphosphate (ATP)، واستنادا لهذه الحالات يمكن أن تعرف عملية الموت الخلوي المبرمج بأنها العملية التي تؤدي الى تنشيط الانزيمات المحللة للبروتين الحاوي على السستين (الكاسبيزات cysteine proteases (caspases) لتنفيذ عدد من العمليات لزوال الخلية حتى يتساوى معدل تكاثر الخلايا للتطور وعملية الاتزان البدني (Zeiss, 2003).

هناك عدد من المسارات التي يمكن من خلالها بدء موت الخلايا المبرمج أو تثبيطه ، ومع ذلك ، يلاحظ أن كل خلية تمتلك إشارة داخلية يمكنها بدء موتها المبرمج في أي وقت (Ziegler and Groscurth, 2004; Lavrik *et al.*, 2005). و يوصف موت الخلايا المبرمج على نطاق واسع بأنه آلية مهمة للموت المسيطر عليه الذي لا يحدث كنتيجة لتحطم الخلايا أو الإجهاد الخارجي فحسب وإنما يحدث أيضا أثناء التطور الطبيعي والتشكل (Nikoletopoulou *et al.*, morphogenesis (2013). و تتميز آلية عمل موت الخلايا المبرمج عادة بتكثيف مادة الكروماتين، وتفتت الحامض النووي في النواة، وانكماش الخلية، ونفت blebbing الغشاء الديناميكي، وفقدان التصاق الانسجة بين الخلايا في المحيط الخارجي للخلية تحت الموت المبرمج (Jan and Chaudhry , 2019). و يرافق ذلك تحويرات كيميائية تشمل اخراج الفوسفاتيديل سيرين externalization of phosphatidylserine وتنشيط انزيم السيستين أسبارتيل المحلل للبروتين activation of cysteine aspartyl proteases المسمى كاسباز caspase و الذي يؤدي إلى موت الخلية (Hudayah *et al.*, 2017; Chaudhry *et al.*, 2018). و ان موت الخلايا المبرمج مسؤول عن إزالة الخلايا غير المرغوب فيها أو التالفة أثناء عملية التطور (Palai and Mishra, 2015).

ان آلية موت الخلايا المبرمج معقدة للغاية وتتضمن سلسلة من الأحداث الجزيئية التي تعتمد على الطاقة، يتوسطها بشكل أساسي ثلاثة مسارات: مسار مستقبل خارجي أو مستقبل موت extrinsic / or death receptor pathway ، مسار داخلي أو مسار في المتقدرات ، مسار ال perforin / granzyme (Danial and Korsmeyer, 2004; Kurokawa and Kornbluth, 2009). و يبدأ المسار الخارجي خارج الخلية عندما تحدد الظروف في البيئة خارج الخلية أن الخلية يجب أن تموت (Palai and Mishra, 2015).

13.2 انزيمات الكاسباز caspase enzymes

إن الكاسبازات عائلة من الانزيمات المحللة للبروتين الموجهة بالاسبارتات المعتمدة على السيستينيل cysteinyl dependent aspartate directed proteases، تلعب أدواراً أساسية في تنظيم موت الخلايا المبرمج على المستوى الخلوي الذي يتسبب في النهاية في زوال الخلية من خلال سلسلة من الأحداث الجزيئية (Luthi and Martin, 2007).

يتم تصنيع ال Caspases على شكل طلائع انزيمات pro enzymes، ويتم تنشيطها بواسطة محفزات داخلية وخارجية مختلفة (Li and Yuan, 2008). تم تحديد عشرة أنواع رئيسية من الكاسبيزات البادئة initiator caspases ذات النطاق الطويل (long pro-domain caspase) (2,8,9,10)، الكاسبيزات المؤثرة أو المنفذة ذات النطاق القصير effectors or executioner (caspase 3,6,7) caspases with a short pro-domain و الكاسبيزات الالتهابية (caspase 1, 4, 5) (Cohen, 1997; Rai *et al.*, 2005).

عند تنشيط الكاسبيزات، تنشطر الكاسبيزات المؤثرة بالتحلل البروتيني عن الركائز بشكل سلسلة، و تؤدي بالتالي إلى الموت الخلوي (Fischer *et al.*, 2003). و يعمل كل من الكاسبيز-3 والكاسبيز-6 والكاسبيز-7 ككاسبيزات مؤثرة منفذة executioner، التي تسبب التغيرات الشكلية والكيموحيوية في الخلايا المنتحرة، أو التي تعاني من الموت المبرمج (Elmore, 2007). يعد الكاسبيز-3 أهم الكاسبيزات المؤثرة أو المنفذة، ويتم تنشيطه بواسطة أحد الكاسبيزات البادئة (8 أو 9 أو 10). و ينشط الكاسبيز-3 على وجه الخصوص انزيم النيوكليز الداخلي CAD endonuclease (caspase activated DNase I) في الخلايا المتكاثرة proliferating cells و يكون ال CAD مرتبطاً مع مثبطه ICAD (inhibitor of caspases activated DNase I) ولكن في الخلايا المنتحرة يعمل الكاسبيز-3 المنشط على تحرير CAD من ICAD (Sakahira *et al.*, 1998; Elmore, 2007)، ثم يقوم ال CAD بعد ذلك بتحطيم الحامض النووي الصبغي chromosomal DNA داخل النواة، ويسبب تكثيف الكروماتين، مما يؤدي إلى تجزئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين و موت الخلايا، واخذها بواسطة الخلايا البلعمية (Palai and Mishra, 2015). وللكاسبيز-3 دور في عدد من الأمراض التنكسية العصبية بما في ذلك مرض الزهايمر وباركنسون (Mogi *et al.*, 2000; Graham *et al.*, 2006) Parkinson's.

الفصل الثالث

المواد و طرائق العمل

Materials and Methods

1.3 المواد المستخدمة:

1. الجوسيبول 98 % (WonderLand, China).
2. الكورستين 98 % (Samsara Herbs, USA).
3. الكركمين 98 % (Bella Chemical, USA).
4. زيت الذرة Corn Oil.
5. كحول مطلق 99 % (Thomas Scientific, USA).
6. داي اثيل ايثر (Thomas Scientific, USA).
7. شمع البارافين Paraffin wax.
8. زابلول (Thomas Scientific, USA).
9. Distrene plastizer xylene (DPX) (Sigma-Aldrich, USA).
10. حامض الهيدروكلوريك 36 % (GCC, UK).
11. حامض السلفوساليسيليك 20 % (LAB tech chemical, Canada).
12. كاشف المان (DTNB) 5,5-dithiobis 2-nitrobenzoic acid (HiMedia, India).
13. حامض الخليك ثلاثي الكلور (TCA) (Nottengham, England).
14. حامض الثايوباربيتوريك (TBA) (HiMedia, India).

15. فوسفات ثنائي الصوديوم Na_2HPO_4 (Thomas Baker, India).
16. فوسفات أحادي البوتاسيوم KH_2PO_4 (Fluka AG, Switzerland).
17. هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide (Panreac, Spain).
18. محلول الملح الفسلجي Normal saline.
19. صبغة الهيماتوكسلين و الايوسين Hematoxylin and Eosin (Thomas Baker, India).
20. فورمالين 10%.

2.3 الاجهزة والعدد المستخدمة

1. ميزان الكتروني حساس (ADAM, Turkey).
2. ميزان وزن الحيوانات (Seca, Germany).
3. مجهر ضوئي Microscope (Novel, China).
4. كاميرا (Omax, China).
5. جهاز الطرد المركزي Centrifuge (GIMA, Italy).
6. جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer (Lovibond, England).
7. جهاز قاريء الاطباق الدقيقة Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Bio Tek Instruments, USA).
8. جهاز المشراح Microtome (Letiz Watzlar, Germany).
9. جهاز معايرة الاس الهيدروجيني pH meter (AZZOTA, USA).
10. سيت ادوات تشريح مختبرية.
11. انابيب شعرية حاوية على مانع تخثر Capillary tubes.
12. سلايدات و غطاء السلايدات Slide and Cover slides.
13. زجاجيات مختبرية متنوعة و مختلفة الاحجام.
14. حمام مائي Water Bath (Memmert, Germany).
15. حاضنة Incubator (Kal-Kolb, Germany).

16. عدة لتقدير مستوى الهرمون المضاد للمولر (BT Lab, China).
17. عدة لتقدير مستوى الهرمون المحفز للجريبات (BT Lab, China).
18. عدة لتقدير مستوى انزيم الكاسباز-3 (Solarbio, China) (Caspase-3).
19. خلاط (Dragonlab, China) Vortex Mixer.
20. (Dragonlab, China) Multichannel pipette.
21. جهاز الطرد المركزي المبرد (GIMA, Italy) Cold Centrifuge.

3.3 تصميم التجربة

استخدم في التجربة 48 أنثى جرد من الجرذان البيض Albino rats بعمر 21 يوماً وتراوحت أوزانها بين 28-32 غم ، تم الحصول عليها من التزاوج بين ذكور و اناث جرذان بالغة بواقع 3 اناث/1 ذكر، تمت تربيتها في بيت الحيوان التابع لكلية الطب البيطري جامعة الموصل، وضعت الجرذان في اقفاص بلاستيكية تحت ظروف مختبرية تمثلت بدرجة حرارة $26 \pm 3^{\circ}\text{C}$ و بدورة ضوئية 11 ساعة ضوء و 13 ساعة ظلام و أعطيت الحيوانات العلف مع الماء بشكل حر *ad libitum*.

شملت التجربة ست مجاميع، كل مجموعة مؤلفة من 8 اناث بعمر 21 يوماً، تراوحت أوزانها بين 28-32 غم، عوملت الحيوانات يومياً و لمدة 35 يوماً عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية Gavage needle، و حضرت المحاليل أنياً.

- المجموعة الأولى (مجموعة السيطرة): أعطيت حيوانات هذه المجموعة زيت الذرة Corn oil.
- المجموعة الثانية (مجموعة المعاملة بالجوسيبول): أعطيت حيوانات هذه المجموعة مادة الجوسيبول بجرعة 40 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم، اذيببت مادة الجوسيبول في زيت الذرة (de Carvalho et al., 2013).
- المجموعة الثالثة (مجموعة المعاملة بالكورستين): أعطيت حيوانات هذه المجموعة مادة الكورستين بجرعة 100 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم، اذيببت مادة الكورستين في زيت الذرة (Almaghrabi, 2015).

- المجموعة الرابعة (مجموعة المعاملة بالكرمين): أعطيت حيوانات هذه المجموعة مادة الكركمين بجرعة 200 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم، اذبيت مادة الكركمين في زيت الذرة (El-senosi, 2017).
- المجموعة الخامسة (مجموعة المعاملة بالجوسيبول و الكورستين): أعطيت حيوانات هذه المجموعة مادتي الجوسيبول 40 ملغم/كغم و الكورستين 100 ملغم/كغم من وزن الجسم.
- المجموعة السادسة (مجموعة المعاملة بالجوسيبول و الكركمين): أعطيت حيوانات هذه المجموعة مادتي الجوسيبول 40 ملغم/كغم و الكركمين 200 ملغم/كغم من وزن الجسم.

4.3 الخطوات المتبعة لتقييم الكفاءة التناسلية لإناث الجرذان:

1.4.3 وزن الحيوانات و الاعضاء التناسلية:

خدرت الحيوانات باستعمال اناء زجاجي خاص (Jar) احتوى على القطن المشبع بالايثر و سجلت اوزان الحيوانات قبل القتل .

فتح التجويف البطني للحيوانات باستعمال ملقط و مقص حاد و استمر الفتح حتى التجويف الصدري للوصول الى الاحشاء الداخلية حيث تم استخراج الاعضاء التناسلية (المبيضين و الرحم)، بعد تنظيف هذه الاعضاء من الانسجة المحيطة بها، و باستخدام ميزان كهربائي حساس تم وزن المبيضين (الايمن و الايسر معا) و كذلك الرحم. و وضعت المبايض في الفورمالين 10% لعمل المقاطع النسيجية.

2.4.3 تحضير المقاطع النسيجية للمبايض:

اخذت 5 مبايض لكل مجموعة من المبايض الموضوعة في الفورمالين لغرض تمريرها في سلسلة من الكحول الايثيلي المتصاعد التركيز (70،95،100) % لإزالة الماء منها ثم الزايلول لغرض التوضيح، و طمرت بعد ذلك في شمع البارافين تمهيدا لقطعها على نحو متسلسل serial sections و صبغت بطريقة التصبيغ المزدوج باستخدام صبغة الهيماتوكسولين و الايوسين (Jimenez et al., 2021) ، و درست المقاطع النسيجية المتسلسلة لكل مبيض (50 مقطع لكل مبيض) ، اذ تم قياس قطرین متعامدين لكل جريب من بدء ظهوره حتى الوصول الى أكبر قطرين، و هكذا لكل الجريبات التي تظهر في كل مقطع باستخدام برنامج ايماج ج Image J/Fiji 1.46 program، ثم قسمت هذه

الجريبات الى الجريبات النامية *growing follicles*، جريبات ما قبل ظهور الغار *preantral follicles* و الجريبات الغارية *antral follicles* (Basso and Esper, 2002).

5.3 التحاليل الكيموحيوية و تقدير مستوى الهرمونات:

تم جمع الدم من جميع حيوانات التجربة عند الانتهاء قبل القتل من الظفيرة المشيمية الوريدية للعين *choroid venous plexus* (Igwebuik *et al.*, 2011) في أنابيب مختبرية نظيفة وجافة، ثم تركت الانابيب في درجة حرارة الغرفة لكي يتجلط الدم، و فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي *centrifuge* تمهيدا لتقدير مستوى الهرمونات و التحاليل الكيموحيوية.

1.5.3 تقدير مستوى الكلوتاثايون المختزل (GSH) في مصل الدم *Estimation of reduced glutathione level in serum*

المبدأ الاساس: *Basic principle* تم تقدير مستوى الكلوتاثايون باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من الباحثين (Sedlk and Lindsay, 1968; Tietz, 1999)، وتعتمد الطريقة على استخدام كاشف المان *Elman's reagent* الحاوي على كاشف *DTNB* [5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)] اذ يتفاعل الكاشف بسرعة مع الكلوتاثايون و يختزل بواسطة مجموعة السلفاهديريل (-SH) للكلوتاثايون مكونا ناتجا ملونا قيست امتصاصيته باستخدام جهاز المطياف الضوئي عند طول موجي 412 نانومتر.

تحضير الكواشف: *Reagent preparation*

1. حامض السلفوسالسليك *Sulfusalicylic acid* بتركيز 4%.
2. محلول المان *0.1 mM* (0.1) حضر باذابة 0.00396 غرام من *DTNB* في 100 مليلتر من محلول الفوسفات المنظم pH 8 الذي حضر بمزج *KH2PO4* بتركيز (0.6 M) مع *Na2HPO4* بتركيز (0.08M).

طريقة العمل: *Procedure*

- وضع 150 مايكرو لتر من مصل الدم في أنبوبة اختبار نظيفة و جافة.
- اضيف 150 مايكرو لتر من حامض السلفوسالسليك 4%.

- مزجت الأنابيب و وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 rpm مدة 5 دقائق.
- سحب 150 مايكرو لتر من الراشح الرائق و اضيف اليه 4.5 مليلتر من محلول المان مع الرج.
- قيس امتصاصية المحاليل عند طول موجي 412 نانومتر مقابل الكفاء blank الذي يحتوي على جميع المحاليل السابقة ما عدا مصل الدم.

الحسابات: Calculation

تم تقدير مستوى الكلوتاتايون في مصل الدم بالاعتماد على المعادلة الآتية:

$$\text{GSH CONC. } (\mu\text{mol/L}) = (A \text{ test} - A \text{ blank}) / E^{\circ} \times L \times 10^6$$

A test = امتصاصية محلول الاختبار

A blank = امتصاصية محلول الكفاء

E° = معامل الامتصاص المولاري (Extinction coefficient) = 13600 M⁻¹ Cm⁻¹

L = طول المسار الضوئي (1 cm)

2.5.3 تقدير مستوى المالوندايالديهايد (MDA) في مصل الدم Estimation of Malondialdehyde level in serum

المبدأ الاساس: Basic principle تم تقدير مستوى بيروكسدة الدهون في مصل الدم من خلال تقدير كمية المالوندايالديهايد MDA بوصفه ناتجا نهائيا لبيروكسدة الدهن، و تعتمد الطريقة على التفاعل بين بيروكسيدات الدهون وبشكل رئيسي المالوندايالديهايد وبين حامض الثايوباربيتوريك (TBA) thiobarbituric acid حيث يجري التفاعل في وسط حامضي و يكون ناتجا ملونا تقاس شدة امتصاصه عند طول موجي 532 نانومتر (Wierusz-Wysocka *et al.*, 1995).

تحضير الكواشف: Reagent preparation

1. محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور TCA بتركيز 15%.

2. محلول حامض الثايوباربتيوريك TBA: حضر باذابة 0.0375 غم في 10 مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 0.25N و تم تحضير المحلول انيا.

طريقة العمل: Procedure

- اخذ 50 مايكرو لتر من مصل الدم و اضيف اليه 25 مايكرو لتر من محلول TBA و 1 مل من TCA بتركيز 15%.
- وضعت انابيب الاختبار في حمام مائي بدرجة 100 درجة مئوية مدة 15 دقيقة.
- بردت العينات و تم فصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 rpm و مدة 5 دقائق.
- قيست شدة الامتصاصية للراشح المتكون عند طول موجي 532 نانومتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي.
- عومل محلول الكفاء Blank بالخطوات السابقة نفسها و باستخدام 50 مايكرو لتر من الماء المقطر الخالي من الايونات بدلا من مصل الدم.

الحسابات: Calculation

تم تقدير مستوى المألوندايالديهايد في مصل الدم بالاعتماد على المعادلة الاتية:

$$\text{MDA CONC. } (\mu\text{mol/L}) = (A \text{ test} - A \text{ blank}) / E^{\circ} \times L \times 10^6$$

$$A \text{ test} = \text{امتصاصية محلول الاختبار}$$

$$A \text{ blank} = \text{امتصاصية محلول الكفاء}$$

$$E^{\circ} = \text{معامل الامتصاص المولاري (Extinction coefficient)} = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$$

$$L = \text{طول المسار الضوئي (1 cm)}$$

3.5.3 تقدير مستوى الهرمون المحفز للجريبات في مصل الدم stimulating hormone (FSH) level in serum

استخدمت تقنية قراءة الاطباق الدقيقة Sandwich ELISA لغرض تقدير مستوى الهرمون المحفز للجريبات باستخدام العدة الجاهزة Kit من شركة BT Lab.

طريقة العمل: Procedure

- اضيف 50 مايكرو لتر من المحلول القياسي الى الحفر القياسية standard wells في الطبق.
- بعدها اضيف 40 مايكرو لتر من مصل الدم الى الحفر و من ثم اضيف 10 مايكرو لتر من anti-FSH antibody الى حفر العينات sample wells بعد ذلك اضيف 50 مايكرو لتر من streptavidin-HRP لجميع الحفر ما عدا حفر الكفاء blank.
- حرك الطبق بعد الانتهاء من الإضافات مدة 20-30 ثانية.
- حضن الطبق بدرجة حرارة 37° م مدة 60 دقيقة.
- سكبت محتويات الطبق بعد انتهاء فترة الحضن و اجريت عملية الغسل باستخدام محلول الغسل و كررت العملية 5 مرات.
- اضيف 50 مايكرو لتر من substrate solution A و substrate solution B لكل الحفر.
- بعدها تم حضن الطبق بدرجة حرارة 37° م مدة 10 دقائق.
- بعد انتهاء فترة الحضن تم توقيف التفاعل باضافة 50 مايكرو لتر من موقف التفاعل stop solution لجميع الحفر.
- قرىء الطبق عند طول موجي 450 نانومتر بواسطة جهاز قراءة الاطباق الدقيقة بعد 10 دقائق من اضافة موقف التفاعل.

4.5.3 تقدير مستوى الهرمون المضاد للمولر في مصل الدم - Estimation of Anti-mullerian hormone (AMH) level in serum

استخدمت تقنية قراءة الاطباق الدقيقة Sandwich ELISA لتقدير مستوى الهرمون المضاد للمولر باستخدام العدة الجاهزة Kit من شركة BT Lab.

طريقة العمل:

- أضيف 50 مايكرو لتر من المحلول القياسي الى الحفر القياسية standard wells في الطبق.
- بعدها أضيف 40 مايكرو لتر من مصل الدم الى الحفر ثم اضيف 10 مايكرو لتر من anti-AMH antibody الى حفر العينات sample wells تلاها اضافة 50 مايكرو لتر من streptavidin-HRP لجميع الحفر ما عدا حفر الكفاء blank.
- حرك الطبق بعد الانتهاء من الإضافات مدة 20-30 ثانية.
- حضن الطبق بدرجة حرارة 37° م مدة 60 دقيقة.
- سكبت محتويات الطبق بعد انتهاء فترة الحضن و اجريت عملية الغسل باستخدام محلول الغسل و كررت العملية 5 مرات.
- اضيف 50 مايكرو لتر من substrate solution A و substrate solution B لكل الحفر.
- ثم حضن الطبق بدرجة حرارة 37° م مدة 10 دقائق.
- بعد انتهاء فترة الحضن تم توقيف التفاعل باضافة 50 مايكرو لتر من موقف التفاعل stop solution لجميع الحفر.
- قرىء الطبق عند طول موجي 450 نانومتر بواسطة جهاز قراءة الاطباق الدقيقة بعد 10 دقائق من اضافة موقف التفاعل.

5.5.3 Estimation of Caspase-3 level in ovarian tissue تقدير مستوى انزيم الكاسبيز-3 في نسيج المبيض

استخدمت تقنية التقدير اللوني colorimetric assay لغرض تقدير مستوى انزيم الكاسبيز-3 باستخدام العدة الجاهزة Kit من شركة Solarbio.

المبدأ الاساس: Basic principle

يعتمد تقدير مستوى أنزيم الكاسبيز-3 على التحلل المائي لركيزة الببتيد DEVD-pNA بواسطة الكاسبيز-3، مما يؤدي إلى إطلاق جزيئات ال p-Nitroaniline (pNA) و يمتاز p-Nitroaniline بامتصاص عالٍ عند طول موجي 405 نانومتر إذ يمكن حساب مستوى أنزيم الكاسبيز عن طريق الكشف عن pNA .

طريقة العمل: Procedure

1. تحضير العينة:

اعتمادا على نسبة وزن النسيج الى حجم محلول الكاشف (Reagent II) ، 1:10، تم اخذ وزن 0.05 غم من نسيج المبايض وأضيف اليه 0.5 مل من محلول الكاشف ووضعهما في أنابيب الطرد المركزي Eppendorf tube، ثم تم سحن النسيج مع المحلول في حمام جليدي ، بعد ذلك تم وضع العينة في جهاز الطرد المركزي المبرد مدة 10-15 دقيقة بدرجة حرارة 4 °م، وأخيرا تم الحصول على المادة الطافية ووضعها على الثلج للتقدير (Proter and Janicke, 1999).

2. طريقة التقدير:

- تم إضافة المحاليل القياسية الى الحفر المخصصة لها في الطبق بواقع 100 مايكرو لتر/حفرة.
- أضيفت العينة مع الكواشف وبواقع 40 مايكرو لتر من Reagent I و 50 مايكرو لتر من العينة و 10 مايكرو لتر من Reagent III لباقي الحفر.
- ثم حضن الطبق بدرجة حرارة 37° م لمدة 120 دقيقة.
- ثم قرىء الطبق عند طول موجي 405 نانومتر بواسطة جهاز قاريء الاطباق الدقيقة.

6.3 التحليل الاحصائي

تم تحليل البيانات إحصائيا باستخدام برنامج الاحصاء JMP Pro16.1 software. و استخدم تحليل التباين الاحادي (ANOVA) one way analysis of variance، وتم تحديد الفروقات بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن Duncan's multiple range test ، و استخدم اختبار مربع كاي chi square test لتحديد الفروقات بين اعداد الجريبات المبيضية و اقطارها، و اعتمد مستوى الفرق الاحصائي المقبول ($P < 0.05$) (Steel and Torrie, 1980).

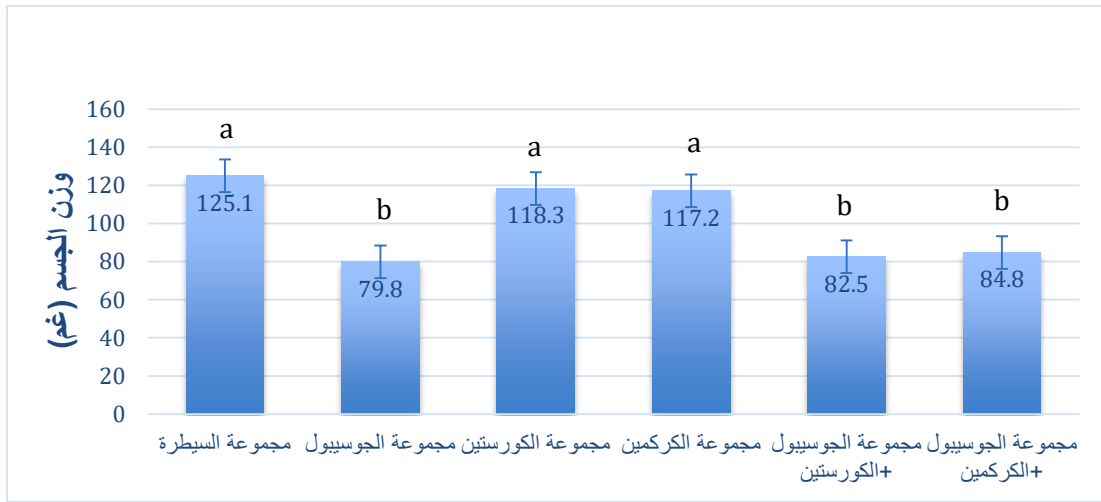
الفصل الرابع

النتائج

Results

1.4 وزن الجسم :

ادت المعاملة بالجوسيبول وحده إلى إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في وزن الجسم مقارنة بمجموعة السيطرة، والمعاملة بالكورستين و الكركمين وحدهما لم يظهر فرقاً معنوياً في وزن الجسم مقارنة بمجموعة السيطرة، و لم تظهر النتائج فرقاً معنوياً في وزن الجسم في المجموعة المعاملة بالجوسيبول والكورستين معا والجوسيبول و الكركمين معا مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده، كما مبين بالشكل (4) وملحق (1).



الشكل (4) تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول+كورستين و جوسيبول+كركمين على وزن الجسم (المعدل±الخطأ القياسي). الاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع في حين الاحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع ($P < 0.05$).

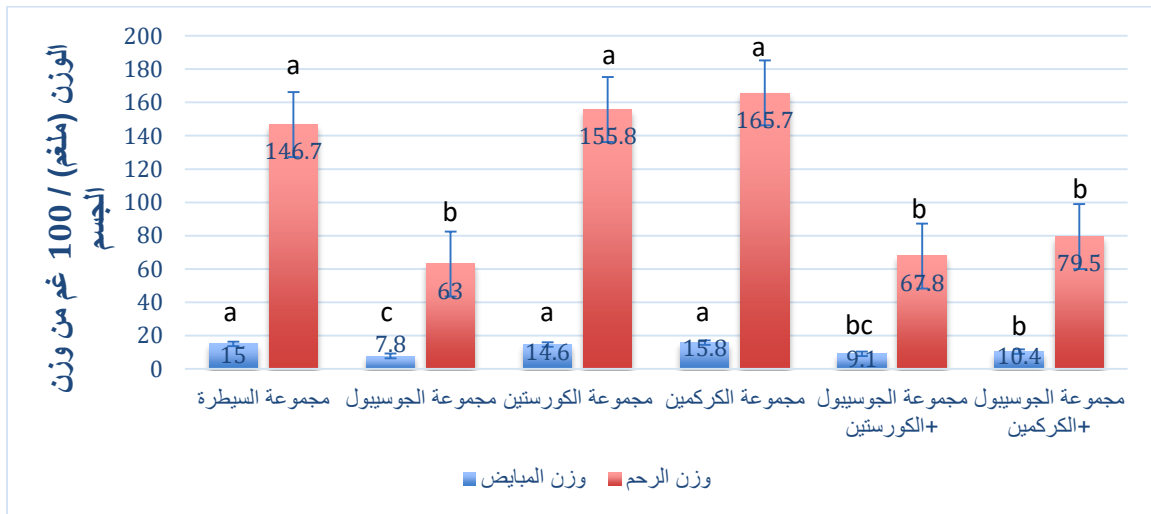
2.4 وزن المبايض:

أظهر الشكل (5) وملحق (1) وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في وزن المبايض في المجموعة المعاملة بالجوسيبول وحده مقارنة بمجموعة السيطرة، المعاملة بالكورستين والكركمين وحدهما لم يظهر فرقاً معنوياً في وزن المبايض مقارنة بمجموعة السيطرة، و لم تظهر النتائج فرقاً

معنوياً (زيادة حسابية) في وزن المبايض في المجموعة المعاملة بالجوسيبول و الكورستين معا مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده، بينما كان هناك زيادة معنوية ($P < 0.05$) في وزن المبايض في المجموعة المعاملة بالجوسيبول والكرمين معا مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده لكنها لم تصل إلى أوزان مجموعة السيطرة.

3.4 وزن الرحم:

أدت المعاملة بالجوسيبول وحده إلى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في وزن الرحم مقارنة بمجموعة السيطرة، والمعاملة بالكورستين و الكركمين وحدهما لم يظهر فرقاً معنوياً مقارنة بمجموعة السيطرة، و لم تظهر النتائج فرقاً معنوياً في وزن الرحم في المجموعة المعاملة بالجوسيبول و الكورستين معا والجوسيبول و الكركمين معا مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده، كما مبين بالشكل (5) و ملحق (1).



الشكل (5) تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على أوزان المبايض و الرحم (المعدل \pm الخطأ القياسي). الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع، في حين الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع ($P < 0.05$).

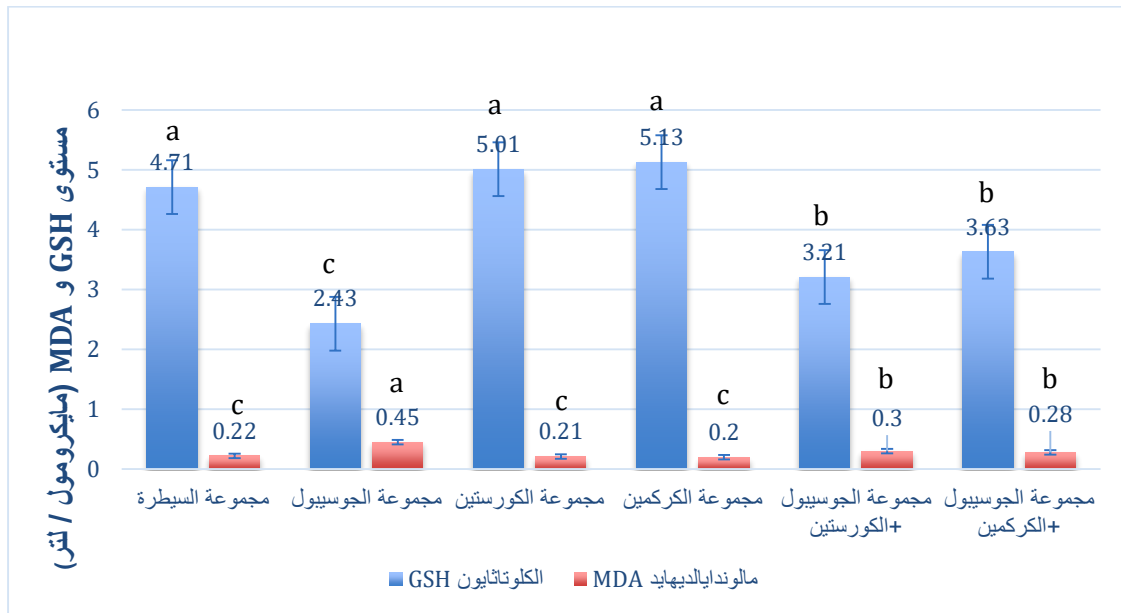
4.4 مستوى الكلوتاتايون GSH في مصل الدم:

أظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الكلوتاتايون لحيوانات المجموعة المعاملة بالجوسيبول وحده مقارنة بمجموعة السيطرة، و لم يظهر فرق معنوي في مستوى الكلوتاتايون بالمجاميع المعاملة بالكورستين و الكركمين وحدهما مقارنة بمجموعة السيطرة، بينما أدت

المعاملة بالجوسيبول و الكورستين معا و الجوسيبول و الكركمين معا إلى ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى الكلوتاثايون مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده، لكن لم يصل إلى مستواه في مجموعة السيطرة، كما موضح بالشكل (6) وملحق (2).

5.4 مستوى المالوندايديهايد MDA في مصل الدم:

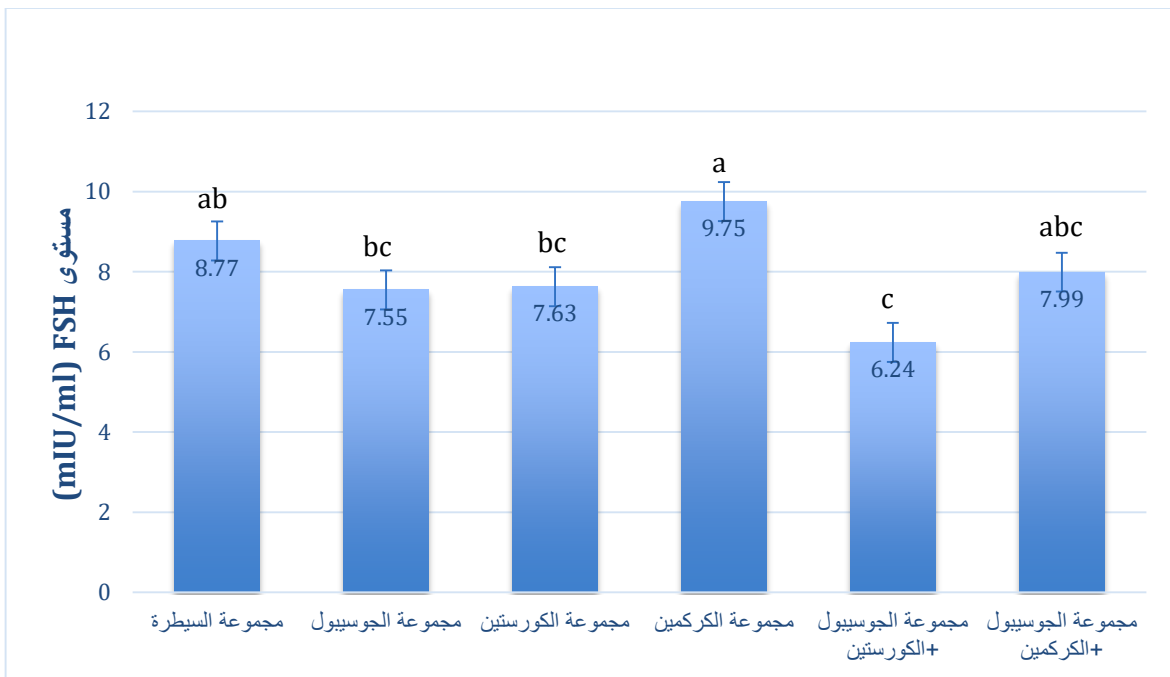
اوضحت النتائج في الشكل (6) و ملحق (2) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى المالوندايديهايد في المجموعة المعاملة بالجوسيبول وحده مقارنة بمجموعة السيطرة ، و لم يظهر اختلاف معنوي في مستوى المالوندايديهايد في المجاميع المعاملة بالكورستين و الكركمين وحدهما مقارنة بمجموعة السيطرة ، بينما أدت المعاملة بالجوسيبول و الكورستين معا و الجوسيبول و الكركمين معا إلى إنخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى المالوندايديهايد مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده، لكن لم يصل إلى مستواه في مجموعة السيطرة .



الشكل (6) تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على مستوى الكلوتاثايون GSH و المالوندايديهايد MDA في مصل الدم (المعدل \pm الخطأ القياسي). الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع، في حين الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع ($P<0.05$).

6.4 مستوى الهرمون المحفز للجريبات FSH في مصل الدم:

أظهرت نتائج دراستنا الحالية عدم حصول اختلاف معنوي في مستوى الهرمون المحفز للجريبات في المجاميع المعاملة بالجوسيبول ، الكورستين و الكركمين كلاً على حدى مقارنة بمجموعة السيطرة ، كذلك لم يكن هناك فرق معنوي في المعاملات المزدوجة مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده، في حين ظهر مستواه منخفضاً معنوياً ($P<0.05$) في المجموعة المعاملة بالجوسيبول و الكورستين معاً مقارنة بمجموعة السيطرة، كما مبين في الشكل (7) و ملحق (2).

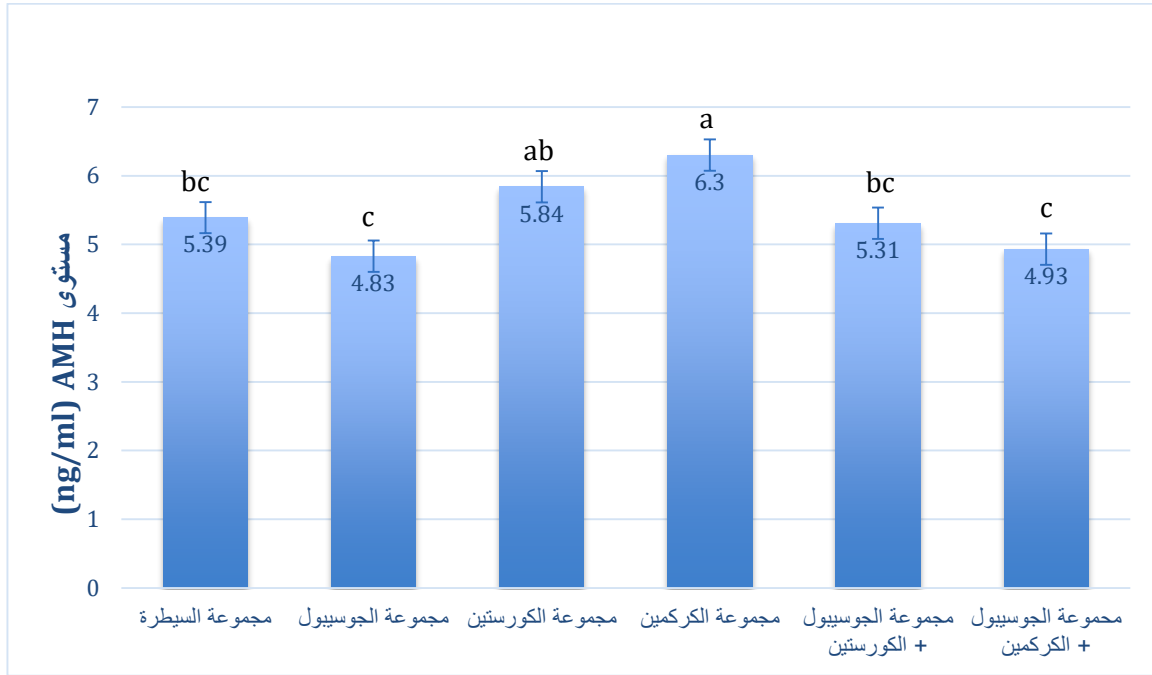


الشكل (7) تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على مستوى الهرمون المحفز للجريبات FSH في مصل الدم (المعدل \pm الخطأ القياسي). الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع، في حين الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع ($P<0.05$).

7.4 مستوى الهرمون المضاد للمولر AMH في مصل الدم:

تشير النتائج المبينة في شكل (8) و ملحق (2) إلى عدم ظهور فرق معنوي في مستوى الهرمون المضاد للمولر في المجموعتين المعاملة بالجوسيبول و الكورستين وحدهما مقارنة بمجموعة

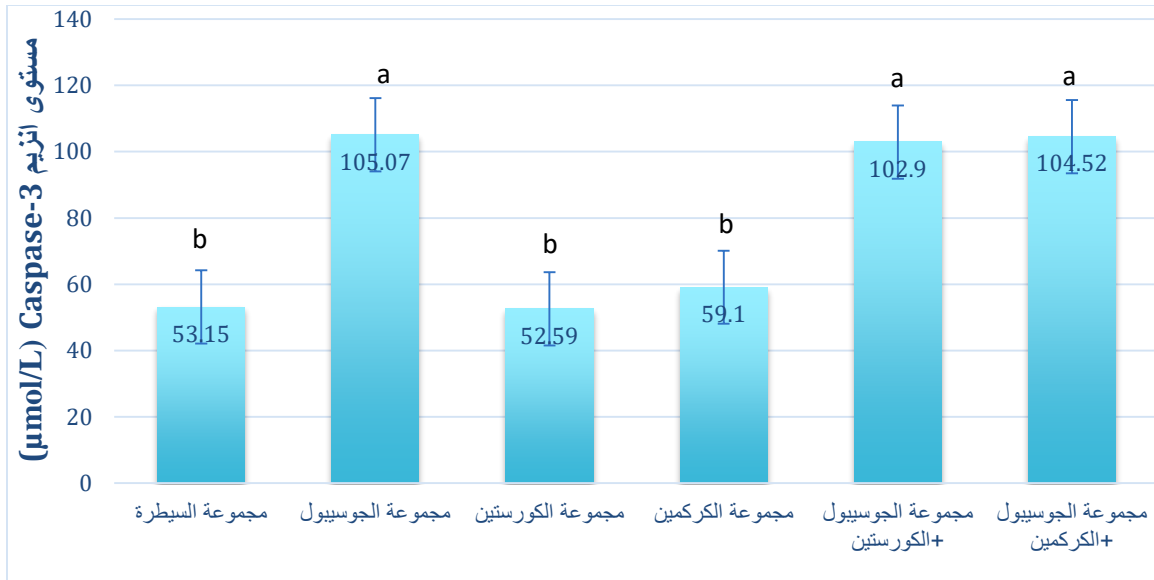
السيطرة، بينما كان هناك ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الهرمون المضاد للمولر في المجموعة المعاملة بالكرامين وحده مقارنة بمجموعة السيطرة، في حين لم يظهر اختلاف معنوي في المعاملات المزدوجة مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده و مجموعة السيطرة.



الشكل (8) تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين و جوسيبول + كركمين على مستوى الهرمون المضاد للمولر AMH في مصل الدم (المعدل \pm الخطأ القياسي). الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع، في حين الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع ($P < 0.05$).

8.4 مستوى انزيم Caspase-3 في نسيج المبيض:

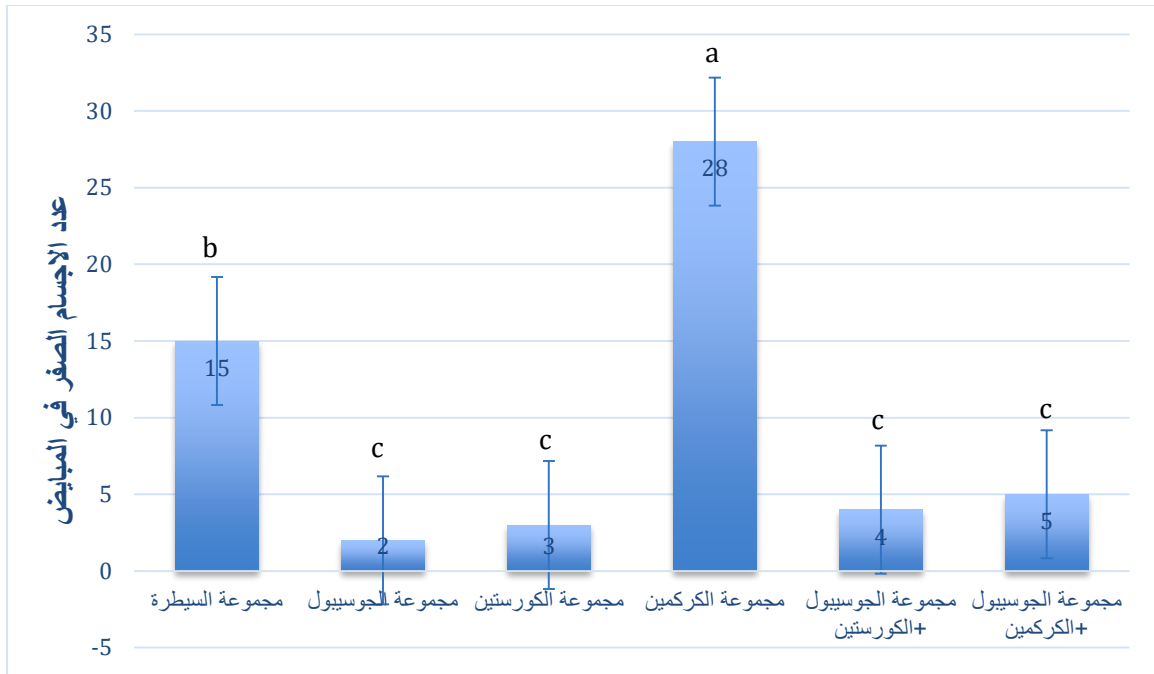
ادت المعاملة بالجوسيبول وحده الى ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى انزيم الكاسباز-3 مقارنة بمجموعة السيطرة، بينما لم يكن هناك اختلاف معنوي في مستوى انزيم الكاسباز-3 في معاملي الكورستين و الكركمين وحدهما مقارنة بمجموعة السيطرة، كما لم تظهر النتائج اي فرق معنوي في المعاملات المزدوجة مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده، واستمرت مرتفعة معنويا مقارنة بمجموعة السيطرة، كما موضح بالشكل (9) و ملحق (2).



الشكل (9) تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين وجوسيبول + كركمين على مستوى انزيم Caspase-3 في نسيج المبيض (المعدل \pm الخطأ القياسي). الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع، في حين الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع ($P < 0.05$).

9.4 أعداد الاجسام الصفر في المبايض :

اظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً ($P < 0.05$) في أعداد الاجسام الصفر في مجموعتي الجوسيبول وحده و الكورستين وحده مقارنة بمجموعة السيطرة، بينما كان هناك ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في أعداد الاجسام الصفر في المجموعة المعاملة بالكركمين وحده مقارنة بمجموعة السيطرة، و لم تظهر المعاملات المزدوجة فرقاً معنوياً في أعداد الاجسام الصفر مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده، ولم ترجع القيم إلى مستواها في مجموعة السيطرة، كما موضح بالشكل (10) و ملحق (3).

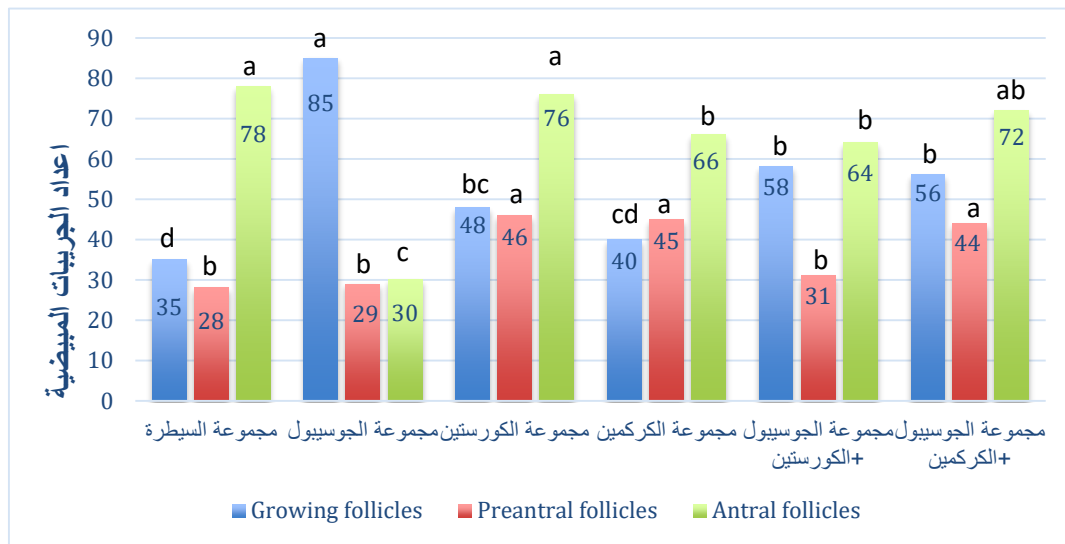


شكل (10) تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين وجوسيبول + كركمين على أعداد الاجسام الصفر في المبايض (المعدل \pm الخطأ القياسي). الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع، في حين الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع ($P < 0.05$).

10.4 أعداد الجريبات المبيضية:

فيما يخص أعداد الجريبات، كان هناك تفاوت في أعداد الجريبات اعتماداً على نوع المعاملة. إذ أدت المعاملة بالجوسيبول وحده و الكورستين وحده الى ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في أعداد الجريبات النامية *growing follicles* مقارنة بمجموعة السيطرة ، بينما لم يكن هناك فرق معنوي في اعداد الجريبات النامية في المجموعة المعاملة بالكركمين وحده مقارنة بمجموعة السيطرة ، أما المعاملات المزدوجة فأدت إلى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في اعداد الجريبات النامية مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده، ولم ترجع الى قيم مجموعة السيطرة، كما موضح بالشكل (11)، و ملحق (3) ، أما بالنسبة لاعداد جريبات ما قبل ظهور الغار *preantral follicles* فلم يكن هناك فرق معنوي في المعاملة بالجوسيبول وحده مقارنة بمجموعة السيطرة ، في حين ظهر ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في اعداد جريبات ما قبل ظهور الغار عند المعاملة بالكورستين والكركمين وحدهما مقارنة بمجموعة السيطرة، أما بالنسبة للمجموعة المعاملة بالجوسيبول و الكورستين معا فلم تظهر اختلافاً

معنوياً في اعداد جريبات ما قبل ظهور الغار مقارنة بمجموعة الجوسبيول وحده و مجموعة السيطرة، بينما كان هناك ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في اعداد جريبات ما قبل ظهور الغار للمجموعة المعاملة بالجوسبيول و الكركمين معا مقارنة بمجموعة الجوسبيول وحده و مجموعة السيطرة، كما مبين بالشكل (11) وملحق (3) ، فضلا عن ذلك فقد اظهرت النتائج حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في اعداد الجريبات الغارية antral follicle للمجموعة المعاملة بالجوسبيول وحده و الكركمين وحده مقارنة بمجموعة السيطرة ، في حين لم تظهر النتائج اختلافاً معنوياً في اعداد الجريبات الغارية للمجموعة المعاملة بالكورستين وحده مقارنة بمجموعة السيطرة ، أما المعاملات المزدوجة فأدت إلى ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في اعداد الجريبات الغارية مقارنة بمجموعة الجوسبيول، ورجعت الى قيم مجموعة السيطرة في مجموعة الجوسبيول والكركمين معا، كما موضح بالشكل (11) و ملحق (3).

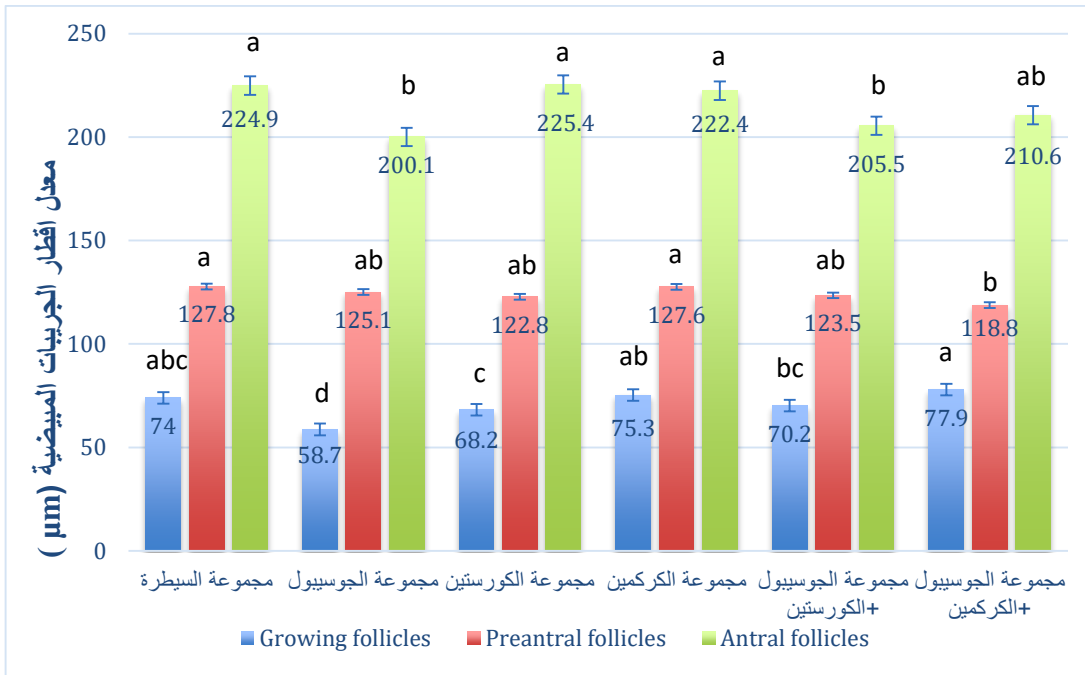


الشكل (11) تأثير المعاملة بالجوسبيول، الكورستين، الكركمين، جوسبيول + كورستين وجوسبيول + كركمين على اعداد الجريبات المبيضية (المعدل \pm الخطأ القياسي). الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع، في حين الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع ($P < 0.05$).

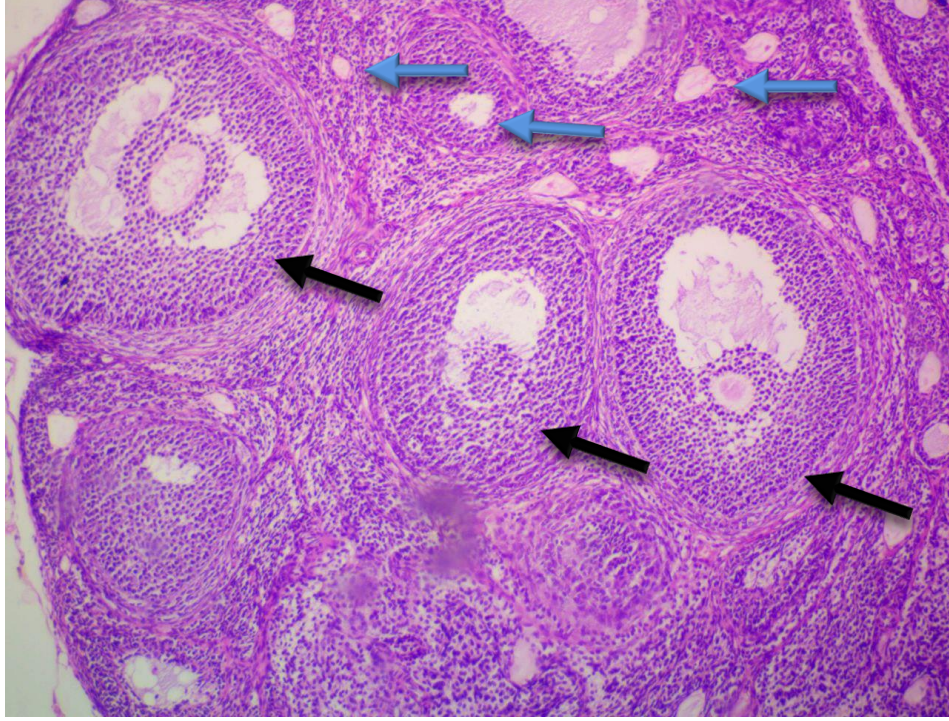
11.4 معدل أقطار الجريبات المبيضية:

أشارت النتائج المبينة في الشكل (12) و ملحق (4) إلى وجود إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل أقطار الجريبات النامية في المجموعة المعاملة بالجوسبيول وحده مقارنة بمجموعة السيطرة،

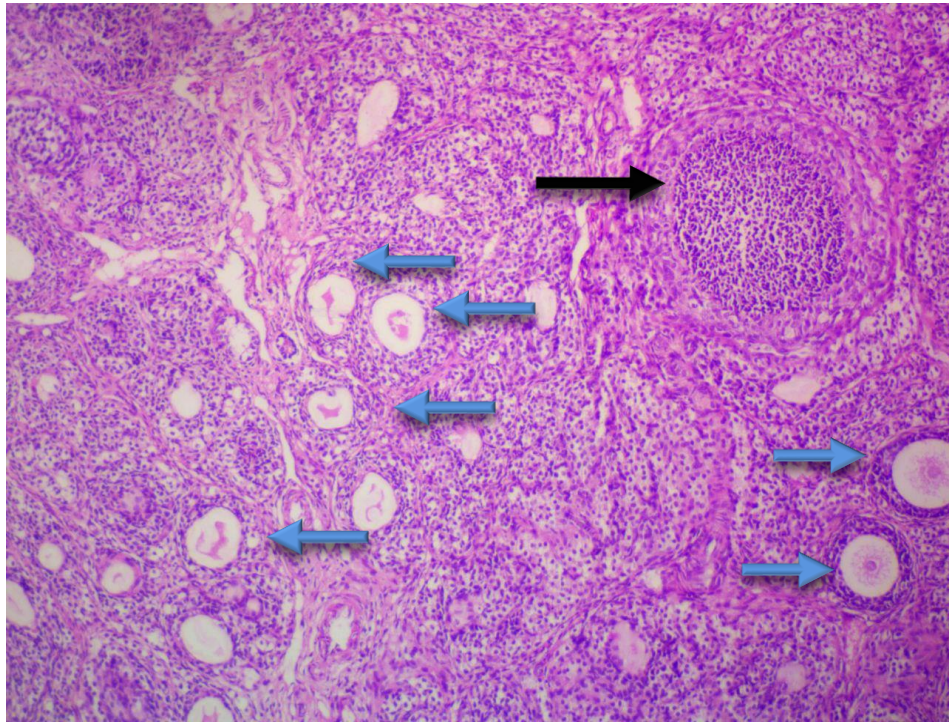
بينما لم يكن هناك فرق معنوي في المجموعة المعاملة بالكورستين والكرمين وحدهما مقارنة بمجموعة السيطرة ، في حين اظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.05$) في معدل أقطار الجريبات النامية في المعاملات المزدوجة مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده، وغير مختلفة معنويًا مقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما تشير النتائج الى عدم حدوث اختلاف معنوي في معدل اقطار جريبات ما قبل ظهور الغار للمجاميع المعاملة بالجوسيبول وحده، الكورستين وحده و الكركمين وحده مقارنة بمجموعة السيطرة ، كما لم يظهر فرق معنوي في معدل أقطار الجريبات للفئة نفسها للمعاملات المزدوجة مقارنة بمجموعة الجوسيبول وحده ، اما بالنسبة لمعدل أقطار الجريبات الغارية فقد ظهر انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في المجموعة المعاملة بالجوسيبول وحده مقارنة بمجموعة السيطرة، بينما لم يكن هناك فرق معنوي في معدل أقطار هذه الجريبات في المجموعة المعاملة بالكورستين وحده و الكركمين وحده مقارنة بمجموعة السيطرة ، كما لم تظهر النتائج حدوث اختلاف معنوي لمعدل أقطارها في المعاملات المزدوجة مقارنة بمجموعة الجوسيبول.



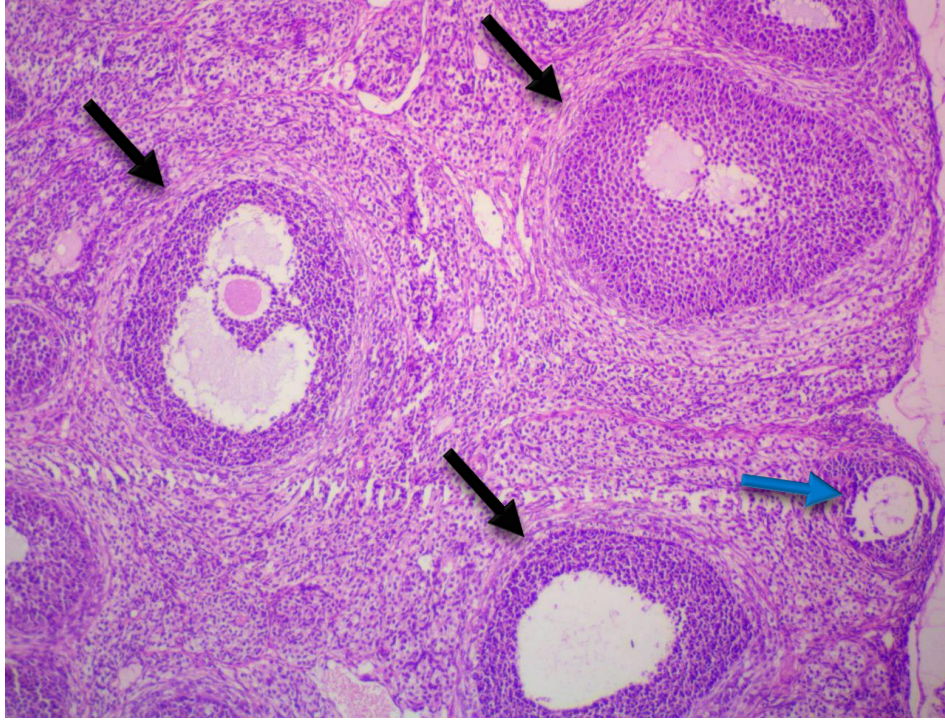
الشكل (12) تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، جوسيبول + كورستين وجوسيبول + كركمين على معدل اقطار الجريبات المبيضية (المعدل \pm الخطأ القياسي). الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع، في حين الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع ($P < 0.05$).



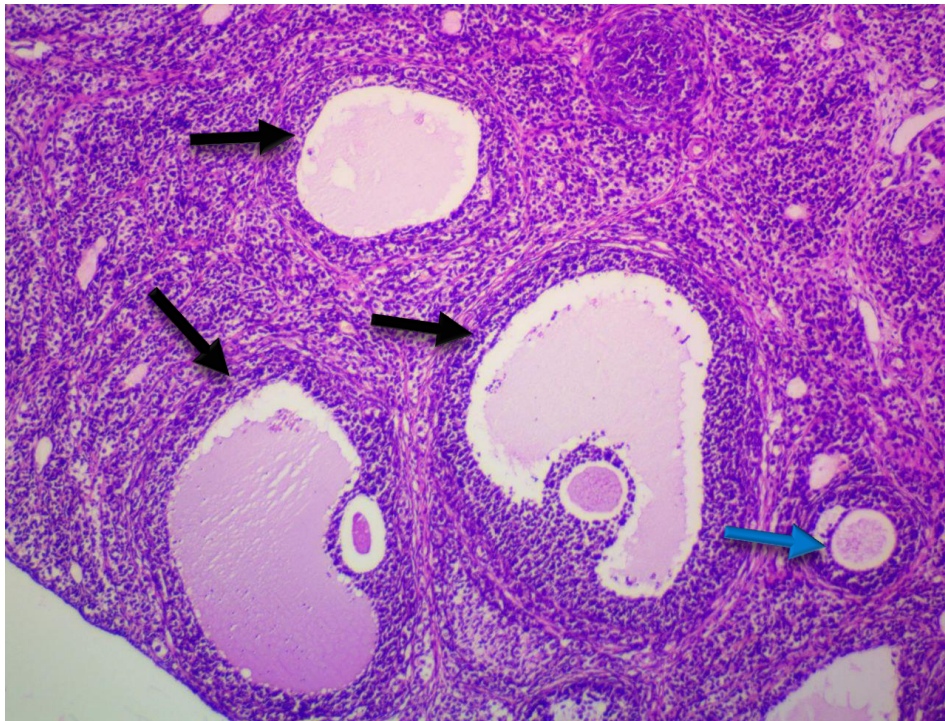
الشكل (13) مقطع نسجي لمبيض من مجموعة السيطرة، **السهم الازرق** يشير الى الجريبات النامية و **السهم الاسود** يشير الى الجريبات الغارية، H&E ، قوة التكبير 100X.



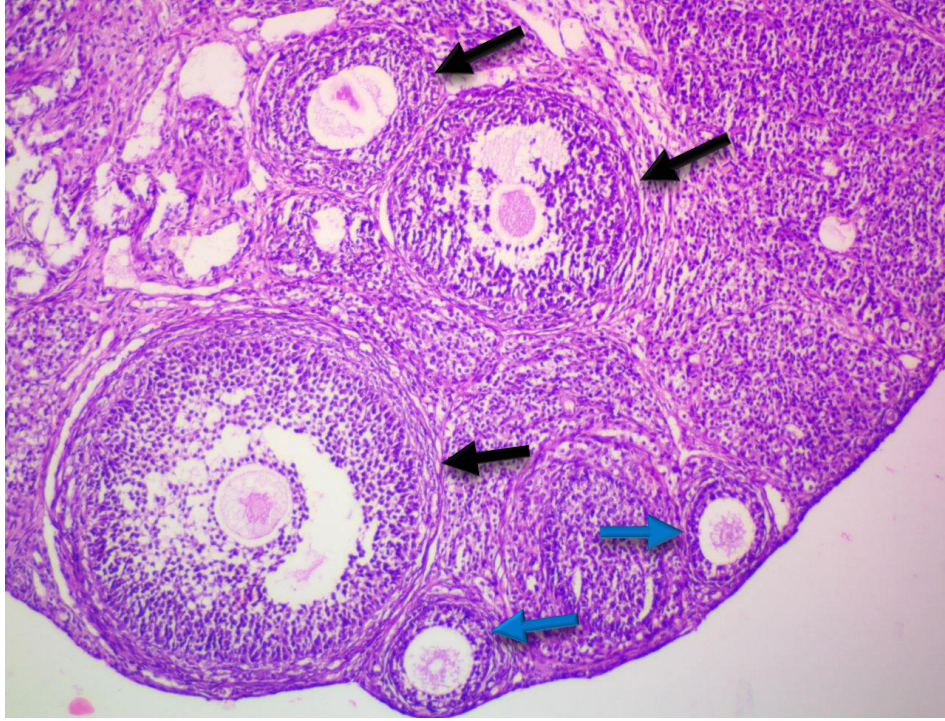
الشكل (14) مقطع نسجي لمبيض من مجموعة الجوسبيول، **السهم الازرق** يشير الى الجريبات النامية و **السهم الاسود** يشير الى الجريبات الغارية، H&E ، قوة التكبير 100X.



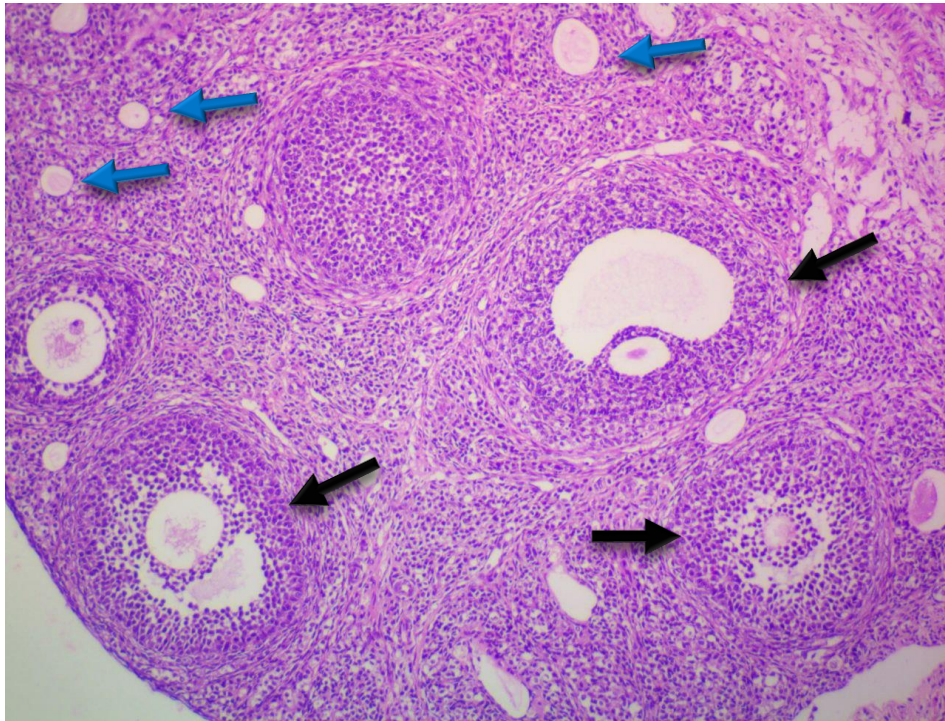
الشكل (15) مقطع نسجي لمبيض من مجموعة الكورستين، السهم الازرق يشير الى الجريبات النامية و السهم الاسود يشير الى الجريبات الغارية، H&E ، قوة التكبير 100X.



الشكل (16) مقطع نسجي لمبيض من مجموعة الكركمين، السهم الازرق يشير الى الجريبات النامية و السهم الاسود يشير الى الجريبات الغارية، H&E ، قوة التكبير 100X.



الشكل (17) مقطع نسجي لمبيض من مجموعة الجوسبيول + الكورستين، السهم الازرق يشير الى الجريبات النامية و السهم الاسود يشير الى الجريبات الغارية، H&E ، قوة التكبير 100X.



الشكل (18) مقطع نسجي لمبيض من مجموعة الجوسبيول + الكركمين، السهم الازرق يشير الى الجريبات النامية و السهم الاسود يشير الى الجريبات الغارية، H&E ، قوة التكبير 100X.

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

الجوسيبول مركب متعدد الفينول تنتجه الغدد الصبغية الموجودة في جذور، سيقان ، أوراق و بذور نبات القطن حيث يزرع على نطاق واسع لإنتاج الألياف المستخدمة في صناعة النسيج و لإستخلاص الزيوت (Luz *et al.*, 2018). و تستخدم المنتجات الثانوية الناتجة بعد استخراج الزيت في علف الحيوانات وخاصة حيوانات المزرعة لما تمتلكه من قيمة غذائية عالية و بتكلفة منخفضة نسبياً (Gadelha *et al.*, 2014a; Camara *et al.*, 2016). و اشارت دراسات انه عند تناول إناث الجرذان جرعات من الجوسيبول أظهرت دورات شبق غير منتظمة مع قصر مدة فترات الشبق وإطالة هجوع الودق (Gu and Anderson, 1985; Lagerlof and Tone, prolonged diestrus (Gadelha *et al.*, 2014b) فضلاً عن ذلك عرقل استخدام الجوسيبول النمط الطبيعي لدورات الشبق في القوارض من خلال التأثير على إفراز الهرمونات من الغدة النخامية والمبيض (Randel *et al.*, 1992). اظهرت نتائج دراستنا الحالية وجود انخفاض معنوي في وزن جسم الاناث المعاملة بالجوسيبول وحده، و هذه النتيجة تتفق مع نتائج de Carvalho *et al.* (2013) الذي لاحظ انخفاضاً معنوياً في وزن جسم الجرذان المعاملة بالجوسيبول بجرعة 40 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الفم مدة 15 يوماً ، و تتفق مع نتائج Sabahelkhier *et al.* (2017) الذي سجل حدوث انخفاض معنوي في وزن ذكور و اناث الجرذان المعاملة بمستخلص الجوسيبول بجرعة 0.3 و 0.6 غم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم مدة 21 يوماً ، ولم تتفق مع Gadelha *et al.* (2014b) الذي لم يسجل حدوث فرق معنوي في وزن جسم اناث الجرذان المعاملة بالجوسيبول بجرعة 25 ملغم / كغم من وزن الجسم بالحقن تحت الجلد مدة 15 يوماً ، كذلك لم تتفق مع Camara *et al.* (2015) الذي لاحظ عدم وجود فرق معنوي في وزن جسم النعاج المعاملة بكعكة بذور القطن بتركيز 3.28 ملغم / غم من الجوسيبول الكلي total gossypol و 0.11 ملغم / غم من الجوسيبول الحر free gossypol عن طريق الفم مدة 63 يوماً ، وربما يعود السبب في انخفاض وزن الجسم في دراستنا الحالية الى ان المعاملة بالجوسيبول سببت انخفاضاً في تناول الطعام بسبب الإصابة بفقدان الشهية (Gadelha *et al.*, 2014a)، كما ادت المعاملة بالجوسيبول الى

انخفاض معنوي في وزن المبايض و الرحم و هذا يتفق مع Gu and Anderson (1985) اللذين وجدا حدوث انخفاض معنوي في وزن مبايض اناث الجرذان المعاملة بالجوسيبول بجرعة 10 ملغم/ كغم من وزن الجسم بالحقن تحت الجلد مدة 20 يوماً، و ايضاً تتفق مع Lordelo *et al.* (2007) الذي سجل حدوث انخفاض معنوي في وزن مبايض فروج اللحم المعامل بالجوسيبول السالب بجرعة 400 ملغم / كغم من العليقة مدة 18 يوماً، في حين لم تتفق مع Wu *et al.* (1981) الذي لم يلاحظ فرقاً معنوياً في وزن مبايض و رحم اناث الهامستر المعاملة بالجوسيبول بجرعة 20 ملغم/ كغم من وزن الجسم مدة 20 يوماً . قد يعود سبب الإنخفاض في أوزان المبايض إلى زيادة نسبة حدوث الموت الخلوي المبرمج الذي احده الجوسيبول، والذي انعكس بارتفاع مستوى انزيم الكاسبيز- 3 في المبيض في دراستنا الحالية.

سببت المعاملة بالجوسيبول انخفاضاً معنوياً في مستوى الكلوتاثيون ، فضلا عن حدوث ارتفاع معنوي في مستوى المالوندايالديهيد، و هذه النتيجة تتفق مع de Carvalho *et al.* (2013) الذي سجل حدوث انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثيون رافقه زيادة في مستوى المالوندايالديهيد في دم الجرذان المعاملة بالجوسيبول بجرعة 40 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الفم مدة 15 يوماً ، كما تتفق مع Santana *et al.* (2015) الذي لاحظ حدوث انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثيون رافقه زيادة في مستوى المالوندايالديهيد في كبد ذكور الجرذان المعاملة بالجوسيبول بجرعة 5 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الفم مدة 14 يوماً ، في حين لم تتفق النتائج مع El-Sharaky *et al.* (2010) الذي لاحظ حدوث ارتفاع معنوي في مستوى الكلوتاثيون رافقه انخفاض معنوي في مستوى المالوندايالديهيد في كبد ذكور الجرذان المعاملة بالجوسيبول بجرعة 5، 10 و 20 ملغم / كغم عن طريق الحقن داخل الصفاق intraperitoneal مدة اسبوعين (5 أيام/ اسبوع) ، وفي دراستنا الحالية قد يكون سبب انخفاض مستوى الكلوتاثيون و ارتفاع مستوى المالوندايالديهيد هو زيادة اصناف الاوكسجين الفعالة التي ينتجها الجوسيبول، وحدث الكرب التاكسدي (Santana *et al.*, 2015).

أظهرت نتائج دراستنا الحالية عدم حدوث فرق معنوي في مستوى الهرمون المحفز للجريبات FSH للمجموعة المعاملة بالجوسيبول ، وهذا يتفق مع Nowzari *et al.* (2021) الذي لاحظ عدم حدوث فرق معنوي في مستوى الهرمون المحفز للجريبات في دم اناث الجرذان المغذاة على الحبوب المضغوطة الحاوية على 20 % من دقيق بذور القطن مدة 35 يوماً ، ولم تتفق مع Oyewopo *et*

al. (2012) الذي سجل انخفاضاً معنوياً في مستوى الهرمون المحفز للجريبات في دم الإناث المعاملة بمستخلص بذور القطن بجرعة 20 و 60 ملغم /كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن داخل الصفاق مرتين في اليوم مدة 21 يوم.

كذلك اظهرت النتائج حدوث انخفاض حسابي في مستوى الهرمون المضاد للمولر AMH في المجموعة المعاملة بالجوسيبول مقارنة بمجموعة السيطرة، ولا توجد دراسات سابقة حول تأثير الجوسيبول على الهرمون المضاد للمولر او العلاقة بينهما ، وربما يكون السبب في الانخفاض الحسابي هو السمية الخلوية التي يحدثها الجوسيبول للخلايا الحبيبية المسؤولة عن افرازه (*Hong et al.*, 2021).

أظهرت نتائج دراستنا الحالية حدوث ارتفاع معنوي في مستوى انزيم الكاسباز-3 في المبيض للمجموعة المعاملة بالجوسيبول و هذه النتيجة تتفق مع *Yu et al.* (2020) الذي لاحظ حدوث ارتفاع معنوي في مستوى انزيم الكاسباز-3 في الارومة العضلية للفئران C2C12 mice myoblast المزروعة في الطبق والمعرضة للجوسيبول بتركيز 1، 10 و 100 نانومول ، 1 و 10 مايكرومول بعد 24 ساعة، وتتفق مع *Haasler et al.* (2021) الذي سجل زيادة في مستوى انزيم الكاسباز-3 بمقدار 5 اضعاف مستواه بعد 24 ساعة من معاملة الخلايا السرطانية الصبغية للانسان melanoma cell بالجوسيبول بتركيز 2.5 مايكرومول ، و لا تتفق النتيجة مع *Liang et al.* (2018) الذي سجل انخفاضاً معنوياً في فعالية الكاسباز-3 عند معاملة إناث الفئران بالجوسيبول بجرعة 15 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن داخل الصفاق مدة 4 اسابيع ، وقد يعزى سبب ارتفاع مستوى انزيم الكاسباز-3 إلى السمية الخلوية التي أحدثها الجوسيبول (*Nowzari et al.*, 2021)، فضلا عن ذلك يعمل الجوسيبول على اعاقه عمل غشاء المتقدرات mitochondrial membrane potential ، و زيادة التعبير عن بروتين Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) الذي بدوره يزيد من مستوى Caspase-3 (*Lu et al.*, 2017).

اما بالنسبة لاعداد الجريبات المبيضية ، فقد أظهرت نتائج دراستنا الحالية وجود زيادة معنوية في اعداد الجريبات النامية و انخفاض معنوي في اعداد الجريبات الغارية في المجموعة المعاملة بالجوسيبول وهذه النتيجة تتفق مع *Randel et al.* (1996) الذي لاحظ زيادة اعداد الجريبات > 5 ملم و انخفاض اعداد الجريبات < 5 ملم في مبايض الابقار المغذاة على عليقة حاوية على 5 غم من الجوسيبول الحر في بذور القطن ، وتتفق مع *Gadelha et al.* (2014b) الذي لاحظ زيادة اعداد

الجريبات الرتقية atretic follicles و انخفاض اعداد الجريبات الطبيعية normal follicles لإناث الجرذان المعاملة بالجوسيبول بجرعة 25 ملغم / كغم من وزن الجسم بالحقن تحت الجلد مدة 15 يوماً ، وتتفق مع *Camara et al.* (2015) الذي لاحظ زيادة اعداد الجريبات الرتقية atretic follicles و انخفاض اعداد الجريبات الحية viable follicles في مبايض النعاج المعاملة بكعكة بذور القطن بتركيز 3.28 ملغم / غم من الجوسيبول الكلي و 0.11 ملغم / غم من الجوسيبول الحر عن طريق الفم مدة 63 يوماً، ولا تتفق مع *Jimenez et al.* (2021) الذي لم يلاحظ وجود فرق معنوي في اعداد الجريبات الابتدائية ، الاولية، الثانوية و الثلاثية tertiary follicles في مبايض النعاج المغذاة على بذور القطن لمدة عشرة شهور.

كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية حدوث انخفاض معنوي في معدل اقطار الجريبات النامية و الجريبات الغارية في المجموعة المعاملة بالجوسيبول، و هذه النتيجة تتفق مع *Nowzari et al.* (2021) الذي لاحظ وجود انخفاض معنوي في احجام الجريبات الاولية في مبايض إناث الجرذان المغذاة على الحبوب المضغوطة الحاوية على 20 % من دقيق بذور القطن مدة 35 يوماً، و لا تتفق مع *Jimenez et al.* (2021) الذي لم يلاحظ وجود فرق معنوي في معدل اقطار الجريبات الابتدائية ، الاولية، الثانوية و الثلاثية في مبايض النعاج المغذاة على بذور القطن مدة عشرة شهور. قد يعود سبب ارتفاع اعداد الجريبات النامية و انخفاض اعداد الجريبات الغارية وانخفاض معدل اقطار الجريبات النامية و الغارية الى تأثيره من خلال احداثه السمية الخلوية و زيادة حالة الموت الخلوي المبرمج (*Nowzari et al., 2021*). إذ اظهرت العديد من الدراسات ان للجوسيبول فعالية سامة للخلايا (*Randel et al., 1992*). وتعزى فعاليته السامة لهذه الخلايا إلى إنتاج أصناف الاوكسجين الفعالة التي تؤدي الى حدوث الكرب التاكسدي (*Kovacic , 2003; Santana et al., 2015*) ، و اضطراب الإتصال داخل الخلايا intercellular communication (*Herve et al., 1996*) ، و تحفيز الموت الخلوي المبرمج (*Cengiz et al., 2010*) فضلا عن التداخل مع نقل الايونات عبر الاغشية، كذلك التداخل مع ايض الطاقة الخلوية cellular energy metabolism، وهي آلية أخرى تكمن وراء سمية الجوسيبول (*Cheng et al., 2003; El-Sharaky et al., 2010*).

فضلا عن ذلك اظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي في اعداد الاجسام الصفر، وهذه النتيجة تتفق مع *Nowzari et al.* (2021) الذي لاحظ حدوث انخفاض معنوي في اعداد الاجسام الصفر في مبايض اناث الجرذان المغذاة على الحبوب المضغوطة الحاوية على 20 % من دقيق بذور القطن

مدة 35 يوماً، و لا تتفق مع *Randel et al.* (1996) الذي لاحظ عدم حدوث فرق معنوي في اعداد الاجسام الصفر في مبايض الابقار المغذاة على عليقة حاوية على 5 غم من الجوسيبول الحر في بذور القطن، وبينت دراستنا الحالية أن سبب انخفاض أعداد الأجسام الصفر قد يعود الى زيادة اعداد الجريبات النامية، و انخفاض اعداد الجريبات الغارية وعدم وصول هذه الجريبات الى مرحلة الاباضة.

إن الكورستين فلافونويد غذائي موجود في العديد من النباتات (Bischoff, 2008). اكتسب الكورستين اهتماما كبيرا بسبب فعاليته الحيوية المتعددة (Wang *et al.*, 2016) و التي تشمل فعاليته المضادة للاكسدة (Ghosh *et al.*, 2015) و المضادة للالتهابات (Ozyel *et al.*, 2021). و أشارت العديد من الدراسات الى تأثير الكورستين على وظائف المبيض منها فعالية الكورستين للحماية من السمية والموت المبرمج للخلايا الحبيبية في المبيض (Capcarova *et al.*, 2015) و تعزيزه فعالية المبيض المضادة للأكسدة في الفئران (Wang *et al.*, 2018). و أظهرت النتائج عدم حدوث فرق معنوي في وزن الجسم ، المبايض و الرحم عند معاملة الجرذان بالجوسيبول و الكورستين معا مقارنة بمجموعة الجوسيبول، و هذه النتيجة تتفق مع *Nna et al.* (2017) الذي لم يلاحظ حدوث فرق معنوي في وزن جسم ورحم إناث الجرذان المعاملة بالكادميوم بجرعة 5 ملغم / كغم من وزن الجسم و الكورستين 20 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الفم مدة 14 يوماً مقارنة بمجموعة الكادميوم ، و تتفق مع *Samare-Najaf et al.* (2020) الذي لم يلاحظ حدوث فرق معنوي في وزن الجسم لإناث الجرذان المعاملة بالدوكسوروبيسين بجرعة 15 ملغم / كغم عن طريق الحقن داخل الصفاق 7 مرات كل 3 ايام و الكورستين بجرعة 20 ملغم / كغم عن طريق الفم مدة 21 يوماً مقارنة بمجموعة الدوكسوروبيسين و لا تتفق معه بالنسبة لاوزان المبايض و الرحم ، و قد يعود السبب في عدم اصلاح الكورستين للاذى المحدث بالجوسيبول إلى إنخفاض الجرعة المعطاة و المختارة اعتمادا على دراسة سابقة، أو قصر مدة المعاملة التي لم تتمكن من عكس تأثيرات جرعة الجوسيبول المستخدمة في هذه الدراسة، و التي تم اختيارها اعتمادا على دراسات سابقة.

أدت المعاملة بالجوسيبول و الكورستين معا إلى زيادة معنوية في مستوى الكلوتاتايون، و إنخفاض معنوي في مستوى المالونديالديهيد مقارنة بمجموعة الجوسيبول، و هذه النتيجة تتفق مع *Nna et al.* (2017) الذي لاحظ زيادة في مستوى الكلوتاتايون، و انخفاضاً في مستوى المالونديالديهيد في مبيض إناث الجرذان المعاملة بالكادميوم بجرعة 5 ملغم / كغم من وزن الجسم مع الكورستين بجرعة 20 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الفم مدة 14 يوماً مقارنة بمجموعة

الكادميوم، و تتفق مع Elkady *et al.* (2019) الذي سجل زيادة في مستوى الكلوتاثايون، و انخفاضاً في مستوى المالونديالديهيد في مبايض إناث الفئران المعاملة بالسايكلوفوسفاميد بجرعة 90 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن داخل الصفاق مع الكورستين بجرعة 100 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن داخل الصفاق لمدة 8 أيام ، و تتفق مع Algardaby (2021) الذي لاحظ ارتفاعاً في مستوى الكلوتاثايون، و انخفاضاً في مستوى المالونديالديهيد في مبايض إناث الجرذان المعاملة بالسيبلائين بجرعة 6 ملغم / كغم من وزن الجسم مع الكورستين بجرعة 5 و 10 ملغم / كغم عن طريق الفم مدة 17 يوماً، و تعزى فعالية الكورستين المضادة للأكسدة الى كسحه المباشر للجذور الحرة (Oh *et al.*, 2019) و تثبيطه بيروكسدة الدهون (Loke *et al.*, 2008).

من ناحية اخرى اظهرت النتائج عدم حدوث فرق معنوي في مستوى انزيم الكاسبيز-3 للمجموعة المعاملة بالجوسيبول و الكورستين معاً مقارنة بمجموعة الجوسيبول ، و هذه النتيجة تتفق مع Algardaby (2021) الذي لاحظ عدم وجود فرق معنوي في مستوى انزيم الكاسبيز-3 في مبايض اناث الجرذان المعاملة بالسيبلائين بجرعة 6 ملغم / كغم من وزن الجسم مع الكورستين بجرعة 5 ملغم / كغم عن طريق الفم مدة 17 يوماً، و تتفق مع Tarko *et al.* (2019) الذي لم يلاحظ حدوث فرق معنوي في معدل حدوث الموت الخلوي المبرمج في الخلايا الحبيبية المزروعة في الطبق عند معاملتها بالبنزين بتركيز 20 مايكروغرام مع الكورستين بتركيز 100 مايكروغرام، و لا تتفق مع Samare-Najaf *et al.* (2020) الذي لاحظ حدوث انخفاض معنوي في مستوى انزيم الكاسبيز-3 في مبايض إناث الجرذان المعاملة بالدوكسوروبيسين بجرعة 15 ملغم / كغم عن طريق الحقن داخل الصفاق مع الكورستين بجرعة 20 ملغم / كغم عن طريق الفم مدة 21 يوماً مقارنة بمجموعة الدوكسوروبيسين ، و ظهر من نتيجة الدراسة الحالية عدم مقدرة الكورستين على منع حدوث الموت الخلوي المبرمج الذي سببه الجوسيبول.

فيما يخص أعداد الجريبات أدت المعاملة بالجوسيبول و الكورستين إلى انخفاض معنوي في أعداد الجريبات النامية و ارتفاع معنوي في أعداد جريبات ما قبل ظهور الغار و الجريبات الغارية مقارنة بمجموعة الجوسيبول ، فضلا عن ارتفاع معنوي في معدل أقطار الجريبات النامية للمجموعة المعاملة بالجوسيبول و الكورستين معاً مقارنة بمجموعة الجوسيبول ، و هذه النتيجة تتفق مع Elkady *et al.* (2019) الذي لاحظ وجود انخفاض معنوي في اعداد الجريبات الرتقية في مبايض إناث الفئران المعاملة بالسايكلوفوسفاميد بجرعة 90 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن داخل الصفاق

مع الكورستين بجرعة 100 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن داخل الصفاق لمدة 8 أيام مقارنة بمجموعة السايكلوفوسفاميد. إن اصلاح الكورستين للآذى الحاصل في المبيض يعود إلى إمكانية الكورستين من تقليل السمية الخلوية للخلايا الحبيبية والتي انعكست بخفضه مستوى المالونديالديهيد (بيروكسدة الدهون) وزيادة فعالية مضادات الاكسدة برفعه مستوى الكلوتاثايون (Jia *et al.*, 2011) ، وعن طريق زيادة التعبير و الفعالية للجينات ال Nuclear factor (Nrf2) erythroid 2-related factor 2، وهو عامل نسخ ينظم التعبير عن العديد من الجينات بما في ذلك جينات الانزيمات المضادة للأكسدة وال thioredoxin (Rashidi *et al.*, 2019).

يعد الكركمين المكون النشط لجذور الكركم التي تحتوي على 3-5% من الكركمين (Zhang *et al.*, 2013). و ثبت علمياً فعالية الكركمين كمضاد للأكسدة (Augustyniak *et al.*, 2010) و مضاد لموت الخلايا المبرمج (Geng *et al.* 2017). و أظهرت بعض الدراسات ان للكركمين تأثيراً تحفيزياً لوظائف المبيض لأنه يعزز تكاثر الخلايا promote proliferation، ويقلل من موت الخلايا المبرمج في خلايا مبيض الفئران (Aktas *et al.* 2012)، مع دعم supporting عملية تكوين الجريبات المبيضية (Alekseyeva *et al.*, 2011)، و تصنيع الستيرويدات (Tiwari-Pandey and Ram, 2009).

أظهرت النتائج عدم حدوث فرق معنوي في وزن الجسم و الرحم مع وجود ارتفاع معنوي في وزن المبايض في المجموعة المعاملة بالجوسيبول و الكركمين معاً مقارنة بمجموعة الجوسيبول، وهذه النتيجة تتفق مع Rai *et al.* (2020) الذي لاحظ ارتفاعاً معنوياً في أوزان مبايض إناث الجرذان المعرضة للأشعة فوق البنفسجية بطول موجي 280 نانومتر مدة 15 يوماً بواقع ساعتين يومياً مع الكركمين بجرعة 25 ملغم / كغم من وزن الجسم، ولا تتفق معه بالنسبة لوزن الجسم، ولا تتفق مع Cheraghi and Roshanaei (2019) الذي لاحظ ارتفاعاً معنوياً في وزن الجسم عند معاملة ذكور الجرذان بكلوريد الالمنيوم بجرعة 10 ملغم/ كغم مع الكركمين بجرعة 10 ملغم / كغم عن طريق الحقن داخل الصفاق مدة 28 يوماً، و قد يعود السبب في عدم إصلاح الكركمين للآذى المحدث بالجوسيبول الى قصر مدة المعاملة او زيادة جرعة الجوسيبول التي تم اختيارها بالاستناد الى (de Carvalho *et al.*, 2013).

كما أدت المعاملة بالجوسيبول و الكركمين معاً إلى زيادة معنوية في مستوى الكلوتاثايون و انخفاض معنوي في مستوى المالونديالديهيد مقارنة بمجموعة الجوسيبول و هذه النتيجة تتفق مع

Melekoglu *et al.* (2018) الذي سجل حدوث زيادة في مستوى الكلوتاثاينون و انخفاض في مستوى المالونديالديهيد في دم إناث الجرذان المعاملة بالسايكلوفوسفاميد بجرعة 200 ملغم / كغم مع الكركمين بجرعة 100 ملغم / كغم عن طريق الحقن داخل الصفاق مدة 14 يوماً، وتتفق مع Cheraghi and Roshanaei (2019) اللذين لاحظا ارتفاعاً في مستوى الكلوتاثاينون و انخفاضاً في مستوى المالونديالديهيد في كبد ذكور الجرذان المعاملة بكلوريد الالمنيوم بجرعة 10 ملغم/ كغم مع الكركمين بجرعة 10 ملغم / كغم عن طريق الحقن داخل الصفاق مدة 28 يوماً، ويعود سبب ارتفاع الكلوتاثاينون وانخفاض المالونديالديهيد إلى فعالية الكركمين كمضاد للأكسدة لقدرته على التخلص من اصناف الاوكسجين الفعالة و كسح الجذور الحرة للنيتروجين (Gabr *et al.*, 2014).

أدت المعاملة بالكركمين وحده الى إرتفاع معنوي في مستوى الهرمون المضاد للمولر مقارنة بمجموعة السيطرة، وهذه النتيجة تتفق مع Azami *et al.* (2020) الذي لاحظ ارتفاعاً معنوياً في مستوى الهرمون المضاد للمولر لإناث الفئران المعاملة بالكركمين بجرعة 100 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن داخل الصفاق مدة 12 اسبوعاً، إن الزيادة الحاصلة قد تعود الى تنظيم الكركمين لوظيفة الغدد الصم التناسلية وتعزيزه نمو الجريبات (Yan *et al.*, 2018).

أظهرت النتائج عدم حدوث فرق معنوي في مستوى انزيم الكاسباز-3 للمجموعة المعاملة بالجوسيبول و الكركمين معاً مقارنة بمجموعة الجوسيبول ، و هذه النتيجة لا تتفق مع Yan *et al.* (2018) الذي سجل انخفاضاً معنوياً في مستوى انزيم الكاسباز-3 لإناث الجرذان المعاملة بالدي-كالاكتوز D-galactose بجرعة 200 ملغم / كغم عن طريق الحقن تحت الجلد مع الكركمين بجرعة 100 ملغم / كغم عن طريق الحقن داخل الصفاق مدة 42 يوماً، قد يكون سبب عدم قدرة الكركمين على خفض مستوى انزيم الكاسباز-3 هو إنخفاض جرعة الكركمين المعطاة بالاعتماد على دراسة سابقة، أو قصر مدة المعاملة اوزيادة جرعة الجوسيبول التي تم اختيارها بالاستناد إلى (de Carvalho *et al.*, 2013).

كما أظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي في اعداد الجريبات النامية و ارتفاع معنوي في اعداد الجريبات في مرحلة ما قبل ظهور الغار و الجريبات الغارية في المجموعة المعاملة بالجوسيبول والكركمين معاً مقارنة بمجموعة الجوسيبول ، كذلك ظهر ارتفاع معنوي في معدل اقطار الجريبات النامية للمجموعة المعاملة بالجوسيبول والكركمين معاً مقارنة بمجموعة الجوسيبول ، وهذه النتيجة تتفق مع Yan *et al.* (2018) الذي سجل ارتفاعاً معنوياً في إعداد الجريبات الغارية و انخفاضاً

معنوياً في اعداد الجريبات الرتقية لاناث الجرذان المعاملة بالدي- كالاكتوز D-galactose بجرعة 200 ملغم / كغم عن طريق الحقن تحت الجلد مع الكركمين بجرعة 100 ملغم / كغم عن طريق الحقن داخل الصفاق مدة 42 يوماً، إن إصلاح الكركمين للأذى الحاصل في المبيض ربما يعود إلى أنه يزيد من التعبير عن ال Nrf2 (Scapagnini *et al.*, 2011).

الفصل السادس

الاستنتاجات و التوصيات

Conclusions and Recommendations

1.6 الاستنتاجات

- 1- ان للجوسيبول تأثيراً ضاراً على إناث الجرذان إنعكس من خلال خفضه وزن الجسم، و وزن المبايض، و وزن الرحم .
- 2- احدث الجوسيبول كربا تأكسديا، و إتضح ذلك بانخفاض مستوى الكلوتاثايون و ارتفاع مستوى المالوندايالديهايد و مستوى انزيم الكاسبيز-3.
- 3- ان للجوسيبول تأثيراً ضاراً على عملية تكوين الجريبات، إنعكس ذلك بإنخفاض اعداد و اقطار الجريبات المبيضية، و اعداد الاجسام الصفرة، و زيادة حدوث الموت الخلوي المبرمج.
- 4- ان للكورستين والكرمين تأثيراً مضاداً للأكسدة من خلال قدرته على التقليل من التأثير الضار للكرب التأكسدي المحدث بالجوسيبول من خلال زيادة مستوى الكلوتاثايون و انخفاض مستوى المالوندايالديهايد و تحسن اعداد و اقطار الجريبات المبيضية.

2.6 التوصيات

- 1- إجراء دراسة للتحري عن تأثير الجوسيبول على المعايير الدموية و الكيموحيوية لوظائف الكبد و الكلى و السوائل الجريبية.
- 2- تقدير مستوى الجوسيبول في دم الحيوانات المعاملة وانسجتها.
- 3- تقدير مستوى هرمون البروجستيرون و الاستروجين في اناث الجرذان المعاملة بالجوسيبول و الكورستين و الكركمين.
- 4- دراسة تأثير الجوسيبول على خصوبة ذكور الجرذان والكشف عن إمكانية الكورستين و الكركمين من إصلاح الأذى.
- 5- دراسة التأثير المضاد للأكسدة للكورستين و الكركمين، لعكس تأثيرات الجوسيبول الضارة و غير المرغوب فيها لكن لمدة أطول من ما تم العمل به في الدراسة الحالية.

المصادر

References

- Abd El-Hack, M. E.; El-Saadony, M. T.; Swelum, A. A.; Arif, M.; Abo Ghanima, M. M.; Shukry, M. and El-Tarabily, K. A. (2021). Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 101(14): 5747-5762.
- Abrahams, S.; Haylett, W. L.; Johnson, G.; Carr, J. A. and Bardien, S. (2019). Antioxidant effects of curcumin in models of neurodegeneration, aging, oxidative and nitrosative stress: A review. *Neuroscience*. 406: 1-21.
- Adeoye, O.; Olawumi, J.; Opeyemi, A. and Christiania, O. (2018). Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. *JBRA Assisted Reproduction*. 22(1): 61-66.
- Adhikari, D.; Risal, S.; Liu, K. and Shen, Y. (2013). Pharmacological inhibition of mTORC1 prevents over-activation of the primordial follicle pool in response to elevated PI3K signaling. *Plos One*. 8(1): e53810.
- Agarwal, S.; Wee, J. J.; Hadley, M. and Draper, H. H. (1994). Identification of a deoxyguanosine-malondialdehyde adduct in rat and human urine. *Lipids*. 29(6): 429-432.
- Aggarwal, B. B. and Harikumar, K. B. (2009). Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 41(1): 40-59.
- Agrawal, D. K. and Mishra, P. K. (2010). Curcumin and its analogues: potential anticancer agents. *Medicinal Research Reviews*. 30(5): 818-860.
- Ahmadi, F. (2010). Effect of turmeric (*Curcumin longa*) powder on performance, oxidative stress state and some of blood parameters in broiler fed on diets containing aflatoxin B1. *Global Veterinaria*. 5(6): 312-317.
- Akhavan-Salamat, H. and Ghasemi, H. A. (2016). Alleviation of chronic heat stress in broilers by dietary supplementation of betaine and turmeric

- rhizome powder: dynamics of performance, leukocyte profile, humoral immunity, and antioxidant status. *Tropical Animal Health and Production*. 48(1): 181-188.
- Aktas, C.; Kanter, M. and Kocak, Z. (2012). Antiapoptotic and proliferative activity of curcumin on ovarian follicles in mice exposed to whole body ionizing radiation. *Toxicology and Industrial Health*. 28(9): 852-863.
- Alabdali, A.; Kzar, M.; Chinnappan, S.; Mogana, R.; Khalivulla, S. I.; Rahman, H. and Razik, B. M. A. (2021). Antioxidant activity of Curcumin. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 14(12): 6741-6746.
- Alekseyeva, I. N.; Makogon, N. V.; Bryzgina, T. M.; Voznesenskaya, T. Y. and Sukhina, V. S. (2011). Effects of NF- κ B blocker curcumin on oogenesis and immunocompetent organ cells in immune ovarian injury in mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 151(4): 432-435.
- Alexander, J.; Benford, D.; Cockburn, A.; Cravedi, J.; Dogliotti, E.; Domenico, A. D. and Fink-Gremmels, J. (2008). Gossypol as undesirable substance in animal feed. *European Food Safety Authority Journal*. 908:1-55.
- Algandaby, M. M. (2021). Quercetin attenuates cisplatin-induced ovarian toxicity in rats: Emphasis on anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic activities. *Arabian Journal of Chemistry*. 14(7), e103191.
- Almaghrabi, O. A. (2015). Molecular and biochemical investigations on the effect of quercetin on oxidative stress induced by cisplatin in rat kidney. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22(2): 227-231.
- Alrawaiq, N. S. and Abdullah, A. (2014). A review of flavonoid quercetin: metabolism, bioactivity and antioxidant properties. *International Journal of PharmTech Research*. 6(3): 933-941.
- Amidi, F.; Rashidi, Z.; Khosravizadeh, Z.; Khodamoradi, K.; Talebi, A.; Navid, S. and Abbasi, M. (2019). Antioxidant effects of quercetin in freeze-thawing process of mouse spermatogonial stem cells. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 8(1): 7-12.
- Ashhar, M. U.; Vyas, P.; Vohora, D.; Sahoo, P. K.; Nigam, K.; Dang, S. and Baboota, S. (2022). Amelioration of oxidative stress utilizing nanoemulsion loaded with bromocriptine and glutathione for the

- management of Parkinson's disease. *International Journal of Pharmaceutics*. 618: e121683.
- Augustyniak, A.; Bartosz, G.; Cipak, A.; Duburs, G.; Horakova, L. U.; Luczaj, W. and Zarkovic, N. (2010). Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free Radical Research*. 44(10): 1216-1262.
- Azami, S. H.; Nazarian, H.; Abdollahifar, M. A.; Eini, F.; Farsani, M. A. and Novin, M. G. (2020). The antioxidant curcumin postpones ovarian aging in young and middle-aged mice. *Reproduction, Fertility and Development*. 32(3): 292-303.
- Bakadia, B. M.; Boni, B. O. O.; Ahmed, A. A. Q. and Yang, G. (2021). The impact of oxidative stress damage induced by the environmental stressors on COVID-19. *Life Sciences*. 264, e118653.
- Ballatori, N.; Krance, S. M.; Notenboom, S.; Shi, S.; Tieu, K. and Hammond, C. L. (2009). Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biological Chemistry*. 390(3): 191-214.
- Basini, G.; Bussolati, S.; Baioni, L. and Grasselli, F. (2009). Gossypol, a polyphenolic aldehyde from cotton plant, interferes with swine granulosa cell function. *Domestic Animal Endocrinology*. 37(1): 30-36.
- Basso, A. C. and Esper, C. R. (2002). Isolation and ultrastructural characterization of preantral follicles in the Nelore breed cows (*Bos Taurus indicus*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 39: 311-319.
- Batiha, G. E. S.; Beshbishy, A. M.; Ikram, M.; Mulla, Z. S.; El-Hack, M. E. A.; Taha, A. E. and Elewa, Y. H. A. (2020). The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: Quercetin. *Foods*, 9(3): 1-16.
- Beazley, K. E. and Nurminskaya, M. (2016). Effects of dietary quercetin on female fertility in mice: implication of transglutaminase 2. *Reproduction, Fertility and Development*. 28(7): 974-981.
- Behringer, R. R.; Finegold, M. J. and Cate, R. L. (1994). Mullerian-inhibiting substance function during mammalian sexual development. *Cell*. 79(3): 415-425.
- Bender, H. S.; Saunders, G. K. and Misra, H. P. (1988). A histopathologic study of the effects of gossypol on the female rat. *Contraception*. 38(5): 585-592.

- Berardi, L. C. and Goldblatt, L. A. (1969). Gossypol. In Toxic constituents of plant foodstuffs. 1st ed. London: Academic press, pp 211-266.
- Bischoff, S. C. (2008). Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 11(6): 733-740.
- Blocinska, R. (2010). Folikulogeneza i steroidogeneza jajnikowa u swin. *CeON Repository*. 1: 14-23. (Abstract)
- Boots, A. W.; Haenen, G. R. and Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*. 585(2-3): 325-337.
- Bulku, E.; J Stohs, S.; Cicero, L.; Brooks, T.; Halley, H. and D Ray, S. (2012). Curcumin exposure modulates multiple pro-apoptotic and anti-apoptotic signaling pathways to antagonize acetaminophen induced toxicity. *Current Neurovascular Research*. 9(1): 58-71.
- Burns, K. H. and Matzuk, M. M. (2004). The application of gene ablation and related technologies to the study of ovarian function. In *The Ovary: 2^{ed} Ed.* California: Elsevier Academic Press, pp 411-432.
- Cabry, R.; Merviel, P.; Hazout, A.; Belloc, S.; Dalleac, A.; Copin, H. and Benkhalifa, M. (2014). Management of infertility in women over 40. *Maturitas*. 78(1): 17-21.
- Cai, P.; Zhu, Q.; Cao, Q.; Bai, Y.; Zou, H.; Gu, J. and Bian, J. (2021). Quercetin and Allicin Can Alleviate the Hepatotoxicity of Lead (Pb) through the PI3K Signaling Pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 69(32): 9451-9460.
- Camara, A. C. L.; do Vale, A. M.; Mattoso, C. R. S.; Melo, M. M. and Soto-Blanco, B. (2016). Effects of gossypol from cottonseed cake on the blood profile in sheep. *Tropical Animal Health and Production*. 48(5): 1037-1042.
- Camara, A. C. L.; Gadelha, I. C. N.; Borges, P. A. C.; de Paiva, S. A.; Melo, M. M. and Soto-Blanco, B. (2015). Toxicity of gossypol from cottonseed cake to sheep ovarian follicles. *Plos One*. 10(11): e0143708.
- Capcarova, M.; Petruska, P.; Zbynovska, K.; Kolesarova, A. and Sirotkin, A. V. (2015). Changes in antioxidant status of porcine ovarian granulosa cells after quercetin and T-2 toxin treatment. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 50(3): 201-206.

- Cengiz, E.; Karaca, B.; Kucukzeybek, Y.; Gorumlu, G.; Gul, M. K.; Erten, C. and Uslu, R. (2010). Overcoming drug resistance in hormone-and drug-refractory prostate cancer cell line, PC-3 by docetaxel and gossypol combination. *Molecular Biology Reports*. 37(3): 1269-1277.
- Chachula, A.; Kranc, W.; Budna, J.; Bryja, A.; Ciesiolka, S.; Wojtanowicz-Markiewicz, K. and Kempisty, B. (2016). The differentiation of mammalian ovarian granulosa cells living in the shadow of cellular developmental capacity. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. 30(3): 627-634.
- Chakravarthi, V. P.; Ghosh, S.; Roby, K. F.; Wolfe, M. W. and Rumi, M. A. (2020). A gatekeeping role of ESR2 to maintain the primordial follicle reserve. *Endocrinology*. 161(4): 1-15
- Chaudhry, G. E.; Islamiah, M.; Ismail, N.; Mohamad, H.; Sung, Y. Y. and Muhammad, T. S. T. (2018). Induction of apoptosis by Aaptos sp., fractions in human breast cancer cell line, MCF-7. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 9(2): 328-337.
- Chen, C.; Zhou, J. and Ji, C. (2010a). Quercetin: a potential drug to reverse multidrug resistance. *Life Sciences*. 87(11-12): 333-338.
- Chen, M.; Du, Z. Y.; Zheng, X.; Li, D. L.; Zhou, R. P. and Zhang, K. (2018). Use of curcumin in diagnosis, prevention, and treatment of Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research*. 13(4): 742-752.
- Chen, Q.; Prior, M.; Dargusch, R.; Roberts, A.; Riek, R.; Eichmann, C. and Schubert, D. (2011). A novel neurotrophic drug for cognitive enhancement and Alzheimer's disease. *Plos One*. 6(12), e27865.
- Chen, Z. G.; Luo, L. L.; Xu, J. J.; Zhuang, X. L.; Kong, X. X. and Fu, Y. C. (2010b). Effects of plant polyphenols on ovarian follicular reserve in aging rats. *Biochemistry and Cell Biology*. 88(4): 737-745.
- Cheng, H. N.; He, Z.; Ford, C.; Wyckoff, W. and Wu, Q. (2020). A review of cottonseed protein chemistry and non-food applications. *Sustainable Chemistry*. 1(3): 256-274.
- Cheng, J. S.; Lo, Y. K.; Yeh, J. H.; Cheng, H. H.; Liu, C. P.; Chen, W. C. and Jan, C. R. (2003). Effect of gossypol on intracellular Ca²⁺ regulation in human hepatoma cells. *Chinese Journal of Physiology*. 46(3): 117-22.

- Cheraghi, E. and Roshanaei, K. (2019). The protective effect of curcumin against aluminum-induced oxidative stress and hepatotoxicity in male rats. *Pharmaceutical and Biomedical Research*. 5(1): 11-18.
- Cohen, G. M. (1997). Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochemical Journal*. 326(1): 1-16.
- Dabrowski, K.; Rinchar, J.; Lee, K. J.; Blom, J. H.; Ciereszko, A. and Ottobre, J. (2000). Effects of diets containing gossypol on reproductive capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology of Reproduction*. 62(2): 227-234.
- Danial, N. N. and Korsmeyer, S. J. (2004). Cell death: critical control points. *Cell*. 116(2): 205-219.
- David, A. V. A.; Arulmoli, R. and Parasuraman, S. (2016). Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Reviews*. 10(20): 84-89.
- de Carvalho, W. L.; Maioli, M. A.; Mendes, L. C. N.; Rozza, D. B. and Mingatto, F. E. (2013). Mecanismos da intoxicação do fígado de rato causada pelo gossypol. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33(3): 339-344. (abstract)
- Del Rio, D.; Stewart, A. J. and Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 15(4): 316-328.
- Draper, H. H.; McGirr, L. G. and Hadley, M. (1986). The metabolism of malondialdehyde. *Lipids*. 21(4): 305-307.
- Durlinger, A. L.; Gruijters, M. J.; Kramer, P.; Karels, B.; Ingraham, H. A.; Nachtigal, M. W. and Themmen, A. P. (2002b). Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology*. 143(3): 1076-1084.
- Durlinger, A. L.; Visser, J. and Themmen, A. (2002a). Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction*. 124(5):601-609.
- Edwards, R. G. (1974). Follicular fluid. *Reproduction*. 37(1): 189-219.
- Elkady, M. A.; Shalaby, S.; Fathi, F. and El-Mandouh, S. (2019). Effects of quercetin and rosuvastatin each alone or in combination on cyclophosphamide-induced premature ovarian failure in female albino mice. *Human and Experimental Toxicology*. 38(11): 1283-1295.

- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*. 35(4): 495-516.
- El-senosi, Y. A. (2017). Biochemical studies on the effect of curcumin in experimentally induced osteoarthritis in rats. *Benha Veterinary Medical Journal*. 33(2): 46-51.
- El-Sharaky, A. S.; Newairy, A. A.; Elguindy, N. M. and Elwafa, A. A. (2010). Spermatotoxicity, biochemical changes and histological alteration induced by gossypol in testicular and hepatic tissues of male rats. *Food and Chemical Toxicology*. 48(12): 3354-3361.
- Emadi, M. and Kermanshahi, H. (2007). Effect of turmeric rhizome powder on the activity of some blood enzymes in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*. 6(1): 48-51.
- Fischer, U.; Janicke, R. U. and Schulze-Osthoff, K. (2003). Many cuts to ruin: a comprehensive update of caspase substrates. *Cell Death and Differentiation*. 10(1): 76-100.
- Fonseca, D. N. B.; Gadelha, I. C. N.; Oloris, S. C. S. and Soto-Blanco, B. (2013). Effectiveness of albumin-conjugated gossypol as an immunogen to prevent gossypol-associated acute hepatotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 56: 149-153.
- Franco, R.; Schoneveld, O. J.; Pappa, A. and Panayiotidis, M. I. (2007). The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 113(4-5): 234-258.
- Fujii, J.; Iuchi, Y. and Okada, F. (2005). Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 3(1): 1-10.
- Gabr, A. M.; Salem, T. A.; Ata, H. S. and Meki, A. R. M. (2014). Ameliorative effect of curcumin against cadmium-induced hepatotoxicity in rats. *International Journal of Phytopharmacology*. 5(5): 394-402.
- Gadelha, I. C. N.; do Nascimento Rangel, A. H.; Silva, A. R. and Soto-Blanco, B. (2011). Efeitos do gossypol na reprodução animal. *Acta Veterinaria Brasilica*. 5(2): 129-135.
- Gadelha, I. C. N.; Fernandes de Macedo, M.; Oloris, S. C. S.; Melo, M. M. and Soto-Blanco, B. (2014b). Gossypol promotes degeneration of ovarian follicles in rats. *The Scientific World Journal*. 2014, e986184.

- Gadelha, I. C. N.; Fonseca, N. B. S.; Oloris, S. C. S.; Melo, M. M. and Soto-Blanco, B. (2014a). Gossypol toxicity from cottonseed products. *The Scientific World Journal*. 2014, e 231635.
- Gao, W.; Liang, J. X.; Ma, C.; Dong, J. Y. and Yan, Q. (2017). The protective effect of N-acetylcysteine on ionizing radiation induced ovarian failure and loss of ovarian reserve in female mouse. *Biomed Research International*. 2017, e 4176170.
- Geng, X.; Hong, Q.; Wang, W.; Zheng, W.; Li, O.; Cai, G. and Wu, D. (2017). Biological membrane-packed mesenchymal stem cells treat acute kidney disease by ameliorating mitochondrial-related apoptosis. *Scientific Reports*. 7(1): 1-12.
- Ghosh, N.; Chakraborty, T.; Mallick, S.; Mana, S.; Singha, D.; Ghosh, B. and Roy, S. (2015). Synthesis, characterization and study of antioxidant activity of quercetin–magnesium complex. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 151: 807-813.
- Gong, J.; Zhu, T.; Kipen, H.; Wang, G.; Hu, M.; Ohman-Strickland, P. and Zhang, J. J. (2013). Malondialdehyde in exhaled breath condensate and urine as a biomarker of air pollution induced oxidative stress. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*. 23(3): 322-327.
- Gorelik, S.; Ligumsky, M.; Kohen, R. and Kanner, J. (2008). The stomach as a “bioreactor”: when red meat meets red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(13): 5002-5007.
- Gougeon, A. (1996). Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocrine Reviews*. 17(2): 121-155.
- Graham, R. K.; Deng, Y.; Slow, E. J.; Haigh, B.; Bissada, N.; Lu, G. and Hayden, M. R. (2006). Cleavage at the caspase-6 site is required for neuronal dysfunction and degeneration due to mutant huntingtin. *Cell*. 125(6): 1179-1191.
- Gruijters, M. J.; Visser, J. A.; Durlinger, A. L. and Themmen, A. P. (2003). Anti-Mullerian hormone and its role in ovarian function. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 211(1-2): 85-90.
- Gu, Y. and Anderson, N. O. (1985). Effects of gossypol on the estrous cycle and ovarian weight in the rat. *Contraception*. 32(5): 491-496.
- Gu, Y.; Li, P. K.; Lin, Y. C.; Rikihisa, Y. and Brueggemeier, R. W. (1991). Gossypolone suppresses progesterone synthesis in bovine luteal

- cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 38(6): 709-715.
- Gunther, M.; Al Nimer, F.; Piehl, F.; Risling, M. and Mathiesen, T. (2018). Susceptibility to oxidative stress is determined by genetic background in neuronal cell cultures. *ENeuro*. 5(2), e0335.
- Haasler, L.; Kondadi, A. K.; Tsigaras, T.; von Montfort, C.; Graf, P.; Stahl, W. and Brenneisen, P. (2021). The BH3 mimetic (\pm) gossypol induces ROS-independent apoptosis and mitochondrial dysfunction in human A375 melanoma cells *in vitro*. *Archives of Toxicology*. 95(4): 1349-1365.
- Hageman, J. J.; Bast, A. and Vermeulen, N. P. E. (1992). Monitoring of oxidative free radical damage in vivo: analytical aspects. *Chemico-Biological Interactions*. 82(3): 243-293.
- Hagenbucher, S.; Eisenring, M.; Meissle, M.; Rathore, K. S. and Romeis, J. (2019). Constitutive and induced insect resistance in RNAi-mediated ultra-low gossypol cottonseed cotton. *BMC Plant Biology*. 19(1): 1-10.
- Hamzavi J. Z.; Zolghadri J. S.; Hemayatkhah J. V.; Kargar J. H. and Erfanian, S. (2014). Protective effect of curcumin against gamma-radiation on testis of Rats. *Hormozgan Medical Journal*. 18(2): 131-141.
- Hassan, M.; Watari, H.; AbuAlmaaty, A.; Ohba, Y. and Sakuragi, N. (2014). Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. *BioMed Research International*. 2014, e150845.
- Hatamoto-Zervoudakis, L. K.; Junior, M. D.; Zervoudakis, J. T.; Motheo, T. F.; Silva-Marques, R. P.; Tsuneda, P. P. and Almeida, R. D. (2018). Free gossypol supplementation frequency and reproductive toxicity in young bulls. *Theriogenology*. 110: 153-157.
- Herve, J. C.; Pluciennik, F.; Bastide, B.; Cronier, L.; Verrecchia, F.; Malassine, A. and Deleze, J. (1996). Contraceptive gossypol blocks cell-to-cell communication in human and rat cells. *European Journal of Pharmacology*. 313(3): 243-255.
- Hirobe, S.; He, W. W.; Lee, M. M. and Donahoe, P. K. (1992). Mullerian inhibiting substance messenger ribonucleic acid expression in granulosa and Sertoli cells coincides with their mitotic activity. *Endocrinology*. 131(2): 854-862.
- Hirshfield, A. N. (1991). Development of follicles in the mammalian ovary. *International Review of Cytology*. 124: 43-101.

- Hong, M. W.; Choi, S. Y.; Kim, H. and Lee, S. J. (2021). Transcriptome changes in porcine granulosa cells in response to gossypol cytotoxicity. *Research Square*. 1: 1-32.
- Hsueh, A. J.; Kawamura, K.; Cheng, Y. and Fauser, B. C. (2015). Intraovarian control of early folliculogenesis. *Endocrine Reviews*. 36(1): 1-24.
- Hudayah, T.; Taib, M.; Ismail, N. and Muhammad, T. S. T. (2017). Methanol extracts of four selected marine sponges induce apoptosis in human breast cancer cell line, MCF-7. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 8(4): 667-675.
- Igwebuike, U. M.; Ochiogu, I. S.; Ihedinihu, B. C.; Ikokide, J. E. and Idika, I. K. (2011). The effects of oral administration of monosodium glutamate (msg) on the testicular morphology and cauda epididymal sperm reserves of young and adult male rats. *Veterinarski Arhiv*. 81(4): 525-534.
- Jacobs, J. L.; Davis, D. B.; Mullenix, M. K.; Koebernick, J. C.; Justice, S. M.; Dillard, S. L. and Stewart Jr, R. L. (2022). Cottonseed characteristics related to beef cattle consumption: Protein degradability, digestibility, and gossypol content. *Applied Animal Science*, 38(5): 409-416.
- Jahan, S.; Abid, A.; Khalid, S.; Afsar, T.; Shaheen, G.; Almajwal, A. and Razak, S. (2018). Therapeutic potentials of quercetin in management of polycystic ovarian syndrome using letrozole induced rat model: a histological and a biochemical study. *Journal of Ovarian Research*. 11(1): 1-10.
- Jan, R. and Chaudhry, G.E. (2019). Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 9(2): 205-218.
- Jangra, A.; Kwatra, M.; Singh, T.; Pant, R.; Kushwah, P.; Sharma, Y. and Bezbaruah, B. K. (2016). Piperine augments the protective effect of curcumin against lipopolysaccharide-induced neurobehavioral and neurochemical deficits in mice. *Inflammation*. 39(3): 1025-1038.
- Jia, Y.; Lin, J.; Mi, Y. and Zhang, C. (2011). Quercetin attenuates cadmium-induced oxidative damage and apoptosis in granulosa cells from chicken ovarian follicles. *Reproductive Toxicology*. 31(4): 477-485.
- Jimenez, C. R.; Moretti, D. B.; Correa, P. S.; da Costa, R. L. D.; Mui, T. S.; Machado-Neto, R. and Louvandini, H. (2019). Morphological-metric, ultrastructural and immunohistochemical effects of gossypol

- on cultured granulosa cells and oocytes of ewes using MOEPF. *Animal Reproduction Science*. 201: 22-31.
- Jimenez, C. R.; Moretti, D. B.; da Silva, T. P.; Correa, P. S.; da Costa, R. L. D.; Siu, T. M. and Louvandini, H. (2021). Cottonseed (gossypol) intake during gestation and lactation does affect the ovarian population in ewes and lambs. *Research in Veterinary Science*. 135: 557-567.
- Joshi, P.; Joshi, S.; Semwal, D. K.; Bisht, A.; Sharma, S. and Dwivedi, J. (2021). Chemical composition, antioxidative and antimicrobial activities of turmeric spent oleoresin. *Industrial Crops and Products*, 162: e113278.
- Jyotirmayee, B. and Mahalik, G. (2022). Traditional Uses and Variation in Curcumin Content in Varieties of Curcuma-the Saffron of India. *Ambient Science*. 9(1): 6-12.
- Kakani, R.; Gamboa, D. A.; Calhoun, M. C.; Haq, A. U. and Bailey, C. A. (2010). Relative toxicity of cottonseed gossypol enantiomers in broilers. *The Open Toxicology Journal*. 4(1): 26–31.
- Kankofer, M.; Wawrzykowski, J. and Giergiel, M. (2013). Sex-and age-dependent activity of glutathione peroxidase in reproductive organs in pre-and post-pubertal cattle in relation to total antioxidant capacity. *Aging Clinical and Experimental Research*. 25(4): 365-370.
- Kerr, J. F. (2002). History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology*. 181: 471-474.
- Kim, D. H.; Kwack, S. J.; Yoon, K. S.; Choi, J. S. and Lee, B. M. (2015). 4-Hydroxynonenal: a superior oxidative biomarker compared to malondialdehyde and carbonyl content induced by carbon tetrachloride in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 78(16): 1051-1062.
- Kosari, A.; Hosseinzadeh, C. A. and Dabidi, R. V. (2012). Effects of endurance training and curcumin supplementation on sperm count and motility and reproductive hormones in rats exposed to lead acetate. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility*. 15(11): 22-33.
- Kovacic, P. (2003). Mechanism of drug and toxic actions of gossypol: focus on reactive oxygen species and electron transfer. *Current Medicinal Chemistry*. 10(24): 2711-2718.

- Kreheova, A.; Kovarikova, V.; Domorakova, I.; Solar, P.; Pastornicka, A.; Pavliuk-Karachevtseva, A. and Mihalik, J. (2021). Characterization of Glutathione Peroxidase 4 in Rat Oocytes, Preimplantation Embryos, and Selected Maternal Tissues during Early Development and Implantation. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(10): 1-17.
- Kurokawa, M. and Kornbluth, S. (2009). Caspases and kinases in a death grip. *Cell*. 138(5): 838-854.
- La Marca, A.; Broekmans, F. J.; Volpe, A.; Fauser, B. C. and Macklon, N. S. (2009). Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Human Reproduction*. 24(9): 2264-2275.
- Lagerlof, R. K. and Tone, J. N. (1985). The effect of gossypol acetic acid on female reproduction. *Drug and Chemical Toxicology*. 8(6): 469-482.
- Lakhanpal, P. and Rai, D. K. (2007). Quercetin: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*. 2(2): 22-37.
- Lal, B. (2021). A review study on benefits of turmeric. *Academicia: An International Multidisciplinary Research Journal*. 11(12): 547-553.
- Lampe, V. and Milobedeska, J. (1913). Studien uber curcumin. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 46(2): 2235-2240.
- Lass, A. and Brinsden, P. (1999). The role of ovarian volume in reproductive medicine. *Human Reproduction Update*. 5(3): 256-266.
- Lavrik, I. N.; Golks, A. and Krammer, P. H. (2005). Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *The Journal of Clinical Investigation*. 115(10): 2665-2672.
- Lawenda, B. D.; Kelly, K. M.; Ladas, E. J.; Sagar, S. M.; Vickers, A. and Blumberg, J. B. (2008). Should supplemental antioxidant administration be avoided during chemotherapy and radiation therapy? *Journal of the National Cancer Institute*. 100(11): 773-783.
- Leist, M., and Jaattela, M. (2001). Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2(8): 589-598.
- Lestari, S. W.; Larasati, M. D.; Mansur, I. G. and Margiana, R. (2018). Sperm Na⁺ K⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase activities: A potential predictive parameter of sperm motility disorder in infertile men. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 11(1): 411-416.
- Li, J. and Yuan, J. (2008). Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene*. 27(48): 6194-6206.

- Li, L.; Fu, Y. C.; Xu, J. J.; Lin, X. H.; Chen, X. C.; Zhang, X. M. and Luo, L. L. (2015). Caloric restriction promotes the reserve of follicle pool in adult female rats by inhibiting the activation of mammalian target of rapamycin signaling. *Reproductive Sciences*. 22(1): 60-67.
- Li, Y.; Hu, Y.; Zhu, S.; Tuo, Y.; Cai, B.; Long, T. and Long, L. (2021). Protective effects of reduced glutathione and ulinastatin on xenotransplanted human ovarian Tissue against ischemia and reperfusion injury. *Cell Transplantation*. 30: 1-12.
- Liang, J.; Chen, C.; Liu, H.; Liu, X.; Li, Z.; Hu, J. and Zhao, H. (2018). Gossypol promotes bone formation in ovariectomy-induced osteoporosis through regulating cell apoptosis. *BioMed Research International*. 2018: e 3635485.
- Lim, J.; Lawson, G. W.; Nakamura, B. N.; Ortiz, L.; Hur, J. A.; Kavanagh, T. J. and Luderer, U. (2013). Glutathione-deficient mice have increased sensitivity to transplacental benzo [a] pyrene-induced premature ovarian failure and ovarian tumorigenesis. *Cancer Research*. 73(2): 908-917.
- Lim, W.; Ham, J.; Park, S.; Bae, H.; You, S. and Song, G. (2019). Gossypol induces disruption of spermatogenesis and Steroidogenesis in male mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 67(7): 2075-2085.
- Lin, S. Y.; Wang, Y. Y.; Chen, W. Y.; Chuang, Y. H.; Pan, P. H. and Chen, C. J. (2014). Beneficial effect of quercetin on cholestatic liver injury. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 25(11): 1183-1195.
- Lin, Y. C.; Coskun, S. and Sanbuissho, A. (1994). Effects of gossypol on *in vitro* bovine oocyte maturation and steroidogenesis in bovine granulosa cells. *Theriogenology*. 41(8): 1601-1611.
- Lin, Y. C.; Fukaya, T.; Rikihisa, Y. and Walton, A. (1985). Gossypol in female fertility control: ovum implantation and early pregnancy inhibited in rats. *Life Sciences*. 37(1): 39-47.
- Liu, S.; Hou, W.; Yao, P.; Li, N.; Zhang, B.; Hao, L. and Liu, L. (2012). Heme oxygenase-1 mediates the protective role of quercetin against ethanol-induced rat hepatocytes oxidative damage. *Toxicology in Vitro*. 26(1): 74-80.
- Liu, Y.; Wang, L.; Zhao, L. and Zhang, Y. (2022). Structure, properties of gossypol and its derivatives—from physiological activities to drug discovery and drug design. *Toxicology*. 13(1): 22-35.

- Lockshin, R. A. and Williams, C. M. (1964). Programmed cell death-II. Endocrine potentiation of the breakdown of the intersegmental muscles of silk moths. *Journal of Insect Physiology*. 10(4): 643-649.
- Loke, W. M.; Proudfoot, J. M.; Mckinley, A. J.; Needs, P. W.; Kroon, P. A.; Hodgson, J. M. and Croft, K. D. (2008). Quercetin and its *in vivo* metabolites inhibit neutrophil-mediated low-density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(10): 3609-3615.
- Lopez, J. and Tait, S. W. G. (2015). Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within. *British Journal of Cancer*. 112(6): 957-962.
- Lordelo, M. M.; Calhoun, M. C.; Dale, N. M.; Dowd, M. K. and Davis, A. J. (2007). Relative toxicity of gossypol enantiomers in laying and broiler breeder hens. *Poultry Science*. 86(3): 582-590.
- Lu, M. D.; Li, L. Y.; Li, P. H.; You, T.; Wang, F. H.; Sun, W. J. and Zheng, Z. Q. (2017). Gossypol induces cell death by activating apoptosis and autophagy in HT-29 cells. *Molecular Medicine Reports*. 16(2): 2128-2132.
- Lubos, E.; Loscalzo, J. and Handy, D. E. (2011). Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants and Redox signaling*. 15(7): 1957-1997.
- Luthi, A. U. and Martin, S. J. (2007). The CASBAH: a searchable database of caspase substrates. *Cell Death and Differentiation*. 14(4): 641-650.
- Luz, V. B.; Gadelha, I. C. N.; Cordeiro, L. A. V.; Melo, M. M. and Soto-Blanco, B. (2018). *In vitro* study of gossypol's ovarian toxicity to rodents and goats. *Toxicon*. 145: 56-60.
- Ma, L. and Liu, G. (2017). Simultaneous analysis of malondialdehyde, 4-hydroxy-2-hexenal, and 4-hydroxy-2-nonenal in vegetable oil by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(51): 11320-11328.
- Matzuk, M. M.; Burns, K. H.; Viveiros, M. M. and Eppig, J. J. (2002). Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science*. 296(5576): 2178-2180.
- McGee, E. A. and Hsueh, A. J. (2000). Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine reviews*. 21(2): 200-214.
- Melekoglu, R.; Ciftci, O.; Eraslan, S.; Cetin, A. and Basak, N. (2018). Beneficial effects of curcumin and capsaicin on cyclophosphamide-

- induced premature ovarian failure in a rat model. *Journal of Ovarian Research*. 11(1): 1-8.
- Merchant-Larios, H. and Chimal-Monroy, J. (1989). The ontogeny of primordial follicles in the mouse ovary. *Progress in Clinical and Biological Research*. 296: 55-63.
- Miltonprabu, S.; Tomczyk, M.; Skalicka-Wozniak, K.; Rastrelli, L.; Daglia, M.; Nabavi, S. F. and Nabavi, S. M. (2017). Hepatoprotective effect of quercetin: From chemistry to medicine. *Food and Chemical Toxicology*. 108: 365-374.
- Minich, D. M. and Brown, B. I. (2019). A review of dietary (phyto) nutrients for glutathione support. *Nutrients*. 11(9): 1-20.
- Mogi, M.; Togari, A.; Kondo, T.; Mizuno, Y.; Komure, O.; Kuno, S. and Nagatsu, T. (2000). Caspase activities and tumor necrosis factor receptor R1 (p55) level are elevated in the substantia nigra from parkinsonian brain. *Journal of Neural Transmission*. 107(3): 335-341.
- Molosse, V.; Souza, C. F.; Baldissera, M. D.; Glombowsky, P.; Campigotto, G.; Cazaratto, C. J. and da Silva, A. S. (2019). Diet supplemented with curcumin for nursing lambs improves animal growth, energetic metabolism and performance of the antioxidant and immune systems. *Small Ruminant Research*. 170: 74-81.
- Monniaux, D.; Clement, F.; Dalbies-Tran, R.; Estienne, A.; Fabre, S.; Mansanet, C. and Monget, P. (2014). The ovarian reserve of primordial follicles and the dynamic reserve of antral growing follicles: what is the link? *Biology of Reproduction*. 90(4): 1-11.
- Mooradian, A. D.; Lung, C. C. and Pinnas, J. L. (1996). Glycosylation enhances malondialdehyde binding to proteins. *Free Radical Biology and Medicine*. 21(5): 699-701.
- Moussa, Z.; Judeh, Z. M. and Ahmed, S. A. (2019). Nonenzymatic exogenous and endogenous antioxidants. *Free Radical Medicine and Biology*. 186: 1-22.
- Mukherjee, A.; Malik, H.; Saha, A. P.; Dubey, A.; Singhal, D. K.; Boateng, S. and Malakar, D. (2014). Resveratrol treatment during goat oocytes maturation enhances developmental competence of parthenogenetic and hand-made cloned blastocysts by modulating intracellular glutathione level and embryonic gene expression. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 31(2): 229-239.

- Mut-Salud, N.; Alvarez, P. J.; Garrido, J. M.; Carrasco, E.; Aranega, A. and Rodriguez-Serrano, F. (2016). Antioxidant intake and antitumor therapy: toward nutritional recommendations for optimal results. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016, e 6719534.
- Nagalakshmi, D.; Rao, S. V. R.; Panda, A. K. and Sastry, V. R. (2007). Cottonseed meal in poultry diets: a review. *The Journal of Poultry Science*. 44(2): 119-134.
- Nandi, A.; Yan, L. J.; Jana, C. K. and Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019, e9613090.
- Naseer, Z.; Ahmad, E.; Epikmen, E. T.; Ucan, U.; Boyacioglu, M.; Ipek, E. and Akosy, M. (2017). Quercetin supplemented diet improves follicular development, oocyte quality, and reduces ovarian apoptosis in rabbits during summer heat stress. *Theriogenology*. 96: 136-141.
- Neyestani, Z.; Ebrahimi, S. A.; Ghazaghi, A.; Jalili, A.; Sahebkar, A. and Rahimi, H. R. (2019). Review of anti-bacterial activities of curcumin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression*. 29(5): 377-385.
- Nikoletopoulou, V.; Markaki, M.; Palikaras, K. and Tavernarakis, N. (2013). Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. *Biochimica Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 1833(12): 3448-3459.
- Nilsson, E. E.; Schindler, R.; Savenkova, M. I. and Skinner, M. K. (2011). Inhibitory actions of anti-Müllerian hormone (AMH) on ovarian primordial follicle assembly. *Plos One*. 6(5): e20087.
- Nna, V. U.; Usman, U. Z.; Ofutet, E. O. and Owu, D. U. (2017). Quercetin exerts preventive, ameliorative and prophylactic effects on cadmium chloride-induced oxidative stress in the uterus and ovaries of female Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*. 102: 143-155.
- Nowzari, F.; Rahmanifar, F.; Tanideh, N.; Dorvash, M. R.; Khoradmehr, A.; Baghban, N. and Tamadon, A. (2021). Dietary cottonseed consumption induced subfertility in male and female rats: a potent eco-friendly rodenticide compound. *Research Square*. 1: 1-20.

- Nweze, C. C.; Tseaa, W. and Ekpe, I. P. (2022). Anti-Inflammatory Properties of Quercetin: A Review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 12(4): 205-210.
- Obeng, E. (2020). Apoptosis (programmed cell death) and its signals-A review. *Brazilian Journal of Biology*. 81: 1133-1143.
- Oh, W. Y.; Ambigaipalan, P. and Shahidi, F. (2019). Preparation of quercetin esters and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 67(38): 10653-10659.
- Olabiyi, O. A.; Oremosu, A. A.; Noronha, C. C. and Okanlawon, A. A. (2006). Effects of cottonseed oil (*Gossypium* spp.) and cottonseed meal on estrous cycle, ovulation and histoarchitecture of female reproductive organs of adult cyclic Sprague-Dawley rats. *Nigerian Journal of Health and Biomedical Sciences*. 5(1): 21-26.
- Oliveira, A. S.; Sousa, E.; Helena V. M. and Pinto, M. (2015). Curcumin: a natural lead for potential new drug candidates. *Current Medicinal Chemistry*. 22(36): 4196-4232.
- Oppenheimer, A. (1937). Turmeric (curcumin) in biliary diseases. *The Lancet*. 229(5924): 619-621
- Oyewopo, O. A.; Dare, J. B.; Towolawi, A. O.; Olaniyan, O. T.; Omotoso, O. D.; Shafe, M. O. and Owolabi, O. J. (2012). Cottonseed extract and anti-fertility: metabolic versus hormonal changes in rat model. *World Journal of Life Sciences and Medical Research*. 2(5): 196-199.
- Ozyel, B.; Le Gall, G.; Needs, P. W. and Kroon, P. A. (2021). Anti-inflammatory effects of quercetin on high-glucose and pro-inflammatory cytokine challenged vascular endothelial cell metabolism. *Molecular Nutrition and Food Research*. 65(6), e2000777.
- Palai, T. K. and Mishra, S. R. (2015). Caspases: an apoptosis mediator. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 2(1): 18-22.
- Pan, L. C.; Nadakavukaren, M. J. and Jensen, D. R. (1987). Effects of ingested gossypol on the ultrastructure of rat ovarian follicles. *Cell and Tissue Research*. 250(1): 215-220.
- Patel, R.; Rinker, L.; Peng, J. and Chilian, W. M. (2018). Reactive oxygen species: The good and the bad. In *Reactive Oxygen Species (ROS) in Living Cells*. 1st ed. London: IntechOpen, pp 7-20.
- Peng-di, Z., Yun-tien, S., Jie, C., Lin, T., Min-yi, D., and Mei-ling, H. (1984). Electron microscopic observations of the effects of gossypol on the

- human endometrium. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 149(7), 780-787.
- Percy, R. G.; Calhoun, M. C. and Kim, H. L. (1996). Seed gossypol variation within *Gossypium barbadense* L. cotton. *Crop Science*. 36(1): 193-197.
- Peters, H. and McNatty, K. P. (1980). *The ovary: A correlation of structure and function in mammals*. University of California Press. 1st edition. Great Britain: Granada Publishing: 12-35.
- Picton, H. M. (2001). Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology*. 55(6): 1193-1210.
- Pierce, J.; Cackler, A. and Arnett, M. (2004). Why should you care about free radicals?. *National Center for Biotechnology Information*. 67(1): 38-42.
- 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*. 2017, e8416763.
- Pizzorno, J. (2014). Glutathione. *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*. 13(1): 8-12.
- Porter, A. G., and Janicke, R. U. (1999). Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death and Differentiation*, 6(2), 99-104.
- Pulido-Moran, M.; Moreno-Fernandez, J.; Ramirez-Tortosa, C. and Ramirez-Tortosa, M. (2016). Curcumin and health. *Molecules*. 21(3): 264.
- Rai, G.; Namdev, N. and Mahobiya, P. (2020). Ascorbic acid and curcumin alleviate abnormal estrous cycle and morphological changes in cells induced by repeated ultraviolet B radiations in female Wistar rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 9(3): 142-147.
- Rai, N. K.; Tripathi, K.; Sharma, D. and Shukla, V. K. (2005). Apoptosis: a basic physiologic process in wound healing. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*. 4(3): 138-144.
- Raj Rai, S.; Bhattacharyya, C.; Sarkar, A.; Chakraborty, S.; Sircar, E.; Dutta, S. and Sengupta, R. (2021). Glutathione: Role in Oxidative/Nitrosative Stress, Antioxidant Defense, and Treatments. *Chemistry Select*. 6(18): 4566-4590.
- Rajkovic, A.; Pangas, S. A. and Matzuk, M. M. (2006). Follicular development: mouse, sheep, and human models. In Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction*. 3rd Ed. London. Academic Press, pp 383-424.

- Randel, R. D.; Chase Jr, C. C. and Wyse, S. J. (1992). Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals. *Journal of Animal Science*. 70(5): 1628-1638.
- Randel, R. D.; Willard, S. T.; Wyse, S. J. and French, L. N. (1996). Effects of diets containing free gossypol on follicular development, embryo recovery and corpus luteum function in Brangus heifers treated with bFSH. *Theriogenology*. 45(5): 911-922.
- Rashidi, Z.; Aleyasin, A.; Eslami, M.; Nekoonam, S.; Zendedel, A.; Bahramrezaie, M. and Amidi, F. (2019). Quercetin protects human granulosa cells against oxidative stress via thioredoxin system. *Reproductive Biology*. 19(3): 245-254.
- Rashidi, Z.; Khosravizadeh, Z.; Talebi, A.; Khodamoradi, K.; Ebrahimi, R. and Amidi, F. (2021). Overview of biological effects of Quercetin on ovary. *Phytotherapy Research*. 35(1): 33-49.
- Rice, S.; Mason, H. D. and Whitehead, S. A. (2006). Phytoestrogens and their low dose combinations inhibit mRNA expression and activity of aromatase in human granulosa-luteal cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 101(4-5): 216-225.
- Rizzo, A.; Roscino, M. T.; Binetti, F. and Sciorsci, R. L. (2012). Roles of reactive oxygen species in female reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*. 47(2): 344-352.
- Robertson, D. M. (2008). Anti-Mullerian hormone as a marker of ovarian reserve: an update. *Women's Health*. 4(2): 137-141.
- Roy, A.; Khan, A.; Ahmad, I.; Alghamdi, S.; Rajab, B. S.; Babalghith, A. O. and Islam, M. (2022). Flavonoids a Bioactive Compound from Medicinal Plants and Its Therapeutic Applications. *BioMed Research International*, 2022: e 5445291
- Rybska, M.; Knap, S.; Jankowski, M.; Jeseta, M.; Bukowska, D.; Antosik, P. and Jaśkowski, J. M. (2018). Characteristic of factors influencing the proper course of folliculogenesis in mammals. *Medical Journal of Cell Biology*. 6(1): 33-38.
- Sabahelkhier, M. K.; Ahmed, S. M. A.; Bakheet, L. H. A. and Ishag, K. E. (2017). Effect of gossypol extracted from cottonseed cake on body weight, fertility and histopathology of Wistar rats. *Neelain Journal of Science and Technology*. 1(1): 84-89.

- Sakahira, H.; Enari, M. and Nagata, S. (1998). Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature*. 391(6662): 96-99.
- Salehi, B.; Machin, L.; Monzote, L.; Sharifi-Rad, J.; Ezzat, S. M.; Salem, M. A. and Cho, W. C. (2020). Therapeutic potential of quercetin: new insights and perspectives for human health. *Acs Omega*. 5(20): 11849-11872.
- Salehi, B.; Martorell, M.; Arbiser, J. L.; Sureda, A.; Martins, N.; Maurya, P. K. and Sharifi-Rad, J. (2018). Antioxidants: positive or negative actors. *Biomolecules*. 8(4): 1-11.
- Samare-Najaf, M.; Zal, F. and Safari, S. (2020). Primary and secondary markers of doxorubicin-induced female infertility and the alleviative properties of quercetin and vitamin E in a rat model. *Reproductive Toxicology*. 96: 316-326.
- Sandhir, R.; Yadav, A.; Mehrotra, A.; Sunkaria, A.; Singh, A. and Sharma, S. (2014). Curcumin nanoparticles attenuate neurochemical and neurobehavioral deficits in experimental model of Huntington's disease. *Neuromolecular Medicine*. 16(1): 106-118.
- Santana, A. T.; Guelfi, M.; Medeiros, H. C.; Tavares, M. A.; Bizerra, P. F. and Mingatto, F. E. (2015). Mechanisms involved in reproductive damage caused by gossypol in rats and protective effects of vitamin E. *Biological Research*. 48: 1-8.
- Santini, S. E.; Basini, G.; Bussolati, S. and Grasselli, F. (2009). The phytoestrogen quercetin impairs steroidogenesis and angiogenesis in swine granulosa cells in vitro. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2009, e 419891.
- Saumande, J. (1991). Folliculogenesis in Ruminants. *Recueil de Medecine Veterinaire*. 167:205-218.
- Scapagnini, G.; Sonya, V.; Nader, A. G.; Calogero, C.; Zella, D. and Fabio, G. (2011). Modulation of Nrf2/ARE pathway by food polyphenols: a nutritional neuroprotective strategy for cognitive and neurodegenerative disorders. *Molecular Neurobiology*. 44(2): 192-201.
- Seadawy, I. E. E.; Walid, S.; El-Nattat, M. M.; El-Tohamy, H. A. and El-Rahman, A. (2014). The influence of curcumin and ascorbic acid on libido and semen characteristics of arsenic-exposed rabbit bucks. *World Applied Sciences Journal*. 32(9): 1789-1794.

- Sedlak, J. and Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*. 25: 192-205.
- Shabaniyan, S.; Bahmani, M. and Asadi-Samani, M. (2016). The medicinal plants effective on female hormones: A review of the native medicinal plants of Iran effective on estrogen, progesterone, and prolactin. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 9(3): 1270-1276.
- Sharma, A.; Kashyap, D.; Sak, K.; Tuli, H. S. and Sharma, A. K. (2018). Therapeutic charm of quercetin and its derivatives: a review of research and patents. *Pharmaceutical Patent Analyst*. 7(1): 15-32.
- Sharma, R. A.; Gescher, A. J. and Steward, W. P. (2005). Curcumin: the story so far. *European Journal of Cancer*. 41(13): 1955-1968.
- Shelat, D. Y. and Acharya, S. R. (2016). Neuroprotective activity of novel CUR-CA-THIONE and its oxidative stress study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 8: 167-173.
- Shen, M.; Jiang, Y.; Guan, Z.; Cao, Y.; Li, L.; Liu, H. and Sun, S. C. (2017). Protective mechanism of FSH against oxidative damage in mouse ovarian granulosa cells by repressing autophagy. *Autophagy*. 13 (8): 1364-1385.
- Sheng, Y.; Abreu, I. A.; Cabelli, D. E.; Maroney, M. J.; Miller, A. F.; Teixeira, M. and Valentine, J. S. (2014). Superoxide dismutases and superoxide reductases. *Chemical Reviews*. 114(7): 3854-3918.
- Shishodia, S.; Sethi, G. and Aggarwal, B. B. (2005). Curcumin: getting back to the roots. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1056(1): 206-217.
- Shkolnik, K.; Tadmor, A.; Ben-Dor, S.; Nevo, N.; Galiani, D. and Dekel, N. (2011). Reactive oxygen species are indispensable in ovulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108(4): 1462-1467.
- Shu, X.; Hu, X. J.; Zhou, S. Y.; Xu, C. L.; Qiu, Q. Q.; Nie, S. P. and Xie, M. Y. (2011). Effect of quercetin exposure during the prepubertal period on ovarian development and reproductive endocrinology of mice. *Acta Pharmaceutica Sinica*. 46(9): 1051-1057.
- Singh, S.; Sharma, S. K. and Kansal, S. K. (2019). Batch extraction of gossypol from cottonseed meal using mixed solvent system and its kinetic

- modeling. *Chemical Engineering Communications*. 206(12), 1608-1617.
- Singla, N. and Garg, M. (2013). Effect of crude cottonseed oil containing gossypol on fertility of male and estrous cycle of female *Bandicota bengalensis* Gray and Hardwicke. *Journal of Applied Animal Research*. 41(2): 156-165.
- Sirotkin, A. V.; Stochmalova, A.; Grossmann, R.; Alwasel, S. and Harrath, A. H. (2019). Quercetin directly promotes rabbit ovarian steroidogenesis. *World Rabbit Science*. 27(3): 163-167.
- Sobinoff, A. P.; Beckett, E. L.; Jarnicki, A. G.; Sutherland, J. M.; McCluskey, A.; Hansbro, P. M. and McLaughlin, E. A. (2013). Scrambled and fried: cigarette smoke exposure causes antral follicle destruction and oocyte dysfunction through oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 271(2): 156-167.
- Soto-Blanco, B. (2008). Gossypol e fatores antinutricionais da soja. *Toxicologia Aplicada a Veterinaria*. 1: 531-545.
- Sousa, B. C.; Pitt, A. R. and Spickett, C. M. (2017). Chemistry and analysis of HNE and other prominent carbonyl-containing lipid oxidation compounds. *Free Radical Biology and Medicine*. 111: 294-308.
- Squillaro, T.; Cimini, A.; Peluso, G.; Giordano, A. and Melone, M. A. B. (2018). Nano-delivery systems for encapsulation of dietary polyphenols: An experimental approach for neurodegenerative diseases and brain tumors. *Biochemical Pharmacology*. 154: 303-317.
- Stanley, J. A.; Sivakumar, K. K.; Arosh, J. A.; Burghardt, R. C. and Banu, S. K. (2014). Edaravone mitigates hexavalent chromium-induced oxidative stress and depletion of antioxidant enzymes while estrogen restores antioxidant enzymes in the rat ovary in F1 offspring. *Biology of Reproduction*. 91(1): 1-12.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. (1980). *Principles and procedures of statistics*. 2^{ed} Ed. New York: McGraw-Hill Book Company Inc. pp 78-80, 107-109.
- Stochmalova, A.; Sirotkin, A.; Kadasi, A. and Alexa, R. (2013). Physiological and medical effects of plant flavonoid quercetin. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2(1): 1915-1926.

- Szczepanska, M.; Kozlik, J.; Skrzypczak, J. and Mikolajczyk, M. (2003). Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertility and Sterility*. 79(6): 1288-1293.
- Talukder, S.; Kerrisk, K. L.; Gabai, G. and Celi, P. (2017). Role of oxidant–antioxidant balance in reproduction of domestic animals. *Animal Production Science*. 57(8): 1588-1597.
- Tarko, A.; Stochmalova, A.; Jedlickova, K.; Hrabovszka, S.; Vachanova, A.; Harrath, A. H. and Sirotkin, A. V. (2019). Effects of benzene, quercetin, and their combination on porcine ovarian cell proliferation, apoptosis, and hormone release. *Archives Animal Breeding*. 62(1): 345-351.
- Teymouri, M.; Barati, N.; Pirro, M. and Sahebkar, A. (2018). Biological and pharmacological evaluation of dimethoxycurcumin: A metabolically stable curcumin analogue with a promising therapeutic potential. *Journal of Cellular Physiology*. 233(1): 124-140.
- Tietz, N.W. (1999). *Textbook of clinical chemistry*. 3rd ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunder. pp 819-861, 1245-1250.
- Tiwari-Pandey, R. and Ram, S. M. (2009). Modulation of ovarian structure and abdominal obesity in curcumin-and flutamide-treated aging FSH-R haploinsufficient mice. *Reproductive Sciences*. 16(6): 539-550.
- Ueno, S.; Takahashi, M.; Manganaro, T. F.; Ragin, R. C. and Donahoe, P. K. (1989). Cellular localization of mullerian inhibiting substance in the developing rat ovary. *Endocrinology*. 124(2): 1000-1006.
- Ullah, F.; Liang, A.; Rangel, A.; Gyengesi, E.; Niedermayer, G. and Munch, G. (2017). High bioavailability curcumin: an anti-inflammatory and neurosupportive bioactive nutrient for neurodegenerative diseases characterized by chronic neuroinflammation. *Archives of Toxicology*. 91(4): 1623-1634.
- Van Langendonck, A.; Casanas-Roux, F. and Donnez, J. (2002). Oxidative stress and peritoneal endometriosis. *Fertility and sterility*. 77(5): 861-870.
- Van Meter, R. J.; Glinski, D. A.; Purucker, S. T. and Henderson, W. M. (2022). Induced Hepatic Glutathione and Metabolomic Alterations Following Mixed Pesticide and Fertilizer Exposures in Juvenile Leopard Frogs (*Lithobates sphenoccephala*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 41(1): 122-133.

- Vigier, B.; Picard, J. Y.; Tran, D.; Legeai, L. and Josso, N. (1984). Production of anti-Mullerian hormone: another homology between sertoli and granulosa cells. *Endocrinology*. 114(4): 1315-1320.
- Visser, J. A. and Themmen, A. P. (2005). Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 234(1-2): 81-86.
- Visser, J. A.; de Jong, F. H.; Laven, J. S. and Themmen, A.P. (2006). Anti-Mullerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction*. 131(1): 1-9.
- Voulgaridou, G. P.; Anestopoulos, I.; Franco, R.; Panayiotidis, M. I. and Pappa, A. (2011). DNA damage induced by endogenous aldehydes: current state of knowledge. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 711(1-2): 13-27.
- Wang, J.; Qian, X.; Gao, Q.; Lv, C.; Xu, J.; Jin, H. and Zhu, H. (2018). Quercetin increases the antioxidant capacity of the ovary in menopausal rats and in ovarian granulosa cell culture *in vitro*. *Journal of Ovarian Research*. 11(51): 1-11.
- Wang, W.; Sun, C.; Mao, L.; Ma, P.; Liu, F.; Yang, J. and Gao, Y. (2016). The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 56: 21-38.
- Wani, I. A. and Nazir, S. (2022). Gossypol. In *Handbook of Plant and Animal Toxins in Food* (pp. 155-168). CRC Press.
- Wedegaertner, T. and Rathore, K. (2015). Elimination of gossypol in cottonseed will improve its utilization. *Procedia Environmental Sciences*. 29: 124-125.
- Wierusz-Wysocka, B., Wysocki, H., Byks, H., Zozulinska, D., Wykretowicz, A., and Kazmierczak, M. (1995). Metabolic control quality and free radical activity in diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 27(3): 193-197.
- Williams, C. J. and Erickson, G. F. (2015). Morphology and Physiology of the Ovary.. In: *Endotext*. MDTText.com, Inc., South Dartmouth (MA); 2000. PMID: 25905186.
- Wu, D. F.; Yu, Y. W.; Tang, Z. M. and Wang, M. Z. (1986). Pharmacokinetics of (±) -, (+) -, and (-) -gossypol in humans and dogs. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 39(6): 613-618.

- Wu, W.; Abraham, L.; Ogony, J.; Matthews, R.; Goldstein, G. and Ercal, N. (2008). Effects of N-acetylcysteine amide (NACA), a thiol antioxidant on radiation-induced cytotoxicity in Chinese hamster ovary cells. *Life Sciences*. 82(21-22): 1122-1130.
- Wu, X., Arumugam, R.; Baker, S. P. and Lee, M. M. (2005). Pubertal and adult Leydig cell function in Mullerian inhibiting substance-deficient mice. *Endocrinology*. 146(2): 589-595.
- Wu, Y. M.; Chappel, S. C. and Flickinger, G. L. (1981). Effects of gossypol on pituitary-ovarian endocrine function, ovulation and fertility in female hamsters. *Contraception*. 24(3): 259-268.
- Xu, D.; Hu, M. J.; Wang, Y. Q. and Cui, Y. L. (2019). Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules*. 24(6): 1-15.
- Xu, W. B.; Xu, L. H.; Lu, H. S.; Ou-Yang, D. Y.; Shi, H. J.; Di, J. F. and He, X. H. (2009). The immunosuppressive effect of gossypol in mice is mediated by inhibition of lymphocyte proliferation and by induction of cell apoptosis. *Acta Pharmacologica Sinica*. 30(5): 597-604.
- Yan, F.; Zhao, Q.; Li, Y.; Zheng, Z.; Kong, X.; Shu, C. and Shi, Y. (2022). The role of oxidative stress in ovarian aging: a review. *Journal of Ovarian Research*. 15(1): 1-20.
- Yan, W.; Kanno, C.; Oshima, E.; Kuzuma, Y.; Kim, S. W.; Bai, H. and Kawahara, M. (2017). Enhancement of sperm motility and viability by turmeric by-product dietary supplementation in roosters. *Animal Reproduction Science*. 185: 195-204.
- Yan, Z.; Dai, Y.; Fu, H.; Zheng, Y.; Bao, D.; Yin, Y. and Cui, Y. (2018). Curcumin exerts a protective effect against premature ovarian failure in mice. *Journal of Molecular Endocrinology*. 60(3): 261-271.
- Yang, Y. Q., and Wu, X. Y. (1987). Antifertility mechanisms of gossypol acetic acid in female rats. *Reproduction*. 80(2): 425-429.
- Yu, M.; Wang, Y.; Li, P.; Li, M. and Gao, X. (2020). Taurine attenuates gossypol-induced apoptosis of C2C12 mouse myoblasts via the GPR87-AMPK/AKT signaling. *Amino Acids*. 52(9): 1285-1298.
- Zaman, S.; Wang, R. and Gandhi, V. (2014). Targeting the apoptosis pathway in hematologic malignancies. *Leukemia and Lymphoma*. 55(9): 1980-1992.
- Zeiss, C. J. (2003). The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice. *Veterinary Pathology*. 40(5): 481-495.

- Zeng, Y.; Ma, J.; Xu, L. and Wu, D. (2019). Natural product gossypol and its derivatives in precision cancer medicine. *Current Medicinal Chemistry*. 26(10): 1849-1873.
- Zhang, D. W.; Fu, M.; Gao, S. H. and Liu, J. L. (2013). Curcumin and diabetes: a systematic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013, e 636053.
- Zhang, J.; Hu, Z.; Lu, C.; Bai, K.; Zhang, L. and Wang, T. (2015). Effect of various levels of dietary curcumin on meat quality and antioxidant profile of breast muscle in broilers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63(15): 3880-3886.
- Zhang, Y.; Cao, H.; Hu, Y. Y.; Wang, H. and Zhang, C. J. (2011). Inhibitory effect of curcumin on angiogenesis in ectopic endometrium of rats with experimental endometriosis. *International Journal of Molecular Medicine*. 27(1): 87-94.
- Zheng, S.; Ma, M.; Chen, Y. and Li, M. (2022). Effects of quercetin on ovarian function and regulation of the ovarian PI3K/Akt/FoxO3a signalling pathway and oxidative stress in a rat model of cyclophosphamide-induced premature ovarian failure. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 130(2), 240-253.
- Ziegler, U. and Groscurth, P. (2004). Morphological features of cell death. *Physiology*. 19(3): 124-128.
- Zirkle, S. M.; Lin, Y. C.; Gwazdauskas, F. C. and Canseco, R. S. (1988). Effect of gossypol on bovine embryo development during the preimplantation period. *Theriogenology*. 30(3): 575-582.

ملحق (1): تأثير الجوسيبول، الكورستين، الكركمين، الجوسيبول + الكورستين، الجوسيبول + الكركمين عن طريق الفم على اوزان الجسم، الرحم و المبايض في اناث الجرذان.

المجاميع	العوامل المقاسة	وزن الجسم (غم)	وزن الرحم (ملغم/ 100غم من وزن الجسم)	وزن المبايض (ملغم/ 100 غم من وزن الجسم)
مجموعة السيطرة		125.1 ± 3.51 ^a	146.7 ± 9.77 ^a	15 ± 1.01 ^a
مجموعة معاملة بالجوسيبول		79.8 ± 4.34 ^b	63 ± 7.86 ^b	7.8 ± 0.36 ^c
مجموعة معاملة بالكورستين		118.3 ± 3.81 ^a	155.8 ± 6.44 ^a	14.6 ± 0.74 ^a
مجموعة معاملة بالكركمين		117.2 ± 4.18 ^a	165.7 ± 7.33 ^a	15.8 ± 0.75 ^a
مجموعة معاملة بالجوسيبول + الكورستين		82.5 ± 4.46 ^b	67.8 ± 7.79 ^b	9.1 ± 0.91 ^{bc}
مجموعة معاملة بالجوسيبول + الكركمين		84.8 ± 6.84 ^b	79.5 ± 18.32 ^b	10.4 ± 0.84 ^b

الحروف المختلفة عموديا تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع عند مستوى احتمالية (P < 0.05).
البيانات تمثل المعدل ± الخطأ القياسي.
عدد الحيوانات في كل مجموعة = 8.
مدة التجربة = 35، قتلت الحيوانات بعمر 56 يوم.

ملحق (2): تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، الجوسيبول + الكورستين، الجوسيبول + الكركمين عن طريق الفم على مستوى الكلوتاتايون، المالوندايالديهيد، انزيم الكاسبيز-3 في المبيض، الهرمون المحفز للجريبات و الهرمون المضاد للمولر في اناث الجرذان.

المجاميع المقاسة	العوامل	مستوى الكلوتاتايون GSH (مايكرمول/لتر)	مستوى المالوندايالديهيد MDA (مايكرمول/لتر)	مستوى انزيم الكاسبيز-3 في المبيض ($\mu\text{m/l}$)	مستوى الهرمون المحفز للجريبات FSH (mlU/ml)	مستوى الهرمون المضاد للمولر AMH (ng/ml)
مجموعة السيطرة		4.71±0.17 ^a	0.22±0.01 ^c	53.1±14.11 ^b	8.77±0.34 ^{ab}	5.39±0.38 ^{bc}
مجموعة معاملة بالجوسيبول		2.43±0.11 ^c	0.45±0.02 ^a	105.0±14.91 ^a	7.55±0.79 ^{bc}	4.83±0.21 ^c
مجموعة معاملة بالكورستين		5.01±0.33 ^a	0.21±0.01 ^c	52.5±12.21 ^b	7.63±0.69 ^{bc}	5.84±0.12 ^{ab}
مجموعة معاملة بالكركمين		5.13±0.30 ^a	0.20±0.01 ^c	59.1±15.21 ^b	9.75±0.39 ^a	6.30±0.24 ^a
مجموعة معاملة بالجوسيبول + الكورستين		3.21±0.24 ^b	0.30±0.02 ^b	102.9±5.63 ^a	6.24±0.82 ^c	5.31±0.13 ^{bc}
مجموعة معاملة بالجوسيبول + الكركمين		3.63±0.19 ^b	0.28±0.01 ^b	104.5±5.81 ^a	7.99±0.84 ^{abc}	4.93±0.13 ^c

الحروف المختلفة عموديا تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$).
البيانات تمثل المعدل \pm الخطأ القياسي.
عدد الحيوانات في كل مجموعة = 8 .
مدة التجربة = 35 يوم ، قتلت الحيوانات بعمر 56 يوم.

ملحق (3): تأثير المعاملة بالجوسيبول ، الكورستين، الكركمين، الجوسيبول + الكورستين، الجوسيبول + الكركمين عن طريق الفم على اعداد الجريبات المبيضية واعداد الاجسام الصفري اناث الجرذان.

الاجسام الصفري	الجريبات الغارية Antral	جريبات ما قبل ظهور الغار Preantral	الجريبات النامية Growing	الجريبات	المجاميع المبيضية
15 ^b	78 ^a	28 ^b	35 ^d		مجموعة السيطرة
2 ^c	30 ^c	29 ^b	85 ^a		مجموعة معاملة بالجوسيبول
3 ^c	76 ^a	46 ^a	48 ^{bc}		مجموعة معاملة بالكورستين
28 ^a	66 ^b	45 ^a	40 ^{cd}		مجموعة معاملة بالكركمين
4 ^c	64 ^b	31 ^b	58 ^b		مجموعة معاملة بالجوسيبول + الكورستين
5 ^c	72 ^{ab}	44 ^a	56 ^b		مجموعة معاملة بالجوسيبول + الكركمين

الحروف المختلفة عموديا تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$).
عدد الحيوانات في كل مجموعة = 8 .
مدة التجربة = 35 يوم ، قتلت الحيوانات بعمر 56 يوم.

ملحق (4): تأثير المعاملة بالجوسيبول، الكورستين، الكركمين، الجوسيبول + الكورستين، الجوسيبول + الكركمين على معدل اقطار الجريبات المبيضية في اناث الجرذان.

المجاميع	اقطار الجريبات (μm)	الجريبات النامية Growing	جريبات ما قبل ظهور الغار Preantral	الجريبات الغارية Antral
مجموعة السيطرة		74 \pm 2.72 ^{abc}	127.8 \pm 3.08 ^a	224.9 \pm 5.37 ^a
مجموعة معاملة بالجوسيبول		58.7 \pm 1.93 ^d	125.1 \pm 3.03 ^{ab}	200.1 \pm 8.67 ^b
مجموعة معاملة بالكورستين		68.2 \pm 1.80 ^c	122.8 \pm 2.40 ^{ab}	225.4 \pm 5.31 ^a
مجموعة معاملة بالكركمين		75.3 \pm 2.25 ^{ab}	127.6 \pm 2.43 ^a	222.4 \pm 5.84 ^a
مجموعة معاملة بالجوسيبول + الكورستين		70.2 \pm 2.09 ^{bc}	123.5 \pm 2.93 ^{ab}	205.5 \pm 5.93 ^b
مجموعة معاملة بالجوسيبول + الكركمين		77.9 \pm 1.66 ^a	118.8 \pm 2.33 ^b	210.6 \pm 5.59 ^{ab}

الحروف المختلفة عموديا تدل على وجود فرق معنوي بين المجاميع عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$).
 البيانات تمثل المعدل \pm الخطأ القياسي.
 عدد الحيوانات في كل مجموعة = 8 .
 مدة التجربة = 35 يوم ، قتلت الحيوانات بعمر 56 يوم.

Abstract

This study aimed to investigate the effect of gossypol on ovarian physiology, which includes ovarian follicle numbers and diameters, ovarian apoptosis, hormone levels and oxidative stress on the ovary, as well as investigating the positive role of quercetin and curcumin against the effect of gossypol. Forty-eight white female rats were used in the experiment, divided into six groups that included the control group (corn oil), gossypol (40 mg / kg of body weight), quercetin (100 mg / kg of body weight), curcumin (200 mg / kg of body weight), gossypol + quercetin (40 and 100 mg / kg of body weight), gossypol + curcumin (40 and 200 mg / kg of body weight). All treatments were orally administered using Gavage needle for 35 days. The results of the treatment of female rats with gossypol showed a significant decrease in body weight, ovaries weight, uterine weight, glutathione level, corpus luteum number, and antral follicle number compared to the control group. However, there was a significant increase in the level of malondialdehyde, caspase-3 enzyme in ovarian tissue and the number of growing follicles compared to the control group. Treatment with quercetin (alone) significantly reduced corpus luteum numbers with a significant increase in the number of growing and preantral follicles compared to the control group. In addition, treatment with curcumin (alone) significantly increased the level of anti-Mullerian hormone, corpus luteum, and pre-antral follicles, with a significant decrease in the number of antral follicles compared to the control group. Furthermore, it was observed in the treatment with gossypol and quercetin together, there was no significant difference in body weight, ovaries weight, uterine weight, caspase-3 enzyme level and corpus luteum number compared with gossypol group. In the same treatment, there was a significant decrease in the level of

malondialdehyde and the number of growing follicles, while the level of glutathione and the number of antral follicles increased compared to the gossypol group. As for gossypol and curcumin treatment together, there was no significant difference in body weight, uterine weight, caspase-3 enzyme level, and corpus luteum number compared with gossypol group. However, there was a significant increase in ovarian weight, glutathione level, pre-antral and antral follicle number compared with the gossypol group. As well as a significant decrease in the level of malondialdehyde and the number of growing follicles compared to the gossypol group. We conclude from the current study that gossypol caused harmful effects on the studied parameters, while treatment with quercetin and curcumin caused a significant improvement in some parameters and was not able to improve other parameters when administrated with gossypol at these doses and duration of treatments.

University of Mosul
College of Veterinary Medicine



Effect of gossypol on rat ovarian physiology: role of quercetin and curcumin

Mahmood Ahmed Abdullah Al-Mahmood

M. Sc. /Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary Physiology

Supervised by

Professor

Dr. Fadwa Khalid Tawfeek

Effect of gossypol on rat ovarian physiology: role of quercetin and curcumin

A Thesis Submitted

By

Mahmood Ahmed Abdullah Al-Mahmood

To

The Council of the College of Veterinary Medicine
University of Mosul

In

Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of Master of Science

In

Veterinary Medicine / Veterinary Physiology

Supervised by

Professor

Dr. Fadwa Khalid Tawfeek

