

## تأثير كبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 وبعض الهرمونات الجنسية في ذكور الارانب البالغة

أسماء جمال عبدالواحد و أشواق أحمد حسن

فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والادوية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق  
Email: Asmaa\_jamaal2410@yahoo.com

(الإستلام ١٨ شباط ٢٠١٨؛ القبول ١٦ آذار ٢٠١٨)

### الخلاصة

صمم البحث الحالي لدراسة تأثير كبريتات الزنك بجرعة ١٥ ملغم/كغم من وزن الجسم بالتجريع عن طريق الفم وكلوريد الكاديوم بجرعة ٢٥ ملغم/ لتر مع ماء الشرب على مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 وهرمون التيستوستيرون والهرمون اللوتيني في ذكور الارانب البالغة لمدة ستة أسابيع. تم استخدام ٢٠ ذكرا من الارانب البالغة قُسمت عشوائيا الى اربعة مجاميع متساوية وشملت: مجموعة السيطرة اعطيت الماء والعليقة القياسية ومجموعة كلوريد الكاديوم اعطيت كلوريد الكاديوم مع ماء الشرب ومجموعة كبريتات الزنك لوحدها اعطيت وكلوريد الكاديوم سوية اعطيت كبريتات الزنك بالتجريع وكلوريد الكاديوم مع ماء الشرب ومجموعة كبريتات الزنك لوحدها اعطيت كبريتات الزنك بالتجريع. تم سحب عينات الدم كل اسبوعين من التجربة لقياس تركيز كل من بروتين الصدمة الحرارية 70 وهرمون التيستوستيرون والهرمون اللوتيني في مصل الدم باستخدام تقنية EIISA. اوضحت النتائج ان معاملة ذكور الارانب بكلوريد الكاديوم ادى الى حدوث ارتفاع معنوي في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في الاسبوع السادس ورافقه انخفاض معنوي في مستوى هرمون التيستوستيرون والهرمون اللوتيني في الاسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة بمجموعة السيطرة ووقت الصفر، سببت المعاملة بكبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم معا حدوث انخفاض معنوي في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في الاسبوع السادس، وصاحبه ارتفاع معنوي في مستوى هرمون التيستوستيرون والهرمون اللوتيني في الاسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة بمجموعة كلوريد الكاديوم، أما المعاملة بكبريتات الزنك لوحدها سبب انخفاض معنوي في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في الاسبوع السادس، وارتفاع معنوي في مستوى هرمون التيستوستيرون في الاسبوع الثاني والرابع والسادس والهرمون اللوتيني في الاسبوع السادس مقارنة بمجموعة كلوريد الكاديوم. نستنتج ان الكاديوم اثر في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 والهرمونات الجنسية وان اعطاء الزنك مع الكاديوم قلل من التأثيرات، فضلا عن ان اعطاء الزنك حسن من التأثيرات السلبية في مستوى الهرمونات الجنسية في ذكور الارانب البالغة.

### Effect of zinc sulphate and cadmium chloride on heat shock protein 70 and some sex hormones in adult male rabbits

A.J. Abdulwahid and A.A. Hassan

Department of Physiology, Biochemistry & Pharmacology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

#### Abstract

The present research was designed to study the effect zinc sulphate (15 mg/kg/orally) and cadmium chloride (25 mg/L) with drinking water on the level of Heat shock protein 70, testosterone and luteinizing hormone in adult male rabbits for six weeks. Twenty adult male rabbits randomly divided to four groups of five males per group: control group, the cadmium chloride group, the zinc sulphate with cadmium chloride together group and zinc sulphate group alone. Blood samples were withdrawn every two weeks of experiment. To investigate Heat shock protein 70, testosterone and luteinizing hormone by using ELISA technique. The result show that treatment of male rabbits with cadmium chloride resulted in a significant increase in HSP70 in 6<sup>th</sup> week, accompanied by a significant decrease in the level of testosterone and luteinizing hormone 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, 6<sup>th</sup> week compared to control group, supplement with zinc sulphate and cadmium chloride together resulted in a significant decrease in HSP70 in 6<sup>th</sup> week with a significant increase in testosterone and luteinizing hormone in 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup>, week compared to the cadmium chloride group. The treatment with zinc sulphate alone caused a significant decrease in HSP70 in 6<sup>th</sup>

week and significant increase in the level of testosterone in 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, and 6<sup>th</sup> week and luteinizing hormone in 6<sup>th</sup> week compared with cadmium chloride group. We concluded that has an effect on the level of Heat shock protein and male sex hormones and that giving zinc with cadmium together reduced the effects of cadmium as well as zinc supplementation improve the negative effect on the level of sex hormone in adult male rabbits.

Available online at <http://www.vetmedmosul.org/ijvs>

## المقدمة

السلبية فضلا عن التقليل من اثار الكاديوم السمية (١٦). وهدفت الدراسة لمعرفة مدى تأثير كبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم في بروتين الصدمة الحرارية 70 وتركيز مستوى هرمون التستوستيرون والهرمون اللوتيني في مصل الدم على وفق الجرعة والمدة الزمنية المعتمدة في الدراسة الحالية لدى ذكور الارانب البالغة.

## المواد وطرائق العمل

### الحيوانات

أجريت الدراسة في كلية الطب البيطري /جامعة كركوك واستخدم ٢٠ ذكراً من ذكور الارانب البالغة، ومن النوع المحلي وبأوزان تراوحت بين ١٢٠٠-٢٠٠٠غم وتم التأكد من سلامتها بفحصها عيانياً. وقد تمت تربية الحيوانات من دون معاملة لمدة ١٥ يوماً في غرفة لغرض التأقلم مع الظروف البيئية الجديدة. وضعت حيوانات التجربة في اقفاص حديدية خاصة بتربية الارانب بقياس ٨٠×٨٠×٨٠. وقد فرشت ارضية الاقفاص بنشارة الخشب. اعطيت الحيوانات العليقة المخصصة لها بوضعها في أوان خاصة فضلا عن الماء بصورة حرة *ad libitum* واجريت التجربة في المدة الواقعة بين كانون الأول ٢٠١٦ وشباط ٢٠١٧.

### تصميم التجربة

قسمت الحيوانات إلى اربع مجموعات بواقع ٥ ذكور في كل مجموعة وعوملت كالاتي لمدة ٦ اسابيع: مجموعة السيطرة: اعطيت الارانب فيها ماء الشرب والعليقة الاعتيادية فقط. المجموعة المعاملة بالكاديوم: اعطيت كلوريد الكاديوم مع ماء الشرب بجرعة ٢٥ ملغم/ لتر ماء (١٧). المجموعة المعاملة بكبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم: جرعت كبريتات الزنك بجرعة ١٥ ملغم/كغم من وزن الجسم بالتجريب عن طريق الفم متزامناً مع اعطاء كلوريد الكاديوم مع ماء الشرب بجرعة ٢٥ ملغم/ لتر ماء. المجموعة المعاملة بكبريتات الزنك: جرعت كبريتات الزنك بجرعة ٥٠ ملغم/ ارنب يزن ٣,٤٥ كغم/ يوم (أو ما يساوي ١٥ ملغم/ كغم من وزن الجسم، بالتجريب عن طريق الفم بحجم واحد مللتر (١٨).

تم سحب الدم، ومن جميع حيوانات التجربة باستخدام محقنة طبية ومن وريد الاذن. وجمعه في انابيب اختبار Vacutest تحتوي على الهلام، ثم يترك الدم بدرجة حرارة الغرفة ليتجلط، وبعد نبذه بواسطة الطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة

ان المحافظة على الوظيفة التكاثرية وتحسنها يزيد من إنتاج الحيوانات (١) وتنظيم هذه الوظيفة يكون تحت سيطرة الجهاز العصبي الصماوي، إذ يسيطر الهرمون الموجه للكوندوتروبينات Gonadotropins releasing hormone (GnRH) على تخليق هرمونات الغدد الجنسية (٢). يعد هرمون التستوستيرون احد اهم الستيرويدات في معظم الفقريات (٣) وينظم العديد من العمليات (٤) في الذكور ما يقارب ٩٥% من التستوستيرون تقوم بإفرازه خلايا ليدك في الخصيتين (٥). وتظهر فعالية هرمون التستوستيرون عن طريق ارتباطه بمستقبلات الاندروجين والتي تقتصر وجودها على خلايا لايدك وخلايا سيرتولي (٦) تسيطر الهرمونات الجنسية على عملية تكوين النطف وذلك عن طريق التحكم العصبي الصماوي في محور تحت المهاد- النخامية - الخصيتين. إذ ان الدور المحوري والاساس لاشارة غدة تحت المهاد إلى الغدة النخامية، الهرمون الموجه للكوندوتروبين، والذي تظهر فعاليته عن طريق ارتباطه بمستقبلات واقعة على الغشاء الخلوي للغدة النخامية لافراز الهرمون اللوتيني والهرمون المحفز لنمو الجريبات (٧) يتحفز الجهاز المناعي بوجود المعادن الثقيلة والمواد العضوية السامة والتي تزيد من درجة الحرارة في الخلايا جميعاً. وتأتي استجابة الخلية لوجود الاجهاد بتكوين بروتينات تعرف ببروتينات الصدمة الحرارية Heat Shock Protein (HSP) (٨). توجد بروتينات الصدمة الحرارية في انسجة وخلايا الجسم بحسب وظيفة كل مجموعة إلا انها توجد بشكل رئيس في العصارة الخلوية، والمتقدرات، والشبكة البلازمية الداخلية (٩). تستحث في حالات الاجهاد لترتفع مستوياتها وفق حالة الاجهاد (١٠). يعد الكاديوم احد المعادن الملوثة للطبيعية والمسببة لاضطرابات الغدد الصم (١١) والتي تكون الهدف الاساس لسمية الكاديوم (١٢). يؤثر الزنك في مختلف جوانب عملية التكاثر في الثدييات فحدوث خلل في الخصية، وضعف عملية إنتاج النطف وضعف مقاييس السائل المنوي كماً ونوعاً تحدث في ذكور الحيوانات بسبب نقص الزنك. ويؤدي نقصه أيضاً في غذاء ذكور الجرذان إلى انقاص قطر النبيبات المنوية فضلا عن انخفاض مستوى هرمون التستوستيرون والبرولاكتين Prolactin (١٣) علاوة على تأثيره في وظيفة غدة البروستات، والبربخ، والخصيتين (١٤). كما يتناسب مستوى الزنك في بلازما السائل المنوي وبشكل طردي مع تركيز النطف وحركتها (١٥). كما ان اعطاء الزنك في حالة الاجهاد التأكسدي يؤدي إلى ازالة التأثيرات

الحفر بما لا يقل عن ٠,٣٥ مل من محلول الغسل، ولمدة ٣٠ ثانية بمعدل دقيقة واحدة لكل مرة من عملية الغسل. تضاف ٥٠ مايكرو لتر من المحلول الأساس (A) إلى الحفر جميعاً ثم تضاف ٥٠ مايكرو لتر من المحلول الأساس (B) إلى جميع الحفر أيضاً. ويوضع الطبق بعد وضع الغطاء عليه في الحاضنة لمدة عشر دقائق عند درجة حرارة تبلغ ٣٧ درجة مئوية. يتم إيقاف التفاعل بإضافة محلول خاص يوقف التفاعل إلى كل حفرة، والتي يتغير لونها من اللون الأزرق إلى اللون الأصفر فوراً. تتم قراءة النتيجة بتحديد الكثافة البصرية (OD) في كل حفرة عند طول موجي قدره ٤٥٠ نانومتر أثناء ٣٠ دقيقة بعد اضافة محلول إيقاف التفاعل تم حساب معادلة الانحدار الخطي للمنحنى القياسي بالاعتماد على التراكيز القياسية وقراءة الكثافة البصرية وبعدها يتم حساب تراكيز الهرمون، ويظهر بأفضل نتيجة باستخدام برنامج Software خاص.

### التحليل الاحصائي

تم تحليل البيانات احصائياً باستخدام تحليل التباين الثنائي Two way analysis of variance وتحديد الفروقات والاختلافات بين المجموع باستخدام دنكن Duncan عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$  لتحليل البيانات (١٩). وباستخدام البرنامج الإحصائي SigmaStat

### النتائج

**تأثير المعاملة بكبريتات الزنك وكلوريد الكادميوم في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في مصل دم ذكور الارانب البالغة**  
أظهرت نتائج الجدول ١ حدوث ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في مصل دم الارانب في المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم في الأسبوع السادس من بدء التجربة مقارنة بمجموعة السيطرة، ولم يكن لمدة المعاملة أي تأثير في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70، وسبب إعطاء كبريتات الزنك وكلوريد الكادميوم معاً حدوث انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في الأسبوع السادس من التجربة مقارنة بمجموعة كلوريد الكادميوم، والرجوع لقيم السيطرة ووقت الصفر، ولم يسبب اعطاء كبريتات الزنك لوحدها حدوث فرق معنوي ( $p > 0.05$ ) في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في الأسبوع الثاني مقارنة مع بقية المجموع ووقت الصفر، ولكن سبب اعطاء كبريتات الزنك لوحدها انخفاض معنوي في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في الأسبوع الرابع من بدء التجربة مقارنة مع بقية المجموع ولم يكن لمدة المعاملة أي تأثير معنوي. كما سبب اعطاء كبريتات الزنك لوحدها حدوث حدوث انخفاض معنوي في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في الأسبوع والسادس مقارنة بمجموعة كلوريد الكادميوم، وعدم حدوث فرق معنوي في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 مقارنة بمجموعة كبريتات الزنك وكلوريد الكادميوم ومقارنة بمجموعة السيطرة وعن وقت الصفر.

واحدة لمدة ١٥ دقيقة يفصل المصل، ويوزع على انابيب خاصة لحفظه عند درجة (-٢٠) درجة مئوية إلى حين استخدام تقنية الاليزا (Sandwich ELISA) لتقدير تركيز بروتين الصدمة الحرارية 70 والهرمون اللوتيني وذلك حسب تعليمات الشركة المنتجة للعدة التشخيصية والمرفقة معها (Elabscience Biotechnology CD., LTD. China).

تم تحضير المحلول القياسي قبل استخدامه بـ ١٥ دقيقة يوضع في جهاز الطرد المركزي بمعدل ١٠٠٠٠ دورة / دقيقة واحدة. وبعدها يتم تحضير كاشف الأجسام المضادة البايوتينيليد والمرفاق المركز HRP بحسب الكمية المطلوبة وقبل إجراء الفحص (١٠٠ مايكرو لتر / حفرة) خفف المحلول للحصول على محلول مخفف بنسبة (١:١٠٠).

### طريقة العمل

وضع ١٠٠ مايكرو لتر من كل عينة من عينات المصل في كل حفرة من حفر الطبق، ثم توضع في الحاضنة لمدة ٩٠ دقيقة بدرجة حرارة ٣٧ درجة مئوية. يزال السائل ويضاف ١٠٠ مايكرو لتر من كاشف الأجسام المضادة البايوتينيليد ثم يوضع في الحاضنة لمدة ساعة واحدة بدرجة حرارة ٣٧ درجة مئوية. إجراء عملية الغسل ثلاث مرات. إذ يضاف ٣٥٠ مايكرو لتر من محلول الغسل إلى كل حفرة، يضاف ١٠٠ مايكرو لتر من المحلول المرفاق HRP ثم يوضع في الحاضنة لمدة ٣٠ دقيقة. ومن ثم إجراء عملية الغسل خمس مرات فقط. إضافة ٩٠ مايكرو لتر من المحلول القياسي، ثم يوضع في الحاضنة لمدة ١٥ دقيقة. تضاف ٥٠ مايكرو لتر من محلول إيقاف التفاعل. تتم قراءة النتيجة بتحديد الكثافة البصرية (OD) في كل حفرة عند طول موجي قدره ٤٥٠ نانومتر. حساب معادلة الانحدار الخطي للمنحنى القياسي وبعدها يتم حساب تراكيز الهرمونات.

واستخدمت تقنية الاليزا لقياس تركيز هرمون التيستوستيرون وحسب تعليمات الشركة المنتجة للعدة التشخيصية والمرفقة معها (Shanghai crystal dey bio tech co., LTD- China)، إذ تم تحضير الكواشف إذ يخفف المحلول القياسي بوضع ١٢٠ مايكرو لتر في محلول التخفيف في كل أنبوب بعدها يضاف إلى أول أنبوب ١٢٠ مايكرو لتر في المحلول القياسي الأصلي، وتتم عملية المزج، ومن ثم نقل ١٢٠ مايكرو لتر من أنبوب التخفيف الأول إلى أنبوب التخفيف الثاني، وهكذا حتى الأنبوب السادس، والذي يتم إهمال اخر ١٢٠ مايكرو لتر منه بعد إتمام عمية المزج. بعد تحضير الكواشف ووضعها بدرجة حرارة الغرفة تضاف ٥٠ مايكرو لتر من المحلول القياسي إلى حفر المحلول القياسي. توضع ٤٠ مايكرو لتر من كل عينة من عينات المصل في كل حفرة من حفر الطبق، ومن ثم تضاف ١٠ مايكرو لتر من الأضداد إلى الهرمونات قيد الاختبار وبعدها تضاف ٥٠ مايكرو لتر من محلول Streptavidin- HRP إلى جميع حفر العينات ثم مزجها، ويغطي الطبق بغطائه ويوضع في الحاضنة عند درجة حرارة تبلغ ٣٧ درجة مئوية لمدة ساعة واحدة فقط. تجرى عملية الغسل بغمر

الجدول ١: تأثير المعاملة بكبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 (ng/ml) في مصل دم ذكور الارانب البالغة

| مدة المعاملة      |                   |                   |                   | المعاملات  |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--|
| 6 أسابيع          | 4 أسابيع          | أسبوعين           | وقت الصفر         |  |
| 19.16±3.32<br>A b | 23.88±2.75<br>A a | 27.04±2.84<br>A a | 26.70±2.28<br>a A | السيطرة العليقة القياسية مع ماء الشرب  |
| 29.98±4.08<br>A a | 29.56±3.55<br>a A | 27.24±2.23<br>A a | 23.94±2.78<br>a A | كلوريد الكادميوم ٢٥ ملغم/لتر مع ماء الشرب  |
| 20.76±3.10<br>A b | 24.44±3.04<br>a A | 26.54±3.18<br>A a | 25.62±3.23<br>a A | كبريتات الزنك ١٥ ملغم/كغم من وزن الجسم مع كلوريد الكاديوم ٢٥ ملغم/لتر مع ماء الشرب |
| 19.8±2.15<br>A b  | 19.70±2.34<br>b A | 25.92±2.75<br>A a | 24.38±2.48<br>a A | كبريتات الزنك ١٥ ملغم/كغم من وزن الجسم بالتجريب                                    |

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي (n=5)، الحروف A,B,C المختلفة ضمن الصف الواحد تعني وجود فروق معنوية P<0.05، ضمن نفس المعاملة باختلاف مدة المعاملة، a, b, c الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تعني وجود فروق معنوية P<0.05 بين المعاملات ضمن المدة الواحدة.

قيم السيطرة. كما اظهرت النتائج ان إعطاء كبريتات الزنك لوحدها لم يسبب أي فرق معنوي في مستوى هرمون التيستوستيرون مقارنة بمجموعة كبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم سوية ووقت الصفر. بينما سبب اعطاء كبريتات الزنك لوحدها ارتفاع معنوي (P<0.05) في الأسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة بمجموعة كلوريد الكاديوم، وحدث ارتفاع معنوي (P<0.05) في مستوى هرمون التيستوستيرون عند المعاملة بكبريتات الزنك في الأسبوع السادس بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ولم يكن لمدة المعاملة اي تأثير معنوي.

تأثير المعاملة بكبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم في مستوى هرمون التيستوستيرون في مصل دم ذكور الارانب البالغة  
بينت نتائج التحليل الاحصائي في الجدول ٢ ان اعطاء كلوريد الكاديوم سبب حدوث انخفاض معنوي (P<0.05) في مستوى هرمون التيستوستيرون في الاسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة بمجموعة السيطرة ووقت الصفر، وأدت المعاملة بكبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم سوية الى حدوث ارتفاع معنوي (P<0.05) في مستوى هرمون التيستوستيرون في الأسبوع الثاني و الرابع والسادس مقارنة بمجموعة كلوريد الكاديوم ولم يكن لمدة المعاملة اي تأثير معنوي والرجوع الى

الجدول ٢: تأثير المعاملة بكبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم في مستوى هرمون التيستوستيرون (ng/ml) في مصل دم ذكور الارانب البالغة

| مدة المعاملة      |                  |                  |                  | المعاملات  |
|-------------------|------------------|------------------|------------------|--|
| 6 أسابيع          | 4 أسابيع         | أسبوعين          | وقت الصفر        |  |
| 0.92±0.42<br>A b  | 1.07±0.34<br>A a | 0.85±0.32<br>A a | 1.01±0.40<br>A a | السيطرة العليقة القياسية مع ماء الشرب  |
| 0.53±0.19<br>B c  | 0.70±0.18<br>B b | 0.58±0.15<br>B b | 0.77±0.49<br>A a | كلوريد الكادميوم ٢٥ ملغم/لتر مع ماء الشرب  |
| 0.97±0.59<br>A ab | 0.95±0.63<br>A a | 0.63b±0.6<br>a A | 0.72±0.52<br>a A | كبريتات الزنك ١٥ ملغم/كغم من وزن الجسم مع كلوريد الكاديوم ٢٥ ملغم/لتر مع ماء الشرب |
| 1.45±0.7<br>a A   | 1.31±0.73<br>A a | 0.89±0.67<br>A a | 0.76±0.69<br>A a | كبريتات الزنك ١٥ ملغم/كغم من وزن الجسم بالتجريب                                    |

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي (n=5)، الحروف A,B,C المختلفة ضمن الصف الواحد تعني وجود فروق معنوية P<0.05، ضمن نفس المعاملة باختلاف مدة المعاملة، a, b, c الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تعني وجود فروق معنوية P<0.05 بين المعاملات ضمن المدة الواحدة.

بمجموعة كلوريد الكاديوم، والرجوع الى قيم السيطرة ووقت الصفر، كما لم يؤد إعطاء كبريتات الزنك لوحدها أي فرق معنوي في مستوى الهرمون اللوتيني مقارنة بمجموعة كبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم ومجموعة السيطرة ووقت الصفر. في حين أدى إعطاء كبريتات الزنك لوحدها ارتفاع معنوي في مستوى الهرمون اللوتيني في الأسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة بمجموعة كلوريد الكاديوم والرجوع لقيم السيطرة الجدول ٣.

تأثير المعاملة بكبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم في مستوى الهرمون اللوتيني في مصل دم ذكور الارانب البالغة أشارت النتائج الى حدوث إنخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى الهرمون اللوتيني في مصل دم الارانب المعاملة بكلوريد الكاديوم في الأسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة بمجموعة السيطرة و وقت الصفر. أدى إعطاء كبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم معا الى حدوث ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى الهرمون اللوتيني في الأسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة

الجدول ٣: تأثير المعاملة بكبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم في مستوى الهرمون اللوتيني (ng/ml) في مصل دم ذكور الارانب البالغة

| مدة المعاملة      |                    |                   |                   | المعاملات  |
|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--|
| 6 أسابيع          | 4 أسابيع           | أسبوعين           | وقت الصفر         |  |
| 24.21±4.60<br>A a | 21.46±4.025<br>A a | 19.40±3.24<br>A a | 13.80±3.75<br>A a | السيطرة العليقة القياسية مع ماء الشرب  |
| 9.57±1.06<br>B b  | 9.38±2.11<br>B b   | 10.29±1.76<br>B b | 14.17±3.43<br>A a | كلوريد الكادميوم ٢٥ ملغم/لتر مع ماء الشرب  |
| 20.30±4.85<br>A a | 17.06±3.87<br>a A  | 16.46±3.79<br>A a | 16.28±3.33<br>A a | كبريتات الزنك ١٥ ملغم/كغم من وزن الجسم مع كلوريد الكاديوم ٢٥ ملغم/لتر مع ماء الشرب |
| 26.82±3.82<br>A a | 19.77±4.71<br>a A  | 17.25±4.90<br>A a | 13.45±3.58<br>A a | كبريتات الزنك ١٥ ملغم/كغم من وزن الجسم بالتجريب                                    |

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي (n=5)، A,B,C الحروف المختلفة ضمن الصف الواحد تعني وجود فروق معنوية  $P < 0.05$ ، ضمن نفس المعاملة باختلاف مدة المعاملة، a, b, c الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تعني وجود فروق معنوية  $P < 0.05$  بين المعاملات ضمن المدة الواحدة.

## المناقشة

الصدمة الحرارية 70 (٢٤). وظهرت النتائج انخفاض معنوي في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في المجموعة المعاملة بكبريتات الزنك لوحدها، جاءت هذه النتيجة مطابقة لدراسة أجراها الباحثون (٢٥) على فروج الدجاج عند معاملتها بالزنك بجرعة ٤٠ ملغم/كغم ربما يعود السبب الى أن إعطاء الزنك يقلل من حدوث الاجهاد من خلال زيادة شهية الحيوان وأخذ المواد الغذائية التي تكون غنية بالعناصر الاساسية وتمد الحيوان بالطاقة ومنع استنفادها والذي يسبب الاجهاد (٢٦). سجلت نتائج الدراسة الحالية حدوث انخفاض معنوي في مستوى هرمون التيستوستيرون في الحيوانات المعاملة بكلوريد الكاديوم، أتفقت هذه النتائج مع دراسة سابقة أجريت على ذكور الجرذان البالغة المعاملة بالكاديوم عن طريق ماء الشرب وبجرعتين مختلفتين ٥ و ٥٠ ملغم/لتر ولمدة ١٢ اسبوع (٢٧). ولربما يعود السبب في انخفاض مستوى هرمون التيستوستيرون في الدراسة الحالية الى التأثير المباشر على الخصية اذ قد يكون نتيجة تغييرات تنكسية في نسيج الخصية تعمل على تثبيط انزيمات الخصية متمثلة بأنزيم 17- $\alpha$ -hydroxylase والتي تسيطر على تكوين الستيرويدات (٢٨). وحدث ارتفاع معنوي لنفس المجموعة في الاسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة بمجموعة كلوريد الكاديوم، وكانت هذه النتيجة مشابهة لما توصل اليه الباحثون (٢٩)، ويعزى السبب الى دور الزنك في حماية الخلايا داخل الخصية

أشارت النتائج لحدوث ارتفاع معنوي في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 عند المعاملة بكلوريد الكاديوم، جاءت هذه النتائج مشابهة لدراسة أجريت على ذكور الجرذان التي عوملت بكلوريد الكاديوم بجرعة ١,٢ ملغم بالحقن في البريتون لمدة ٥٦ يوما (٢٠)، قد يكون السبب في النتائج الحالية أن الكاديوم أهد مسببات الاجهاد اذ يحفز التعبير الجيني لبروتينات الصدمة الحرارية، من خلال تحفيز عامل استنساخ الصدمة الحرارية ١ HSF1 (٢١) نتيجة تراكم البروتينات الغير الطبيعية (٢٢)، وأظهرت النتائج الحالية عدم ظهور فرق معنوي في مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 في المجموعة المعاملة بكبريتات الزنك وكلوريد الكاديوم مع مقارنة بمجموعة السيطرة، وحدث الانخفاض المعنوي مقارنة بمجموعة كلوريد الكاديوم في الاسبوع السادس من التجربة، كانت هذه النتائج مقارنة لدراسة اجراها الباحثون (٢٣) على الخلايا النجمية في الكبد للجرذان باستخدام الزنك بجرعة ٦٠ مايكرومول/لتر والكاديوم بجرعتين ٣ و ٥ مايكرومول/لتر لمدة ٢٤ ساعة، وقد يعود السبب الى دور الزنك التنافسي مع الكاديوم من خلال دخول الخلية اذ يقوم الزنك بتقليل أخذ الخلية للكاديوم بالمحافظة على سلامة الغشاء الخلوي وبذلك عدم حدوث الاجهاد وانخفاض مستوى بروتينات

لربما يكون السبب في الدراسة الحالية الى التغذية العكسية لهرمون التستوستيرون بعد حدوث ارتفاع مستواه على غدة تحت المهاد والتي بدورها تقوم بخفض افراز الهرمون المحفز للجريبات والهرمون اللوتيني من اللغدة النخامية إذ ان الكونادوتروبيينات يسيطر على انتاجها التغذية العكسية للهرمونات الجنسية (٣٧).

#### المصادر

- Gordon IR. Reproductive technologies in farm animals. CABI Publishing, Cambridge. This textbook offers general concepts of most used technologies to control reproduction in livestock species, including artificial insemination, control of the estrous cycle and ovulation, embryo transfer, cloning and transgenic. 2005.
- Carr BR, Griffin JE. Fertility control and its implications. In Williams Textbook of Endocrinology (9th edition) Saunders Company, Philadelphia.1998.
- Charlotte A. Cornil, Gregory F. Ball GF, Jacques Balthazart, Thierry D. Charlier. Organizing effects of sex steroids on brain aromatase activity in quail. PLoS One 2011;6(4):e19196.
- Wu XY, Li ZL, Wu CY, Liu YM, Lin H, Wang SH, Xiao WF. Endocrine traits of polycystic ovary syndrome in prenatally androgenized female Sprague-Dawley rats. Endocrinology Journal. 2010;57:201–209.
- Thibault C, Levasseur M, Hunter RH. Reproduction in Mammals and Man. Ellipses, Paris. 1993.
- Andersen M L, Alvarenga T F, Mazaro-Costa R, Hachul H C, Tufik S. The association of testosterone, sleep, and sexual function in men and women. Brain Res. 2011;1416,80-104.
- McNeilly A S, Crawford J L, Taragnat C, Nicol L, McNeilly J R. The differential secretion of FSH and LH: regulation through genes, feedback and packaging. Reprod Camb Sup. 2003;463-476.
- Jana T, Maria A. Review Heat shock proteins (HSPs). Animal Science Biotechnology. 2012;45:1
- Ricaniadis N, Katakaki A, Agnantis N, Androulakis G, Karakousis CP. Long term prognostic significance of HSP-70, c-myc and HLA-DR expression in patients with malignant melanoma. Europ J Surg Oncol. 2001;27(1):88–93.
- Tanguay RM, Wu Y, Khandjian EW. Tissue-specific expression of heatshock proteins of the mouse in the absence of stress. Develop Genet. 1993;14:112-118.
- Jarup L, Akesson A. Current status of cadmium as an environmental health problem. Toxicol Appl Pharmacol. 2009;238:201-208.
- Biswas NM, Gupta RS, Chattopadhyay A, Choudhury GR, Sarkar M. Effect of atenolol on cadmium-induced testicular toxicity in male Rats. Reprod Toxicol. 2001;15:699-704.
- DMAB DI, Wijesinghe PS, Ratnasooriya WD, Wimalasena S. Effect of zinc supplementation on sexual behavior of male rats. J Hum Reprod Sci. 2009;2(2):57-61.
- Ebisch TMW, Van Heerde WL, Thomos CMG, Vander Put N, Wong WY. Steegers Theunissen RPM C677T methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism interfere with effect of folic acid and zinc sulphate on sperm concentration. Fertil Steril. 2003;80:1190–1194.
- Chia SE, Ong CN, Chua LH, Ho LM, Tay SK. Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. J Androl. 2000;21:53–57.
- Nawal Khairy Al-Ani, Ula Al-Kawaz, Ban TS. Protective influence of zinc on reproductive parameters in male rat treated with cadmium. Ameri J Med Medical Sci. 2015;5(2):73-81.

١٧. حسن، أشواق أحمد. تأثير مضادات الأكسدة في بعض الجوانب الفسلجية والكيميائية الحياتية لانات الجرذان المعاملة بالكادميوم في فترة الحمل

عن طريق تعزيز آلية الدفاع بمضادات الأكسدة بالمحافظة على المستوى الطبيعي لها داخل الخلية، ومنع انخفاض مستوى الزنك وحمض الاسكوربيك (٣٠). سجلت نتائج الدراسة الحالية حدوث ارتفاع معنوي في مستوى هرمون التستوستيرون في المجموعة المعاملة بكبريتات الزنك لوحدها في الاسبوع السادس مقارنة بمجموعة السيطرة، اتفقت هذه النتيجة مع ماتوصل إليه الباحثون (٣١) في دراسة اجريت على ذكور الجرذان المعاملة بالزنك وبتلات جرع ١، ٥ و ١٠ ملغم عن طريق الفم، وربما يكون سبب الارتفاع في مستوى هرمون التستوستيرون في الدراسة الحالية يعود الى تأثير الزنك في وظيفة الخصية بتحفيز نظام الأدينيل سايكليز وبدوره يعمل على تحفيز عملية تكوين هرمون التستوستيرون (٣٢). بينت النتائج الحالية حدوث انخفاض معنوي في مستوى الهرمون اللوتيني في المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم في الاسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة بمجموعة السيطرة ووقت الصفر، واتفقت هذه النتيجة مع دراسة سابقة اجريت على الجرذان المعاملة بالكاديوم بجرعة ٢٠٠ ملغم/لتر من وزن الجسم لمدة ٤ أسابيع (٣٣) ولربما يعود السبب في الدراسة الحالية الى أن الكاديوم أحد مسببات الاجهاد، والاخير يعمل على زيادة افراز الهرمون الكورتيكوتروبيين Corticotropin Releasing Hormone (CRH) والهرمون الموجه لقشرة الكظر Adrenocorticotropic Hormone (ACTH) من الغدة النخامية مؤثراً بشكل سلبي في الخلايا فيتنشط افراز الهرمونات المحررة للكونادوتروبيينات Gonadotropin Releasing Hormone (GnRh) والذي يؤثر بشكل سلبي في افراز الهرمون اللوتيني (٣٤). كما اشارت نتائج الدراسة الحالية الى عدم حدوث فرق معنوي في مستوى الهرمون اللوتيني للمجموعة المعاملة بكبريتات الزنك مع كلوريد الكاديوم مقارنة بمجموعة السيطرة مع حدوث ارتفاع معنوي في الاسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة بمجموعة كلوريد الكاديوم، جاءت هذه النتيجة مشابهة لدراسة اجريت على ذكور الجرذان والتي اعطيت الزنك بجرعة ٥، ٠ ملغم/كغم من وزن الجسم مع الكاديوم بجرعة ٢٠٠ ملغم / لتر من وزن الجسم بالتجريب يوميا لمدة ٤ اسابيع (٢٤). قد يعود السبب في نتائج الدراسة الحالية هو ان مستوى الهرمون اللوتيني مرتبط بهرمون التستوستيرون وعدم انخفاض الاخير لنفس المجموعة يعكس عدم تآثر الخصية بالكاديوم، وذلك قد يكون عبر الية عمل الزنك بالمحافظة على توازن حدوث الاكسدة داخل الخلايا والمحافظة على الحمض النووي منقوص الاوكسجين وبالتالي عمل محور غدة النخامية – الخصية بشكل طبيعي (٣٥) كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم حدوث فرق معنوي في مستوى الهرمون اللوتيني في المجموعة المعاملة بكبريتات الزنك لوحدها بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وحدث ارتفاع معنوي في الاسبوع الثاني والرابع والسادس مقارنة بمجموعة كلوريد الكاديوم. اتفقت هذه النتائج دراسة اجريت على ذكور الجرذان باضافة الزنك الى العليقة بجرع مختلفة ٢٠، ٤٠، ٦٠ و ٨٠ غم/٢,٥ كغم من العليقة لمدة ستة اسابيع (٣٦)

28. Maines MD. Characterization of heme oxygenase activity in leydig and sertoli cells of the rat testes: differential distribution of activity and response to cadmium. *Biochem Pharmacol.* 1984;33:1493-1502.
29. Bashandy SAEM, Omara EAA, Ebaid H, Amin MM, Soliman MS. Role of zinc as an antioxidant and anti-inflammatory to relieve cadmium oxidative stress induced testicular damage in rats. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2016;6(12):1056-1064.
30. El-Refaiy AI, Eissa FI. Protective effects of ascorbic acid and zinc against cadmium-induced histopathological, histochemical and cytogenetic changes in rats. *Comun Sci.* 2012;3(3):162-180.
31. Dissanayake DMAB, Wijesinghe PS, Ratnasoorlya WD, Wimalasena S. Effect of zinc supplementation on sexual behavior of male rats. *J. Human Sci.* 2009;2(2):57-61.
32. El-Masry K A, Nasr A S, Kamal T H. Influences of season and dietary supplementation with selenium and vitamin E or Zinc on some blood constituents and semen quality of New Zealand White rabbit males. *World Rabbit Sci.* 1994;2(3):79-86.
33. Saeed BT. Effects of Cadmium on sperm parameters, histological and hormonal changes in testes of mature rats. *Iraqi Journal Embryos and Infert Res.* 2013;3(6):38- 43.
34. Tsutsui K, Saigoh E, Ukena K, Teranishi H, Fujisawa Y, Kikuchi M, Sharp PJ. A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release. *Biochem Biophys Res. Commun.* 2000;275:661-667.
35. Fridovich I. Superoxide anion radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), superoxide dismutases, and related matters *J Biol Chem I.* 1997;272(30):18515-18517.
36. Ekwurugwu JN, Ifedi RC, Uchefuna EN, Ezeokafor EA, Alagwu CU. Effects of zinc on male sex hormones and semen quality in rats Niger. *J Physiol Sci.* 2013;28:17-22.
37. Ganong WF. *Review of Medical Physiology.* 21st Edition. Lange Medical Books/Mcgraw-Hill Medical publishing New York: 2003.pp. 518.
- والرضاعة. اطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، ٢٠٠٦.
18. El-Speiy ME, El-Hanoun AM. Effect of quercetin (onion juice) and zinc sulphate on reproductive performance of male rabbits under hot summer conditions. *Egypt poult Sci.* 2013;33:331-347.
١٩. جوده، احمد محفوظ. التحليل الاحصائي المتقدم باستخدام SPSS. الطبعة الاولى، دار وائل للنشر، عمان - الاردن، ٢٠٠٨.
20. Selim ME, El Hamidi AR, Aleisa NA, Daghestani MH. The protection role of heat shock protein 70 (HSP70) in the testes of cadmium-exposed rats. *Bio Inform.* 2012;8(1):58-60.
21. Gordon S, Bharadwaj S, Hnatov A, Ali A, Ovsenek N. Distinct stress-inducible and developmentally regulated heat shock transcription factors in *Xenopus* oocytes. *Dev Biol.* 1997;181(1):47-63.
22. Waisberg M, Pius J, Hale B, Beyersmann D. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicol.* 2003;192:95-117
23. Souza V, Mdel CE, Bucio L, Hernandez E, Gutierrez-Ruiz MC. Zinc Pretreatment Prevents hepatic stellate cells from cadmium-produce oxidative damage. *Cell Biol Toxicol.* 2004;20:241-251.
24. Blackmore G, Wang WX. Uptake and efflux of Cd and Zn by the green mussel *Perna viridis* after metal preexposure. *Environ Sci Technol.* 2002;36:913-936.
25. Rajkumar U, Vinoth A, Reddy EPK, Shanmugam M, Rao SR. Effect of supplemental trace minerals on HSP70 mRNA expression in commercial broiler chicken. *Anim Biotechnol* 2018;29(1):20-25.
26. Guo CH, Wang CL, Chen PC. Micronutrient metabolism in hemodialysis patients. In: Maria Goretti Penido, ed. *Hemodialysis-different aspects.* Croatia: In Tech. 2011: 173-204.
27. Kamel MM, El Razek AH, Ahmed KA, Kamel GM. Exposure of adult male rats to cadmium: assessment of sexual behavior, fertility, aggression as well as anxiety like behavior with special reference to biochemical and pathological alterations. *Life Sci J.* 2011;8(2):106-119.