------مجلة علوم الرافدين، المجلد 23، العدد 3، ص39-54،2012------

دراسة تاثير الزنك على خصوبة وفعالية أنزيم الفسفاتاز الحمضية وتركيز الفركتوز في ذكور الفئران البيض السويسرية *Mus musculus*

ثمارة وليد جهاد

قسم علوم الحياة

كلية التربية

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 21/ 11 /2011 ؛ تاريخ القبول 9 / 1 / 2012)

الملخص

يتضمن البحث دراسة تاثير تراكيز مختلفة من عنصر الزنك على خصوبة ذكور الفئران البيض السويسرية باستخدام جهاز مطيافية الامتصاص الذري فضلا عن تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي (Ec .3 .1 .3 .2) مقارنة مع مجموعة السيطرة. قسمت الفئران إلى ثلاث مجاميع بواقع 10 فارة / مجموعة وكانت بعمر ثلاثة أشهر، اذ عوملت بعنصر الزنك المضاف الى ماء الشرب، عوملت المجموعة الأولى بتركيز 0.5 ملغم/ كغم وزن الجسم، والمجموعة الثانية بتركيز 1.5 ملغم/ كغم وزن الجسم، أما المجموعة الثالثة فقد عدت مجموعة سيطرة. تمت معاملة الفئران لمدة 15، 30 يوم للمجموعتين (الأولى والثانية) على التوالي. بينت النتائج وجود ارتفاع معنوي $p\leq 0.05$) في وزن الخصى في المجموعة المعاملة بتركيز(1.5 ملغم / كغم وزن الجسم) مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما أوضحت النتائج وجود ارتفاع معنوي ($p\leq 0.05$) في أوزان الخصى عند استخدام التركيز العالي للزنك مقارنة بالتركيز الواطئ، وأشارت النتائج إلى زيادة معنوية ($p\leq 0.05$) في عدد النطف للمجاميع المعاملة بالزنك مقارنة بمجموعة السيطرة. كما تبين وجود ارتفاع معنوي ($p\leq o.05$) في نسب النطف المتحركة لكل من المجموعة الاولى والثانية مقارنة بالسيطرة، وانخفاضا معنويا ($p\leq 0.05$) في أعداد النطف الضعيفة الحركة في المجموعة المعاملة بالتركيز العالي للزنك مقارنة مع السيطرة. وأظهرت فعالية أنزيم الفسفاتاز الحمضية وتركيز سكر الفاكهة (الفركتوز) ارتفاعا معنويا في كلا المجموعتين المعاملة بتركيز 0.5 ، 1.5 ملغم / كغم وزن الجسم، مقارنة بالسيطرة.

الكلمات الدالة : الفسفاتاز الحمضية، تركيز الزنك، الفركتوز، عدد النطف.

Study of the Effect of Zinc on the Fertility and Acid Phosphatase Activity and Fructose Concentration in Male Swiss Albino Mice (*Mus Musculus*)

Tamara W. Jihad
Department of Biology
College of Education
University of Mosul

ABSTRACT

This study was conducted to elucidate the effect of different concentrations of zinc element on male fertility of swiss albino mice by using atomic absorption, and determination of acid phosphatase activity (Ec.3.1.3.2) compared with control groups. The mice were divided into three groups (10 mice / group) and they were three months old. The first group was treated with 0.5 mg / kg body weight and the second group with 1.5 mg / kg body weight with zinc, while the third group considered as control group. The mice treatment was for 15 and 30 days for the two experiment groups.

The results showed a significant increase ($p \leq 0.05$) in weight of testes in the group which treated by concentration 1.5 mg / kg b.w compared with control group. Significant increase ($p \leq 0.05$) was also found in testes weight when using the high concentration of zinc compared with the low concentration. Results also showed a significant increase in sperm count of groups treated with zinc as compared with control group. Significant increase ($p \leq o.o5$) in sperm motility was detected in both the first and second groups as compared with control . Significant decrease ($p \leq 0.05$) in slugish sperm in group with high concentration of zinc as compared with control. Significant increase in both groups in acid phosphatase activity and the concentration of fructose treated with concentrations 0.5 and 1.5 mg / kg b.w as compared with control.

Keywords: Acid phosphatase (Acp), Zinc concentration, Fructose, Sperm count.

المقدمة

تعد المعادن الثقيلة ضرورية لوظيفة العديد من الانزيمات والبروتينات في الجسم، فقد أوضحت العديد من الدراسات ان التاثيرات الكيموحيوية والفسيولوجية للمعادن الضئيلة على عوامل الخصوبة متمثلة بالزنك والسيلينيوم واليود، النحاس والمغنيسيوم (Luka *et al*., 2009). يعد الزنك عنصراً أساسيا للنمو الأمثل والتكاثر في الذكور والإناث على حد سواء فهو يساهم عادة في ميكانيكيات عديدة بالطرق الأيضية الرئيسية المتضمنة تصنيع البروتين، عملية التحول، الكاربوهيدرات، الطاقة، الأحماض النووية، الدهون، بناء الدم، وله دور رئيسي في تعبير الجين وتكوين الأجنة، كما يلعب دوراً مهماً في فسلجة الحيوانات المنوية، إنتاج

الحيامن, منع انحلال الحيوانات المنوية واستقرار غشاء الحيمن. وتبين أن له تأثيرات مفيدة على وظيفة الخلية الخصيوية في الذكور العديمي الخصوبة (Wong *et al*., 2002). تتأثر حركة النطف بمستوى هورمون Testosterone (الشحمون الخصوي) وفعالية الإفراز للغدد الثانوية وتظهر هذه الحالة بوضوح في المرضى المصابين بانعدام الحيوانات المنوية Azoospermia، ومن المعروف أن فعالية الإفراز هذه تتأثر بمستوى الزنك، حجم السائل المنوي ونسبة المرضى المصابين بحالة انعدام النطف او قلتها، إذ يعد هذا الهورمون ضروريا لجميع مراحل عملية تكوين النطف وان الانخفاض في تركيزه يؤثر في فعالية النطف (Abdella *et al*., 2010). يحوي السائل المنوي في اللبائن نسبة عالية من الزنك، ولكن انخفاض تركيزه في السائل المنوي يؤدي الى الانخفاض في فعالية أنزيم(ACE) angiotensin converting enzyme، ويؤدي هذا بدوره الى تخفيض مستوى الشحمون الخصوي ويوقف عملية تكوين النطف Bedwal and Bahuguna, (1994)، كما أن نقص تركيز الزنك يؤدي الى حدوث زيادة للأيض الهدمي في خصى الجرذان (Somers and underwood, 1969). إن أنزيم acid phosphatase يعد من الانزيمات كلية الوجود وتتجلى أهميته بتحفيز تحليل مركب اورثو فوسفات احادي الاستر في الوسط الحامضي الى المواد الاساسية المتضمنة مجموعة aryl وفوسفات الكحول (Peruquetti *et al*., 2010). من المعروف ان هناك خمسة اشكال مهمة للانزيم موجودة في الإنسان: البروستات وخمائر الأجسام الحالة والكريات الحمر والبلاعم الكبيرة والخلايا الناقضة للعظم (Bull *et al*., 2002) فقد تم الكشف عن هذه الأنواع في كريات الدم الحمر والبيض والصفيحات الدموية والكبد والطحال(Bull *et al*., 2002).

إن العلاقة بين الزنك وفعالية أنزيم acid phosphatase تم تحديدها في السائل المنوي والتي تعد مؤشراً لتقدير النسبة المساهمة من الحيوانات المنوية في إظهار تلك الفعالية، كما استخدمت هذه العلاقة أيضا في التشخيص المبكر لحالات الإصابة بأورام البروستات (Imammoto *et al*., 2009). يعد الفركتوز مصدراً رئيسياً للطاقة الحركية للنطف، إذ أن الانخفاض في مستواه أدنى من القيمة السوية يؤدي إلى انسداد في قنوات القذف للمني او انعدام في وظيفة الحويصلة المنوية، خصوصا عندما يكون مستواه مرتبطا باقل قيمة مقذوفة ومرتبط ايضا بانخفاض اللزوجة في السائل المنوي (Buckett and Lewis - Jones, 2002). إن إفراز الفركتوز يخضع عادة تحت السيطرة المنظمة من قبل الاندروجين، ولكن هناك عدة عوامل اخرى مثل استمرار القذف للحيوانات المنوية، مستوى الكلوكوز بالدم، طبيعة التغذية، كلها تستطيع ان تؤثر في تركيز الفركتوز بالسائل المنوي (Abdella *et al*., 2010). هدفت الدراسة الحالية الى التحري عن تاثير تراكيز مختلفة من الزنك على خصوبة ذكور الفئران البيض السويسرية بدلالة فعالية أنزيم الفسفاتاز الحمضية في مصل الدم وتركيز سكر الفركتوز في البلازما المنوي.

المواد وطرائق العمل

الحيوانات المستخدمة

أجريت الدراسة الحالية على ذكور الفئران البيض السويسرية *Mus musculus* تم الحصول عليها من مختبرات تربية الحيوانات في قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة الموصل، بعمر (3) أشهر، معدل أوزانها بين (20-26) غم، وضعت في اقفاص لدائنية خاصة بتربية الفئران ابعادها (30 × 16 × 13 سم)، من إنتاج شركة (LTDL) London plastic / North Kent تركت الفئران لمدة أسبوع لغرض التأقلم على الظروف البيئية والغذاء قبل بدء التجربة وتحت ظروف مختبرية ثابتة من حيث درجة الحرارة (26 ± 2) م° ودورة ضوئية photoperiod (14) ساعة ضوئية: (10) ساعات ظلام يوميا. تمت التغذية بالعليقة القياسية وبنسب ثابتة والمتكونة من (حنطة 34% ، شعير 20 %، ذرة 25 %، بروتين حيواني 10% ، حليب مجفف 10% ، ملح طعام 1%) تم طحن المواد وخلطها مع بعضها بصورة جيدة وأضيف إليها الزيت والماء لتصبح عجينة متماسكة، قطعت إلى كتل صغيرة ووضعت في المكان المخصص للطعام في أقفاص التربية وأعطى الغذاء والماء بشكل حر لجميع الفئران في قسم علوم الحياة / كلية التربية (العكيدي، 2002).

تصميم التجربة

من اجل التوصل الى التراكيز المناسبة لعنصر الزنك لاجراء الدراسة، تم إجراء تجارب أولية، إذ قسمت الحيوانات الى (30) حيوان وبواقع ثلاث مجاميع (كل مجموعة تحتوي على عشرة حيوانات) على النحو الاتي:

1- مجموعة السيطرة: التي اعطيت الماء المقطر في قنانٍ زجاجية بوصفه ماء للشرب.

2- المجموعة الثانية المعاملة: أعطيت المجموعة ماء شرب حاوياً على عنصر الزنك بتركيز (0.5 ملغم / كغم وزن الجسم) ولمدة 15 يوما.

3- المجموعة الثالثة المعاملة: أعطيت المجموعة ماء شرب حاوياً على عنصر الزنك بتركيز (1.5 ملغم / كغم وزن الجسم) ولمدة 30 يوما.

جمع عينات الدم

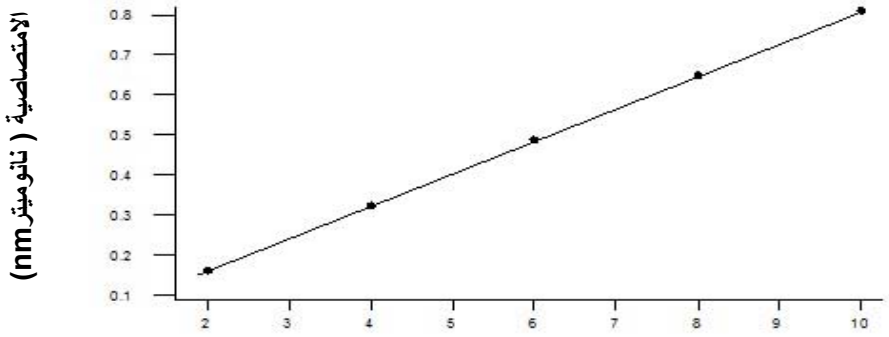
تم الحصول على الدم من الفئران قيد الدراسة من زاوية العين باستخدام انبوبة شعرية capillary tube غرست في جيب محجر العين orbital sinus (Timm, 1979) تم سحب الدم بالانسياب من خلال الانبوب الشعري الى انابيب جافة ونظيفة، تركت بعدها هذه الانابيب وبداخلها عينات الدم لمدة (30) دقيقة، تم فصل الدم باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة (15) دقيقة، ثم حفظ المصل في المجمدة بدرجة حرارة -20 م° لحين اجراء الاختبارات.

تحضير المحاول القياسي للزنك

حضر المحاول الأصلي أو المركز للزنك بتركيز 10 ppm وذلك بإذابة 0.02086 ملغم من الزنك في كمية من D.W وأكمل الحجم إلى 1 لتر من ماء ثنائي التقطير (خالي من الايونات)، وبعدها تم تحضير تراكيز مختلفة من المحاول القياسي وهي (2، 4، 6، 8 ، 10، 12) مايكروغرام / مليلتر لتحضير المنحني القياسي للزنك وقيست امتصاصية النماذج وسقطت على المنحني القياسي وقدر تركيز الزنك فيها باستخدام جهاز مطياف الامتصاص الذري (Chapman and Pratt, 1961) كما مبين في الشكل (1).

تقدير تركيز الزنك في المصل

استخدم جهاز مطياف الامتصاص الذري Atomic Absorption spectro photometer من نوع (PYE Unicam model sp9) لقياس تركيز الزنك الموجود في المصل، لقد تم تحويل قياس الامتصاص الذري إلى وحدات تركيز وذلك باستخدام المنحني القياسي للزنك (Chapman and Pratt, 1961)، كما موضح بالشكل :



الشكل 1 : المنحني القياسي للزنك

الاختبارات الكيموحيوية للدم

1- قياس فعالية الفسفاتاز الحمضية:

استخدمت طريقة (Kind and King, 1954) لتحديد فعالية الفسفاتاز الحمضية والتي تعتمد على تحرر الفينول خلال التحلل الانزيمي لفوسفات الفينيل تحت ظروف محددة من درجة حرارة، دالة حامضية وفترة زمنية. والمحاليل المستخدمة في احتساب الفعالية هي:

1- المحلول المنظم ذات دالة حامضية (4.9): ويحضر من اذابة (42) غم من بلورات حامض الستريك في كمية قليلة من الماء المقطر ثم اضافة (376) مللتر من هيدروكسيد الصوديوم (1N) واكمل الحجم الى لتر واحد، أضيفت بضع قطرات من الكلوروفورم بوصفه مادة حافظة.

2- المادة الأساس: إذابة (2.18) غم من disodium phenyl phosphate في لتر من الماء المقطر، ثم غلي المحلول لقتل الأحياء المجهرية وبعدها برد واضيفت اليه قطرات من الكلوروفورم 3 مللتر / لتر وحفظ في 4 م°.

3- محلول الفينول المركز: (1 ملغم / مللتر) وحضر بإذابة (1 غم) من الفينول في 0.1 عياري من حامض الهيدروكلوريك وحفظ في 4 م° في قنينة مظلمة.

4- محلول الفينول القياسي (1 ملغم / 100 مللتر): وحضر من تخفيف (1 مللتر) من الفينول المركز الى (100) مللتر ماء مقطر وحفظ في 4 م° في قنينة مظلمة.

5- بيكاربونات الصوديوم (0.5N): إذابة (42) غم من بيكاربونات الصوديوم في لتر من الماء المقطر.

6- 4-امينو انتي بايرين: اذابة (6) غم من 4-amino antipyrine في لتر ماء مقطر وحفظ في قنينة مظلمة.

7- سيانيد البوتاسيوم الحديدي: 24 غم من potassium ferric –cyanide في لتر ماء مقطر وحفظ في قنينة مظلمة.

ولاجل تحديد الفعالية الانزيمية تحضر الانابيب التالية:

1- أنبوبة الفحص: (Test): مزج (1) مللتر من المحلول المنظم في (1) مللتر من المادة الاساس وتحضن في حمام مائي بدرجة حرارة 37 م° وبعد ثلاث دقائق يضاف (2) مللتر من مصل الدم وتحضن لمدة ساعة.

يتم إيقاف التفاعل بإضافة (1) مللتر من هيدروكسيد الصوديوم (0.5) عياري.

2- المحلول الضابط (control): إضافة (1) مللتر من المادة الاساس الى (1) مللتر من المحلول المنظم و (1) مللتر من هيدروكسيد الصوديوم نصف العياري وترج جيدا يعقبها اضافة (0.2) مللتر من المصل.

3- المحلول القياسي (standard): مزج سوية (1.2) مللتر من المحلول المنظم و(1) مللتر من الفينول القياسي و(1) مللتر من هيدروكسيد الصوديوم النصف عياري.

4- (Blank): مزج (1.2) مللتر من المحلول المنظم مع (1) مللتر من الماء المقطر ثم اضافة (1) مللتر من هيدروكسيد الصوديوم النصف عياري.

أضيف بعد ذلك الى جميع انابيب الاختبار اعلاه (1) مللتر من بيكاربونات الصوديوم النصف عياري اعقبها اضافة (1) مللتر من محلول امينو انتي بايرين و(1) مللتر من potassium ferric cyanide (تمزج المحتويات جيدا بعد كل إضافة، ثم تقاس الكثافة المرئية على طول موجي (510) نانوميتر).

إن كمية الفينول الموجودة في المحلول القياسي (standard) هي (10) مايكروغرام ولهذا فان كمية الفينول الموجودة في المصل

$$\text{Serum acid phosphate} = \frac{\text{T-C}}{\text{S-B}} \times 5 \text{ (K. A. U. per 100 ml)}$$

2- قياس تركيز الفركتوز في البلازما المنوي:

استخدمت طريقة الباحثين (Hung and Xu , 1999) لتحديد تركيز الفركتوز في البلازما.

تحضير المحاليل :

حضر محلول الفركتوز (Stock Solution) بتركيز 2.78 ملي مول / لتر، حضر منه محلول الفركتوز القياسي بتركيز 0.28 ملي مول / لتر وتم تحضير كاشف ريسورسينول الذي يعطي لونا احمر بوجود الفركتوز بدرجات حرارة عالية وحامض HCl بتركيز 10 مول / لتر.

تحضير راشح البلازما المنوي:

تم مزج 0.1 مل من البلازما المنوي مع 2.9 مل من الماء المقطر ثم اضيف اليها 0.5 مل من محلول هيدروكسيد الباريوم $B(OH)_2$ و 0.15 مول / لتر و 0.5 مل من كبريتات الزنك $ZnSO_4$ (0.178) مول / لتر. تركت لمدة 5 دقائق لازالة البروميت بعدها فصلت بجهاز الطرد المركزي 3000 دورة / دقيقة ولمدة 15 دقيقة، ثم اخذ 1 مل من الراشح لقياس مستوى الفركتوز.

طريقة العمل:

المواد	العينات	محلول الكفىء	المحلول القياسي
راشح (البلازما المنوي)	1 مل		
ماء مقطر		1 مل	
المحلول القياسي للفركتوز			1 مل
كاشف الريوسينول	1 مل	1 مل	1 مل
HCl	1 مل	3 مل	3 مل

تركت المحاليل لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة 10 ºC ثم تم قياس الامتصاصية لجميع المحاليل عند الطول الموجي 490 نانوميتر، وتم حساب تركيز الفركتوز حسب المعادلة:

تركيز الفركتوز ملي مول / لتر = امتصاصية العينة × 11.12
امتصاصية المحلول القياسي

التخدير والتشريح

تم تخدير الحيوانات بمادة الايثر واحدثت فتحة في كيس الصفن وادخل من خلالها المقص، واستمر القطع عبر القناة الاربية وعلى طول البطن وحتى عظم القص، ثم تم فصل البربخ عن الخصية، ثم بعدها تم وزن الخصية المستخرجة بواسطة الميزان الالكتروني الحساس (Sartorious, Seca, المانيا)، إن المعادلة العامة التي استخدمت في حساب معدل الوزن حسب ما جاء به الباحث (Macarulla and Portillo , 1998) إذ أن معدل النمو النسبي يساوي:

معدل النمو النسبي = [الوزن البدائي (g) – الوزن النهائي (g)] × 100
الوزن البدائي (g)

أعقبها الحصول على السائل المنوي (seminal fluid) من البربخ epididymis، وذلك بعصر محتويات ذيل البربخ بعد تقطيعه في زجاجة ساعة نظيفة وجافة، وتم إجراء الفحوصات الآتية:

1- عدد النطف :

استخدمت طريقة (Sakamato and Hashimato, 1986) لعد النطف في ذيل البربخ حيث فصل ذيل البربخ وقطع الى قطع صغيرة في طبق بتري، وأضيف إليه (9.8) سم^3 من محلول دارئ الفورمالين المتعادل 10 %، أضيف إليه 0.1 سم^3 من صبغة الايوسين 5%، وفي الوقت ذاته نظفت شريحة جهاز تعداد كريات الدم الحمراء ووضعت على مسرح المجهر ثم ثبت عليها غطاء الشريحة، بعدها سحبت قطرة من محلول السائل المستخرج بوساطة ماصة ووضعت في وسط الشريحة قريبة من حافة اتصال غطاء الشريحة مع شريحة عدد كريات الدم الحمراء، وتركت لمدة (5) دقائق وذلك لاستقرار النطف على المربعات الخاصة بشريحة عدد كريات الدم الحمراء.

عملية عد النطف تم حسابها لخمسة مربعات في الشريحة (أربعة مربعات طرفية والمربع الخامس وسطي) بمعنى انه تم عد النطف (في 80 مربعا) صغيراً وحسب بعدها العدد الكلي للنطف في المليلتر المربع الواحـد
(Bearden *et al*., 2004). وكما ياتي:

1- عدد النطف في 80 مربعاً صغيراً، بحيث يقسم العدد الناتج للنطف في خمسة مربعات على 80 لمعرفة عدد النطف في المربع الواحد الصغير.

2- حجم المحلول في المربع الواحد الصغير 16 / 1 ×25 / 1 ×10 / 1 ملم = 40000/ ملم^3 وقد ضرب الناتج ×4000 لحساب عدد النطف في الملم^3 الواحد.

3- ضرب عدد النطف في الملم^3 الواحد ×1000 لمعرفة عدد النطف في 1 ملم^3 الواحد من المحلول.

$$\text{العدد الكلي للنطف} = \frac{\text{مجموع النطف في خمسة مربعات}}{80} \times 4000 \times 1000$$

حيث أن : 80 = عدد المربعات المحسوب فيها النطف

4000 = حساب عدد النطف في الملم^3 الواحد

1000 = عدد النطف في الملمتر الواحد من المحلول

2- حساب النسب المئوية للنطف المتحركة، الضعيفة الحركة، غير المتحركة (الميتة):

وضعت قطرة صغيرة من السائل المنوي على شريحة زجاجية نظيفة وأضيف إليها قطرة من صبغة الايوسين – نكروسين Eosin-Nigrosine، مزجت على الشريحة الزجاجية برفق ولمدة نصف دقيقة وبواسطة حافة شريحة أخرى، ثم اخذ بطرف الشريحة الثانية جزء من المزيج وسحب بزاوية 45 وبرفق على الشريحة الأولى وبعدها تم فحصها بالعدسة الشيئية ذات قوة تكبير 40X وتم احتساب النسب المئوية للنطف المتحركة، الضعيفة الحركة، غير المتحركة (الميتة) في (100) نطفة من كل شريحة وتم استخراج النسب المئوية بالاعتماد على (السعدي، 2001)، حسب المعادلة الآتية:

$$\text{النسب المئوية للنطف الحية} = \frac{\text{عدد النطف المصبوغة}}{\text{العدد الكلي للنطف (المصبوغة + غير المصبوغة)}} \times 100$$

التحليل الاحصائي

تم تحليل البيانات بايجاد المعدل والخطا القياسي باستخدام اختبار Duncan، (الراوي، 1983).

النتائج والمناقشة

يظهر الجدول (1)، وجود ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في أوزان الخصى للمجموعة المعاملة بالزنك بتركيز (1.5 ملغم / كغم وزن الجسم) مقارنة مع السيطرة، كما تبين وجود زيادة معنوية ($p\leq0.05$) في

أوزان خصى الفئران المعاملة بالزنك بتركيز(0.5 ملغم / كغم وزن الجسم و 1.5 ملغم / كغم وزن الجسم)، هذه النتيجة في الارتفاع بالوزن غير متوافقة مع النتائج التي حصل عليها (Poonam, 2008)، إذ أشار إلى أن أوزان الخصى أما أن تكون غير متأثرة أو ازدادت بعد المعاملة، في معظم التجارب الزيادة في أوزان الخصى للفئران المعاملة هي مقترحة ولكن الاختلاف فيها معنوي، إذ أن أول أنواع الخلايا المتأثرة بالمعاملة هي سليفات النطف، حيث حدث التحطيم لهذه السليفات بعد الأسبوع الثاني من المعاملة ثم استمر التحطيم ليشمل الخلايا النطفية spermatocytes والدور التغلظي pachytene، وبعد الأسبوع الثالث استمر التحطيم إلى الدور القلادي leptotene والدور ألازدواجي zygotene ثم توسط التحطيم الخلية الجرثومية الذكرية بعد الأسبوع الرابع من المعاملة، إذ أن هذا الاختزال في عدد النطف ناتجٌ من تأثير المعاملة على سليفات النطف spermatids (Poonam , 2008)

في دراسة اخرى قام بها الباحثون (Sujath *et al*., 2001)، أشاروا أيضا إلى الانخفاض في وزن الخصية بالفئران المعاملة، إذ أعطت نتائجهم انخفاضا مؤشرا مقارنة مع مجموعة السيطرة، حيث هذا الانخفاض ربما ناتج من صغر حجم الانبوب المنوي الملتوي الذي لوحظ في النسيج الامراضي للخصية والتي ظهر فيها الانحلال والضمور للخلايا مع انعدام الوظيفة للانابيب المنوية الملتوية، كما ان عملية تكوين النطف وانعدام البناء الحيوي لستيرويدات خلايا ليدك هي ذات تاثير مساهم في انخفاض وزن الخصية، اذ ان جين الخلية الخصيوية يكون عالي التنظيم بالاندروجينات ومنخفض التنظيم بالاستروجينات (Sujath *et al*., 2001)، وهذا غير متوافق مع نتائج البحث الحالي.

كما اظهرت النتائج الموضحة في الجدول (1) ارتفاعا معنويا ($p \leq 0.05$) في عدد النطف بين المجموعة المعاملة بالزنك بتركيز (0.5 ملغم / كغم وزن الجسم) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، وارتفاعا معنويا بين المجموعة المعاملة بتركيز(1.5 ملغم / كغم وزن الجسم) مقارنة مع السيطرة وايضا وجود فرق معنوي مؤشر بين عدد النطف في المجموعتين المعاملتين بالزنك، هذا الارتفاع في العدد لوحظ بدراسات عديدة مطابقة للنتائج الحالية، اذ ان نتائج البحوث وضحت إن وزن الخصية ستزداد نتيجة المعاملة بمضادات اكسدة انزيمية تحافظ على الاتزان البدني وتمنع تكوين أنواع الأوكسجين الفعالة (ROS) ومن ناحية اخرى التكوين المفرط للـ ROS ربما يعطل انظمة حماية مضادات الاكسدة وينتج الضغط التاكسدي المسبب التحطيم المستمر للخلايا الخصيوية (Alvarez *et al*., 1987).

في حين أشار (Glenville, 2008) إلى اعتبار الزنك مغذياً مهماً في الجهاز التكاثري الذكري خصوصا دوره في أيض الهرمونات، عملية تكوين النطف، حركية النطف، إذ أن عدد من المغذيات العلاجية ظهرت لتحسن عدد النطف وحركيتها مثل Zinc وarginine وseleniumوفيتامين B_{12} ومضادات الأكسدة مثل كلوتاثايون وفيتاميني E وC. كما لاحظ أيضا أن الانخفاض في عدد النطف هو المسؤول عن حالة انعدام

الخصوبة والتي تؤدي الى إنتاج أعداد للنطف غير طبيعية، إذ أن وجود الزنك مهم في تحسين معالجة هذا الانعدام، كما انه يمنع تلازن النطف.

الجدول 1: يبين تأثير المعاملة بالزنك بتركيز (0.5, 1.5 ملغم / كغم وزن الجسم) في وزن الخصى وعدد النطف وحركيتها في ذكور الفئران البيض السويسرية.

المتغيرات الحيوية / المجاميع المعاملة	فترة المعاملة (يوم)	وزن الخصى (g)	عدد النطف (cell ×10^6/ml)	حركية النطف		
		المعدل ± الانحراف المعياري				
				النسب المئوية للنطف المتحركة (%)	النسب المئوية (%) للنطف الضعيفة الحركة (%)	النسب المئوية للنطف غير المتحركة (الميتة) %
السيطرة	0	(a) 0.1023±0.03	(a) 4.505±0.08	(a) 45.7±0.06	(b) 27.5±0.04	(a) 26.8±0.05
0.5mgZn/kgB.W	15	(a) 0.127±0.04	(b) 7.885±0.97	(b) 58.9±0.09	(ab) 23.8±0.08	(a) 17.3±0.10
1.5mgZn/kgB.W	30	(b) 0.228±0.03	(c) 14.684±0.11	(b) 62.5±0.15	(a) 20.0±0.05	(a) 17.5±0.15

- الأحرف المتشابهة لا تختلف معنويا ($p\leq0.05$) على وفق اختبار دنكن متعدد الحدود.
- الاحرف المختلفة تختلف معنويا ($P\leq0.05$) على وفق اختبار دنكن متعدد الحدود.
- عدد الحيوانات المستخدمة في كل مجموعة = 10

في حين كانت النسب المئوية للنطف المتحركة في جدول (1) بحالة ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) بين مجموعة فئران السيطرة مع المجموعة المعاملة بالتركيز الواطىء من الزنك، وأيضا ارتفعت النسب الحركية للنطف في تركيز الزنك العالي بالمقارنة مع السيطرة هذا يعود الى ان التنظيم الايضي للحيامن خلال المعاملة بالزنك استخدم منظماً للفعالية الانزيمية في السائل المنوي، وفي داخل الحيوان المنوي يكون الزنك الى حد بعيد مترابطاً مع مجاميع sulfhydryl، disulfide وهو عادة متمركز في منطقة الذيل للحيمن، كما ان السيطرة على الحركية عن طريق المعاملة بالزنك تشمل بالسيطرة على الطاقة المستخدمة خلال انظمة اداينوسين ثلاثي الفوسفات ATP والمتضمنة التقليص بحيوية النطف من خلال التنظيم لمخزون الطاقة من الدهون الفسفورية، اذ ان الزنك يعتبر مصدراً رئيسياً للطاقة المتطلبة لحركية الحيوانات المنوية (Danscher *et al.*, 1978).

كما أشار (Caldamone *et al*., 1979) الى ان الزنك يجعل الحيمن متحركا باكثر عشوائية إذ أن التراكيز العالية تكون ذات علاقة بانخفاض حركية النطف في حين أشار آخرون إلى أن الارتفاع في محتوى الزنك بالسائل المنوي يكون سببا رئيسا لارتفاع درجة حركية النطف. في حين كانت النسب المئوية للنطف الضعيفة الحركة والمبينة في جدول (1) في حالة ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) فقط في المجموعة المعاملة بالتركيز العالي مقارنة بمجموعة السيطرة، وهذا يتطابق مع نتيجة الباحثين (Saki *et al*., 2010) في ان المرضى المصابين بضعف حركية النطف في مستويات الزنك المرتفعة تعطي ارتفاعاً مؤشراً عن تلك النطف في الحالة السويةNormal، كما ان لمستويات الزنك المرتفعة في النطف الضعيفة الحركة تؤشر عادة الزيادة المتطلبة للزنك لتعزيز الحركية واقتراح وجود باقي العوامل كالمغنيسيوم، Gama Glutamyl Transferase (γ-GT) اذ انها تعد كسبب ربما في ضعف الحركية للنطف (Saki *et al*., 2010). اما بالنسبة للنطف غير المتحركة (الميتة) فقد أشارت النتائج في جدول (1) إلى عدم وجود فرق معنوي بين جميع المعاملات عند مستوى معنوية ($p\leq0.05$) وهذا يعود إلى العلاقة الايجابية بين الشحمون الخصوي ودور الزنك في الخصوبة الذكرية ذات تأثير كبير على فعالية النطف (Abdella *et al*., 2010).

يشير الجدول (2) أن تركيز الزنك في المصل بحالة ارتفاع معنوي فقط في المجموعة ذات التركيز العالي من الزنك عند مقارنتها مع السيطرة، اذ ان هذه النتيجة مطابقة مع (Costello *et al*., 1999)، في ان التراكم الحيوي للزنك في البروستات يعد منظما بالهرمونات في داخل وخارج الخلية, حيث أن فعالية الشحمون الخصوي في السائل المنوي رفعت من مستويات الزنك إذ يمكن القول إن الزنك عد ذا تأثير عالي المستوى وهو واقع تحت السيطرة الهرمونية. كما وأن سبب الانخفاض في مستويات الشحمون الخصوي الرافعة لتركيز الزنك في الخلايا الظهارية للبروستات يعود إلى وجود الفلوتاميد الذي عد ذا تأثير ايجابي في مستويات الزنك الداخل خلوية (Costello *et al*., 1999).

أما فيما يخص فعالية أنزيم Acp المشار إليها في الجدول (2) والتي أدت إلى حدوث ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في الفعالية لهذا الأنزيم في المجموعة المعاملة بالتركيز الواطئ للزنك مقارنة مع السيطرة وأيضا ارتفعت في التركيز العالي مقارنة مع السيطرة، كما ارتفعت في المجموعة المعاملة بالتركيز العالي مقارنة عما هي عليه من التركيز الواطئ للزنك عند ($p\leq0.05$) إذ أن فعالية الـ Acp في السائل المنوي تكون تحت سيطرة هرمونات الاندروجين، كما أن تحديد الفعالية لهذا الأنزيم بعد التحليل لم تظهر انخفاضا معنويا ($p\leq0.05$) بالفعالية المقاسة في الخصية إذ أن تجريع الفئران بمادة الزنك سبب ارتفاعا مؤشرا ($p\leq0.05$) في الفعالية بشكل تقريبي، كما أن وجود الحيوانات المنوية في السائل المنوي للبريخ لمجموعة السيطرة من المحتمل أن تفسر الارتفاع المؤشر عند مقارنتها مع المجموعة المعاملة بالزنك، ولكن قد يحدث

فشل في ارتفاع الفعالية ويعود سبب هذا إلى أنها تضم أعدادا كثيرة من الخلايا ذات تأثير مخفض لفعالية الأنزيم في هذه المناطق من البربخ (Peruquetti *et al*., 2010).

في حين أشار (Uboh *et al*., 2010) إن التعرض لمادة الكازولين أدت إلى ارتفاع فعالية انزيمي الـ ALP، Acp في ذكور الجرذان إذ أعطت النتائج مؤشرا بان التعرض للكازولين ربما عكس التاثير الوظيفي لهذه الغدة وهذا الارتفاع في مستوى المصل لهذه المؤشرات الحيوية تقرر ليكون مرتبطا مع سرطان البروستات، هذه المؤشرات لهذه الانزيمات ومستوى الاندروجين يمكن ان تكون مهمة بوصفه مؤشراً حيوياً لتقييم او لتحديد سرطان البروستات بشكل رئيسي، إذ أن الفعالية للـ Acp في البروستات يعد ظهورها أول علامة لظهور الورم اوذات فائدة مهمة في التشخيص الطبي.

الجدول 2 : يبين تركيز الزنك ومدى فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي في مصل ذكور الفئران البيض السويسرية .

	المعدل ±الانحراف المعياري		
المجاميع المعاملة / المتغيرات الحيوية	**السيطرة**	**0.5 mg Zn/ kg B.W**	**1.5 mg Zn / kg B.W**
تركيز الزنك في المصل مايكروغرام/ سم^3	(a) 1.349±0.25	(ab) 2.117±1.70	(b) 3.216±1.45
فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي (K.A.V.per 100 ml)	(a) 140.1±8.62	(b) 156.4±3.71	(c) 166.8±4.54

- الاحرف المتشابهة لاتختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.
- الاحرف المختلفة تختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.
- عدد الحيوانات المستخدمة في كل مجموعة = 10.

أما فيما يخص النتائج المبينة في جدول (3) أظهرت وجود ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في تركيز سكر الفركتوز بين المجموعة المعاملة بالتركيز الواطئ للزنك مع السيطرة، كما ارتفعت النسبة في المجموعة المعاملة بالتركيز العالي عما هي عليه في التركيز الواطئ وهذا يعود إلى أن وظيفة الحويصلة المنوية في الحيوانات وفي الإنسان واقعة تحت سيطرة الاندروجين، وان مادة الفركتوز المفرزة من الحويصلة توضح الارتباط مابين مستويات الشحمون الخصوي بالمصل ومستويات الفركتوز بالسائل المنوي، إذ أن الحويصلة تعزز نواتج متنوعة ذات العلاقة المباشرة بين وظيفة الحويصلة وحركية النطف من بين هذه المواد

البوتاسيوم و prostoglandin و prolactine وbicarbonate ذات دور تحفيزي مباشر لحركية النطف حيث يكون هذا من خلال العمل عند مستوى ميكانيكيات الإنتاج للطاقة الضرورية لحركية النطف (Gonzales, 1989).

ولكن ما حصل عليه (Buckett and Lewis – Jones, 2002) غير مطابق لنتائج الدراسة الحالية في ان مستوى الفركتوز في السائل المنوي وجد ليكون في حالة انخفاض مؤشر بالمرضى المعانين بتشوهات الشكل الخارجي للنطفة وفي المرضى المعانين بقلة النطاف oligospermia، هذا ناتج من انخفاض في عدد النطف وحركيتها والتي تؤدي الى انخفاض بافراز الفركتوز من الحويصلة المنوية، إذ أن مستوى الفركتوز بالسائل المنوي انخفض في المرضى المعانين بضعف النطاف Asthinospermia او في حالة انعدامها Azoospermia وهذا كله يعود الى اما بسبب الاعاقة الجزئية اوالكلية للقناة الاربية للحيمن اوبسبب عمل الغدد الثانوية التي تقوم بافراز الفركتوز (Buckett and Lewis - Jones , 2002).

الجدول 3: يبين تأثير المعاملة بالزنك على تركيز الفركتوز بالحويصلة المنوية في الفئران البيض السويسرية.

المجموعة المعاملة	السيطرة	0.5 mg Zn/ kg B.W	1.5 mg Zn / kg B.W
تركيز الفركتوز بالحويصلة المنوية (g/100mg tissue wt)	(a) 278.2±60.48	(b) 393.9±80.00	(c) 469.2±34.48

- الاحرف المتشابهة لاتختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.
- الاحرف المختلفة تختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.
- عدد الحيوانات المستخدمة في كل مجموعة = 10.

المصادر العربية

الراوي، خاشع محمود (1983). " تصميم وتحليل التجارب الزراعية ". دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق، ص 309 – 354.

السعدي، حسين عبد الكريم (2001)."الخصوبة والتلقيح الاصطناعي ". الطبعة الثانية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، العراق.

العكيدي، وعد صبري شاهر (2002). تأثير ثمار شجرة السبحبح *Melia azedarch* L. في بعض الأنسجة والخصوبة في الجرذان Rattus norvegicus . أطروحة دكتوراه في علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

المصادر الأجنبية

Abdella, M.;Omer , E.; Al-Aabed , H. (2010). Biochemical markers in semen and their correlation with fertility hormones and semen quality among sudanese infertile patients. *Afr. J. Biochem. Res*. **4**(11) , 255-260.

Alvarez, J. G.; Touchstone , J. G.; Blasco , L.; Storey , BT. (1987). Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa. Superoxide dismutase as a major enzyme protectant against oxygen toxicity . *J. Toxicol. Env*. **8**, 348-388.

Bearden, H.J.; Fuguany , T.W.; Willard , S.T. (2004). "Apllid Animal Reproduction" ; 6 th edn., John Wiley and William, Inc., Mississippi State University . pp. 7-22.

Bedwal, RS.; Bahuguna , A. (1994). Zinc, copper and selenium in reproduction . *Experientia* . **50**, 626.

Buckett, W. M.; Lewis –Jones , D. I. (2002). Fructose concentrations in seminal plasma from men with non-obstructive azoospermia . *Arch . Androl* . **48** , 23-27.

Bull, H.; Murray, PG.; Thomas, D.; Fraser, AM . (2002). Acid phosphatase . *Mol . Pathol* . **55**, 65-72.

Caldamone, A.A.; Freytag , M.K.; Cockett , A.T. (1979). Seminal zinc and male infertility. *Urology* . **13**, 380-281.

Chapman, H.D.; Pratt , D.F. (1961). Methods of analysis of soils, plants and water, University of California , Davis , *Division Agr . Sci* . **112**, 309-311.

Costello, L.C.; liu , Y.; Zou , J.; Franklin , R. B. (1999). Evidence for a zinc uptake transporter in human prostate cancer cells which is regulated by prolactin and testosterone . *J. Biol. Chem.* . **274**, 17499-17504.

Danscher, G.; Hammen, R.; Fjerdingstad, E. (1978). Zinc content of human ejaculate and the motility of sperm cells . *Int . J. Androl* . **1**, 576-581.

Glenville, M. (2008). The nutritional approach to male factor infertility . *Urology* . **18**, 4-5 .

Gonzales, G.F. (1989). Functional structure and ultrastructure of seminal vesicles . *Arch . Androl* . **22** (1) , 1-13 .

Huang, Y. F.; Xu , R. J. (1999). Standerization and quality control for determination of fructose in seminal fluid . *S. Androl* . **18** (6), 559-571.

Imammoto, T .; Suzuki, H.; Yano , M.; Kawamura, K.; Kamiya, N.; Araki, K . (2009). Does presence of prostate cancer affect serum testosterone levels in clinically localized prostate cancer patients ? prostate cancer prostatic Dis. *Int . J. Urol* . **12**,78-82.

Kind, P. R. N.; King, E.J. (1954). Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine . *J. Clin. Pathol*. **7** , 332-336.

Luka, N.; Massanyi , P.; Krockova , J.; Nad , P.; Slamecka , J.; Ondruska , L.; Formicki , G.; Trandzik , J. (2009). Relationship between trace element rations concent and spermatozoa quality in rabbit semen . *Slovak . J. Anim . Sci* .**42**, 46-50.

Macarulla, M. T.; Portillo , P. (1998). Utilization nutritiva deproteinas Y evaluation biological calidad proteica . In : fundamentos teorico practices denutricion Y dietetica. Madrid : Mc Graw – Hill Inter Americana 7-22.

Peruquetti, R. L.; Taboga , S.R.; Azeredo- Oliveira, C. (2010). Expression of acid phosphatase in the seminiferous epithelium of vertebrates . *Genet . Mol. Res* . **9**(2) , 620-628.

Poonam, S.(2008). Tolnidamine – induced changes in the testis, sperm count , fertility and accessory sex glands of the laboratory mouse . *Zoology Department* . **1**(4) , 159-164.

Sakamoto, J.; Hashimoto, K. (1986). Reproductive toxicity of arylamide and related compounds in mice. effect on fertility and sperm morphology. *Arch. Toxicol*. **59**, 01-205.

Saki, G.; Rahim, F.; Dahaz S. (2010). Effect of supplementation of zinc on count , motility and in vitro fertilization capacity of spermatozoa of magneticfield exposed rats . *J. Biol. Sci.* **10** (2) ,174-177.

Somers , M.; Underwood , E. J. (1969). Ribonuclease activity and nucleic acid and protein metabolism in the testes of zinc deficient rats . *Aust. J .Biol .Sci* . **22**, 1277-1280.

Sujath , R.; Chitra , K.; Latchoumy candane , C.; Mathur , P.P. (2001). Effect of lindane on testicular antioxidant system and steroidogenic enzymes in adult rats . *Asian. J. Androl.* **3**, 135-138.

Timm, R. (1979). Orbital venous anatomy of the rat-lib . *Anim . Sci* .**2**, 663-670.

Uboh, F.E.; Akpanabiatu , M.I.; Edet , E.E.; Ebong , P.E. (2010). Increase activity of serum total and prostatic acid phosphatase , alkaline phosphatase , gamma glutamyl transferase and testosterone level in rats exposed to gasoline vapours . *J. Medi. Sci* . **1**(1), 016- 020.

Wong, W.Y.; Merkus, H. M.; Thomas, C. M.; Menkveld , R.; Zielhuis , G. A.; Streegers - Theunissen , R. P. (2002). Effect of folic acid and zinc sulphate on male factor subfertility : a double – blind , randomized , placebo controlled trial . *Fertil . Steril* . **77**, 491-498.