دراسة تأثير بعض المظاهر المناعية الناتجة عن تجريع الأرانب النيوزلندية فموياً بتراكيز مختلفة من كبريتات النحاس والزنك

عاصف حسن عبد الرزاق

كلية الطب البيطري، جامعة الأنبار

الخلاصة:

هدفت هذه الدراسة إلى معرفة تأثير كبريتات الزنك وكبريتات النحاس على الأجسام المضادة والمتمم، وعد كريات الدم البيض الكامل والتفريقي في 36 أرنب نيوزلندي والتي قسمت إلى ستة معاملات (T1، T2، T3، T4، T5، T6) ولكل معاملة 6 أرانب جرعت عن طريق الفم بمقدار 1 مل وبتراكيز 0.5، 5، 10 ملغم لكبريتات الزنك للمجاميع T2, T3, T4 على التوالي، و0.5، 0.25 ملغم لكبريتات النحاس للمجموعتين T6, T5 على التوالي. وتركت المعاملة T1 كمعاملة سيطرة بدون أي معاملة.

أظهرت النتائج وجود ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) للأجسام المضادة نوع IgM لتركيز المعاملة T4 من الزنك بالمقارنة مع المعاملات T1, T2, T5 ووجد أيضاً ارتفاع معنوي ($P<0.05$) لـIgM لمعاملتي T3, T6 بالمقارنة مع المعاملة T2. كما وجد ارتفاع معنوي ($P<0.05$) لـIgA في المعاملتين T2, T6 على المعاملتينT1,T5. أما تفريق كريات الدم البيض فقد لوحظ بان الخلايا العدلة لم تتأثر بتغير تراكيز المعاملات بكبريتات النحاس وكبريتات الزنك. وارتفعت معنوياً الخلايا الأحادية للمعاملة T2 على كافة المعاملات الأخرى، كما لوحظ تفوق معنوي ($P<0.05$) للمعاملة T4 على المعاملة T1. وتفوق الخلايا اللمفاوية المجموعة T5 معنوياً بالمقارنة مع المجموعة T1, T3, T6.

Study the effect of some immunological aspects on Newzealand Rabbits drenched with different concentrations of copper sulfate and zinc

Assif H. Abd-Alrazaak

College of Veterinary Medicine, University of Anbar

Abstract:

The study aimed to evaluate the effects of watery solutions of zinc sulfate and copper sulfate on some immunoglobulins and complement, and on the total and differential Leukocyte count in 36 Newzealand rabbits which divided into 6 groups (T1, T2, T3, T4, T5, T6), 6 rabbit for each group had been drenched orally with 1 ml. contained 0.5, 5, 10 mg of zinc sulfate solution for T4, T3, T2 groups, respectively, while T5 and T6 groups drenched with 0.5 and 0.25 mg of copper sulfate solution, respectively, whereas the T1 group allowed without treatment (control).

The results showed significant increase ($P<0.05$) of immunoglobulin IgM in T4 group in compare to T1, T2, T5. In addition to significant increase of IgM in T3 and T6 in compare to T2, and IgA in T2, T6 to significantly than T1 and T5.

In respect to total and differenced Leukocyte count, the results revealed that the Neutrophil count did not affected by the different concentrations of copper sulfate and zinc sulfate whereas the number of Monocytes was increased in T2 in compare to other group. Also, the count of Lymphocytes was increased significantly ($P<0.05$) in T4 more than that in T1 and also in T5 when compared with T1, T3, T6.

المقدمة:

يعتبر الزنك عنصر أساسي للعديد من الأنزيمات ويشكل جزء من هيكل العديد من البروتينات والهرمونات (1، 2). ويدخل في جميع المسارات الايضية في جسم الإنسان والحيوان ومنها ايض الكاربوهيدرات والدهون والبروتينات وكذلك في سلامة الأنسجة الطلائية وإصلاح الخلية والانقسام (3، 4). كما يساعد الزنك في منع الإصابة ببعض الأمراض وعلاجها مثل الأنفلونزا وذات الرئة Pneumonia، كما ان له دور في تحسين مناعة الجسم وخاصة في الدواجن وتحت الأجواء الحارة من خلال زيادة عدد كريات الدم البيض مع تنظيم الهرمونات وامتصاصه للعديد من المعادن ومن ضمنها الكالسيوم (5)، كما يدخل في صحة الجلد والشعر من خلال عمله ضد الالتهابات وخاصة التهابات الحنجرة والجلد والتقرح وحب الشباب، كما يعتبر الزنك احد مضادات الأكسدة(6). ان نقصان هذا العنصر قد يؤدي إلى بعض المشاكل الصحية ومن ضمنها تأخر النمو في الأطفال وتأخر النضج الجنسي وفقدان الشعر وضمور العضلات وانخفاض الوزن. كما ان الزيادة في تناوله قد تؤدي إلى حالة سمية Zinc toxicity من خلال فقدان الشهية وإسهال وغثيان وتقيأ وصداع. إضافة إلى ظهور الالتهابات cytokines والأمراض المزمنة Atherosclerosis والمسرطنة Malignancies وأمراض الاضطرابات العصبية والمناعية (7).

أما بالنسبة للنحاس فبوصفه احد المعادن فهو يلعب دوراً رئيسياً في تصنيع مكونات الدم عن طريق دوره في ايض الحديد ودخوله كمصدر أساسي للعديد من أنزيمات الجسم (8)، ودخوله في المستحضرات الطبية كمبيد للحشرات والفطريات والسيطرة على الأمراض البكتيرية (9، 10). وان له دور في تحفيز الجهاز المناعي من خلال بعض البحوث الحديثة التي تشير إلى ان العوز للنحاس يسبب ضعف الاستجابة المناعية وانخفاض في خلايا الدم البيض انخفاض في عدد الخلايا اللمفاوية مما يؤدي إلى الإصابة بالأمراض المعدية (11). وان زيادة مستوى استهلاك النحاس قد يؤدي إلى حالة التسمم وحدوث التقيؤ وحرقة في الصدر والبطن والغثيان الشديد والإسهال والصداع والتعرق وتوقف التبول واصفرار الجلد إضافة إلى إمكانية حدوث إصابة بالدماغ والكلى والكبد (12).

لذا فقد هدفت هذه الدراسة لمعرفة تقييم دور النحاس والزنك باستخدامها بتراكيز مختلفة على التحفيز المناعي للجسم سواء كانت خلوية أو خلطية وتأثيراتها على جسم الحيوان.

المواد وطرائق العمل:

أجريت هذه الدراسة على 36 أرنب ذكر نيوزلندي وبأوزان تتراوح بين (900- 1400) غرام وضعت هذه الحيوانات في غرف معدة لهذا الغرض وبصورة حرة وتم توفير الظروف البيئية والغذائية المناسبة بعد توزيعها إلى 6 معاملات وتركت لمدة أسبوعين لغرض التكيف.

عوملت المعاملات (T4, T3, T2) بمحلول الزنك وبتراكيز (10، 5، 0.5) ملغم على التوالي والمعاملتين (T6, T5) بمحلول كبريتات النحاس المائية وبتراكيز (0.5، 0.25) ملغم على التوالي وتركت T1 كمعاملة سيطرة بدون أي معاملة. وجرعت الحيوانات عن طريق الفم. أجريت الاختبارات بعد 30 يوم من بدء إعطاء الجرع. حيث أجريت عملية سحب الدم من جميع المعاملات من القلب مباشرة بواسطة إبرة معقمة وقسمت العينة إلى قسمين احدهما مضاف إليها مادة مانعة للتخثر. وأجريت الاختبارات التالية عليها:

- عد وتفريق كريات الدم البيض: استخدمت طريقة Hudson وHay (13) في عد وتفريق كريات الدم البيض.

- الاختبارات المناعية وشملت الأجسام المضادة(Ig) والمتمم (C): استخدمت طريقة اختبار الانتشار المناعي المفرد Single Radial Immuno Diffusion (SRID) المعدة لغرض قياس تركيز IgA, IgM, C3, C4 المنتج من قبل شركة (LTA) الايطالية (14).

التحليل الإحصائي: تم إجراء تحليل البيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل CRD ولمعرفة الفروق المعنوية بين متوسطات المعاملات استخدم اختبار LSD (15).

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج التجريع بمادة الزنك وكبريتات النحاس وبتراكيز مختلفة أثرت بصورة متباينة على الاستجابة المناعية من حيث عد وتفريق كريات الدم البيضاء ومستوى الأجسام المضادة والمتمم في مصل دم الأرانب المعاملة. فقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) للأجسام المضادة نوع IgM للمعاملة T4 مقارنة مع المعاملات T5, T2, T1. كما لوحظ وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في المعاملتين T3,T6 مقارنة مع T2. وتعزى هذه الزيادة في IgM على قدرة الزنك وكبريتات النحاس على تحفيز الجهاز المناعي للحيوان وبتركيز 0.5، 0.25 ملغم فقد لاحظ (16) ان إعطاء محلول الزنك ولفترات طويلة وبتراكيز 10 ملغم/ كغم للمصابين بأمراض الجهاز التنفسي والالتهاب الرئوي خفض من نسبة الإصابة وذلك من خلال الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية. كما ان الزيادة في التركيز قد يؤدي إلى ظهور حالة التسمم. ولوحظ وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في IgA للمعاملتين T6, T2 مقارنة مع المعاملتين T5, T1، كما تفوقت المعاملة T3 على المعاملة T1. ان الاختلافات الحاصلة في الفروق المعنوية للنتائج قد تعود إلى ان للزنك تأثيراً فعالاً حيث انه يدخل في جميع الأنشطة الحيوية وفي تركيب العديد من الأنزيمات والهرمونات فهو يعمل على تحفيز الجهاز المناعي الخلطي ونقصه يؤدي سلباً على معدل النمو في جسم الكائن الحي (17). لقد وجد (18) ان استخدام تراكيز واطئة من كبريتات النحاس تؤدي إلى حدوث نمو وزيادة في استهلاك العلف وان نضوب أو العوز للنحاس له تأثير ضار على الجهاز المناعي مما يزيد من الإصابة بالأمراض المعدية (19)، بعكس ذلك فان الزيادة في تركيز النحاس يعطي نتائج سلبية (20).

أما اختبار المتمم C3 فقد وجد ارتفاع معنوي ($P<0.05$) للمعاملات T6, T5, T4, T3 مقارنة مع المعاملة T1. أما نتائج اختبار المتمم C4 فلقد لوحظ تفوقاً معنوياً ($P<0.05$) للمعاملات T6, T5, T4, T3 على المعاملتين T2, T1 وقد يعود سبب ذلك كون ان كبريتات النحاس والزنك يلعبان دوراً مهماً في وظيفة الجهاز المناعي وان نقصهما يؤدي إلى آثار ضارة على وظيفة الجهاز المناعي ان من آليات عمل المتمم هو تحطيم المستضد عند ارتباط الأجسام المضادة بالمستضد من خلال أنزيمات تعمل على تحلل المستضد المسبب لارتفاع الأجسام المضادة وعندما يرتفع تركيز المتمم يدل على وجود حالة سمية لهذه المركبات وخاصة في التراكيز العالية (21، 22) (جدول 1).

أما نتائج عد وتفريق كريات الدم البيض فقد لوحظ وجود فرق معنوي ($P<0.05$) لعدد كريات الدم البيض للمعاملة T2 مقارنة بالمعاملات T6,T5,T4,T3,T1. وجاءت هذه الدراسة متفقة مع(17) حيث لم يلاحظ تأثيراً معنويا لعدد خلايا الدم البيض للتراكيز المختلفة من الزنك وكبريتات النحاس.ولم يلاحظ وجود فروق معنوية في التجربة الحالية بين المعاملات في عدد الخلايا العدلة Neutrophil. بينما تفوقت المعاملة T2 معنوياً ($P<0.05$) في عدد الخلايا الأحادية Monocyte على كافة المعاملات وتفوق المعاملة T4 على T1. أما المعاملة T2 فقد تفوقت معنوياً ($P<0.05$) في عدد الخلايا اللمفية على كافة معاملات التجربة وتفوق المعاملة T5 على المعاملات T1, T3, T6. وجاءت هذه النتائج متفقة مع (23) وان الزيادة

في تركيز الزنك يؤدي إلى تحسين الوظائف المناعية ويزيد من عدد الخلايا اللمفاوية ويزيد من خلايا Helper T cells ($CD4^+$) وان

نقصه يؤدي إلى تأثيرات عكسية، كما ان للزنك تأثيرا على IL2R الذي ينظم انتشار الخلايا اللمفاوية وتركيزها. ولقد وجد (24) ان إعطاء جرع عالية من النحاس أدى إلى الحد من انتشار الخلايا اللمفاوية (جدول 2).

نستنتج من الدراسة ان لكبريتات الزنك والنحاس تأثيرات واضحة على الأجسام المناعية والمتمم C وكذلك على عد وتفريق كريات الدم البيض.

جدول (1) تأثير إضافة التراكيز المختلفة للزنك وكبريتات النحاس على الأجسام المضادة (Ig) والمتمم C ملغم/ 100 مل

المعاملات	IgM	IgA	C3	C4
T1 السيطرة	190.00 ± BC 29.44	270.66 ± C 80.98	245.33 ± B 70.48	45.66 ± B 18.47
T2 (10) ملغم من محلول الزنك	154.33 ± C 8.66	503.33 ± A 86.02	300.33 ± AB 47.65	43.33 ± B 2.02
T3 (5) ملغم من محلول الزنك	221.00 ± AB 30.02	462.00 ± AB 62.64	380.33 ± A 5.23	74.00 ± A 2.30
T4 (0.5) ملغم من محلول الزنك	254.33 ± A 10.68	426.33 ± ABC 4.33	389.00 ± A 7.37	86.00 ± A 1.00
T5 (0.5) ملغم من كبريتات النحاس	185.00 ± BC 9.23	321.66 ± BC 18.20	361.00 ± A 15.14	73.66 ± A 2.33
T6 (0.25) ملغم من كبريتات النحاس	237.00 ± AB 20.78	531.66 ± A 22.24	374.00 ± A 3.05	91.66 ± A 2.90

***الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى (P<0.05)**

جدول (2) تأثير إضافة التراكيز المختلفة للزنك وكبريتات النحاس على عد وتفريق كريات الدم البيض

المعاملات	عدد كريات الدم البيض	العدلة	الأحادية	اللمفاوية	الحامضية
T1 السيطرة	65.66 ± B 2.33	14.33 ± 0.33	5.66 ± C 0.33	10.00 ± C 1.15	3.00 ± 0.57
T2 (10) ملغم من محلول الزنك	136.00 ± A 11.54	13.33 ± 2.90	20.66 ± A 0.33	29.00 ± A 2.08	3.00 ± 2.08
T3	66.66	9.66	9.0	11.66	2.33

(5) ملغم من محلول الزنك	± B 2.90	± 1.20	± BC 1.73	± C 1.45	± 0.33
T4 (0.5) ملغم من محلول الزنك	76.00 ± B 19.69	11.00 ± 4.04	13.6 ± B 2.90	14.00 ± BC 1.73	1.00 ± 1.0
T5 (0.5) ملغم من كبريتات النحاس	90.00 ± B 4.61	13.66 ± 0.88	8.00 ± BC 1.15	19.00 ± B 3.46	4.66 ± 1.76
T6 (0.25) ملغم من كبريتات النحاس	65.33 ± B 2.90	9.00 ± 0.57	9.66 ± BC 0.33	11.66 ± C 0.33	5.33 ± 2.02

المصادر:

1. Al- Saad, K. M.; Al- Sadi, H. I. and Abdul- Majeed, M. O. (2010): Clinical Hematological, Biochemical and Pathological studies on zinc deficiency in sheep. Vet. Res., 3 (2): 14- 20.

2. Al- Saad, K. M.; Al- Sadi, H. I. and Abdul- Majeed, M. O. (2006): Clinical and Pathological studies on naturally occurring zinc deficiency (Hypozincemia) in buffalo claves. Proceeding of the 4th scientific conference of college of veterinary medicine. (SCCUM. 06), University of Mosul, Mosul Iraq, PP. 97- 107.

3. Phiri, E. C. J. H.; Viva, M.; Chibunda, R. T. and Mellan, L. S. .(2009): Effect of zinc supplementation on plasma mineral concentration in Grazing goats in Sub-Humid climate of Tanzania, Tanzania Veterinary,26 (2):

4. Underwood, E. J. and Suttle, N. F. (1999): The mineral nutrition of livestock. 3rd ed., CABI publishing. New York, NY.

5. Sahin, K.; Sahin, N.; Kucuk, O.; Hayirli, A. and Prasad, A. S. (2009): Role of dietary zinc in heat-stressed poultry: a review. Poult. Sci., 88 (10): 2176- 2183.

6. Judith, R.; Turnlund, Robert, A. J.; Carl, L. K.; Strain, J. J. and Kelley, S. D. (2004): Long- term high copper intake: effects on indexes of copper status antioxidant status, and immine function in young men. Amer. J. of Clin. Nutri., 79 (6): 1037- 1044.

7. Prasad, A. S. (2009): Impact of the discovery of human zinc deficiency on health.J.Am.Coll.Nutr.,28(3):257-265.

8. Rahman, Z. U.; Besbasia, F.; Afan, A. M.; Bengali, E. A.; Zendan, M. I. and Hilmy, M. (2001): Effect of copper supplement on

12. Massi, H. R.; Ofosu- Appiah, W. and Aiello, V. R. (1993): Elevated serum copper is associated with reduced immune response in aging mice. Geroutology., 37: 136- 145.

13. Hudson, L. and Hay, F. C. (1989): Practical Immunology. 3rd ed., Blackwell Scientific Publication. London. P. 471.

14. Al- Kubaissi, A. B. H. (2002): Immunological Epidemiological study of patients infected with Entamoeba histolytica. Ph.D. Al-Mustansiriya University.

15. Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1980): Principle and procedure of statistic. 2nd (ed). McGraw Hill, New York.

16. Black, R. E. (1998): Therapeutic and preventive effects oligosaccharides and (or) pharmacological additious of copper sulfate on growth performance and immune competence of weanling and growing, finishing pigs. J. Anim. Sci., 80: 2887- 2894.

19. Chesters, J. K. (1997): Zinc. Handbook of Nutritionally essential mineral elements. Eds, B. L. O'Dell and R. A. Sunde. Marcel Dekker Inc. New York, New York.

20. Lauridsen, C.; Øjsqa, H. and Ørensen, S. (1999): Influence of dietary rapeseed, Vit E, and copper on the performance and the Heamatological profile and broiler meat composition. Int. J. Polt. Sci., 5 (4): 300- 305.

9. Carubelli, R.; Schneider, J. E.; Jr; pye, Q. N. and Floyd, R. A. (1995): Cytotoxic effects of antoxidative glycation. Biol. Med.,18(2):265- 269.

10. Mulligan, A. M.; Wilson, M. and Knowles, J. C. (2003): The effect of increasing copper content in phosphate- based glasses on biofilms of streptococcus sanguis. Biomaterials, 24 (10): 1797- 1807.

11. Motoo, K.; Toshiak, I. and Hidekazu, H. (2005): Effect of copper and zinc supplementation on peripheral Leukocytes in neutropenia duc to copper deficiency. Gertatries and Gerontology, Inter., 5 (4): 259- 266.

of zinc on serious childhood infections disease in developing countries. Am. J. Clin. Nutr., 68 (Supple 2): 276- 479.

17. El- Hendly, A. H.; Yousef, M. I. and Abo El-Naga, N. I. (2001): Effect of dietary zinc deficiency on hematological and biochemical parameters and concentrations of zinc copper and Iron in growing rats. Toxicology., 15: 167 (2): 163- 170.

18. Davis, M. E.; Maxwell, C. V.; Brown, D. C.; de Rodas, B. Z.; Johnson, Z. B.; Kegley, E. B.; Hellwig, D. H. and Dvorak, R. A. (2002): Effect of dietary mannan

antioxidatine and oxidative status of pig. Anim. Sci., 77: 906- 916.

21. Rus, H.; Cudrici, C. and Mculescu, F. (2005): The role of the complrment system in innate Immunity. Immunol. Res., 33 (2): 103- 112.

22. Sim, R. and Tsiftsoglon, S. (2004): Proteases of the complment system. Biochemsoc. Trans., 32 (1): 21- 27.

23. Sazawal, S.; Jalla, S.; Mazumder, S.; Sinha, A.; Black, R. E. and Bhan, M. K. (1997): Effect of zinc supplementation on cell-mediated immunity and lymphocyte subsets in preschool children. Indian Pedabr., 34: 589- 597.

24. Pocino, M.; Baide, L. and Malave, I. (1991): Influnce of the oral administration of excess copper on the immune response. Fund. Appl. Toxical., 16: 249- 256.