

بررسی نحوه توزیع و مقایسه فعالیت آنزیم رودنیز در دستگاه ادراری و تناسلی نر و ماده گوسفند

دکتر حمید کریمی^{*} دکتر محمود امین لاری^۲

دریافت مقاله: ۱۲۸۱ مرداد ماه ۲۴
پذیرش نهایی: ۱۲۸۲ فروردین ماه ۲۳

Comparative studies on the distribution of rhodanese in male and female urogenital system of sheep

Karimi, H.¹ Aminlari, M.²

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz - Iran. ²Departments of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz - Iran.

Objective: Determination of rhodanese and comparing its activity in urogenital system of sheep.

Design: Rhodanese was assayed by using Sorbo's method and obtained data were analysed via t student test and one way ANOVA.

Animals: Five male and female urogenital system of sheep.

Procedure: Rhodanese activity was determined via measuring of potassium thiosulfate based on Sorbo's method. The data were analysed based on the t student test and one way analysis variance. Rhodanese activity of different parts of a system was analysed by t student test and rhodanese activity in each system was compared with other system by one way analysis.

Statistical analysis: Student "t" test and one way ANOVA.

Results: The rhodanese activity was observed in different parts of male and female of sheep urogenital system. Rhodanese activity in kidney cortex was more than other parts of kidney. Rhodanese activity was also observed in all parts of ram genital system, but its activity was very low, except testis and prostate gland. Rhodanese activity in testis and prostate gland was higher than other parts of urogenital system ($P \leq 0.05$). Rhodanese activity in ewe genital system compared to her kidney cortex and her liver was lower and its activity in cervix mucosa was higher than other parts of this system ($P \leq 0.05$).

Conclusion: High rate of rhodanese activity in kidney cortex was indicated that kidney cortex is very important for cyanide detoxification such as liver. High rate of rhodanese activity in prostate gland and testis indicated that they have an important role for supporting and protecting of spermatozooids. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 58, 2: 115-120, 2003.*

Key words: Enzyme, Rhodanese, Urogenital system, Sheep. corresponding author email:hkarimi347@yahoo.com

بیماریهای دامی هستند که می توانند با خوردن مستقیم یک ماده سمی خاص و یا با خوردن مواد غذایی که حاوی مواد سمی هستند ایجاد شوند. یکی از سمومی که در بعضی از گیاهان علوفه ای دام، وجود دارد، سیانور است. این دسته از گیاهان علوفه ای را گیاهان سیانوژنیک می گویند، مانند ذرت خوشة ای که برای تغذیه دامها استفاده می شود با علف سودان که این گیاه نیز از منابع مهم تغذیه دام است.

سیانور سمی است که در انتقال اکسیژن در تنفس داخل سلولی در حین تولید انرژی در داخل میتوکندری اختلال ایجاد می کند. در واقع سیانور به سیتوکروم اکسیداز پیوند شده و یک خفگی درون سلولی ایجاد می کند. این سم توسط آنزیمی بنام رودنیز یا سولفور ترانسفراز سم زدایی می شود. در بسیاری از حیوانات کبد منبع اصلی این آنزیم به شمار می رود و سم زدایی سیانور را انجام می دهد. در گذشته تصور می شد که این آنزیم

هدف: تعیین وجود رودنیز در قسمتهای مختلف دستگاه ادراری و تناسلی و مقایسه فعالیت این آنزیم در اعضای مختلف این دو دستگاه با هم در گوسفند.

طرح: استفاده از روش سوربو و مقایسه داده های به دست آمده از روش سوربو با استفاده از روشهای آماری یعنی تستهای تی و وان وی در نرم افزار SPSS.

حيوانات: پنج نمونه از قسمتهای مختلف دستگاه ادراری و تناسلی نر و ماده گوسفند.

روش: در این بررسی میزان رودنیز با اندازه گیری تیوسولفات تولید شده با استفاده از روش سوربو تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمون یکطرفه ANOVA و آزمون "t".

نتایج: براساس نتایج به دست آمده مشخص گردید که این آنزیم در قسمتهای مختلف دستگاه ادراری و تناسلی گوسفند وجود دارد. در بررسی فعالیت ویژه رودنیز در دستگاه ادراری مشخص شد که فعالیت رودنیز قسمت قشری کلیه در مقایسه با سایر قسمتهای این دستگاه بیشتر می باشد. همچنین در بررسی فعالیت رودنیز در دستگاه تناسلی گوسفند نر (قوچ) مشخص شد که این آنزیم در تمامی قسمتهای این دستگاه دارای فعالیت می باشد (هر چند به میزان ناجیز). بیضه و پروستات در مقایسه با سایر قسمتهای این دستگاه از میزان فعالیت بیشتری برخوردار بودند. همچنین براساس نتایج این تحقیق در تمامی قسمتهای دستگاه تناسلی گوسفند ماده (میش) رودنیز مشاهده گشت (هر چند به میزان بسیار کم). مخاط گردن رحم در گوسفند ماده نسبت به سایر قسمتها، حاوی رودنیز بیشتر بود و تفاوت معنی داری را هم در مقایسه با سایر قسمتها (در سطح $P \leq 0.05$) نشان داد.

نتیجه گیری: از بالا بودن میزان رودنیز در بخش قشری کلیه می توان نتیجه گرفت که احتمالاً بخش قشری کلیه مانند کبد نقش مهمی را در سم زدایی سیانور دارد. وجود رودنیز در این ترشحات و در سلولهای سرتوانی موجود در بیضه احتمالاً به عنوان یک وظیفه دفاعی برای محافظت از اسپرماتو佐 و زیستهای در برابر خطرات ناشی از وجود سیانور عمل می کند. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۲)، دوره ۵۸، شماره ۱۱۵-۱۲۰.۲

واژه های کلیدی: آنزیم، رودنیز، دستگاه ادراری و تناسلی، گوسفند.

گوشت قرمز و سفید همواره به عنوان منبع مهم پروتئین حیوانی برای انسان مطرح بوده است. گوشت نه تنها به خاطر حالت جامد و دائمی پسندی خود بلکه به خاطر دارا بودن میزان بالایی از اسیدهای آمینه ضروری همواره مورد توجه انسان بوده است. منابع تأمین گوشت مورد استفاده انسان عمدتاً حیوانات اهلی هستند، که حتی می توان گفت که این حیوانات به خاطر استفاده از گوشتستان اهلی شده اند. به خاطر اهمیت مصرف گوشت و نیازهای رو به افزایش آن و هچنین افزایش جمعیت انسانی لازم شده است که تولید گوشت نیز افزایش یابد. امروزه پرورش حیوانات اهلی به عنوان یک صنعت مطرح است و برای این که بتوان تولید بیشتر باکیفیت بهتر داشت نه تنها باید جنبه های صنعتی را رعایت نمود، بلکه با ایستی برای بهداشت دام و بیماریهای دامی نیز اهمیت زیادی قابل شد. مسومومیتها دسته ای از

(۱) گروه آموزشی علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز - ایران.

(۲) گروه آموزشی علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

* نویسنده مسئول hkarimi347@yahoo.com



عصاره بافتی برای تعیین میزان رودنیز موجود در آن مورد استفاده قرار گرفت.

مواد شیمیابی مورد استفاده برای اندازه گیری رودنیز: تیوسولفات سدیم ۰/۱۶۸ مولار، محلول سیانور پتاسیم ۰/۱۶۷ مولار، محلول تیو سیانات پتاسیم ۰/۰۰۱ مولار، بافر گلایسین ۰/۲ با pH=۲/۹ معرف گرداشتاین روش‌های آزمایش:

آزمایش فعالیت رودنیز: واحد بین المللی رودنیز عبارت است از مقدار آنزیمی که در یک دقیقه یک میکرو مول تیو سیانات را در pH=۹ و در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد تولید کند. فعالیت رودنیز با اندازه گیری میزان تیوسولفات پتاسیم تشکیل شده از تیوسولفات سدیم و سیانور پتاسیم بر اساس روش سوربو (۱۹۶۳) و در شرایط استاندارد اندازه گیری شد (۲۲).

اندازه گیری پروتئین تام نمونه ها: برای اندازه گیری پروتئین تام نمونه ها از روش "لوری" استفاده شد. در این روش حلقه های فنلی موجود در مولکولهای پروتئینی در اثر وجود محلول اکسیدکننده ای نظری اسید فسفو تیگستومولیبیدیک در محیط قلیایی ایجاد کمپلکس رنگی می نمایند. شدت رنگ ایجاد شده بستگی به غلظت پروتئین موجود در نمونه دارد (۱۸).

تستهای آماری مورد استفاده در این تحقیق تست وان وی و تی تست بود که برای مقایسه نتایج حاصل از بررسی فعالیت رود نیز هر قسمت مربوط به یک دستگاه با قسمتهای دیگر همان دستگاه (اعداد موجود در یک دستگاه عمودی) از تست وان وی و برای مقایسه فعالیت رودنیز بین یک دستگاه با دستگاه دیگر (مقایسه اعداد یک ستون با ستون دیگر) از تی تست استفاده شد. برای انجام این دو تست آماری از نرم افزار SPSS استفاده گردید.

نتایج

در کل حدود ۳۵۰ نمونه از قسمتهای مختلف دستگاه ادراری تناسلی گوسفند نر و ماده مورد بررسی قرار گرفت. کمیتهای میلیگرم پروتئین در گرم بافت، واحد آنزیم در گرم بافت و واحد آنزیم در میلیگرم پروتئین (فعالیت ویژه آنزیم) در قسمتهای مختلف محاسبه و مقایسه شدند.

نتایج به دست آمده نشان داد که در دستگاه ادراری از نظر میلیگرم پروتئین در گرم بافت حد اکثر میزان مربوط به بخش قشری کلیه و حداقل مربوط به بافت کلی میزانی بود. تفاوت معنا داری از نظر آماری (درسطح P≤۰/۰۵) بین میزانی بافت کلی مثانه، بخش قشری و بخش مرکزی کلیه و لایه مخاطی مثانه مشاهده شد. همچنین بین لایه مخاطی میزراه با بخش قشری کلیه و لایه مخاطی مثانه تفاوت معنا داری (درسطح P≤۰/۰۵) بین بافت کلی میزراه با قشر کلیه و لایه مخاطی مثانه مشاهده شد (جدول ۱).

از نظر واحد آنزیم در گرم بافت در دستگاه ادراری حداقل مقدار مربوط به بخش اطرافی کلیه و حداقل مربوط به لایه مخاطی میزراه بود. بین بخش اطرافی کلیه با سایر قسمتهای این دستگاه از نظر آماری (درسطح P≤۰/۰۵) تفاوت معنا دار وجود داشت (جدول ۱). از نظر فعالیت ویژه آنزیم (موضوع اصلی این تحقیق) در دستگاه ادراری حداقل میزان مربوط به بخش قشری کلیه و حداقل مربوط به لایه مخاطی میزراه بود. تفاوت معنادار آماری (درسطح P≤۰/۰۵) بین بخش قشری کلیه با سایر قسمتهای مورد مطالعه این دستگاه مشاهده شد (جدول ۱).

فقط در کبد ساخته می شود و فقط در کبد نیز وجود دارد. با توجه به تحقیقاتی که در سالهای اخیر انجام شده مشخص گردید که در همه حیوانات و نیز سایر اندامهای بدن علاوه بر کبد رودنیز وجود دارد. به طوری که می توان اظهار داشت که میزان این آنزیم در هر بافت به میزان روبرو شدن بافت با سیانور بستگی دارد. برای مثال بافت پوششی سیرایی مقداری زیادی از این آنزیم را داراست و علت آنهم رو به رو شدن زیاد این بافت با گیاهان سیانوژنیک است (۵.۸.۹.۱۰.۱۱).

تنها دستگاهی که از نحوه توزیع رودنیز در آن اطلاعی در دسترس نیست، دستگاه ادراری و تناسلی است. اهمیت این دستگاه در تولید مثل و افزایش نسل در امور دامداری بره‌مگان روشن است. به این دلیل بر آن شدیم تا نحوه توزیع و میزان فعالیت آنزیم رودنیز را در دستگاه ادراری و تناسلی گوسفند نر و ماده بررسی نماییم.

مواد و روش کار

تهیه نمونه: نمونه های مورد بررسی در این تحقیق قسمتهای مختلف دستگاه ادراری و تناسلی نر و ماده گوسفند بود. نمونه ها از کشتار گاه صنعتی فارس جمع آوری و سپس در کنار یخ به بخش بیوشیمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز منتقل گردیدند. پنج عدد دستگاه ادراری و پنج عدد دستگاه تناسلی نر و پنج عدد دستگاه تناسلی ماده تهیه شد. در آزمایشگاه بیوشیمی بلافضله بافت‌های مورد نظر از نواحی مختلف سه دستگاه مذکور به صورت تازه تهیه شده و با اینکت گذاری در داخل شیشه های مخصوص در فریزر نگهداری شدند. به علت این که نمونه ها برای بررسی آنزیم و پروتئین تهیه شده بودند، اگر بلافضله بعد از جمع آوری امکان مطالعه آنها نبود (به علت ضیغ وقت) حتماً فریز می شدند. در غیر این صورت در اثر انولیز بافتی آنزیمها خاصیت خود را از دست داده و دیگر قابل استفاده نبودند.

بافت‌های مورد بررسی در دستگاه ادراری: بخش قشری کلیه، بخش مرکزی کلیه، میزناه، مخاط مثانه، بافت کلی مثانه، بافت کلی اپیدیدیم، بافت کلی مجرای دفران، بافت کلی قصیب فاقد میزراه، غده پروستات، کیسه منی، غده کوپر، در دستگاه تناسلی ماده: بافت کلی جسم زرد، بخش قشری تخمدان، ن، بخش مرکزی تخمدان، بافت کلی لوله تخم بر، بافت کلی شاخ رحم، مخاط شاخ رحم، بافت کلی بدن رحم، مخاط بدن رحم، بافت کلی گردن رحم، مخاط گردن رحم، بافت کلی مهبل، مخاط مهبل.

عصاره گیری: جهت تهیه عصاره بافت لازم بود که حداقل یک گرم بافت درون هاون چینی وزن گردد. در بعضی از موارد میزان بافت‌های تهیه شده در این تحقیق خیلی کم بود (مانند لایه مخاطی میزراه) به طوری که حتی با مخلوط کردن چند نمونه حدود ۱۰ میلیگرم بافت تهیه می شد. بعد از ریختن بافت درون هاون چینی روی بافت درون را توسط مایع ریخته می شد تا بافت کاملاً منجمد شود. در این حالت بافت را توسط دسته هاون کوبیده تا به شکل پودر در آید. گاهی اوقات لازم می شد که ریختن ازت مایع برای یخ زدن بافت چندین بار تکرار شود. بعد از این که بافت به صورت پودر درآمد، بافر فسفات pH=۷/۵ مولار با ۰/۲۵ میلیگرم بافت تهیه شد تا ۱ به ۴ (یک گرم بافت و چهار سی سی بافر) به بافت پودر شده اضافه شد تا به صورت همگن در آید. این بافت یکنواخت شده در ۲۵۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از این زمان محلول نسبتاً شفافی در قسمت فوقانی ورسوباتی در ته لوله باقی ماند که محلول فوقانی به عنوان



مورد مطالعه بیشتر است. یعنی کبد مهمترین منبع این آنزیم می‌باشد. میزان فعالیت رودنیز در کلیه عمدتاً بعد از کبد فرار می‌گیرد. در خرگوش این موضوع برکش است یعنی بیشترین میزان فعالیت آنزیم رودنیز مربوط به کلیه می‌باشد و کبد بعد از کلیه قرار می‌گیرد (۱۶).

همچنین طی مطالعاتی که Drawbaugh و Marrs در سال ۱۹۸۷ روی میزان رودنیز پلاسمای کبدو کلیه شش نوع حیوان مختلف انجام دادند، مشخص شد که در تمام این حیوانات کبد حاوی میزان بالایی از رودنیز بوده و بعد از آن کلیه پلاسما قرار گرفته‌اند، ولی در خرگوش میزان رودنیز کلیه بیشتر بوده و کبد پلاسما به ترتیب بعد از کلیه قرار دارند (۱۶).

در نشخوارکنندگان بافت پوششی شکمبه و نگاری و هزارلا بیش از کبد فعالیت رودنیز را نشان داده اند (۸). قسمتهای متعددی از مغز نیز فعالیت پسیار پایینی از رودنیز را نشان داده اند (۳). براساس این خلاف، فرضیه‌ای که سطح فعالیت رودنیز هر بافت را وابسته به مواجه شدن آن بافت با سیانور می‌داند، تأیید می‌شود.

در نشخوارکنندگان به علت توقف طولانی غذا در پیش معده و pH مناسب برای فعالیت آنزیم بتاگلوكوزیداز و انجام فعالیت آنزیمی میکروفلورهای دستگاه گوارش، گلوكوزیدهای سیانوتیک به اسید هیدروسویانیک، که یک ماده سمی است تبدیل می‌شوند. به علت این که در نشخوارکنندگان بافت پوششی سه قسمت ابتدایی معده، اولین بافتی است که در مواجهه با سیانور تعذیه‌ای قرار می‌گیرد، میزان فعالیت رودنیز درین کبد حیوانات مربوط به کبد گوسفت است و بیشترین فعالیت رودنیز درین سایر قسمتهاست (۸). کبد سایر حیوانات میزان فعالیت کمتری را نسبت به گوسفت نشان داده است (۸). براساس تحقیقات Dahl در سال ۱۹۸۹ وقتی سیانور از راه هوا وارد دستگاه تنفسی می‌شود دارای سمیت بالایی است. استنشاق سیانور در افق تأثیر سیانور بر روی بافتهای بینی به عنوان اولین نقطه اثر می‌باشد. مطالعات تجربی روی بافتهای بینی موش نشان داده است که آنزیم متاپولیزه کننده سیانور، در این بافتها در غلظت بالایی وجود دارد که مستقیماً در ناحیه بویایی حفره بینی محسوس است. حتی پیش بینی شده است که میزان رودنیز موجود در میتوکندریهای سلولهای تشکیل دهنده بافتهای بویایی رودنیز باشد که میتوکندریهای کبد موش می‌باشد. این مطالعات نشان داد که متاپولیزم سیانور در بینی زمانی که سیانور یا مواد سیانوتیک استشمام شده باشند به اندازه فعالیت رودنیز کبد زمانی که سیانور خورده شده باشد مهم است (۱۳).

در سگ به علت عدم تعریق از طریق غدد عرقی، حرارت بدن از طریق مخاط بینی دفع می‌شود، بدین ترتیب شناس این که این نواحی بیشتر در معرض سیانور و مواد سیانوتیک قرار بگیرند بیشتر است. بنابراین میزان فعالیت رودنیز در حفره بینی سگ نسبتاً بالا بوده و در مقایسه با گوسفت فعالیت نسبتاً بالایی را نشان می‌دهند. احتمالاً به دلیل نوع تعذیه‌ای که سگ دارد، این حیوان را می‌توان حساسترین موجود نسبت به مسمومیت با سیانور از نظر گوارشی در نظر گرفت (۹). گوسفت و خرگوش مقاومترین گونه‌ها نسبت به مسمومیت با سیانور از طریق گوارشی می‌باشند (۷، ۱۴). در تمامی قسمتهای دستگاه ادراری تناслی نر و ماده گوسفت فعالیت رودنیز مشاهده شد ولی میزان فعالیت رودنیز در قسمتهای مختلف متفاوت بود. قبل از کلیه به تنهایی و به طور کلی و همچنین روی بافت کلی مثانه از نظر میزان فعالیت رودنیز مطالعاتی صورت گرفته است (۸، ۱۰). ولی تاکنون چنین بررسی گسترده‌ای روی قسمتهای مختلف دستگاه ادراری و تناسلی

در دستگاه تناسلی قوچ (گوسفند نر) از نظر میلیگرم پروتئین در گرم بافت، حداقل میزان مربوط به بافت قضیب بود و حداکثر را بافت بیضه به خود اختصاص داد. تفاوت معنا داری از این نظر (درسطح $P \leq 0.05$) بین بافت بیضه و سایر بافتهای مطالعه شده این دستگاه، به جز کیسه منی وجود داشت. تفاوت معنا داری نیز میان قضیب (بافت حاوی حداقل میزان این فاکتور) و سایر بافتهای این دستگاه مشاهده شد (جدول ۲). در دستگاه تناسلی قوچ از نظر واحد آنزیم در گرم بافت حداکثر میزان را غده پروستات و حداقل میزان را قضیب نشان داد. تفاوت معنا دار آماری (درسطح $P \leq 0.05$) بین پروستات و سایر بافتهای قصیب، واژودفران، کیسه منی و اپیدیدیم مشاهده شد (جدول ۲). از نظر فعالیت ویژه آنزیم (واحد آنزیم در میلی گرم پروتئین) در این دستگاه حداکثر میزان را غده پروستات و حداقل میزان را قضیب به خود اختصاص داد و نیز تفاوت معنا دار آماری (درسطح $P \leq 0.05$) بین پروستات و سایر بافتهای این دستگاه مشاهده شد (جدول ۲).

در دستگاه تناسلی میش (گوسفند ماده) از نظر میلیگرم پروتئین در گرم بافت حداکثر میزان این فاکتور مربوط به لایه مخاطی گردن رحم و حداقل مربوط به لایه مخاطی رحم بود. تفاوت معنا داری (درسطح $P \leq 0.05$) بین بافت پوششی شاخ رحم با لایه مخاطی گردن رحم، بافت کلی جسم زرد و بافت کلی شاخ رحم مشاهده شد. همچنین تفاوت آماری معنا داری بین بافت کلی مهبل با بافت کلی بدنه رحم، جسم زرد و بافت کلی شاخ رحم مشاهده شد. همین طور تفاوت معنا داری هم می‌توان بین بافت کلی لوله رحم، بخش مرکزی تخدمان و بافت کلی شاخ رحم مشاهده نمود (جدول ۳). در این دستگاه حداکثر میزان مربوط به لایه مخاطی گردن رحم و حداقل میزان از نظر واحد آنزیم در گرم بافت مربوط به بافت کلی مهبل بود. تفاوت آماری معنا داری (درسطح $P \leq 0.05$) بین بافت لایه مخاطی رحم با سایر بافتهای این دستگاه مشاهده شد. همچنین تفاوت آماری معنا داری (درسطح $P \leq 0.05$) را می‌توان بین بافت کلی لوله تخم بر با سایر بافتهای به جز لایه مخاطی مهبل، جسم زرد و لایه مخاطی گردن رحم مشاهده نمود. تفاوت آماری معنا دار (درسطح $P \leq 0.05$) را نیز بین بافت جسم زرد با سایر بافتهای جز لوله تخم بر و لایه مخاطی گردن رحم مشاهده نمود. بین لایه مخاطی مهبل با بافت کلی مهبل و لایه مخاطی شاخ رحم هم تفاوت آماری معنا دار وجود داشت (جدول ۳).

از نظر فعالیت ویژه آنزیم در این دستگاه حداکثر میزان در لایه مخاطی گردن رحم و حداقل در بافت کلی مهبل مشاهده شد. تفاوت آماری معنا دار (درسطح $P \leq 0.05$) بین لایه مخاطی گردن رحم با سایر قسمتهای این دستگاه مشاهده شد (جدول ۳).

بحث

مهمنترین وظیفه‌ای که برای رودنیز می‌توان در نظر گرفت سم زدایی سیانور است. سیانور با سیتوکروم اسکیسیداز در داخل میتوکندری سلولها واکنش داده و باعث خفگی داخل سلولی می‌شود (۱۶). متاپولیزم سیانور در پستانداران به عهده دو آنزیم رودنیز و بتا مراکابت پیرووات سولفور ترانسفراز می‌باشد و درین این دو آنزیم، رودنیز نقش مهمتری را ایفاء می‌کند (۲۲). میزان فعالیت آنزیم رودنیز اکنون در کلیه بافتهای و دستگاههای بدن حیوانات و حتی در محیط کشت باکتریها انداره گیری شده است (۳، ۴، ۵، ۱۹). آنچه که از این مطالعات گستره به دست می‌آید، این است که میزان فعالیت رودنیز در کبد از همه قسمتهای



جدول شماره ۱- مقایسه میلیگرم پروتئین در گرم بافت، واحد آنزیم در میلیگرم پروتئین (فعالیت ویژه آنزیم) در قسمتهای مختلف دستگاه ادراری گوسفند.

نام بافت	میلیگرم پروتئین در گرم بافت	واحد آنزیم در میلیگرم پروتئین	واحد آنزیم در گرم بافت
بخش قشری کلیه	۸۸/۶۲ ± ۴۰/۶۶ ABDE	۱۲۲/۶۰ ± ۵۵۰۴ A	۱/۶۸ ± ۰/۹۵ A
بخش مرکزی کلیه	۷۷/۶۲ ± ۴۰/۲۳ BADEF	۱۳/۶۲ ± ۶/۷۲ BCDFG	۰/۲۴ ± ۰/۲۴ BCDEFG
میزانی	۱۱/۰۲ ± ۴/۳۹ CFG	۱/۲۳ ± ۰/۲۵ CBDFG	۰/۱۱ ± ۰/۰۳ CBDEF
بافت کلی مثانه	۶۲/۰۶ ± ۳۵/۲۰ DABEFG	۱/۶۸ ± ۰/۴۹ DBCEFG	۰/۰۹ ± ۰/۰۹ DCEFG
مخاط مثانه	۹۹/۷۶ ± ۲۵/۵۲ EABD	۲/۷۳ ± ۱/۰۶ EBCDFG	۰/۰۴ ± ۰/۰۱ EBCDFG
بافت کلی میزراه	۴۰/۲۱ ± ۱۵/۷۹ FBCDG	۱/۰۶ ± ۰/۲۳ FBCDEG	۰/۰۵ ± ۰/۰۵ FBCDEG
مخاط میزراه	۳۶/۳۵ ± ۲۴/۳۷ GBCDF	۰/۰۳ ± ۰/۰۴ GBCDEF	۰/۰۲ ± ۰/۰۱ GBCDEF

وجود حروف مربوط به هر خانه در ستون عمودی نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری در سطح ($P \leq 0.05$) می‌باشد.

جدول شماره ۲- مقایسه میلیگرم پروتئین در گرم بافت، واحد آنزیم در میلیگرم پروتئین (فعالیت ویژه آنزیم) در قسمتهای مختلف دستگاه تناسلی گوسفند نر.

نام بافت	میلیگرم پروتئین در گرم بافت	واحد آنزیم در میلیگرم پروتئین	واحد آنزیم در گرم بافت
بافت کلی بیضه	۷۹/۱۷ ± ۲۷/۷۲ ABCDFG	۳/۲۴ ± ۰/۴۳ ABCDFG	۰/۰۵ ± ۰/۰۱ ABCFG
بافت کلی اپیدیدیم	۵۲/۶۶ ± ۷/۴۱ BACDFG	۲/۳۵ ± ۳/۶۱ BACDFG	۰/۰۶ ± ۰/۰۶ BACFG
بافت کلی مجرای دفران	۴۸/۷۲ ± ۱/۰۵ CBCEFG	۱/۱۱ ± ۰/۱۳ CABDFG	۰/۰۲ ± ۰/۰۱ CBACFG
بافت کلی قضيب فاقد میزراه	۱۲/۰۶ ± ۱/۰۴ D	۰/۳۳ ± ۰/۱۰۶ DABCDGF	۰/۰۳ ± ۰/۰۱ DBACDFG
غده پروستات	۳۸/۶۶ ± ۶/۶۹ EBCEG	۲۶/۴۳ ± ۳/۹ EAG	۰/۱۶ ± ۰/۰۹ E
کیسه منی	۶۱/۷۱ ± ۷/۰۳ GBCEFG	۱/۴۱ ± ۰/۷۲ FABCDFG	۰/۰۳ ± ۰/۰۱ FBACFG
غده کوپر	۴۵/۶۳ ± ۱۲/۱۹	۳/۸۲ ± ۱/۴۲ GABCDEF	۰/۰۸ ± ۰/۰۱ GBACF

وجود حروف مربوط به هر خانه در ستون عمودی نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری در سطح ($P \leq 0.05$) می‌باشد.

به طوری که وقتی خون وارد کلیه می‌شود، درابتدا در بخش قشری کلیه، خون در مجاورت سلولها قرار می‌گیرد (۱۱۷). اگر سیانوری هم به طور احتمالی در خون موجود باشد، تا حدامکان در این بخش در مجاورت سلولها قرار گرفته و سم زدایی می‌شود. بعد از این که بخش اطرافی کلیه خونرسانی شد، خون وارد بخش مرکزی شده و از کلیه خارج می‌شود (چون مهمترین وظیفه کلیه تولید ادرار است که عمدتاً کار بخش قشری می‌باشد و سپس انتقال ادرار است که وارد سایر قسمتهای دستگاه ادراری می‌شود) (۱۱۷). میزان فعالیت رودنیز با توجه به نتایج این تحقیق در سایر قسمتهای این دستگاه بسیار کم است، بخصوص در لایه مخاطی این نواحی که به طور مستقیم در مجاورت ادرار قرار دارند. این مسئله می‌تواند نشان دهنده این واقعیت باشد که این نواحی به میزان بسیار کمی در تماس با رودنیز قرار می‌گیرند. چون مواد سازنده ادرار که در ابتدا در داخل خون می‌باشند قبل از رسیدن به این نواحی در وحله اول توسط کبد و سپس توسط بخش قشری کلیه از نظر وجود سیانور سم زدایی می‌شود و احتمالاً سیانوری که به این نواحی می‌رسد بسیار کم است (باتوجه به این اصل که میزان آنزیم رودنیز موجود در هر بافت متناسب با میزان روبرو شدن آن بافت با سیانور است). تاکنون گزارشی در مورد نحوه توزیع رودنیز در انداز تناسلی حیوانات گزارش نشده است. در این تحقیق به طور گسترده به این موضوع پرداخته شد و نتایج نشان داد که در دستگاه تناسلی قوچ، میزان فعالیت ویژه آنزیم در بیشه ۰/۰۹ درصد، اپیدیدیم ۰/۱۲ درصد، مجرای دفران ۰/۴۵ درصد، بافت کلی قضيب ۰/۵۱ درصد، غده پروستات ۰/۰۷ درصد، کیسه منی ۰/۴۵ درصد و غده کوپر ۰/۵ درصد فعالیت رودنیز کبد گوسفند است. بدین ترتیب

انجام نشده است. نتایج حاصل از تحقیق حاضر با نتایج بررسیهای قبلی روی بافت کلی مثانه و قسمت قشری کلیه مطابقت دارد. طبق مطالعات انجام شده، کلیه از نظر میزان رودنیز بعد از کبد قرار می‌گیرد (۱۴). در این مطالعه مشخص گردید که در واقع بخش قشری کلیه است که حاوی میزان بالایی از فعالیت رودنیزی باشد و بخش مرکزی کلیه فعالیت نسبتاً کمی از رودنیز را نشان می‌دهد. از نظر فعالیت ویژه آنزیم بین بخش قشری کلیه با بخش مرکزی و سایر قسمتهای این دستگاه اتفاقات آماری (در سطح $P \leq 0.05$) وجود دارد. بین سایر قسمتهای دستگاه ادراری که شامل بخش مرکزی کلیه، بافت کلی میزانی، بافت کلی میزراه و مخاط میزراه می‌باشد، از نظر واحد آنزیم در میلیگرم پروتئین تفاوت آماری (در سطح $P \leq 0.05$) مشاهده نشد. با توجه به بالا بودن میزان فعالیت رودنیز در بخش قشری کلیه که در واقع بعد از کبد قرار می‌گیرد، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً بخش قشری کلیه نقش بسیار مهمی در سم زدایی سیانور دارا می‌باشد. هنوز مشخص نیست که چرا بخش قشری کلیه میزان بالایی از فعالیت رودنیز را نسبت به قسمت مرکزی و سایر قسمتهای دستگاه ادراری نشان می‌دهد، ولی می‌توان دو دلیل احتمالی برای آن در نظر گرفت. یکی بالا بودن میزان میتوکندریهای موجود در سلولهای لوله‌های خمیده دور و نزدیک (۱۱۷) به طوری که این سلولها به علت فعالیت بسیار بالایی که در نقل و انتقال مواد از خون به ادرار و بر عکس دارند، حاوی میزان بالای میتوکندری می‌باشند، و چون ثابت شده است که میتوکندریهای رودنیز بالایی دارند (۲۱) بدین ترتیب می‌توان بالا بودن رودنیز این نواحی را توجیه نمود. دیگر این که بالا بودن رودنیز در قسمت قشری احتمالاً به نحوه خونرسانی کلیه ارتباط دارد.



جدول شماره ۳- مقایسه میلیگرم پروتئین در گرم بافت، واحد آنژیم در گرم بافت، واحد آنژیم در میلیگرم پروتئین (فعالیت ویژه آنژیم) در قسمتهای مختلف دستگاه تناسلی گوسفند ماده

نام بافت	میلیگرم پروتئین در گرم بافت	واحد آنژیم در میلیگرم پروتئین	واحد آنژیم در گرم بافت
بافت کلی جسم زرد	$۹۱/۴۱ \pm ۴۸/۰$	$۱۲/۱۹ \pm ۱۰/۵۲$	ADL
بخش قشری تخمدان	$۶۱/۱۸ \pm ۷/۹$	$۲/۸۸ \pm ۱/۷۳$	BCEFGHIKL
بخش مرکزی تخمدان	$۶۱/۱۹ \pm ۸/۱۶$	$۲/۸۵ \pm ۱/۹۳$	CBEFGHIKL
بافت کلی لوله تخم بر	$۶۰/۹ \pm ۱۳/۹۷$	$۱۲/۹ \pm ۱۳/۷۰$	DABCDFGHJKL
بافت کلی شاخ رحم	$۹۴/۱۹ \pm ۱۵/۳۵$	$۴/۱۶ \pm ۱/۹۷$	EABCDEGHJKL
مخاط شاخ رحم	$۲۸/۸۱ \pm ۴/۱۳$	$۱/۴۲ \pm ۱/۹۳$	FABCDEGHJKL
بافت کلی بدن رحم	$۸۳/۷۲ \pm ۲۶/۹۵$	$۳/۸۱ \pm ۰/۳۸$	GABCDEFHJKL
مخاط بدن رحم	$۷۶/۵۶ \pm ۱۷/۵۱$	$۲/۴۲ \pm ۱/۳۹$	HABCDFEGIJKL
بافت کلی گردن رحم	$۵۲/۳۶ \pm ۲۲/۵۴$	$۳/۸۸ \pm ۱/۴۹$	IABCDFGHJKL
مخاط گردن رحم	$۱۱/۱۷ \pm ۲۲/۹۳$	$۲۱/۹۵ \pm ۹/۹۹$	JAD
بافت کلی مهبل	$۵۱/۱۶ \pm ۱۱/۸۸$	$۰/۷۶ \pm ۰/۲۹$	KABCDFGHIL
مخاط مهبل	$۷۰/۳۲ \pm ۳۳/۰۱$	$۱۱/۱۹ \pm ۷/۳۹$	LABCDEGHIK

وجود حروف مربوط به هر خانه در خانه دیگر در هر ستون عمودی نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری در سطح ($P \leq 0.05$) می‌باشد.

کلی شاخ رحم $۱/۸۴$ درصد، لایه مخاطی شاخ رحم $۹/۳$ درصد، بافت کلی بدن رحم $۹/۳$ درصد، لایه مخاطی بدن رحم $۹/۸$ درصد، بافت کلی گردن رحم $۰/۳۵$ درصد، لایه مخاطی گردن رحم $۱/۴۷$ درصد، بافت کلی مهبل $۰/۱۸$ درصد، لایه مخاطی مهبل $۳/۱۵$ درصد میزان فعالیت ویژه آنژیم رودنیز کلیه بود. از نظر واحد آنژیم در گرم بافت بین قسمتهای مختلف این دستگاه تفاوت معنا دار آماری (در سطح $P \leq 0.05$) دیده شد، ولی از نظر واحد آنژیم در معنا دار آماری (در سطح $P \leq 0.05$) نشد. بجز بافت پوششی گردن رحم که تفاوت معنا دار آماری (در سطح $P \leq 0.05$) بین این بافت و سایر قسمتهای این دستگاه مشاهده گشت. دلیل این نحوه توزیع مشخص نیست و به طور احتمالی می‌توان آن را به وظیفه گردن رحم ربط داد. گردن رحم در تمام مدت سیکل فحلی و حتی در تمام طول آبستنی به جز در زمان فحلی برای ورود اسپیرماتوزونیدها و زمان زایمان برای خروج نوزاد بسته است (۱۱). بسته بودن گردن رحم در واقع یک مکانیسم دفاعی برای رحم می‌باشد. این عمل باعث می‌شود که هیچ عامل خارجی نتواند وارد رحم شود. چون که بافت رحم بسیار حساس بوده و هم چنین، جنین موجود در رحم نیز بسیار حساس است و کوچکترین عفونت یا عامل خارجی می‌تواند باعث صدمه به رحم، یا جنین شود (۱۱). در دستگاه تناسلی ماده اگر مواد یا میکرو ارگانیسم هایی بخواهند وارد رحم شوند باید از گردن رحم بگذرند (۱۱، ۱۷). احتمالاً روح همین اصل در این قسمت باید میزان رودنیز نسبت به سایر قسمتهای این دستگاه بیشتر باشد (این مواد یا میکرو ارگانیسم هایی می‌توانند به علت آنودگی قضیب و یا آنودگیهای نواحی قبل از رحم به دلایل مختلف ایجاد شوند). به علت این که مخاط گردن رحم حاوی سلولهایی است که مواد موكوسی ترشح می‌کنند (میزان این ترشحات در مراحل مختلف سیکل فحلی بیشتر باشد)، شاید دلیل بالا بودن رودنیز در این قسمت وجود این ترشحات موكوسی در این ناحیه باشد.

باتوجه به کلیه مطالب فوق می‌توان گفت در تمامی بافت‌های دستگاه ادراری و تناسلی نر و ماده گوسفند (به جز قشری کلیه) میزان فعالیت رودنیز بسیار پایین است. وجود مقدار کم رودنیز در این بافت‌ها شاید به دلیل در

درمی یابیم که میزان فعالیت رودنیز در دستگاه تناسلی نر بسیار کم است. پس قسمتهای مختلف این دستگاه به میزان بسیار کمی درمما ججه با سیانور قرار می‌گیرند و در واقع نقش مهمی برای سم زدایی سیانور برای این دستگاه نمی‌توان قابل شد. به عبارت دیگر می‌توان گفت که سیانور قبل از رسیدن به دستگاه تناسلی توسعه کبد و بخش قشری کلیه سم زدایی شده است.

در دستگاه تناسلی نر فقط در غده پروستات فعالیت ویژه آنژیم (واحد آنژیم در میلیگرم پروتئین) نسبت به سایر قسمتهای این دستگاه دارای تفاوت معنا دار آماری (در سطح $P \leq 0.05$) می‌باشد. بالا بودن نسبی رودنیز احتمالاً بدليل نوع ترشحاتی است که این غده دارد. چون که ترشحات این غده در نگهداری و حفظ اسپر ماتوزوئیدها که سلولهای بسیار حساسی هستند بسیار مهم و مفید می‌باشند و در واقع این ترشحات یک محیط مناسب و مساعدی را برای اسپر ماتوزوئیدها فراهم می‌آورند (۱۱). بدین ترتیب وجود رودنیز ممکن است برای این منظور باشد. در این دستگاه حداقل رودنیز در بافت قضیب مشاهده شد. با توجه به فیزیولوژی و بافت شناسی قضیب که فقط به عنوان یک عضو انتقال دهنده منی و ادرار می‌باشد و بافت آنهم به طور عمدی یک بافت فیبروز بسیار سخت است (۱۱، ۲۰). بدین صورت کم بودن میزان رودنیز در این اندام قابل توجیه می‌باشد. میزان رودنیز بیضه نیز نسبتاً بالا مشاهده شد. این امر احتمالاً بدليل وجود سلولهای سرتولی داخل بافت بیضه باشد. چون کار این سلولها محافظت و نیز تغذیه اسپر ماتوزوئیدها است (۱۱، ۱۷). بدین دلیل، وجود رودنیز ممکن است به عنوان یک وسیله دفاعی در برابر سم سیانور برای این سلولها لازم به نظر برسد.

در مورد میزان رودنیز دستگاه تناسلی ماده تاکنون گزارشی صورت نگرفته است. فقط عبدالرسول نیا و اوجی در سال ۱۹۸۶ روی میزان رودنیز جفت انسان کار کرده اند و میزان آن را حدود ۵ درصد مقدار رودنیز موجود در کبد یافته‌اند (۶). این بررسی نشان داد که در کلیه قسمتهای مورد مطالعه دستگاه تناسلی میش فعالیت رودنیز مشاهده می‌شود، ولی میزان آن بسیار پایین است. به طوری که میزان فعالیت ویژه آنژیم در بافت جسم زرد $۲/۵۴$ درصد، بخش اطرافی تخمدان $۱/۰۲$ درصد، لوله تخم بر $۳/۷$ درصد، بافت



References

۱. پوستی، ا. (۱۳۶۸): بافت شناسی مقایسه ای، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه: ۲۶۶-۲۵۵.
۲. تقیونیان پور، ه. (۱۳۶۶): بررسی مقایسه ای آنزیمهای رودنیز و بتا مرکاپتوسولفورترانسفراز در بافتها و اندامهای مختلف گاو و گوسفند، پایان نامه دوره دکتری دکتری عمومی دانشگاه شیراز، شماره ۱۴۵.
۳. خامنه باقری، م. (۱۳۷۲): بررسی فعالیت آنزیم رودنیز در دستگاه عصبی مرکزی (CNS) گوسفند، پایان نامه دوره دکتری عمومی دانشگاه شیراز، شماره ۴۵۹.
۴. غفاری طاری، ا. ه. (۱۳۶۶): بررسی مقایسه ای آنزیم رودنیز و بتا مرکاپتو پروپوت سولفورترانسفراز در بافتاهای مختلف طیور گوشتی، پایان نامه دوره دکتری عمومی، دانشگاه شیراز، شماره ۱۱۵.
۵. یوسفی، م. (۱۳۷۲): بررسی توزیع آنزیم رودنیز در تیموس، طحال، مغز استخوان و غدد لنفاوی گوسفند و خرگوش، پایان نامه دوره دکتری عمومی، دانشگاه شیراز، شماره ۴۶۷.
6. Abdolrasulnia, R. and Owji, A.A . (1986): Partial purification and properties of rhodanese from human placenta. Ind. J. of Med. Sci. 13: 29-32.
7. Amador, E. and Wacker, W.E.C. (1970): Enzyme in Genitourinary Disease in Diagnostic Enzymology. Lea & Febiger, USA, PP:137-170.
8. Aminlari, M. and Gilanpour, H. (1991): Comparative studies on the distribution of rhodanese in different tissue of domestic animals. Comp.Biochem. Physio. 99B, 3:637-677.
9. Aminlari, M., Vaseghi, T. and Kargar, M.A. (1993): The cyanid mathabolizing enzyme (Rhodanese) in different part of respiratory system of sheep and dog. Toxicol. Appl. Pharmacol. 123: 67-71.
10. Aminlari, M., Gilanpour, H., Taghavianpour, H. and Vaseghi, T. (1989): Ccomparative studies on the distribution of rhodanese and beta -mercaptopyrorate sulfur transferase in different organ of sheep (*Ovis aries*) and cattle (*Bos taurus*), Comp. Biochem. Physiol. 72C: 259-262.
11. Arthur, G., Noakes, D. and Person, H. (1989): Veterinary Reproduction and Obstetrics, 6th ed. Baillier Tindall, London, PP:14-24,511-514.
12. Chabot, J.C. and Remsburg, L.J.V. (1984): Rhodanese from Arcoptecas Aethiops (Vervet monkey) liver, purification and some characteristics, Int. J. Biochem. 16:539-546.
13. Dahl, A.R. (1989): The cyanid metabolizing enzyme (rhodanese) in rat nasal respiratory and olfactory mucosa, Toxicology Letters. 45:199-205.
14. Delvin, D.J., Mills J.W. and Smith, R.P. (1989): Histochemical localization of rhodanese activity in liver and skeletal muscle. Toxicol. Appl. Pharmacol. 97: 247-255.

عرض قرار نگرفتن این اعضاء با سیانور موجود در خون و یا سیانور محیط باشد. چون که امکان مواجه شدن با سیانور و ترکیبات سیانوزنیک در این دستگاه ها بسیار کم است، سنتز این آنزیم بتدریج در آنها کاهش یافته و یا اینکه آنها به علت عدم مواجهه زیاد با سیانور توانایی ساخت رودنیز به مقدار زیاد را نیافته اند.

پس به طور کلی درمی یابیم که در دستگاه ادراری بخش قشری کلیه در سم زدایی سیانور نقش مهمی دارد (در حد کبد). در سایر قسمتهای این دستگاه ها چنین نقشی مشاهده نمی شود. همچنین قسمتهای مختلف دستگاه تناسلی نر و ماده هم دارای میزان بسیار کمی فعالیت رودنیز هستند. این واقعیت می تواند بیانگر مواجهه ناچیز این دستگاه ها با سیانور باشد و و در مقایسه با کبد، کلیه، اپی تلیوم نگاری، سیرالی و شیردان نشخوار کندگان، بخش قشری کلیه و حتی قسمت بویایی دستگاه تنفسی حیوانات نقش بسیار ضعیفی را در سم زدایی سیانور داشته باشند.

15. Drawbaugh, R.B. and Marrs, T.C. (1987): Inter species difference in rhodanese (Thiosulfate sulfur transferase Ec.2.81.1) activity in liver,kidney and plasma, Comp. Biochem. Physiol. 86B: 306-310.
16. Dudech, M., Frendo, J. and Koj, A. (1980): Subcellular compartmentation of rhodanese and beta –mercaptopyrorate sulfur transferase in the liver of some vertebrate species, Comp. Biochem. Physiol. 65b: 383-386.
17. Iwata, N., Inazu, N. and Stih, T.(1990): The purification and properties of aldose reductase from rat ovary, Arch. Biocem. Biophysics. 282, 13: 70-77.
18. Junquera, L.C., Carnerio, J. and Lon, J.A. (1986): Basic histology, 5th ed. Lang, PP: 413-434, 468-484, 485-512.
19. Lany, B. (1992): Rhodanese activity: A simple and reliable taxonomic tool for gram negative bacteria, Med. Microbiol. 15: 263-266.
20. Lowry, O.H., Resenbrough, N.J., Farr, A.L. and Ranall, R.J. (1951): Protein measorment with folic pheno reagent, Biol. Chem.193:265-195.
21. Merill, G. A., Horowitz, S.P., Bowman, J. and Benthey, K. (1988): Detection of timdependent and oxidatively induced antigens of bovine liver rhodanese with monoclonal antibody J. Biol.Chem.163:19324-295.
22. Sorbo, B.O. (1953): Crystalline rhodanese II enzyme catalysed reaction .Acta.Chem.Scand.7:1129-1130.
23. Westley, J. (1973): Rhodanese advance in enzymology releted areas molecular biology, Jhohn Wiley Sons Inc, PP: 327-368.

