المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٠، العدد ١، ٢٠٠٦ (١-٨)

التغييرات الحاصلة في أنزيمي الألانين أمينوترانسفيريز والأسبارتيت أمينوترانسفيريز في بلازما الدم و في الكلية و الكبد في الارانب المعاملة بكلوريد الكادميوم

خيرالدين محي الدين ذنون[١] و عبد الرحمن سالم عمر[٢]
[١] فرع الفسلجة، كلية الطب البيطري، [٢] قسم علوم الحياة، كلية التربية،
جامعة الموصل، موصل، العراق

(الاستلام ٢٢ آيار ٢٠٠٥؛ القبول ٤ نشرين الاول ٢٠٠٥)

الخلآصـة

أستخدمت ذكور الأرانب البالغة لدراسة التاثير السمي الـذي يحدثه الكادميوم المعطى عن طريق الفم وبجرعتين لمعرفة مدى تاثيره على أنزيمي الألانين أمينو ترانسفيريز والأسبارتيت أمينوترانسفيريز وبعض الانسجة. قسمت الارانب الى ثلاثة مجاميع(٦ حيوانـات/مجموعة) جرعت المجموعة الاولى ٣٠ ملغم كلوريد الكادميوم/كغم والثانية ٦٠ ملغم/كغم في حين جرعت المجموعة الثالثة بالماء المقطر واعتبرت مجموعة سيطرة. عومـلت الحيـوانات يوميا عن طريق الانبوب المعدني لمدة ثمانية اسابيع. وقد اوضـحت النتائج ان كلوريد الكادميوم احدث زيادة معنوية فـي فعالية انزيم الالانين امينو ترانسفيريز في مجموعتـي الكادميوم وفي فعالية انزيم والاسبارتيت امينو ترانسفيريز في المجـموعة المعامـلة ٦٠ ملغم/كغم من الكادميوم. وأظهر الفحص المجهري النسبجي وجود تغيرات نسيجية في الكبد والكلى وكانت اكثر شدة في مجموعة ٦٠ ملغم/كغم.

CHANGES IN ALANINE AMINOTRANSFEARASE, ASPARTATE AMINOTRANSFEARASE IN BLASMA, KIDNEY AND LIVER IN RABBITS TREATED WITH CADMIUM CHLORIDE

K. A. Mohi-Aldeen[1] and A. R. S.Omar[2]
[1] Department of physiology, college of Veterinary Medicine, [2] Department of Biology, college of Education, University of Mosul, Mosul, Iraq

ABSTRACT

The study was designed to investigate the subchronic toxic effect of cadmium chloride administered orally on alanine aminotransfearase (ALT), aspartate aminotransfearase (AST) activity and certain tissues in adult male rabbits. The animals were randomly divided into 3 groups (6 animals lgroup). The first and second groups were administered cadmium chloride (30 and 60 mg/kg respectively). The third group was given distilled water and served as a control. All groups were treated daily by gavage needle for a period of eight weeks. The results demonstrated that cadmium chloride(30 and 60 mg/kg) caused a significant increase in alanine aminotransfearase activity in treated animals,

while a significant increase in aspartate aminotransfearase activity was reported only in animals administered cadmium chloride at a dose of 60 mg/kg.

Histologically, cadmium-treated groups showed lesions in liver and kidney. These lesions were more severe in animals treated with 60 mg cadmium chloride than those treated with 30 mg cadmium chloride.

المقدمـــة

يعد الكادميوم احد العناصر الثقيلة السامة الموجودة في الطبيعة بصـورة غير نقية مرتبطا بخامات اخرى مثل الخارصين (١). وان استخدام الاسمدة الفوسفاتية المحتوية على الكادميوم تلعب دوراً رئيساً في تلوث التربة والماء والهواء بالكادميوم الأمر الذي يمهد انتقاله الى حيوانات المزرعة ، فضلاً عن الخضراوات التي تعد مصدراً غذائياً اساسياً للانسان (٢). ويتراكم معظم الكادميوم الممتص في الكبد والكلى حيث يتركز بهما بنسبة ٥٠-٧٠% من محتوى كادميوم الجسم (٣) . ويمتلك الكادميوم عمراً نصفياً طويلاً الأمر الذي يزيد من خطورة تراكمه في الجسم مدى الحياة (٤). واثبتت الدراسات الخلل الوظيفي الذي يلحقه الكادميوم بالكبد وذلك من خلال قياس الانزيمات الدالة على ذلك مثل الألانين امينوترانسفيريز ALT والاسبارتيت امينوترانسفيريزAST والسوربيتول دي هايدروجينيز SDH واللاكتيت دي هايدروجينيز LDH (٥-٨). وتعد الكلى الهدف الرئيسي لسمية الكادميوم عند التعرض المزمن (٩،١٠). اذ لاحظ ماتسورا وجماعته (١١) تغيرات نسيجية في تركيب الكلية عند التعرض للكادميوم. لذا صممت الدراسة الحالية لاستقصاء التأثيرات السلبية التي تحدثها الجرع المتكررة غير الحادة من الكادميوم المعطى عن طريق الفم باستخدام الانبوب المعدي على فعالية انزيمي الألانين امينوترانسفيريز والاسبارتيت امينوترانسفيريز في البلازما وعلى انسجة الكبد والكلى في الارانب.

المواد وطرائـــق العمـل

الحيوانـات:

استـــخدمت في هذه الـدراسة ذكور الارانب المحلية البالغة (١٨ أرنب) باوزان تراوحت ١٣٥٠-١٦٥٠ غم. ووضعت في اقفاص خاصة لتربية الارانب وتركت لمدة أسبوعين للتأقلم مع الظروف الجديدة وزودت بالماء والغذاء المركز (اضـــافة الى العلف الاخضر) طيلة مدة الدراسة. وتميزت غرفة الحيوانات بدرجة ضوئية مقدارها ١٠ ساعات ضوء و١٤ ساعة ظلام ودرجة حرارة (٢٤ ±٢ م°).

تحضير الجرع:

تم أذابة ٣ غم من كـلوريد الكادميوم في ١٠٠ مل ماء مقطر للحصول على تركيز ٣٠ ملغم كلوريد الكادميوم/مل، وأذابة ٦ غم منه في ١٠٠ مل ماء مقطر للحصول على تركيز ٦٠ ملغم كلوريد الكادميوم/مل.

تصميم التجربة:

قسمت الارأنب عشوائيا الى ثلاثة مجاميع (٦ أرانب/مجموعة) وكما يأتي:

١- المجموعة المعاملة بجرعة ٣٠ ملغم/كغم من وزن الجسم.

٢- المجموعة المعاملة بجرعة ٦٠ ملغم/كغم من وزن الجسم.
٣- مجموعة السيطـــرة.

جرعت حيوانات المجموعتين الاولى والثانية بالكادميوم وحسب الجرعة المدونة امام كل مجموعة، اما مجموعة السيطرة فقد جرعت بالماء المقطر. وقد جرعت الحيوانات يوميا لمدة ثمانية اسابيع عن طريق الفم. واجريت عمليات سحب الدم أسبوعيا من الوريد الحافي لاذن كل حيوان بطريقة النضوح خارج الوعاء الدموي. وتم جمع عينات الدم (٢ مل من كل حيوان) في انابيب تحتوى على مانع التخثرEDTA قبل المعاملة ومن ثم أسبوعيا بعد اعطاء الكادميوم وكذلك الحال في مجموعة السيطرة. وقد فصلت البلازما باستعمال جهاز الطرد المركزي وحفظت في المجمدة بدرجة حرارة –٤ م° لليوم الثاني لغرض قياس فعالية انزيمي الالانين امينو ترانسفيريز و الاسبارتيت امينو ترانسفيريز. اذ استخدمت لقياس هذه الانزيمات عدد التحليل [RANDOX LABORATORIES, U.k.] وتمت قراءة العينات باستخدام جهاز الطيف الضوئي عند طول موجي قدره ٥٤٠ نانومتر وحسب فعالية كل انزيم من المنحنى القياسي.

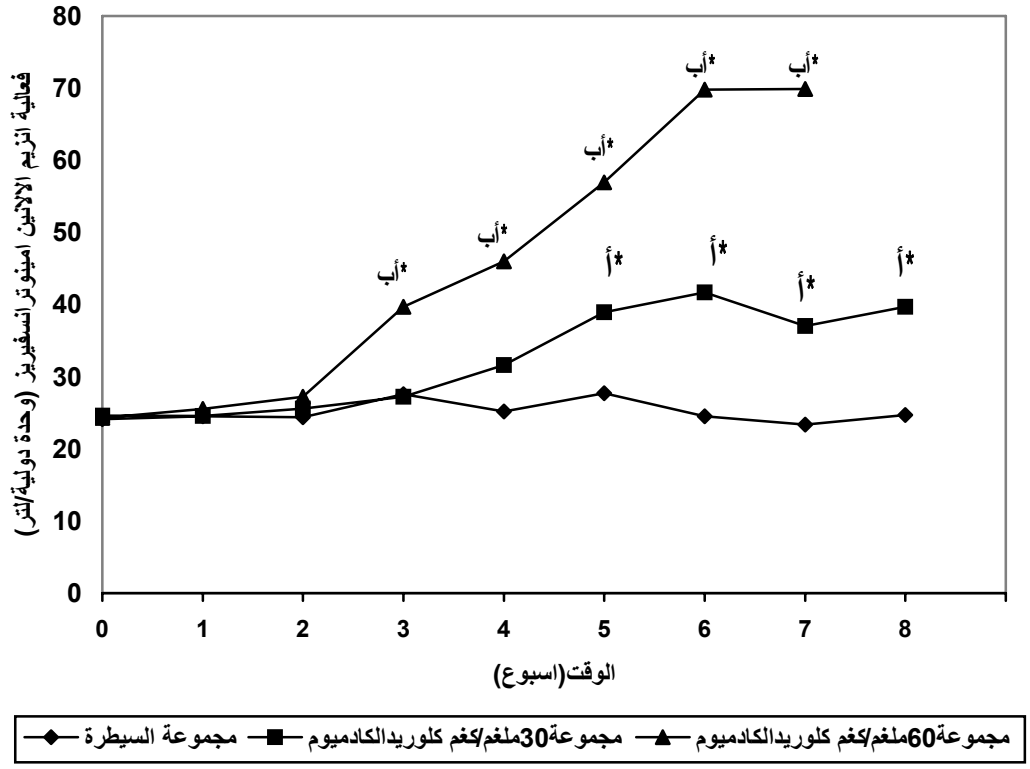
تم اجراء الصفة التشريحية لجميع الحيوانات بعد اخر عملية سحب دم وأخذت نماذج من الكبد والكليتين لغرض الفحص النسيجي. حيث حفظت في محلول الفورمالين المتعادل بتركيز ١٠%. وقطعت الى شرائح تسيجية باستعمال التقنيات النسيجية الاعتيادية، وصبغت بالهيماتوكسلين والايوسين (٨).

التحليل الاحصائي

حللت النتائج احصائيا باستخدام اختبار تحليل التباين واختبار دنكن وباستخدام مستوى احتمالية ($P<0.05$) لمقارنة الفروقات المعنوية بين المجاميع (٩).

النتائــج

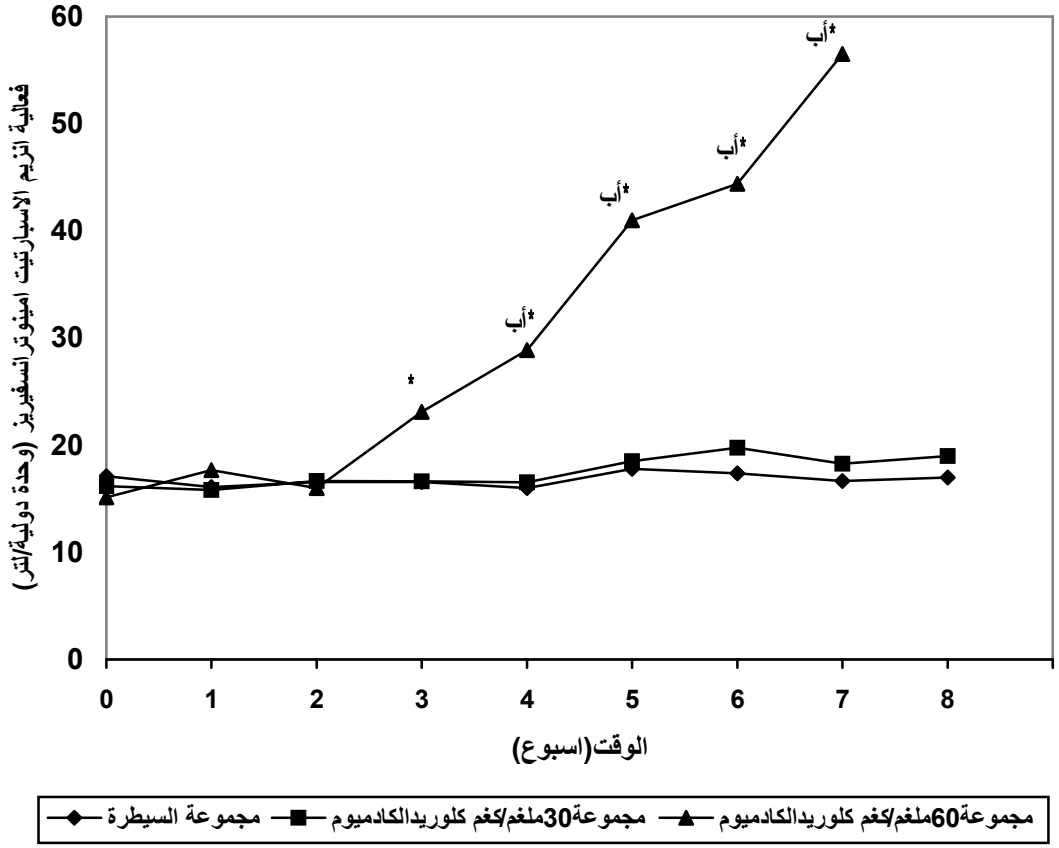
أوضحت النتائج وجود أرتفاع معنوي في فعالية أنزيم الألانين امينوترانسفيريز في مجموعة ٣٠ ملغم/كغم أبتداء من ألاسبوع الخامس حتي نهاية التجربة مقارنة بالوقت صفر ومجموعة السيطرة، في حين بدأ ألارتفاع في فعالية هذا الانزيم في مجموعة ٦٠ ملغم/كغم عندالاسبوع الثالث واستمر حتي نهاية المعاملة مقارنة بالوقت صفر لنفس المجموعة ومع الاوقات نفسها ولمجموعة السيطرة. ولم تظهر النتائج أي اختلاف معنوي في مجموعة السيطرة طيلةأسابيع الدراسة (الشكل ١).



الشكل ١: تأثير كلوريد الكادميوم في فعالية انزيم الالانين امينو ترانسفيريز في بلازما الدم لذكور الارانب البالغة.

* = القيمة تختلف معنوياعن الوقت صفر لنفس المجموعة عند مستوى احتمال اقل من ٠،٠٥.
أ = القيمة تختلف معنويا عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال اقل من ٠،٠٥.
ب = القيمة تختلف معنويا عن مجموعة ٣٠ ملغم كلوريد الصوديوم/كغم عند مستوى احتمال اقل من ٠،٠٥.

أما بخصوص تأثير الكادميوم في فعالية أنزيم الاسبارتيت امينوترانسفيريز فقد أوضحت النتائج عدم وجود فرق معنوي في هذا الانزيم في مجموعة السيطرة، كما لم تظهر أي فرق معنوي في فعالية هذا ألانزيم في مجموعة ٣٠ ملغم/كغم مقارنة بالوقت صفر ومجموعة السيطرة طيلة أسابيع المعاملة، أما في مجموعة ٦٠ ملغم/كغم فقد ظهرارتفاع معنوي في فعالية هذا الانزيم ابتداء من ألاسبوع الثالث حتي نهاية المعاملة مقارنة بالوقت صفر وأرتفاع معنوي في المجموعة نفسها ابتداء بالاسبوع الرابع حتى نهاية المعاملة مقارنة مع نفس الاوقات لمجموعة السيطرة ومجموعةكلوريد الكادميوم ٣٠ ملغم/كغم (الشكل ٢).



الشكل ٢: تأثير كلوريد الكادميوم في فعالية انزيم الاسبارتيت امينو ترانسفيريز في بلازما الدم لذكور الارانب البالغة.

* = القيمة تختلف معنوياعن الوقت صفر لنفس المجموعة عند مستوى احتمال اقل من ٠،٠٥.
أ = القيمة تختلف معنويا عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال اقل من ٠،٠٥.
ب = القيمة تختلف معنويا عن مجموعة ٣٠ ملغم كلوريد الصوديوم/كغم عند مستوى احتمال اقل من ٠،٠٥.

اما الفحص النسيجي للكبد والكلى فقد اظهر النتائج التالية:-

١. **الكبـد:**

لم تظـهر حيوانات السيطرة أي تغييرات مرضية نسيجية ,بينما ظهرت في مجموعة ٣٠ ملغم/كغم تغيـرات اقتصرت على ظهور ارتشاح طفيف للخلايا الالتهابيـة في الباحات البابية الكبدية، في حين أظهرت مجموعة ٦٠ ملغم/كغم وجود تغيرات مرضية نسيجية شديدة تمثلت بفرط دمhyperemia في الاوعية الدموية المركزية والجيبانيات sinusoides واحتقان الوريد المركزي وتورم الخلايا الكبدية مع ارتشاح كثيف للخلايا الالتهابية (غالبيتهـا لمفاوية) وخاصة في الباحات البابية وبين الفصيصات وتغير دهني.

٢. الكلـى:

لم تظـهر حيوانات مجموعة السيطرة أى تغيرات نسيجية، أما مجمـوعة ٣٠ ملغم/كغم فقد أظهرت تغيرات نسيجية اقتصرت على ارتشاح عدد قليل من الخلايا الالتهابية في النسيج الخلالي وبين النبيبات، في حين تميزت أفات الكلى في مجموعة ٦٠ ملغم/كغم بوجود تغيرات تنكسية degenerration changes وتورم غيمي cloudy swelling وتوسف في ظهارة النبيبات الكلوية وارتشاح منتشر للخلايا الالتهابية (غالبيتها لمفاوية) في النسيج وفي الكبيبات وفـرط دم فـي الاوعية والشعيرات الدموية بين النبيبات الكلوية وازدياد خلوية اللمات الكبيبيـةglomerular tufls وظهور حالة الكلاnephrosis .

ويتضح مما سبق ان التغيرات النسيجية كانت على اشدها في مجموعة كلوريد الكادميوم (٦٠ ملغم/كغم).

المناقشـة

استخدم في هذه الدراسة انزيمي الالانين امينو ترانسفيريز و الاسبارتيت امينو ترانسفيريز لانهما يعدان مؤشريـن جديدين للاذى الذي يحدثه كلوريد الكادميوم في خلايا الكبد(١٠-١٢). لقد لوحـظ ارتفاع معنوي فـي فعالية كلا الانزيمين في مجموعة ٦٠ ملغم/كغم,في حين حدث ارتفاع في فعالية أنزيم الالانين امينو ترانسفيريز فـقط في مجموعة ٣٠ ملغم/كغم وهذا يعد مؤشـرا جيدا الى ان الضرر الذى الحق بأكباد الحيوانات التي عوملت بالجرعـــة ٦٠ ملغم/كغم كان أشد عند مقارنته بمجمـوعة ٣٠ ملغم/كغم وجـاءت هذه النتائـج مـتوافقةمع نتائج عدد من الباحثين (١٢،٥).

أجريت العديد من الدراسات لمعرفة الضررالذي يسببه الكادميوم ومعظم هذه الدراسات استخدمت الحقن سواءا" أكان لفترات طويلـة (١٣)، أو بجرعات حادة (١٤)، ولجأت القليل من الدراسات الى الاسلوب المزمن عن طريق الفم.

في هذه الدراسة، أظهر الفـحص النسيـجي لاكبـاد الـحيوانات التي عوملت بكلوريد الكادميوم وجود احتقان شديد للوريد المركزي وتورم غيمي وتغير دهني والـــتهاب كبدي مع ارتشاح كثيـف للخلايا الالتـهابية خـاصة في الباحات البابية وكانت الاضرار اكثر حدة في مجموعة ٦٠ ملغم/كغم وتأتـي هذه متلائمة مع الزيادة الحاصلة في فعالية انزيمي الالانين امينو ترانسفيريز والاسبارتيت امينو ترانسفيريز في بلازما الـدم والتي تدل علـى أذى الكبد, وتطابقت تلك المظاهر في جملتها مع ما توصل اليـه (١٥) في الارانب بعد تغذيتها لمدة ما يقارب سبعة أشهر بغذاء يحتوي علـــى الكادميوم بمقدار ١٦٠ جزء من المليون. كما وجد (٥) تورم غيمي في خلايا

كبـد الجـــــرذان وتغيرا دهـــنيا ونخرا موضعيا وفي مناطق مختلفة من جراء حقنها بجرعات حادة.

من المسلم به ان التعرض المزمن للكادميوم يؤدي الى حدوث سمية الكلى في الانسـان والحيوان، لاسيما تلف النبيبات الكلوية المتصف بزيادة طرح البـروتينات ذات الـوزن الجزيئي المنخفض في البول low-molecular weight proteinuria وزيادة سكر البول glucosuria وزيادة الاحماض الامينية aminoaciduria وزيادة طـرح الكادميوم في البولcadmiumuria وهذا ماتم تشخيصه في الاشخاص المصابين بمـرض ltai-ltai في اليابان (١٦).

ان تلف الكلى يعود الى ايونات الكادميوم نفسها Cd+2 التي تتحرر من معقد كادميوم –ميثالوثيونين بوساطة الجسيمات الحالة في خلايا النبيبات وبالاخص عندما يصل تركيزها الحرج critical concentration بالكلى بين ٢٠٠-٣٠٠ ميكروغرام/غـم (١٧).

اتصف ضرر الكلى في هذه الدراسة بوجودتغيرات تنكسية وتورم غيمي وفرط دم الاوعية والشعيرات الدمـوية وازدياد خلوية اللمات الكلوية فضلا عن ارتشاح الخلايـا الالتهابية فـي النسيج الخلالي وبين الكبيبات وكانت على اشدها في مجموعة كلوريد الكادميـوم٦٠ ملغم/كغم,وربما يعود ذلك الى بلوغ ايونات الكادمـيوم تركيزها الحرج في الكلى, وقد كانت تلك الافات متوافقة مع ما توصل اليه كل مـن (١٨،١٣) عند حـقن الجرذان بالـكادميوم بطرائق مختلفة وبشكل مزمن.

المصـــادر

1. Massanyi P, Toman R, Valent M, Jones Q. Serum mineral profile of rabbits after an experimental administration of cadmium. J Environ Sci Health 1995; 30: 2221-2227.
2. Toman R, Massanyi P. Cadmium in selected organs of fallow-deer (Dama dama), sheep (Ovis aries), brown hare (Lepuseuropaeus) and rabbit (Oryctolagus cuniculus) in slovakia. J Environ Sci Health 1996; 31: 1043-1051.
3. Lind Y, Engman J, Jorhem L, Glynn AW. Accumulation of cadmium from wheat bran, sugar fiber, carrots and cadmium chloride in the liver and kidneys of mice. Br J Nutr 1998; 80: 205-211.
4. Nordberg GF, Kjellstrom T. Metabolic model for cadmium in man. Environ Health Persp 1979; 28: 211-217.
5. Dudely RE, Svoboda DJ, Klaassen CD. Acute exposure to cadmium cause severe liver injury in rats. Toxicol Appl Pharmacol 1982; 65: 302-315.
6. Dudely RE, Svoboda DJ, Kloassen CD. Time course of cadmium induced ultrastructural changes in rat liver. Toxicol Appl Pharmacol 1984;76: 150-160.
7. Kojima S, Ono H, Kigzumi M, Honda T, Takadate A. Effect of N-bezyl-D-glucamine dithiocarbamate on the renal toxicity produced by subacute exposure to cadmium in rats. Appl Pharmacol 1989; 98: 39-48.
8. Kayama F, Yashida T, Elwell MR, Luster MI. Role of tumor necrois factor-alpha in cadmium-induced hepatotoxicity. Toxicol Appl Phamacol 1995; 131: 224-234.
9. Wong KL, Klaassen CD. Tissue distributtion of cadmium and retention of cadmium in rats during postnatal development. Minimal role of hepatic metallothionein. Toxicol Appl Pharmacol 1980; 53: 343-353.
10. Sendelbach L, Klaassen CD. Kidney synthesisized less metallothionein than liver in response to cadmium metallothionein. Toxicol Appl Pharmacol 1988; 92: 95-102.
11. Matsuura K, Takasugi M, Kunifuji Y, Hori A, Kuroiwa A. Morphological effects of cadmium on proximal tubular cell in rats. Biol Trace Elem Res 1991; 31: 171-182.
12. Habeebu SS, Liu J, Klaassen CD. Cadmium-induced apoptosis in mouse liver. Toxicol Appl Phamacol 1998; 149: 203-209.
13. Hiratsuka H, Katsuta O, Toyota N, Tsuchitani M, Umemura T, Marumo F. Chronic cadmium exposure-induced renal Anemia in ovariectomized rats. Toxicol Appl Phamacol 1996; 137: 228-236.
14. Bagchi D, Vuchetich PS, Bagchi M, Hassoun EA, Tran MX, Tang L, Stohs SJ. Induction of oxidative stress by chronic administration of sodium

dicromate (chromiun VI) and cadmiun chloride (cadmium II) to rats. Free Radic Biol Med 1997; 22: 471–478.
15. Stowe HD, Wilson M, Goyer RA. Clinical and morphological effects of oral cadmium toxicity in rabbits. Arch Pathol 1972; 44: 389-405.
16. Yasuda M, Miwa A, Kitagawa M. Morphometric studies of renal lesion in Itai-Itai disease: Chronic cadmiun nephropathy. Nephron 1995; 69: 14–19.
17. Goyer RA, Miller CR, Zhu SY, Victery W. Non-metallothionein bound cadmium in the pathogenesis of cadmiun nephrotoxicity in rat Toxicol Appl Pharmacol 1989; 101: 232–244.
18. Morselt AFW, P.Stegeman JIIJ, Puvion E, Maarschal kerweerd VJ. Investigation for the mechanism of cadmium toxicity at celluler level II. An electron microscopical study. Arch Toxicol 1983; 52: 99-108.