تأثير الفايتيز المايكروبي ومستخلص بذور الحبة السوداء في بعض معايير دم الجرذان البيض المتعرضة للتسمم بكلوريد الكاديوم .

* جبار عباس احمد الساعدي ** احمد جاسم حسن النائلي ** حسين عباس سلمان الحميداوي
* جامعة القادسية/ كلية الطب البيطري ، ** جامعة القادسية/ كلية التربية

Effect of microbial phytase and *Nigella sativa seed* extract supplementation on some hematological parameter in albino rats treated to cadmium chloride toxicity

**Jabbar A.A. Al-Sa'aidi **Ahmed J. Al-Naely **Hussien A. al-hamadawi
*College of Vet. Med./ Univ. of Al-Qadisiya
**College of Education/ Dept. of Biology/ Univ. of Al-Qadisyia

Summary

The present study was conducted to determine the role of microbial phytase and *Nigella sativa* seed alcoholic extract in relieving the toxicological effects of cadmium chloride in some hematological parameters (RBC count, Hb concentration, PCV, total WBC count, Differential WBC count, and concentration of ALT, AST, & ALP).

Fourty mature male rats were randomly divided into 4 equal groups (control and three treated groups). All rats were drenched $CdCl_2$ solution (30 mg/L).T1 supplemented with the microbial phytase (500 mg/kg of provender), T2 drenched the black seed extract (200 mg/L), and T3 received both of treatments.

Eight weeks later, blood samples were obtained by heart puncture for estimation of the hematological parameters included in the present study.

The results revealed a significant increase ($P<0.05$) in RBC count, Hb concentration and PCV of T1, T2 and T3 groups compared with control especially in T3, while there is no significant differences ($P>0.05$) in total WBC count. Neutrophils & eosinophils numbers showed a significant decrease

in T1, T2 & T3 groups when compared with control, while lymphocytes showed an opposite results. ALT, AST, & ALP concentrations in T1, T2 & T3 groups showed a significant decrease ($P<0.05$) in comparison with control, especially that of T3.

It can be concluded that the microbial phytase supplementation and *Nigella sativa* seed alcoholic extract drenching have an efficient role in relieving the toxicological effects of $CdCl_2$ in rats especially when supplemented with each other.

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة بهدف معرفة دور إنزيم الفايتيز المايكروبي والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء في تقليل التأثيرات السمية لكلوريد الكادميوم في بعض معايير الدم (عدد كريات الدم الحمر وتركيز خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص والعدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض وتراكيز الإنزيمات الناقلة للأمين AST وALT وإنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP).

تم تقسيم (٤٠) جرذاً ذكراً بالغاً عشوائياً على ٤ مجموعات متساوية، وأسقيت الحيوانات ماء الشرب الحاوي على كلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم /لتر. إذ تركت الأولى بدون أي معاملة أضافية (السيطرة) وتناولت الثانية (T1) إنزيم الفايتيز مع العليقة بنسبة ٥٠٠ ملغم/ كغم. وتناولت الثالثة (T2) مستخلص بذور الحبة السوداء مع ماء الشرب بتركيز ٢٠٠ ملغم/ لتر وتناولت الرابعة (T3) المعاملتين معا. بعد انتهاء مدة التجربة البالغة ٨ أسابيع، تم سحب نماذج الدم من حيوانات التجربة بطريقة طعن القلب واستخدم قسم منه لإجراء فحوصات الدم واستخدم القسم الأخر لعزل مصل الدم لغرض قياس الإنزيمات ALT و AST وALP.

أظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في عدد كريات الدم الحمر وتركيز خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص في المجموعات T1 و T2 و T3 عند مقارنتها مع السيطرة وخصوصاً لدى الحيوانات التي تناولت المعاملتين معاً في مجموعة T3. بينما لم تظهر فروقات معنوية ($P>0.05$) في أعداد خلايا الدم البيض بين مجموعات التجربة. أما بالنسبة لأنواع خلايا الدم البيض فقد أشارت النتائج الى حصول انخفاض معنوي في نسبة الخلايا العدلة والحمضة لمجموعات المعاملة (T1 وT2 وT3) عند مقارنتها مع السيطرة في حين حصل العكس لنسبة الخلايا اللمفية التي أشارت نتائجها الى الارتفاع المعنوي في مجموعات المعاملة مقارنة مع السيطرة. كما أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في تركيز الإنزيمات ALT و AST وALP لحيوانات مجموعات المعاملة (T1 وT2 وT3) بالمقارنة مع حيوانات السيطرة، وخصوصاً في مجموعة T3 التي تناولت حيواناتها كل من إنزيم الفايتيز ومستخلص بذور الحبة السوداء معاً.

يمكن الاستنتاج ان لإنزيم الفايتيز وبذور الحبة السوداء دوراً ايجابياً في تقليل التأثيرات السمية لكلوريد الكادميوم للجرذان وخصوصاً عند أعطائهما معاً.

المقدمــة

تعد المخلفات الصناعية الحاوية على الكادميوم من اخطر الملوثات البيئية التي تضر بصحة الانسان(He et al., 2005). إذ ان التراكيز العالية من هذا العنصر تؤثر بشكل كبير في وظائف أعضاء الجسم نتيجة لاستخدامه في العديد من الصناعات كصناعة الأسمدة الفوسفاتية والصناعات البلاستيكية والطلاءات وأقطاب البطاريات والإصباغ وبالتالي سهولة انتقاله الى الإنسان والكائنات الأخرى (WHO, 2002). يؤثر الكادميوم مباشرة في وظائف الكبد مما يؤثر في بعض أجزاء الجسم بوصف الكبد اللاعب الأهم في عمليات التحول الحيوية وطرح الفضلات وبذلك يعد الكبد الهدف الأول للتسمم بالكادميوم بعد التعرض له (Smalinskiene et al., 2004).

يؤدي تناول الغذاء الحاوي على الكادميوم وخاصة في المناطق الملوثة صناعياً الى نقص الحديد ومن ثم ظهور فقر الدم (Stohs et al., 2001) ،علاوة على تلف الكليتين والرئتين وحصول الكبح المناعي (Al-Qarawi et al., 2000; Jarup, 2002). ويعود الفعل السمي للكادميوم الى زيادة عمليات أكسدة الدهون وتكوين الجذور الحرة التي تؤثر في العديد من المكونات الخلوية المهمة كالدهون والبروتينات والأحماض النووية، مؤدية الى تلف الأغشية الخلوية (Sarkar et al., 1998). وعليه وجد إن تحسين المستوى الغذائي وتوفير المعادن الأساسية كالحديد والنحاس والكادميوم وتوفير الفيتامينات والمركبات العضوية بوصفها مضادات للأكسدة يقي الكائنات الحية من سمية هذه العناصر (Rana et al., 1996). وقد وجد ان بذور الحبة السوداء تمتلك العديد من المركبات الفعالة التي تعمل على وقاية الحيوانات من فعل الجذور الحرة (Brouzetti , 1997).

اكتشف إنزيم الفايتيز لأول مرة في سنة ١٩٠٧، (Mullaney et al., 2000)، وقد استخدم هذا الإنزيم في العقود الأخيرة بوصفه مادة يمكن أضافتها مع الغذاء لرفع قيمتها الغذائية عن طريق تحرير الفسفور والمعادن من المواد الغذائية ذات المصدر النباتي عن طريق دوره في هضم حامض الفايتيك Phytic acid والذي يؤدي الى تسهيل امتصاص هذه العناصر وزيادة كفاءة الحيوان في هضم البروتين واستغلال الأحماض الامينية المتوافرة في هذه الأعلاف وبالتالي زيادة وزن الجسم واستهلاك الغذاء وتمثيله (Lim et al., 2003).

صممت التجربة الحالية لدراسة التأثيرات التي يمكن ان يؤديها إستخدام إنزيم الفايتيز ومستخلص بذور الحبة السوداء على انفراد أو مع بعضهما في تقليل سمية كلوريد الكادميوم في الجرذان البيض عن طريق دراسة معايير الدم(PCV, Hb, WBC, RBC) وإنزيمات مصل الدم (ALP, AST, ALT).

المواد وطرائق العمل

حيوانات التجربة

أجريت الدراسة في البيت الحيواني التابع الى كلية الطب البيطري/جامعة القادسية، في ظروف مكيفة من درجة حرارة وتهوية ومدة إضاءة وأعطيت الحيوانات العليقة الغذائية والماء بصورة حرة طيلة مدة التجربة.

المواد المستخدمة

١- **كلوريد الكادميوم:** استخدم في هذه الدراسة كلوريد الكادميوم $CdCl_2$ عالي النقاوه من شركة Chemical (EAC). إذ تم إعطائها للحيوانات مع ماء الشرب بتركيز ٣٠ ملغم / لتر والتي تمثل التركيز تحت السمية (Baranski et al., 1983).

2- إنزيم الفايتيز: استخدم إنزيم الفايتيز Novozymes (Bio-Feed® phytase)- Denmark مع العليقة بواقع ٥٠٠ ملغم / كغم من وزن العليقة (Shirley & Edward, 2003).

3- مستخلص بذور الحبة السوداء Nigella sativa seeds extract

تم تحضير المستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء بموجب الخطوات التي وصفها Qureshi et al. (١٩٩٢) باستخدام جهاز الاستخلاص المتتابع Soxholate. وقد استخدم المستخلص مع ماء الشرب بتركيز (٢٠٠ ملغم/ لتر) (الزبيدي،٢٠٠٧).

تصميم التجربة

تم تقسيم ٤٠ جرذاً ذكراً بالغاً عشوائياً على أربع مجموعات متساوية عوملت على النحو الآتي:

١- مجموعة السيطرة (C): أعطيت ماء الحاوي على كلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/ لتر

٢- المعاملة الأولى (T_1): أعطيت ماء الشرب الحاوي على كلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/ لتر مع إضافة إنزيم الفايتيز مع العليقة بنسبة ٥٠٠ ملغم/ كغم.

٣- المعاملة الثانية (T_2): أعطيت ماء الشرب الحاوي على كلوريد الكادميوم بتركيز٣٠ ملغم/ لتر مضافاً اليه مستخلص بذور الحبة السوداء بتركيز٢٠٠ ملغم/ لتر.

٤- المعاملة الثالثة (T_3): أعطيت ماء الشرب الحاوي على كلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/ لتر مضافاً اليه مستخلص بذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/ لتر من ماء الشرب مع إضافة إنزيم الفايتيز مع العليقة بنسبة ٥٠٠ ملغم/ كغم.

بعد مرور ٢٤ ساعة على آخر يوم من مدة التجربة البالغة ثماني أسابيع، تم تخدير الحيوانات باستخدام الكلوروفورم. و سحب منها نماذج دم بواقع ٣ مللتر من كل حيوان. وضع ١.٥ مللتر منه في أنابيب حاوية على مانع التخثر Potassium EDTA لغرض دراسة معايير الدم وعزل المصل من الدم المتبقي. وحفظت نماذج مصل الدم بدرجة (٢٠-) مئوية إلى حين إجراء الفحوصات الكيموحيوية عليها.

معايير الدراسة

١- العدد الكلي لكريات الدم الحمر (×10 ^{12} /لتر) RBCs count

استخدمت طريقة عد كريات الدم الحمر باستخدام شريحة الهيموسايتوميتر Naubaur chamber hemocytometer الموصوفة من قبل Coles (1980).

٢- تقدير مستوى خضاب الدم (غم/١٠٠مل) Hb estimation

تم حساب تركيز خضاب الدم باستخدام طريقة Cyanmethemoglobin الموصوفة من قبل Coles (1980)،

٣- حجم الكريات المرصوص(%) PCV

استخدمت طريقة Microhaematocrit في حساب حجم الخلايا المرصوص باستعمال أنابيب شعرية Capillary tubes حاوية على الهيبارين (Coles, 1980).

٤- العدد الكلي لخلايا الدم البيض (×10 ^{9} /لتر) WBCs count

تم حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض بحسب الطريقة (Dacie & Lewis, 1984).

٥- العد التفريقي لخلايا الدم البيض Differential count of white blood cells

تم حساب ١٠٠ خلية بيضاء بمختلف أنواعها ثم استخرجت النسبة المئوية لكل نوع من أنواع الخلايا البيض بحسب طريقة (Dacie & Lewis, 1984).

٦- تقدير فعالية الإنزيمات الناقلة للامين ALT و AST

اتبعت الطريقة اللونية للعالمين Reitman & Frankel (1957) لتقدير فعالية الإنزيمات الناقلة للامين ALT و AST واستخدمت عدة التحاليل Kit المجهزة من شركة Giesse الإيطالية.

٧- تقدير فعالية إنزيم الفوسفاتير القاعدي في مصل الدم ALT

تم تقدير فعالية إنزيم ALP باستخدام جهاز الطيف الضوئي باستعمال عدة مجهزة من شركة (Biomerieux) الفرنسية (Belfeld & Goldberg, 1971).

النتائج والمناقشة

التغيرات الدموية

يتضح من النتائج حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في عدد كريات الدم الحمر وتركيز خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص لدم الجرذان المتناولة لكلوريد الكادميوم (جدول ١)، مما يشير الى إن التسمم بهذا العنصر يؤدي الى حصول حالة من فقر الدم جاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصل اليه Ognjaronic et al., (2003). إذ يؤدي التسمم بكلوريد الكادميوم الى حدوث اضطرابات في تصنيع هرمون الارثروبيوتين المسؤول عن تنظيم أنتاج كريات الدم الحمر ونضجها في نخاع العظم نتيجة للخلل الذي يحصل في النبيبات الكلوية الدانية، لاسيما ان هذه النبيبات تعد الموقع الرئيسي لتصنيع العامل Renal erythropoietic factor المسؤول عن تصنيع هذا الهرمون (Loga et al., 1992)، اذ ان التسمم بالكادميوم يؤثر بصورة مباشرة في أنسجة الكليتين وخصوصاً تلف ظهارة هذه الانيبيات (Jarup et al., 2000, Jarup., 2002) وعليه تؤدي الاضطرابات الحاصلة في تصنيع الارثروبيوتين الى انخفاض عملية تكوين كريات الدم في نخاع العظم (Hiratsuka et al.,1996; Mackova et al.,1996). علاوة على ذلك يتسبب التسمم بالكادميوم بزيادة توليد الجذور الحرة التي تعرف بآثارها السلبية في وظائف الجسم ومنها كريات الدم الحمر نتيجة لمهاجمة الجذور الحرة للمكونات الخلوية ومنها الدهون وخاصة تلك التي تحتوي على الأحماض الدهنية غير المشبعة الموجودة في أغشية كريات الدم الحمر وبالتالي تسبب هشاشة الكريات وسرعة تحطمها (Stohse et al.,2001; Kowakzyk et al.,2003).

تشير النتائج المبينة في الجدول (١) الى أن استخدام الفايتيز والحبة السوداء مع الكادميوم أدى الى تحسين معايير الدم لتصل الى مستوى قريب من معدلات في مجموعة السيطرة واتفقت هذه النتائج مع ما توصل له Stahl et al., (١٩٩٩). حيث إن إضافة الفايتيز الى الغذاء يزيد من تحرر الحديد من الفايتيت في القناة الهضمية وزيادة امتصاصه وبالتالي ينعكس ذلك إيجاباً في تحسين مستوى خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص. فضلاً عن الدور الايجابي للفايتيز في تحرير الفسفور من الفايتيت والذي يحسن من التفاعلات الإنزيمية وأيض الكاربوهيدرات والدهون، وان زيادة تلك الفعاليات يحتاج كميات أضافية من الأوكسجين مما يحفز الكليتين لإفراز كميات أضافية من الارثروبيوتين لغرض تنشيط نخاع العظم وإنتاج كريات الدم الحمراء (Ekelund, 2003).

من جانب أخر أدى المستخلص الكحولي للحبة السوداء دوراً مهماً في حماية أغشية كريات الدم الحمر من الآثار السلبية للجذور الحرة المتولدة بفعل الكادميوم وذلك يعود الى القيمة العالية للبذور لاحتوائها على الكثير من مضادات الأكسدة خصوصاً فيتامين C و E . واتفقت هذه النتائج مع الدراسة التي قام بها Kanter et al., (٢٠٠٥).

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى إن تجريع الحيوانات بكلوريد الكادميوم لوحده أدى الى ارتفاع معنوي ($P<0.05$) تدريجي في أعداد خلايا الدم البيض الكلية وأعداد الخلايا الحبيبية (العدلة والحمضة) قابله انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) تدريجياً في أعداد الخلايا اللمفية وازداد هذا الانخفاض مع تقدم مدة التعرض مقارنة مع المجاميع T_1 و T_2 و T_3. من جانب أخر لم يلاحظ وجود فرق معنوي في معدل أعداد الخلايا الوحيدة بين المجاميع (الجدول- ٢) وجاءت هذه النتائج متفقة مع نتائج دراسات أخرى (EL-Sebai et al., 1994; Liu et al., 1997; Wershana, 2000). ويمكن تفسير أسباب هذه الزيادة في أعداد الخلايا البيض بوصفها وسيلة دفاعية للحالات الالتهابية الحاصلة في أنسجة الجسم وخصوصاً الكبد والكليتين (Rebaur et al., 2005 a, b). فقد لوحظ أن التعرض لأكاسيد الكادميوم عن طريق الاستنشاق أو تناول كلوريدات وكبريتات الكادميوم مع الغذاء يؤدي الى زيادة في نسبة الخلايا الحمضة أكثر من بقية الأنواع. وكما هو معلوم إن الخلايا العدلة والحمضة تنتج في نخاع العظم بأعداد ثابتة في الحالات الطبيعية، أما في حالات الالتهاب فان نخاع العظم سوف يحرر خلايا إضافية بسبب الجهد الحاصل عليه لتكوين خلايا جديدة مما يؤدي الى زيادة العدد الكلي لخلايا الدم البيض (Weshana, 2000). من جانب أخر يمكن عزو إنخفاض أعداد الخلايا اللمفية الى تأثير الكادميوم في الجهاز المناعي وتثبيط المناعة الخلوية (T اللمفية) (Vodela et al., 1997) إذ تؤدي حالة الإجهاد والكبح المناعي الحاصل للجهاز المناعي بفعل التسمم بالكادميوم إلى خفض أعداد تلك الخلايا (Weshana, 2000)، إذ يسبب تأثير الكادميوم على نشاط إنزيم DNA- Polymerase المهم في تحول وانقسام الخلايا اللمفية (Brzoska et al., 2000) ، علاوة على تأثير مستوى الزنك في البلازما والذي يعد انخفاض عدد الخلايا اللمفية دليلاً على انخفاضه في الأعضاء اللمفية الابتدائية أو في الجهاز المناعي (Solomons, 1988; Zalewski, 1996).

من جانب أخر أظهرت الدراسة الحالية أن الحيوانات التي تناولت الفايتيز وخلاصة بذور الحبة السوداء مع الكادميوم وصلت فيها أعداد الخلايا البيض الى معدلاتها الطبيعية حيث أدت المعاملتان في المجموعتين T2 وT3 الى زيادة أعداد الخلايا اللمفية في الأسبوع الثامن مما يشير الى الدور الايجابي الذي يلعبه الفايتيز من خلال توفير عنصر الزنك الذي يعد ضرورياً لهذه الخلايا (Brzoska et al., 2000).

التغيرات الكيموحيوية

أكدت نتائج الدراسة الحالية على ان الكبد هو أكثر الأعضاء تأثراً بالتسمم بالكادميوم وذلك يعود الى وصول المادة السمية الى الكبد مباشرة بعد امتصاصها من القناة الهضمية مع الدم عبر الجهاز البابي الكبدي، إذ يتحمل الكبد مسؤولية تمثيل معظم المواد القادمة إليه بما فيها المواد السامة مما يؤثر ذلك في معظم الفعاليات الحيوية للكبد (Erosckenko, 2000)، إذ أن هذا التأثير ينعكس سلباً في قابلية الكبد على أداء الفعاليات التمثيلية للبروتينات والدهون والكاربوهيدات وإنتاج بروتينات مصل الدم والإنزيمات المختلفة، علاوة على تعطيل دور الكبد في إزالة المواد السامة (Habeebu et al., 2002).

يستخدم قياس تركيز الإنزيمات الناقلة للامين ALT وAST ونشاط إنزيم ALP القاعدي في المصل كمقياس حساس لمعرفة التغيرات المرضية التي تحدث في الكبد (Kowalczyk et al., 2003)، لذا فقد تم قياس هذه المعايير لمعرفة تأثير التسمم بالكادميوم عليها وبالتالي على الأنظمة الحيوية للجسم، حيث أشارت النتائج الى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) تدريجي في تركيز الإنزيمات الناقلة للأمين ALT وAST و ALP وتناسب هذا الارتفاع مع زيادة مدة التعرض في مجموعة السيطرة المعاملة بكلوريد الكادميوم فقط (الجدول- ٣). وقد تعود هذه الزيادة الى تسمم الكبد

بفعل الكادميوم وحصول تلف انسجة الكبد ونضوح كميات كبيرة من هذه الإنزيمات الى مجرى الدم (Wershana, 2000, Kowlczyk et al., 2003). إضافة الى التأثيرات السلبية للجذور الحرة المتولدة (Stohs et al., 2001).

كما أشارت النتائج الى إن الحيوانات التي تناولت إنزيم الفايتيز وخلاصة بذورالحبة السوداء مع الكادميوم قد حافظت على تراكيز هذه الإنزيمات بمستوى قريب من معدل مجموعة السيطرة مما يؤكد الدور الوقائي الذي يلعبه إنزيم الفايتيز وخلاصة بذور الحبة السوداء في كبح نشاط الجذور الحرة المتولدة بفعل الكادميوم وبالتالي حماية خلايا الكبد، حيث إن الفايتيز يزيد من امتصاص وجاهزية الزنك والمغنسيوم والحديد والنحاس والكالسيوم وان توفر هذه العناصر يقلل من امتصاص الكادميوم (Zacharias et al., 2001). كما إن للزنك القدرة العالية على أنتاج الميثالوثايونين الذي يرتبط مع الكادميوم ويحجزه في السايتوبلازم وبالتالي تقل كميته في العضيات الخلوية حيث إن معقد Zn- Mt يوصف على أنه مضاد تأكسدي يعمل على إبطال مفعول الجذور الحرة المتولدة بفعل كلوريد الكادميوم (Liu et al., 1997). كما أن لفعل مستخلص بذور الحبة السوداء دوراً مهماً في حماية خلايا الكبد ومنع نضوح إنزيمي ALT و AST بفعل التأثير الكاسح للجذور الحرة والذي يعود الى فعل الثايموكوينون المتواجد في بذور الحبة السوداء الذي يعمل على حماية الخلايا من تأثير الجذور الحرة. من خلال ما تقدم يمكن ملاحظة التآزر بين بذور الحبة السوداء وإنزيم الفايتيز في توفير الحماية القصوى لخلايا الكبد في المجموعة T3 في الأسبوع الثامن.

جدول (١): تأثير كلوريد الكادميوم وإنزيم الفايتيز والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء على بعض المعايير الدموية لذكور الجرذان البيضاء خلال مدة الدراسة.

المجاميع	عدد كريات الدم الحمر (×١٠^١٢/لتر)	تركيز خضاب الدم (غم/١٠٠ مل)	حجم الخلايا المرصوص (%)	عدد كريات الدم البيض (×١٠^٩/لتر)
C	3.80 ± 0.12 a	9.48 ± 0.37 a	32.67 ± 1.12 a	11.05 ± 0.51 b
T_1	5.52 ± 0.11 b	13.80 ± 0.07 bc	40.05 ± 0.48 bc	6.33 ± 0.19 a
T_2	5.47 ± 0.10 b	13.63 ± 0.22 b	40.00 ± 0.37 b	5.73 ± 0.11 a
T_3	6.00 ± 0.18 c	14.28 ± 0.19 c	40.92 ± 0.55 bc	5.88 ± 0.08 a

- **الأرقام تمثل المعدلات±الخطأ القياسي.**
- **الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد يشير إلى وجود فرق معنوي ($p<0.05$).**
- **C المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر.**
- **T_1 المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفايتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم عليقة.**
- **T_2 المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.**
- **T_3 المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفايتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم والمستخلص الكحولي بذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.**

جدول (٢): تأثير كلوريد الكادميوم وإنزيم الفايتيز والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء على أنواع كريات الدم البيض لذكور الجرذان البيضاء خلال مدة الدراسة.

المجاميع	الخلايا الحمضة (%)	الخلايا الحمضة (%)	الخلايا اللمفية(%)	الخلايا الوحيدة(%)
C	34.17 ± 4.06 b	6.00 ± 0.52 c	55.17 ± 4.50 a	4.83 ± 0.60 a
T_1	16.17 ± 0.98 a	1.60 ± 0.21 b	79.00 ± 0.58 b	3.33 ± 0.67 a
T_2	13.83 ± 1.25 a	1.50 ± 0.22 b	80.83 ± 1.45 b	3.83 ± 0.31 a
T_3	11.00 ± 0.86 a	1.33 ± 0.21 a	84.33 ± 1.20 c	3.33 ± 0.49 a

- الأرقام تمثل المعدلات±الخطأ القياسي.
- الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد يشير إلى وجود فرق معنوي ($p<0.05$).
- C المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر.
- T_1 المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفايتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم عليقة.
- T_2 المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.
- T_3 المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفايتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم والمستخلص الكحولي بذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.

جدول (٣): تأثير كلوريد الكادميوم وإنزيم الفايتيز والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء على فعاليات الإنزيمات الناقلة للأمين ALT، AST، وإنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP لذكور الجرذان البيضاء خلال مدة الدراسة.

المجاميع	(IU/L) ALT	(IU/L) AST	(IU/L) ALP
C	100.17 ± 4.17 c	130.67 ± 4.09 c	140.00 ± 1.71 c
T_1	45.33 ± 0.76 b	93.50 ± 1.61 b	84.67 ± 0.76 b
T_2	44.67 ± 0.67 b	91.17 ± 1.25 ab	82.83 ± 1.14 ab
T_3	38.00 ± 0.73 a	86.00 ± 0.73 a	76.٣٠ ± 0.98 a

- الأرقام تمثل المعدلات±الخطأ القياسي.
- الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد يشير إلى وجود فرق معنوي ($p<0.05$).
- C المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر.
- T_1 المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفايتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم عليقه.
- T_2 المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.

- **T_3 المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفايتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم والمستخلص الكحولي بذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.**

المصادر

الزبيدي، نيران فليح حسن (٢٠٠٧). تأثير خلاصة بذور الحبة السوداء في كفاءة الجهاز التناسلي لذكور الجرذان البيض. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية، العراق.

AL-Qarawi, A. A.; Abdel Rhman, H. A.; Ali, B. H. & Elmongy, S.A. (2000). Content of iron, cadmium and copper in lung of rats. J. Anim. Sci. (USA). 40: 89-92.

Baranski, B.; Stetkiewicz, I., Sitarek, K. & Szymczak, W. (1983). Effect of oral , subchronic cadmium administration on fertility, prenatal and postanatal progeny development in rats. Arch. Toxicol., 54: 297-302.

Belfeld, A. & Goldberg, D.M. (1971). Enzyme. Obeste. Gynecol.**12**:561-562.

Brouzetti, G. (1997). The role of antimutagenesis and anticarcinogenesis. J. Environ. Pathol. Toxicol. And.Oncol., 16: 259-262.

Brzoska, M. M.; Moniuszko-Jakoniuk, J.; JurcZuk, M.; Gaayn-Sidorczuk, M. & Rogatska, J. (2000). Effect of short-term ethanol administration on cadmium retention metabolism in rats continuously exposed to cadmium. J. Alcohol and Alcoholism., 35(5): 439-445

Coles, E.H.(1980). ***Veterinary clinical pathology***.4th edition.W.B.Sandars.Co.

Dacie, J.V. and Lewis, S.M. (1984). ***Practical hematology***. Ch3. 6thedition. Churehlill Livingstone. Edinburgh. London, Melbourue and New York. PP. 28-31.

Ekelund, A.(2003). Phosphorus and the dairy cow - influence of intake level, source and stage of lactation on apparent digestibility and bone turnover. Ph.D. Thesis. SLU, Kungsängen Research Centre, Uppsala.

El-Sebai, A., Abaza, M., Szilagui, M., Szalay, I., Sankari, M. and Paris, I.(1994). Physiological and biochemical parameters in chickens exposed to cadmium. Mengen Und Supernelemente.14. Arbeitstagung, Jena25/26 November, edited by Anke, M. and Meissner, D. PP.435-440; 12 ref. Leipzig, Germany; Vertag. Harlod. Schubert.

Eroschenko, V.P.(2000). ***Atlas of histology with functional correlations***. 9th edition. Moscow, Idaho.

Habeebu, S.S, Liu, J., Liu, Y. and Klaassen, C.D.(2002). Metallothionein null mice are more sensitive than wild-type mice to liver injury induced by repeated exposure to cadmium. *Toxicol. Sci.* **55**, 223-232.

He, Z.L., Yang, X.E. and Stoffella, P.J.(2005). Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J. Trace. Elem. Med. Biol.* **19**, 125-140.

Hiratsuka, H., Katsuta, O., Toyota, N., Tsuchitani, M., Umemura, T. and Marumo, F.(1996). Chronic cadmium exposure induced renal anemia in ovariectomized rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **137**, 228–236.

Jarup, L., Hellstrom, L., Alfven, T., Carlsson, M.D., Grubb, A., Persson, B., Pettersson, C., Spang, G., Schultz, A. and Elinder, C.G. (2000). Low level exposure to cadmium and early kidney damage: the OSCAR study. *Occup. Environ. Med.* **57**, 668–672

Jarup, L. (2002). Cadmium overload and toxicity. *Nephrol. Dial. Transplant.* **17** (Suppl. 2), 35–39.

Kanter, M.; Coskun, O.J. Gurel, A.(2005) Efffect of black cumin (*Nigella sative*) on cadmium-induced oxidative in the blood of rats. Boil.Trace. Elem. Res. 107(3): 277-8

Kowalczyk, E.; Kopff, A.; Fijalkowsk, P.; Kopff, M.; Niedworok, J.; Blaszczyk, J.; kedziora, J. & Tyslerowicz, P. (2003). Effects of anthocyanins on selected biochemical parameter inrats exposed to cadmium. J. Acta. Bio. chchimica polonica., 50(2): 543-548.

Lim, H. S.; Namkung, H. & Paik, I. K. (2003). Effect of phytase supplementation on the performance, egg quality and phosphorus excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorus. Poult. Sci. 82: 92-99.

Loga, F., Yang, Y., Liu, H., Goldwasser, E. and Albitar, M.(1994). Transgenic mice carrying the erythropoietin gene promoter. Linked to lack Z expression the reporter in proximal convoluted tubules cells after hypoxia. *Blood.* **84**, 1830-1836.

Liu, J.; Bollinger, D. W.; Ledoux, D. R.; Ellersieck, M. R. & Veum, T. L. (1997). Soaking increases the efficacy of supplemental microbial phytase in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for growing pigs. J. Anim. Sci. 75: 1292-1298.

Mackova, N.O., Lenikova, S., Fedorocko, P., Brezani, P. and Fedorockova, A. (1996). Effects of cadmium on haemopoiesis in irradiated and non-irradiated mice: 2. Relationship to the number of circulating blood cells and haemopoiesis. *Physiol. Res.* **45**(2), 101-106.

Mullaney, E. J.; Daly, C. B. & Ullah, A. H. (2000). Advances in phytase research. Adv. Appl. Microbiol. 47: 157-199.

Ognjanovic, B.I., Pavlovic, S.Z., Maletic, S.D., Zikic, R.V., Stajn, A.S., Radojicic, R.M., Saicic, Z.S. and Petrovic, V.M.(2003). Protective influence

of vitamin E on antioxidant defense system in the blood of rats treated with cadmium. *Physiol. Res.* **52**, 563-570.

Qureshi, S.; Shah, A. H. & Ageel, A. M. (1992). Toxicity studies on Alpinia galangal and Curcuma longa. Plant Med., 58: (2): 124-127.

Rana, S.V.; Singh, R. & Verma, S. (1996). Protective effect of few antioxidants on liver function in rats treated with cadmium and mercury. Indian. J. Exp. Biol., 34: 177-179.

Rebaur, A.H., Mcwilliams, P.S., Feldman, B.F., Metzger, F.L., Pollock, R.V.H. & Roche, J. (2005a). Neutrophils: overview quality and morphology. *Int.Vet. Inform. Serv. (IVS)*, Ithaca. B3305-0305

Rebaur, A.H., Mcwilliams, P.S., Feldman, B.F., Metzger, F.L., Pollock, R.V.H. & Roche, J. (2005b). Eosinophils: overview, quality and morphology. *Int. Vet. Inform. Serv. (IVS)*, Ithaca. A3306-0405.

Reitman, S. and Frankel, S.(1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Path.* **28**, 56-63.

Sarkar, S., Yadav, P. & Bhatnagar, D. (1998). Lipid peroxidative damage on cadmium exposure and alterations in antioxidant system in rat erythrocytes :a study with relation to time. Biometals. 11: 153–157.

Shirly, R. B. & Edward, H. M. (2003). Graded levels of phytase past industry standards improve broiler performance. Pouil. Sci., 82: 671-680.

Smalinskiene, A., Ryselis, S., Abdrakhmanov, O., kregzgyte, R., Sadauskiene, I. & Ivanov, L. (2004). Investigation of cadmium concentration after acute intoxication. *Biologica*. Suppl. (1), 113-115.

Solomons, N.W.(1988). Zinc and copper. In: Shils, M.E., Young, V.R.(ed.). Modern nutrition in health and disease. 7th edition. Philadelphia: Lea and Febiger, 238-262.

Stahl, C.H., Han, Y.M., Roneker, K.R., House, W.A. & Lei, X.G. (1999). Phytase improves iron bioavailability for hemoglobin synthesis in young pigs. *J. Anim. Sci.*; **77**(8), 2135-2142.

Stohs, S.J., Bagchi, D., Hassoun, E. and Bagchi, M.(2001). Oxidative mechanism in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* **19**, 201-213.

Vodela, J.K., Renden, J.A., Lenz, S.D., Mecllhenney, W.H. & Kemppainen, B.W. (1997). Drinking water contaminants (Arsenic, cadmium, lead, benzene and trichloroethylene). Interaction of contaminants with nutritional status on general performance and immune function in broiler chickens. *Poult. Sci.* **76**, 1474-1492.

Wershana, K.Z.(2000). Cadmium induced toxicity on pregnant mice and their offspring: Protection by magnesium or vitamin E. *The Science*. **1**(4), 179-186.

World Health Organization (WHO) (2002). Cadmium: environmental aspects.2nd edition. 3: 140.

Zacharias, B.; Lantzsch, H. J. & Drochner, W.(2001). The influence of dietary microbial phytase and calcium on the accumulation of cadmium in different organs of pigs. J.Trace Elem. Med. Biol. 15: 109-114.

Zalewski, P.D.(1996). Zinc and immunity: implications for growth, survival and function of lymphoid cells. *J. Nutr. Immunol*. **4**, 39-80.

(تاريخ استلام البحث).....(٢٠٠٩/١/١٣)
(تاريخ قبول نشر البحث).....(٢٠٠٩/٣/ ٢٢)