دراسة تأثير سمية خلات الرصاص على خلايا الكبد وأنزيمي ال (GpT , GoT) في الفئران البيض.

نضال طالب شهيب - جامعة واسط / كلية العلوم / قسم علوم الحياة

Study effect of poisoning lead acetate on hepatocyte & (GoT , GpT) Enzymes in albino mice.

Nedhal Talib Shubie-Waist University-College of Science Dep: Biology.

Abstract

The aim of the search is study effect of poisoning doses of lead acetate on hepatocyte and Enzymes of GoT & GpT in mice exposed to poisoning lead acetate . This study was done on 40 mice (male & female) divide into four groups with evenly numbers , ten mice in each group Three groups received drinking water contained respectively , (0.5 ,1.0 ,1.5 mg) of lead acetate for one month while the four group was received drinking water only served as control group .The enzymatic study showed that significant difference ($P<0.05$) were found in the levels of GoT & GpT in mice groups treated with lead acetated compared with control group. The section of histological study showed necrosis and fibrosis in hepatocyte in mice treated with lead acetate compared with control group. The clinical signs of animal were recorded continuously in all time of study . The main signs were sluggishness , restlessness and dyspnea in mice groups treated with lead acetated compared with control group .The severity of sign was increased with time of exposure .It is concluded that exposure to lead acetate induce several enzymatic and histological changes .

الخلاصة

الهدف من البحث هو دراسة تأثير الجرع السمية لخلات الرصاص على خلايا الكبد وإنزيمي ال(GPT, GOT) في الفئران البيض المعرضة للجرع السمية لخلات الرصاص. استخدم في هذه الدراسة (40) من الفئران البيض (ذكور وإناث) قسمت على أربع مجاميع بأعداد متساوية بواقع عشرة فئران لكل مجموعة أعطيت ثلاثة مجاميع مياه شرب حاوية على خلات الرصاص بتراكيز مختلفة (0.5 ،1.5,1.0mg) على التوالي ولمدة شهر أما المجموعة الرابعة أعطيت ماء شرب فقط لكونها مجموعة سيطرة . أظهرت نتائج الدراسة الإنزيمية وجود ارتفاع معنوي في إنزيمي ال (GPT ,GOT) بمستوى معنوية ($p< 0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة . وأظهرت مقاطع الدراسة النسجية حدوث تنخر وتليف في خلايا الكبد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وقد تمت ملاحظة العلامات السريرية وسلوك حيوانات التجربة طوال فترة التجربة فقد لوحظ اضطراب وفرط تهيج مع ضيق التنفس بينما لم تظهر مجموعة السيطرة أي من هذه العلامات . يستنتج مما سبق أن التعرض لخلات الرصاص يؤدي إلى العديد من التغيرات الأنزيمية والنسجية .

المقدمة:

الرصاص من المواد واسعة الانتشار في مناطق واسعة من العالم ويصنف على انه واحد من بين أكثر العناصر الثقيلة التي تتعرض لها الكائنات الحية بأنواعها من مصادر متنوعة تتضمن الهواء والماء والغذاء . يعتبر التسمم بالرصاص مشكلة عالمية مهمة حيث أن مصادر التعرض للرصاص تتضمن إضافات المحروقات ، معلبات الأغذية ، الإصباغ التي أساس منشأها الرصاص، دخان السكائر ،أنظمة مياه الشرب (1).الرصاص يمتص من قبل جهاز الهضم والرئة ومقدار الامتصاص يختلف من كائن حي لأخر باختلاف التركيب الكيمياوي ومقدار التعرض . جهاز الهضم وجهاز التنفس يعدان المدخل الرئيسي لدخول الرصاص إلى الجسم تقريبا 90% من الرصاص الممتص يترسب في العظام والباقي في الأنسجة الرخوة مثل الكبد والكلية والقلب(2) . أن التسمم بالرصاص يؤدي إلى أضطرابات في الجهاز القلبي الوعائي والجهاز الهضمي ويؤدي إلى خلل وظيفي في الكبد عن طريق عمليات الأكسدة الغير طبيعية وارتفاع مستوى أنزيمي ال(GpT,GoT) عن الحد الطبيعي(3).حيث أن أي مادة سمية تدخل إلى جسم الكائن الحي تترسب داخل خلايا الكبد وارتفاع مستوى هذين الأنزيمين يعتبر منبه لدخول وترسب المادة السمية مثل خلات الرصاص التي تقوم بتوليد الجذور الحرة حيث تؤدي هذا الجذور إلى خلل وظيفي وأنزيمي في الكبد وكذلك تغير تركيب وفعالية العديد من المركبات الخلوية وأغشية الخلايا والبروتينات الدهنية و الكاربوهيدرات والأحماض النووية (4) .

المواد وطرائق العمل

ضمت التجربة 40 من الفئران البيض (ذكور وإناث) قسمت إلى أربعة مجاميع متساوية المجموعة الأولى جرعت بمحلول خلات الرصاص بالجرعة (0.5%) والمجموعة الثانية جرعت بمحلول خلات الرصاص بالجرعة (1.0%) والمجموعة الثالثة جرعت بمحلول خلات الرصاص بالجرعة (1.5%) أما المجموعة الرابعة جرعت ماء شرب نقي بوصفها مجموعة سيطرة .

طريقة ومدة التجريع

تم تحضير الجرع عن طريق إذابة (5mg, 10mg,15mg) من محلول خلات الرصاص في 1لتر من الماء ووضعت في الرضاعات المخصص لماء الشرب وحسب الجرعة المخصصة لكل مجموعة وتم التجريع لمدة شهر كامل هذه الجرع الثلاثة اختيرت حسب دراسات وتعتبر جرع سامة للإنسان والحيوان بنفس الوقت(5).

جمع النماذج للدراسة الأنزيمية

تم جمع نماذج الدم للدراسة الأنزيمية حيث خدرت الحيوانات بوساطة الايثر وتم سحب الدم من القلب مباشرة ووضع الدم في أنابيب ابندروف Eppendrof tube ثم في جهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة لفصل مصل الدم ثم حفظ إلى حين استخدامه.

الدراسة النسجية

تم تشريح الحيوانات واستئصال الكبد وتم حفظ العينات في الفورمالين بتركيز (10%) وتم تحضير شرائح شمع البرافين تبعا لطريقة (6).

التحليل الإحصائي

تم تحليل البيانات باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز (SPSS) وقد تم اختبار المتوسطات وفق تحليل ANOVA (F) ومقارنة الفروق المعنوية بين المتوسطات المدروسة باستعمال اختبار Duncan متعدد الحدود على مستوى احتمالية ($p<0.05$) .(7) .

النتائج والمناقشة

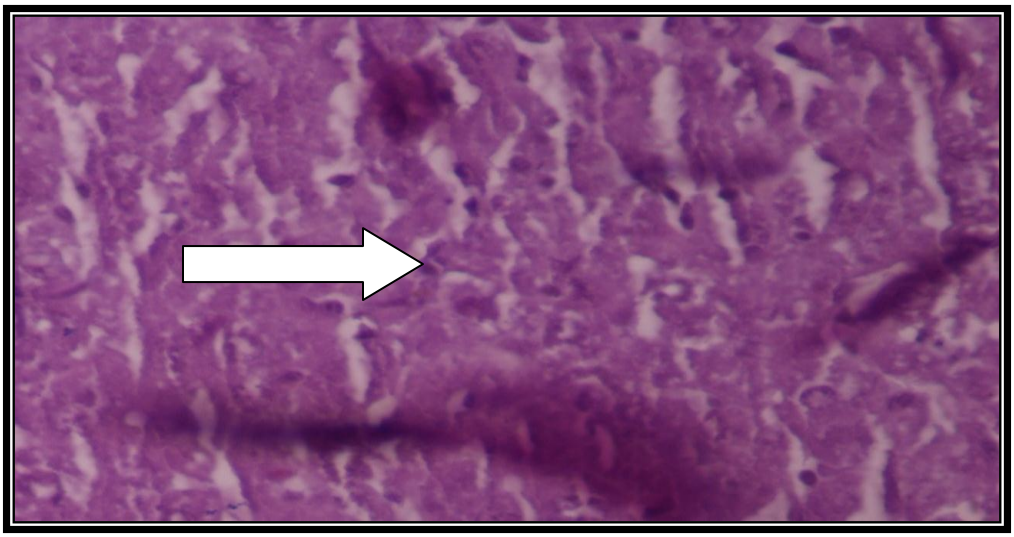
أثبتت نتائج الدراسة الأنزيمية حدوث ارتفاع معنوي بمستوى معنوية (P< 0.05) في مستوى أنزيمي الGPT, GoT في مصول دم الفئران المجرعة بمحلول خلات الرصاص ويزداد هذا الارتفاع بزيادة الجرع مقارنة مع مجموعة السيطرة وكما موضح في جدول رقم (1).

جدول رقم (1) المعدل ± الخطأ القياسي لتركيز أنزيم GpT و GoT في مصل دم إناث الفئران المعاملة بمحلول خلات الرصاص

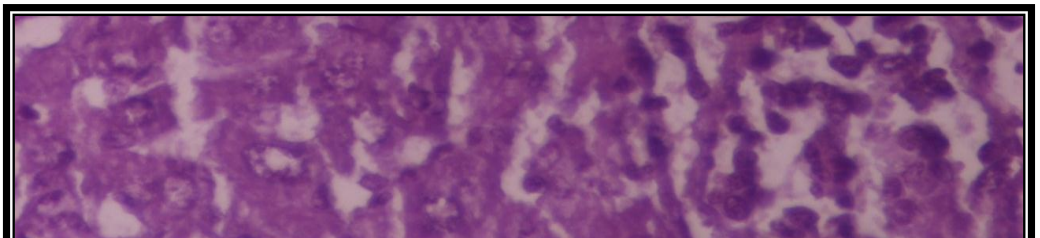
الانزيم	مجموعة السيطرة	المجموعة التجريبية الأولى 0.5الجرعة	الثانية 1.0	الثالثة 1.5
GPT	A16±3.0	45±20.3 B	B85±35.8	95±40.7 C
GOT	20±7.5 A	55±27.8 B	65±29.3 B	75±30.6 B

الحروف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية (p < 0.05).

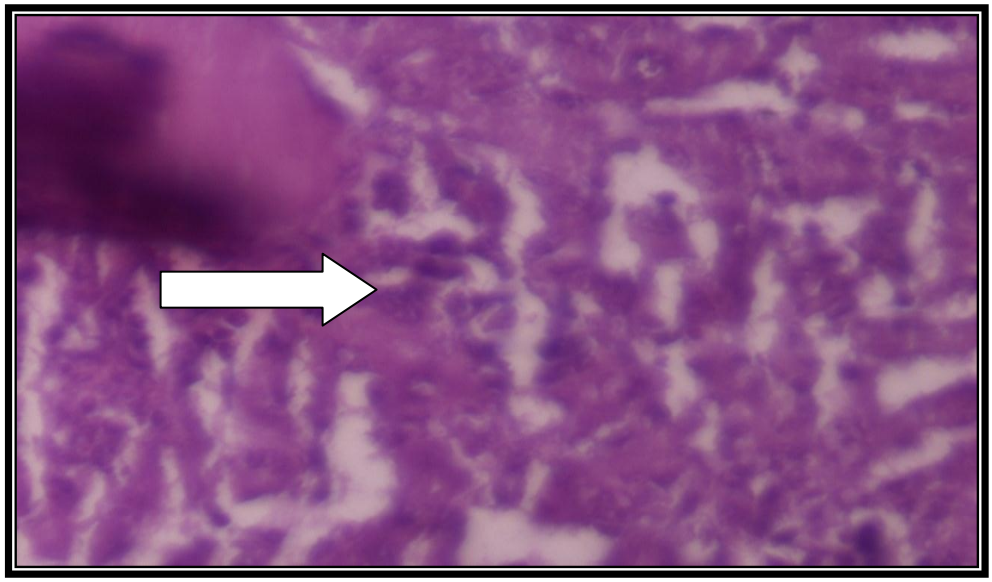
أن سبب ارتفاع أنزيمي ال GpT, GoT هو لارتفاع مستوى خلات الرصاص في مصل الدم ولتحسس مستقبلات خلايا الكبد لسمية الرصاص العالية وبالتالي ازدياد في مستوى إفراز هذين الأنزيمين كدليل على السمية العالية للرصاص(8) . لان أنزيمي ال GpT, GoT يرتفع مستواهما عن الحد الطبيعي عندما تكون هنالك مواد سام قد دخلت وامتصت وترسبت داخل خلايا الكبد وخلات الرصاص من المواد الكيميائية شديدة السمية لاحتوائها على الجذور الحرة التي تحطم مستقبلات الخلايا في الكبد وبالتالي يزداد مستوى أنزيمي ال GpT, GoT نتيجة لعدم قدرة الجسم على أكسدة هذه المواد السامة لان هذه المواد تطلق الجذور الحرة حيث تعمل هذه الجذور على عرقلة عمليات الأكسدة الطبيعية في الجسم وبالتالي تثبيط مضادات الأكسدة (9).
كما أثبتت نتائج الدراسة النسجية حدوث تنخر وتليف في أنسجة خلايا الكبد بسبب ترسب خلات الرصاص ذات السمية العالية في خلايا الكبد في انسجه الفئران المجرعة بخلات الرصاص ويزداد التنخر والتليف والضرر في خلايا الكبد بازدياد الجرع مقارنة بمجموعة السيطرة وكما هو موضح في صور المقاطع النسيجية للكبد في (1,2,3,4) .



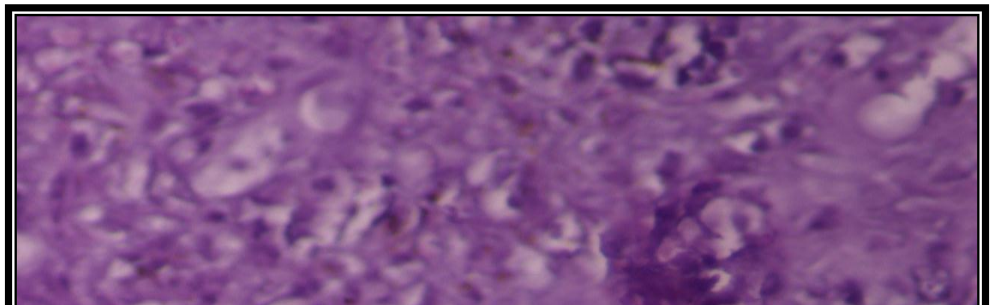
صورة رقم (1) مقطع عرضي في كبد احد فئران مجموعة السيطرة توضح خلايا وأنسجة الكبد بصورة الطبيعية قوة التكبير (400X)، صبغة الهيماتوكسلين والايوسين.
(⟵)
نضال طالب شهيب

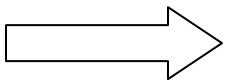


صورة رقم (2) مقطع عرضي في كبد احد الفئران المجموعة المجرعة بخـلات الرصاص بالجرعـــة (0.5%) حيث تظهر خلايا الكبد وهي بصورة غير طبيعية ويظهر تنخـر وتليف الأنسجة والخلايا (⟵) قوة التكبير (400X) صبغة الهيماتوكسلين والايوسين.



صورة رقم (3) مقطع عرضي في كبد أحد الفئران البيض المجرعة بخلات الرصـــاص وبالجرعة (1.0%)يظهر تنخر وتليف خلايا و أنسجة الكبد (⟵) بشكل واضح قوة التكبير (400 X) صبغة الهيماتوكسلين والايوسين.





صورة رقم (4) مقطع عرضي في كبد أحد الفئران المجرعة بخلات الرصاص وبالجرعة (1.5%) يظهر تنخر وتليف خلايا وأنسجة الكبد (⟵) بصورة واضحة قوة التكبير (400 X) صبغة الهيماتوكسلين والايوسين.

أن سبب حدوث التليف والتنخر في خلايا وأنسجة الكبد بسبب ترسب خلات الرصاص إلى داخل الخلايا وانقطاع التجهيز الدموي للخلايا وبالتالي حدوث الموت المبرمج للخلايا واحتقان الأوعية الدموية (10) .
إضافة لذلك الرصاص يولد الجذور الحرة حيث تقوم هذه الجذور بتثبيط مضادات الأكسدة وبالتالي تغيير تركيب وفعالية العديد من المركبات الخلوية مثل أغشية الخلية وبروتينات الخلية وال(DNA و RNA) (١١). حيث ترتبط الجذور الحرة بمستقبلات الخلية وبالتالي تمنع مضادات الأكسدة من الدفاع عن الخلية (١٢). تعتبر مضادات الأكسدة الطريق الأول للدفاع في الخلية ضد أضرار الجذور الحرة وبالتالي نلاحظ حدوث تنخر وتليف واضح في خلايا وأنسجة الكبد ويزداد هذا التليف والتنخر بزيادة الجرع السمية لخلات الرصاص حيث اظهر الفحص المجهري إن شدة الضرر النسيجي تزداد بزيادة الجرع السمية لخلات الرصاص وبالتالي يؤدي إلى خلل وظيفي في خلايا وأنسجة الكبد (١٣).

المصادر

1- Gilfillan, S.C.(2007). Lead poisoning &the fall of Rome .J.Occup. Med. 7: 53-60.

2- Kamala, K. & Kumar, B. (2006) lead toxicity. Indian Pediatr. 35 :209-219. Laker ,M (2007) .On determining trace element levels in man : to uses of blood & hair . Lancet . 31 : 260 -262 .

3- Agrawal ,S., Roy , S., Ray ,A., Mazumed , S. & Bhattacharya S. (2007) Arsenic triode & lead acetate induced liver function enzymes & apoptosis in adult rat hepatic stem cell .J.cell Boil . & Toxicol . (25): 403-413 .

4- Patrick , L. (2006) . Lead toxicity , a review of the literature .Part 1:Exposure , evolution, and treatment . Alternative medicine review 11(1): 2-22 .

5- Srimal, C., Lal, B., Murthy, R.C., Anand, M. & Chandra, S.V.(2009) Cardio toxicity & hypertension in mice after oral lead exposure. Drug Chem. Toxicol.14(3):305-318.

6- Bancroft, J.D. & Steven, A. (1982) Theory & Practice of Histological Technique. Third edition. Churchill Livingston, New York.pp : 72-80

7- Duncan , (1955).Multiple range & Multiple F-test Biometrics, 11:1-42.

8- Jensen ,A.A. (2008) Metabolism & toxic kinetics in : Biological Effect of oregano lead compounds .Grandjean ,P, & Grandjean ,E.C eds .CRS Press : Boca . Raton ,F.L.pp. 97-115.

9- Clavien, P.A., Rudiger,H.A.&Selzner ,M.(2008)Mechanism of hepatocyte death after ischemia : apoptosis versus necrosis .Int J Oncol 17: 869-879

10- Trump, B.F., Berezesky, I.K.,Chang, S..& Phelps, P.C.(2010) .The path ways of cell death : oncosis , apoptosis, & necrosis .Toxicol Pathol 25: 82-88.

11- Dioka, C.E., Orisakwe, O.E., Adeniyi, F.A. and Meludu, S.C. (2004) Liver and Renal function tests in artisans occupationally exposed to lead in Mechanic village in Nnuewi, Nigeria. Int. J. Environ. Res. Public Health1: 21- 25.

12- Durgut, R., Koc, A. , Gonenci, R., Bal R., Celik, Guzel, M., Altug, M.E. and Atesoglu E.o. (2008): Effects of high dose lead toxication on Liver, kidneys, heart, brain and blood in rabbits: An experimental study . J. Appl. Biol. Sci. 2(2) : 11-18.

13- Elayat, w. and Bakheetf, M. (2010): Effect of lead toxicity on liver and kidney functions of medical Loboratory science Volume 1(2) Issm . 2048- 2497.

(تاريخ استلام البحث).....(٢٠١٠/١/٤)

(تاريخ قبول نشر البحث).....(٢٠١٠/٦/٦)