مجلة الزراعة العراقية مجلد١٠ عدد٢ ص١٤١-١٤٩ أيلول/٢٠٠٥

التغيرات المرضية النسيجية نتيجة التعرض للرصاص في الأرانب

خليفة أحمد خليفة طالب عبد الأمير مكاوي آلاء حسن مرزة

الملخص

درس تأثير التعرض تحت السريري للرصاص في الأرانب. حضرت المستضدات الرايبوسومية من جراثيم E. coli واستخدمت لتمنيع الحيوانات. أظهر الفحص النسيجي في الحيوانات الممنعة استجابة مناعية نتيجة التحفيز بالمستضدات الرايبوسومية. لوحظ فرط نمو وتكون المراكز الانتاشية في العقد اللمفاوية والطحال. كما ظهر في الامعاء ارتشاح الخلايا اللمفاوية والخلايا الوحيدة النواة. لوحظ في الكبد احتقان الأوردة المركزية وتورم الخلايا الكبدية. وفي الكلية ظهر الاحتقان في اللمة الشعرية للكبيبات الكلوية وفي الأوعية الدموية بين النبيبات الدانية وكذلك شوهد الاحتقان في نسيج المخ. النتائج تشير الى امكانية بقاء تأثير الرصاص لمدة طويلة بعد ايقاف التعرض له وينتج عن ذلك اضطرابات في الجهاز المناعي.

المقدمة

يوجد الرصاص بشكل طبيعي في التربة والمياه والغذاء والهواء، كما يوجد بصورة طبيعية وبتراكيز متباينة في جميع أنواع النباتات (٣) وهو يمثل أحد المركبات الصناعية الأساسية إذ يدخل في صناعات متعددة، فهو يدخل في صناعة الأصباغ المستعملة لطلاء المساكن وفي تعليم الطرق ويدخل في صناعة البطاريات والأنابيب المستعملة في مياه الشرب وفي أجهزة التدفئة والتبريد. كما يدخل في صناعة العلب المعدنية والمستعملة في تعليب المواد الغذائية. ويستعمل كغطاء للكيبلات والوقاية من الإشعاع وفي صناعة المطاط والبلاستك وفي معاجين الالتصاق ويستعمل بشكل واسع في المطابع وفي صناعة بعض الأعتدة. ويوجد في وقود السيارات ويستخدم في صناعة العديد من المواد الثقيلة إضافة الى استخداماته الزراعية كمبيد للحشرات.

يثير الرصاص تغيرات مرضية مهمة في أنسجة وأعضاء الجسم المختلفة، فهو يؤثر في الجهاز العصبي والكبد والكلية وجهاز الدوران وكذلك الجهاز المناعي. يظهر تأثير الرصاص في الجهاز العصبي بشكل اعتلال الدماغ والأعصاب، ويُعدّ أهم التأثيرات المرضية التي يحدثها الرصاص في الجهاز العصبي وخاصة في الأطفال.

فالتعرض الشديد في مرحلة الطفولة يؤدي إلى حدوث التخلف العقلي اللارجعي، الاختلاجات العضلية والذهول وقلة الانتباه إضافةً إلى قلة الوزن. دلت الدراسات الكيماحيوية على الجهاز العصبي بأن الرصاص يؤثر في انتقال الايعازات العصبية قبل حدوث أي تغيير ظاهري في النسيج العصبي. فهو يحدث عجزاً في الأيعازات العصبية عن طريق تثبيطه عمل الكولنرجك أو من خلال تأثيره في عمل الناقلات العصبية أو نتيجة تاثيره في كاينيز البروتين (١٥).

الاعتلال الكلوي المصاحب للتعرض للرصاص عرف منذ ما يقارب الثلاثة قرون. إن أول من ربط بين الاعتلال الكلوي والتعرض للرصاص هو Tanqueral عام ١٩٣٩ حيث لاحظ زيادة شدة النبض وارتفاع نسبة تكون حصاة الكلية في الأشخاص الذين يعانون من التسمم بالرصاص أو كما تسمى الرصاصية (Plumbism).

كلية الطب- الجامعة المستنصرية - بغداد، العراق.
تاريخ تسلم البحث:ك٢/٢٠٠٤
تاريخ قبول البحث:ك١/٢٠٠٤

كما تمت ملاحظة زيادة حالات النقرس بكثرة بين الصباغين والعاملين في تجارة الرصاص. لذا عُدّ الرصاص عاملاً مهماً لحدوث حالات النقرس نتيجة تأثيره في إنزيم ألـ Neucleotidase. قام الباحثون بإجراء فحص تحرير الرصاص المتراكم في الجسم بواسطة حقن مادة EDTA التي لها القابلية على الاتحاد بالرصاص وطرحه مع الإدرار. وجد بعض الباحثين أن للرصاص القابلية على تحفيز انقسام وتكاثر الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية والحالب والمثانة (٦). يثبط الرصاص خمائر مختلفة في الجسم مثل Ferrachetase الذي يؤدي إلى حدوث خلل في صنع الهيموغلوبين. كما ويسبب تثبيط إنزيم Neucleotidase التي يعزى لها سبب الترقيط القعدي للكريات الدموية الحمر (١١). إن التعرض للرصاص يسبب ضعفاً في مقاومة الجسم للعوامل المرضية المختلفة وبالتالي تزداد نسبة الإصابات والهلاكات في الحيوانات المعرضة للرصاص عند تعرضها للمسببات المرضية الجرثومية (١٤). تزداد نسبة حدوث سرطانات الكلية في الحيوانات المعاملة بالرصاص بجرعة 2600ppm لمدة ٧٦ أسبوعاً إلى ٨١%. كما أن نسبة حدوث أورام الكلية ترتفع إلى ٢٣% (١٢). وجد الباحث (١٩) حدوث تحطم في النسيج الكبدي في الجرذان المعاملة بالرصاص إضافة إلى تورم الخلايا الكبدية وتنخر في المتن الكبدي المجاور للوريد المركزي. كان الهدف من هذه الدراسة التعرف على التغيرات المرضية في أعضاء وأنسجة الجسم في الارانب الممنعة بالمستضدات الرايبوسومية المستخلصة من جراثيم ألـ E. coli بعد التعرض إلى خلات الرصاص Lead Acetate.

المواد وطرائق البحث

الحيوانات التجريبية:

استعملت الأرانب البيضاء اللون، تراوح وزن الحيوان الواحد بين ١،٥-٢ كغم (الرقابة الدوائية/وزارة الصحة). قسمت إلى ثلاثة مجموعات كل مجموعة تضم ١٥ حيواناً. عوملت المجموعة الأولى بخلات الرصاص ٥ ملغم/كغم وعوملت المجموعة الثانية بخلات الرصاص بجرعة ١٠ ملغم/كغم، والمجموعة الثالثة كانت مجموعة سيطرة لم تعامل بخلات الرصاص. بعد ٣٠ يوماً من التجريع اليومي، منعت الحيوانات بالمستضد الرايبوسومي المستخلص من جراثيم ألـ E. coli المزوج مع العامل المساعد الزيتي بنسبة ١:٤. كان تركيز البروتين في الجرعة المعطاة ٤ملغم. بعد أسبوعين من إعطاء الجرعة الأولى، أعطيت جرعة ثانية من المستضد الرايبوسومي الحاوي على ٣ملغم من المستضد الرايبوسومي مباشرة.

تحضير المستضدات الرايبوسومية:

بعد زرع البكتريا ونموها بغزارة جمع النمو البكتيري واستخلصت الرايبوسومات حسب طريقة الموصوفة من قبل Venneman (٢٢). عينت كمية البروتين باتباع الطريقة الموصوفة من قبل Lowry (١٣).

الفحص النسيجي:

تم قتل الحيوانات بعد ٩٠ يوماً من انتهاء التعرض للرصاص. أخذت العينات النسيجية وحفظت في محلول دارئ الفورمالين المتعادل (١٠%) وبعد ٢٤ ساعة تم تغيير المحلول وترك لمدة ٢٤ ساعة أخرى في الأقل قبل معاملة العينات بالكحول. عوملت العينات في جهاز (Histokinate) (٢١)، ثم صبت في قوالب الشمع وقطعت إلى شرائح نسيجية بسمك ٤-٧ مايكرون ثم صبغت بصبغة Hexatoxylen and Eosin وفحصت بالمجهر الاعتيادي.

النتائج والمناقشة

ظهرت آفات نسيجية طفيفة في كل من الكبد والكلية والدماغ، وكان ظهورها في حيوانات المجموعة الثانية المعاملة بخلات الرصاص بجرعة ١٠ ملغم أكثر وضوحاً من المجموعة الأولى المعاملة بجرعة ٥ ملغم. أما أعضاء الجهاز المناعي المتمثلة بالعقد اللمفاوية والطحال ولطخ باير في الأمعاء فقد أظهرت تغيرات نسيجية واضحة.

العقد اللمفاوية:

لوحظ حدوث فرط نمو فيها. ففي منطقة القشرة وفي المنطقة المعتمدة على خلايا T اللمفاوية ظهرت الجريبات الثانوية (Secondary Lymphoid Follicles) ذات المراكز الأنتاشية (Germinal Centers) الكبيرة الحجم والحاوية على خلايا منقسمة تختلف في كمية احتوائها على مادة الكروماتين إضافة إلى احتواء هذه المراكز على خلايا البلعم الكبير بأعداد كبيرة وكذلك خلايا البلازما. تحاط هذه المراكز بنطاق من الخلايا اللمفاوية. أما خلايا البلازما فقد وجدت في الحبال اللبية (Medullary Cords) للعقد اللمفاوية وهو المكان الرئيس لإنتاج الأجسام المضادة. أما منطقة القشرة العميقة والتي تدعى بجنيب القشرة (Paracortex) (المنطقة المعتمدة على خلايا T اللمفاوية) فقد ظهرت فيها الخلايا اللمفاوية بكثرة وكذلك خلايا البلعم الكبير. ظهرت زيادة ملحوظة في الخلايا الشبكية (شكل ١).

الطحال:

ظهر الترف في الطحال بشكل لافت للنظر. لوحظت المراكز الأنتاشية في النطاق الهامشي (Marginal Zone) للب الأبيض (White Pulp) إضافة إلى ظهور الخلايا اللمفاوية في المنطقة المحيطة بالشريان المركزي للب الأبيض (المنقطة المعتمدة على خلايا ت اللمفاوية) بأعداد كبيرة (شكل ٢).

الأمعاء:

لوحظ حصول الانتعاف (Sloughing) في الأمعاء في الظهارة المبطنة للزغابات وارتشاح واسع للخلايا الوحيدة النواة إضافة إلى الخلايا اللمفاوية وخلايا البلازما. لوحظ كذلك احتقان شديد وزيادة كبيرة في الخلايا الكأسية. كما لوحظت خلايا الأرومات الليفية (Fibroblasts) في الصفيحة الاساسية (شكل ٣).

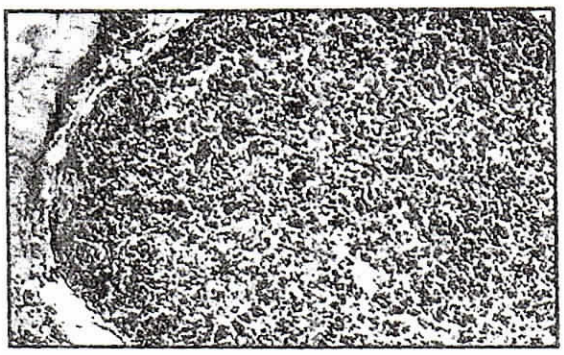
أما الأمعاء الغليظة فقد لوحظ تضخم في لطخات باير وارتشاح في الخلايا الوحيدة النواة في الطبقة المخاطية وتحت المخاطية (شكل ٤).

الدماغ:

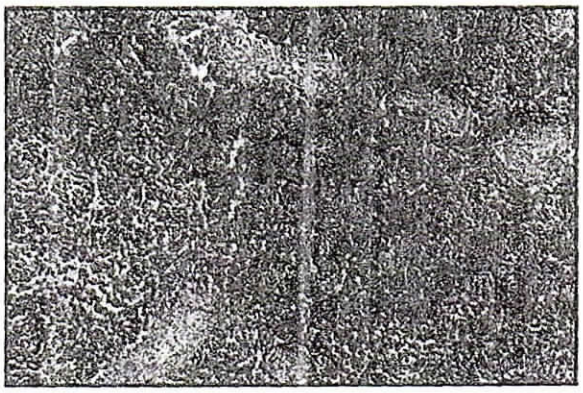
لوحظ حدوث الخزب حول بعض الأوعية الدموية وظهارة العصب (Perineural Edema) كما أن البعض من ظهارات العصب كانت موقعاً لتغيرات تنكسية مختلفة الشدة (Degenerative Changes).

الكبد:

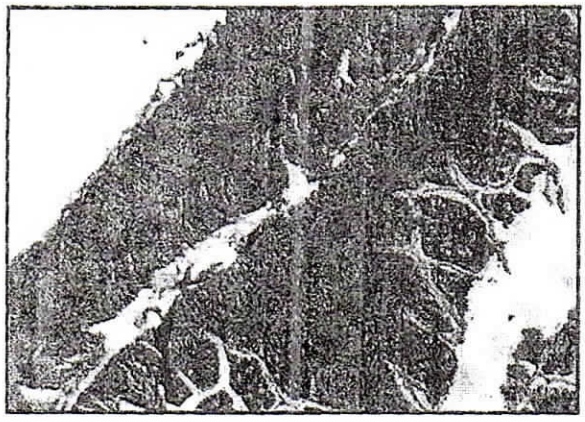
لوحظ حدوث احتقان شديد في الكبد وتدور في حافاته، وكان واضحاً ظهور التورم في الخلايا الكبدية (Hepatocellular Swelling) مما أدى إلى فقدانها شكلها الطبيعي (الشكل السداسي) المميز لها. وكان الاحتقان الشديد واضحاً بصورة رئيسة في الأوردة المركزية. كما لوحظ التنكس الاستسقائي في الخلايا الكبدية وظهر أحياناً ارتشاح لمفاوي في المنطقة البوابية.



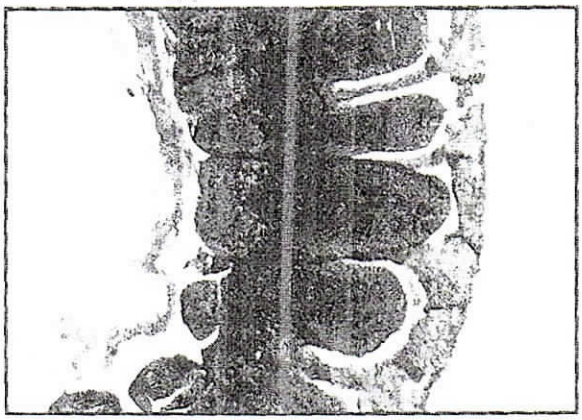
شكل ١: مقطع لعقدة لأحد حيوانات المجموعة المعاملة بخلات الرصاص. يلاحظ فيها تجمعات الخلايا اللمفاوية وخلايا البلعم الكبير في منطقة القشرة.
H:E, 40x



شكل ٢: مقطع طحال أحد الحيوانات المعاملة بخلات الرصاص، يلاحظ فيها شدة النـــزف حول المراكز الانتاشية.



شكل ٣: مقطع في الأمعاء الدقيقة لأحد الحيوانات المعرضة للرصاص. يلاحظ فيها الاحتقان والارتشاح الخلوي.
H:E, 40x

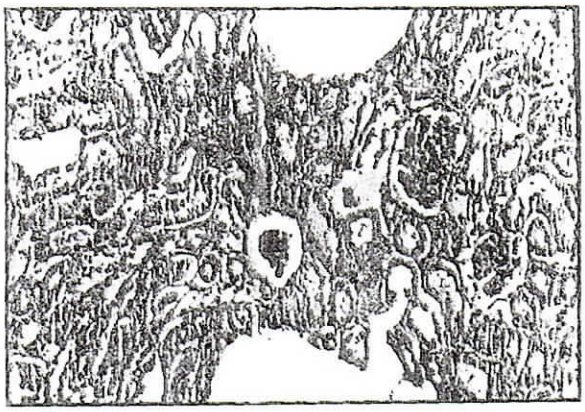


شكل ٤: مقطع في الأمعاء الغليظة لأحد مجموعة الحيوانات المعاملة بخلات الرصاص يلاحظ فيها تضخم لطخ بايير.

H:E, 100x

شكل ٥: مقطع كبد لأحد الحيوانات المعاملة بخلات الرصاص. يلاحظ فيها الاحتقان وتورم الخلايا الكبدية.

H:E, 100x



شكل ٦: مقطع كلية أحد الحيوانات المعرضة للرصاص. يلاحظ فيها وجود احتقان وتضخم الكبيبات.

H:E, 100x.

الكلية:

تميزت التغيرات النسيجية بوجود الاحتقان الشديد في الأوعية الدموية بين النبيبات الدانية (Convoluted Tubules Proximal) وأحياناً ظهور ارتشاح لمفاوي كما ظهرت تغيرات تنكسية في الخلايا الظهارية للنبيبات الدانية حيث تميزت بتورم هذه الخلايا مؤدياً أحياناً إلى ضيق في التجويف النبيبي. وعلى العكس من ذلك فقد شوهد توسع في تجويف نبيبات أخرى مؤدياً إلى تسطح الخلايا الظهارية المبطنة لهذه النبيبات. ظهر الاحتقان الشديد في اللمة الشعرية (Capillary Tuft) للكبيبات الكلوية (Glomeruli) مما أدى إلى ضيق في حيز بومان (شكل ٦).

الرصاص هو أحد المعادن الثقيلة الواسعة الانتشار عرف منذ القديم كمادة بيئية خطرة على صحة الإنسان والحيوان على السواء. إن التعرض المتزايد له يؤدي إلى حدوث تغيرات مرضية في أجهزة وأعضاء الجسم الحيوية وعلى وجه الخصوص الجهاز المناعي الذي يؤدي وظائف مميزة منها المحافظة على صحة واستقرار الجسم. فهو يمثل الجانب الدفاعي للجسم ضد المسببات المرضية المختلفة وكذلك ضد الخلايا السرطانية في الجسم ذاته. يؤثر الرصاص في الجسم على أنواع عديدة من الخلايا من بينها الخلايا المسؤولة عن حدوث المناعة (١٦، ١٧).

إن ظهور المراكز الانتاشية (Germinal Centers) في الطحال والجريبات الثانوية في قشرة العقد اللمفاوية إضافة إلى فرط النمو وتضخم لطخ باير وارتشاح الطبقة المخاطية وتحت المخاطية للأمعاء بخلايا وحيدة النواة وخلايا البلازما إضافةً إلى ظهور خلايا البلازما في الحبال اللبية في الحيوانات الممنعة ناتج عن الاستجابة المناعية للمستضدات الرايبوسومية. كما أن فرط النمو الذي ظهر في منطقة القشرة العميقة (جنيب القشرة) للعقد اللمفاوية وفي اللب الأبيض في الطحال دليل على حدوث استجابة مناعية خلوية (١٩). كما أن تجمع خلايا البلعم الكبير في منطقة القشرة للعقد اللمفاوية قد يكون دليلاً على أن الاستجابة المناعية لهذا المستضد تعتمد على تهيئته من قبل خلايا البلعم الكبير. إلا أن عدم ظهور تجمعات لخلايا البلعم الكبير أو أي من الخلايا الأخرى المعنية بتهيئة وتقديم المستضد أو وجودها بأعداد قليلة في العقد اللمفاوية في الحيوانات المعاملة بالرصاص والممنعة عند مقارنتها بحيوانات السيطرة (ممنعة وغير معاملة بالرصاص) يمكن أن يكون دليلاً على أن الرصاص قد اثر في هذا النوع من الخلايا مؤديا إلى ضعف استجابتها للتحفيز بالمستضد.

إن الحزب الذي ظهر في نسيج الدماغ حول العصبونات وحول الأوعية الدموية يمكن أن يكون ناتجاً عن الأذى الذي يحدثه الرصاص في وظيفة وتركيب الحاجز الدموي الدماغي (Brain Blood Barrier).

إن الاحتقان الذي لوحظ على الكبد عيانياً ومجهرياً يمكن أن يعزى إلى الفعاليات الالتهابية من قبل الجسم نتيجة تعرضه للرصاص في تلك الفترة الزمنية. عادةً يبدأ هذا الاحتقان بزيادة تدفق الدم إلى المكان المتضرر. أما التغيرات التي ظهرت على الخلايا الكبدية والمتمثلة بالتورم والتنكس فهي أيضاً ربما تكون ناتجة عن خلل في المايتوكوندريا.

تعد الكليتان من أهم الأعضاء التي تتاثر بالتعرض للرصاص. ومن أهم الآفات (Lesions) التي تلاحظ عليها هي تكوين الأجسام الاشتمالية (Inclusion Bodies) في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية الدانية عند التعرض الحاد أو التعرض لجرع قليلة (٥). لم تلاحظ في هذه الدراسة الاجسام المشتملة بشكل واضح وذلك ربما يعود إلى توقف التعرض للرصاص قبل قتل الحيوانات المختبرية بمدة طويلة وصلت إلى ٩٠ يوماً. لوحظ اختفاء حيز بومان وهذا يؤدي إلى اضطراب وظائف الكلية (٢٣).

لأجل التعرف بشكل دقيق على التأثيرات والتغيرات التي يمكن أن يحدثها التعرض للرصاص لابد من استخدام المجهر الالكتروني إذ يتم تحديد أماكن التفاعلات الممكنة الحدوث في مختلف الأنسجة والأعضاء، وإن الدراسة الحالية

ستستمر بهذا الاتجاه. قد يؤثر الرصاص في الإفرازات الخلوية وعلى وجه الخصوص في الأعضاء اللمفاوية المسؤولة عن إحداث المناعة. ربما يتأثر انتاج السايتوكاينات ومن بينها اللمفوكاينات كالعامل الناقل الذي يمكن أن يستخدم كوسيلة وقائية وكذلك علاجية لبعض الأمراض (٢،٧،٨،٩،١٠و١٧).

المصادر

1- خليفة، أحمد خليفة؛ هاشم العطية؛ سعاد حسن البياتي؛ ياسين بير رضا وصلاح الخشالي (١٩٨٧)."تاثير الرصاص والكادميوم على المناعة لنوعين من اللقاحات" المجلة الطبية البيطرية ٢٠٧:١١-٢١٧

2- خليفة، أحمد خليفة؛ ياسين بير رضا؛ عبد الرضا العباس (١٩٩٦)."الاستجابة المناعية للبروسيللا: استخلاص العامل الناقل من خنازير غينيا" دراسات-العلوم الطبية والبيولوجية (الجامعة الأردنية) ٢٣ :١٥٠-١٥٣.

3- **Bernard, B. P. and C. E Becker., (1988). Environmental lead exposure and the kidney. J. Toxicol. Cline. Toxicol. 26:1-34.**

4- **Groswell, A.; P. Boyle; E. Low; R. Behringer; E. Ritz and N. Staeproler (1984). Patterns of lead excretion in patients with gout and chronic renal failure. A combined German and Australian study. Kid. Inter. 26:240.**

5- **Goyer, R. A. (1989). Mechanisms of lead and Cadmium nephrotoxicity. Toxicol. Lett. 46:293-306.**

6- **Herbertosn, M. B.; J. A. King and I. Allen (1987). Epithelial cell proliferation in rat urinary system by parental injection of lead salts. Br. J. Exp. Pathol. 68:167-177.**

7- **Khalifa, K. A.; M. M. Jawad and S. H. Al-Bayati (2001). Immunodulatory effect of transfer factor in Newcastle disease virus in chickens. Iraqi. J. Agr., 7:210-216.**

8- **Khalifa, K. A.; M. M. Jawad and S. H. Al-Bayati (2003). Transfer factor specific to Newcastle disease; preparation and uses. Iraqi. J. Agr., 8:11-17.**

9- **Khalifa, K. A.; K. Al-Jobori; T. A. Makawi and M. M. Al-Falluji (2001). Transfer factor in Typhoid fever infection. J. Al-Anbar 3: 91-99.**

10- **Khalifa, K. A.; SH. Al-Bayati and M. M. Jawad. (2004). Transfer factor immunostimulatory effect in tuberculosis. Iraqi. J. Agr., 4: 158-164.**

11- **Kissane, J. M. (1990). Drug and chemical injury. Environmental pathology. Anderson pathology, 9th ed. Mosby Co., 146-245 pp.**

12- **Koller, L. D. (1990). The immunotoxic effects of lead in lead exposed laboratory animals. N. Y. Acad. Sci., 587: 160-167.**

13- **Lowry, O. H.; N. J Resebrogh; A. L. Far and R. J. Randal (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 285.**

14- Malviya, S.; R. Agrawal; M. Chouhau and G. N. Jori (1989). Increased susceptibility of lead exposed chickens to experimental infection of Ascaridia galli. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol, 33: 241-244.

15- Marcovac, J. and G. W. goldstein (1988). Picomolar concentration of lead stimulate brain protein kinase. Nature (London), 334:71-73.

16- McCabe, M. and D. A. Lawrence (1991). Lead, a major environmental pollutant, is immunodulatory by its different effects on CD4 T cell subsets. Toxicol. Appl. Pharmacol. 111:13-23.

17- Num, I. S. and K. A. Khalifa, (1986). Immune response to E. coli and their ribosomal components in Guinea pigs. J. Biol. Sci. Res., 17: 109-120.

18- Pizza, G.; F. Chiodo; V. Colangeli; F. Gritti; E. Raise; H. H. Fudenberg; C. DeVinci and D. Viza, (1996). Preliminary observation using HIV-specific transfer factor in AIDS. Biotherapy, 9: 41-47.

19- Roitt, I.; J. Brostoff and D. Male (2001). Immunology. Mosby 423 p.

20- Russo, M. A.; S. Kappors and D. V. George (1988). Localization of lead in the kidney and liver of rat treated in vivo with lead acetate. Ultrastructural studies on unstained sections. Br. J. Exp. Pathol. 69:235-244.

21- Presnell, J. K. and M. B. Schreibman (1997). Humason's Animal Tissue Technique. 5th ed. Johns Hopkins University press. Baltimore P. 572.

22- Venneman. M. R. and N. J. Bigly (1969). Isolation and partial characterization of an immunogenic moiety obtained from salmonella typhimurium J. Bacteriol. 100:140-148.

23- Vyskocil, A. J. Pyncl; M Tus. and E Etrerova (1980). Dose related proximal tubular dystanction in male rats chronically exposed to lead. J. Appl. Toxicol. 9: 395-399.

24- Wicklund, K. G.; J. R. daling; J. Allard and N. Weiss (1988). Respiratory cancer among orchadists in Washington State 1968-1988.

Iraqi J. Agric. Vol.10 No.2 pp.141-149 Sep./2005

HISTO-PATHOLOGICAL CHANGES AFTER EXPOSURE OF RABBIT TO LEAD

K. A. Khalifa T. A. Makawi A. H. Marza

ABSTRACT

Rabbits were immunized with ribosomal antigens prepared from E. coli and exposed to lead acetate. The histological picture of immunized animal showed immunological response to ribosomal antigens. Hyperplasia with the appearance of germinal centers was noted in lymph nodes and spleen in addition to infiltration of intestine with mononuclear cells.

The pathological changes which appeared as a result of exposure to lead were represented by central venous and sinusoidal congestion in the capillary tuft of glomeruli and also in the vessels between proximal convoluted tubules. While in the brain, there was congestion and edema. It is concluded that the effect of lead on the body persists for long time after stoppage of lead exposure, and produced disturbances in immune system.

Al-Mustanseria Univ. College of Medicine.