



البيوت العلمية وسبلنا للحياة المثلى



دور الارجنين L-arginine الوقائي ضد السمية الكلوية الناجمة عن التلوث بخلات الرصاص في

ذكور الارانب

أسيل صلاح محمود ، موفق مظك زيدان ، سعادت مصطفى محمّد

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

صممت هذه الدراسة لتقييم الدور الوقائي للحامض الاميني الارجنين ومعرفة بعض التأثيرات الفسلجية والكيموحيوية والمناعية والتأثيرات النسيجية من خلال تقليل واختزال سمية خلات الرصاص في الذكور الارانب المحلية الذي استخدم في احداث السمية وتأثيره على الكلى، شملت الدراسة (15) ذكراً من الارانب تراوحت اعمارهم بين(6-7شهرأ) ووزعت الحيوانات الى (3) مجاميع ضمت كل مجموعة (5) حيوانات وبأوزان مقاربة وفترة المعاملة(30) يوماً، المجموعة الاولى عدت مجموعة السيطرة التي جرعت بالماء الشرب الاعتيادي والغذاء القياسي ، المجموعة الثانية جرعت بخلات الرصاص(50ملغم/كغم من وزن الجسم) والمجموعة الثالثة جرعت بخلات الرصاص(50ملغم/كغم من وزن الجسم) و بالارجنين (28ملغم/كغم من وزن الجسم) لمعرفة تأثير الارجنين في تقليل السمية، وأظهرت النتائج المعاملة بخلات الرصاص ارتفاعاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في مستوى اليوريا و الانترولوكين 6 ، وانخفاضاً معنوياً في مستوى الالبومين في مصل الدم مقارنة مع المجموعة السيطرة، بينما أظهرت النتائج ان معاملة الحيوانات بخلات الرصاص مع الحامض الاميني الارجنين ادى الى تحسين القيم المؤشرة سابقاً، وأظهرت النتائج ان التسمم بخلات الرصاص سبب تغيرات نسيجية مرضية واضحة في الكلى الا ان المعاملة بالارجنين قلل من الاضرار التي اصابته خلايا الكلى.

الكلمات المفتاحية: الحامض الاميني الارجنين L-arginine ، الانترولوكين السادس 6 – Interleukin ، السمية الكلوية

المقدمة

مدى طويل قد يكون له أثار سمية كلوية حادة أو مزمنة، وان وجودهم في البيئة المحيطة تعزز الفرصة للتعرض لهذه المعادن وتراكمها في الانسجة، تتميز السمية الكلوية بالرصاص وظيفياً و بنقص عام في آليات النقل الأنبوبي متمثلة بمتلازمة فانكوني fanconi syndrome وهو عبارة عن مرض يصيب الانابيب الملتوية القريبة ويلاحظ من خلال ظهور التغيرات التنكسية في خلايا tubular epithelium كذلك ارتفاع ضغط الدم hypertension بالتالي يؤدي الى فشل كلوي renal failure (16) .

اهداف الدراسة :

- 1- معرفة تأثير الارجنين في تقليل السمية الرصاص
- 2- بيان تأثير الارجنين على كل من اليوريا Albumin Urea والالبومين السادس والانتروكوكين (IL-6)
- 3- تحديد التغيرات الحاصلة نسيجياً في الكلى والوقوف على التغيرات من جراء خلات الرصاص ودور الارجنين في المعالجة

المواد وطرائق العمل

الحامض الاميني الأرجنين له دور مهم في جسم الكائن الحي حيث يساعد على التخلص من الفضلات، الناتجة عن استهلاك البروتين في الجسم، كما أنه يساعد على تكوين مادة اوكسيد النترليك التي تساعد على توسيع الشرايين الدموية، وكذلك يحمي من الجلطات القلبية، وكذلك يحسن الدورة الدموية، و له دور في مضادات الاكسدة وهناك فوائد عديدة أخرى للأرجنين(7) النشاط الاقتصادي يعتبر للبشرية سلاح ذو حدين، إذ له مخاطر عديدة منها الإخلال بدورة العناصر في الطبيعة وخصوصاً العناصر الثقيلة منها، إذ يؤدي زيادة تركيزها في المحيط الخارجي وبذلك نراها في المياه الشرب وفي الغلاف الجوي (5). فمثلاً الرصاص يدخل في صناعة البطاريات والمطاط والاصباغ وحرور المطابع القديمة ويضاف الى وقود السيارات لتقليل الفرقة، وفي صناعة السبائك والتعدين وصهر المعادن (15). لذا تؤدي افرزازات المصانع والمواصلات المستخدمة للمعادن الثقيلة والطبيعة نفسها، دوراً رئيساً في تلوث الهواء والتربة بها، الامر الذي يهدد لانتقالها الى النباتات ومنها الى الحيوانات التي تعد مصادر غذائية اساسية للإنسان(2,3). ان التعرض المتواصل للرصاص على

النتائج والمناقشة

1- تقدير تركيز اليوريا Urea في الدم

تبين من الجدول (1) ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز اليوريا في مصل الدم الارانب المجموعة الثانية المعاملة بخلات الرصاص مقارنة مع المجموعة الاولى مجموعة السيطرة السليمة، ويعود سبب في ارتفاع تركيز اليوريا الى زيادة تراكيز الجذور الحرة في الجسم وحدثت الإجهاد التي بدورها تؤدي الى أكسدة البروتينات والأحماض الأمينية وبذلك تزداد اليوريا كنتاج ثانوي (12). كذلك أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) تركيز اليوريا في مصل الدم الارانب المجموعة الثالثة المعاملة بخلات الرصاص مع الحامض الاميني الارجنين مقارنة مع المجموعة الاولى مجموعة السيطرة لكن بقيت القيم اعلى من مجموعة السيطرة، وقد يعود السبب الى الحامض الاميني الارجنين يوفر حماية ضد الاجهاد التأكسدي وكذلك الارجنين يلعب دوراً مهماً في ايض النترجين، وكمركب وسطي في دورة اليوريا Urea cycle، مما يجعله ضرورياً في ازالة الاموني (10).

2- تقدير تركيز الالبومين Albumin

يبين الجدول (1) انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز الالبومين في مصل الدم الارانب المجموعة الثانية المعاملة بخلات الرصاص مقارنة مع المجموعة الاولى مجموعة السيطرة السليمة، قد يعود السبب في هذا الانخفاض الى تأثير خلات الرصاص على الكبد الذي يعد العضو الاساس المسؤول عن تصنيع وتكوين اغلب البروتينات في الجسم وخاصة الالبومين والكلوبيولين اللذين يشكلان النوعين الرئيسيين في التركيز الكلي للبروتين فضلاً عن الفايبرينوجين، وقد اشارت العديد من الدراسات الى تأثير الرصاص على الكبد والتي اكدت أن يسبب تنكس وتخر وتلف في خلايا الكبد مما يؤدي الى قلة في الكفاءة الوظيفية وتحطم كامل لخلايا اثرت المادة السمية على الخلايا الكبد مما قللت تصنيع الالبومين (6) او قد يسبب خلات الرصاص ضرر في الكبد على إنتاج أنواع الأوكسجين الفعال التي تهاجم مكونات الخلية الاساسية مثل البروتينات، والدهون والاحماض النووية (1) كما اظهرت الدراسة ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز الالبومين في المجموعة الثالثة المعاملة بخلات الرصاص و الحامض الارجنين، ويعزى السبب هذا الارتفاع الالبومين الى الارجنين يعد من المكملات الغذائية الذي يحتوي على الاحماض الامنية واملاح المعدنية، يعد من الاحماض الامنية الضرورية الفعالة داخل الجسم، ويقلل من الاجهاد التأكسدي وزيادة من المضادات الاكسدة وازالة السموم وكشف عن تحسين من التأثيرات السامة من حيث التغيرات النسيجية (4).

3- تقدير تركيز الانترلوكين السادس Interleukin-6

تبين من الجدول (1) ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز الانترلوكين السادس في المجموعة الثانية المعاملة بخلات الرصاص مقارنة مع المجموعة الاولى مجموعة السيطرة، ربما سبب ارتفاع الانترلوكين السادس تأثير الرصاص على الجهاز المناعي بشكل جيد السيوتوكينات هي مؤشرات مبكرة على اصابة الانسجة و التغيرات في

العقار المستخدم بالدراسة L-arginine استخدم بهيئة حبوب مصنع من قبل الشركة HARBIN YEEKONG HERB الاسترالية، وتم استخدام التجريع الفموي الانبوبي بشكل يومي ولمدة (30) يوماً حيث كان عدد الحيوانات 15 ذكراً من الأرناب المحلية بأعمار تراوحت ما بين (6-7) أشهر وبأوزان (1300-1500غم)، تم شراؤها من الأسواق المحلية لمدينة سامراء، وتمت عملية التربية في غرفة صغيرة أبعادها 3×3 م تم تهيتها لهذا الغرض، وتم وضع الارانب في أقفاص ذات أبعاد 40×40×60 سم مصنوعة من Stainless steel، خضعت الحيوانات لظروف مختبرية موحدة من حيث التهوية وتراوحت درجة الحرارة (25-30) م ومدة إضاءة 12 ساعة ضوء و 12 ساعات ظلام (إضاءة طبيعية)، وتمت تركت الحيوانات لمدة أسبوع للتأقلم للظروف الجديدة والتأكد خلوها من الأمراض، وأعطيت الغذاء والماء بشكل مستمر وبكميات كافية طول فترة التجربة في، حيث كان الغذاء حسب العليقة القياسية الخاصة بالارانب، ثم وزعت الحيوانات عشوائياً الى (3) مجاميع وضمت كل مجموعة (5) حيوانات وبأوزان مقارنة، وتم التجريع باستخدام التغذية الانبوية، حيث وزعت المجاميع وفق ماياتي المجموعة الاولى كانت مجموعة السيطرة معاملة فقط بالماء والغذاء والمجموعة الثانية معاملة بخلات الرصاص بجرعة (50 ملغم/ كغم من وزن الجسم) والمجموعة الثالثة معاملة بخلات الرصاص والحامض الاميني الارجنين (28 ملغم/ كغم من وزن الجسم) وتم الحصول على العينات الدموية بعد انتهاء التجربة بعد ان جوعت جميع الحيوانات لمدة (12) ساعة بعد ذلك خدرت باستخدام الكلوروفورم، ثم سحبت عينات الدم عن طريق طعنة القلب مباشرة اذ تم جمع من (4-5) مل من الدم ووضعت في أنابيب ذات جيلاتين، أجري لها عملية طرد مركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 15 دقيقة لغرض الحصول على مصل الدم، وحفظ مصل الدم عند درجة حرارة -20 م لحين إجراء الفحوصات المناعية والكيموحيوية، تم قياس تركيز اليوريا والالبومين في مصل الدم باستخدام الطريقة اللونية وذلك بواسطة عدة الفحص الجاهزة Biolabo الفرنسية، وتم قياس تركيز الانترلوكين السادس IL-6 عن طريق عدة الفحص المجهزة من شركة Shanghai من خلال تقنية إختبار الامتصاص المناعي المرتبط بالانزيم ELISA استخدمت طريقة الساندويج، اما الجانب النسيجي تم استئصال الكلى من الحيوانات المخدرة بعد تشريحها، وتم غسلها بالمحلول الفسلي، وقطعت على جزئين حسب ما هو ملائم بشفرة حادة، ثم وضعت في الفورمالين بتركيز 10 %، وتم تحضير عدة مقاطع نسيجية بسمك (7مايكرومتر) وصبغت بصغة الهيماتوكسيلين - الايوسين لدراسة التغيرات النسيجية وفقاً (8).

التحليل الإحصائي: اجري التحليل الاحصائي للنتائج بواسطة اختبار تحليل التباين (ANOVA) و تم تحديد الاختلافات المعنوية بحسب اختبار دانكن متعدد الحدود Duncans multiple ranges ($P \leq 0.05$).

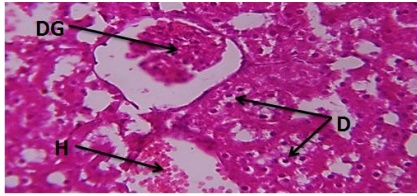
الارجنين مقارنة مع مجموعة الاولى مجموعة السيطرة بينما بقيت القيم اعلى من مجموعة السيطرة قد يعزى السبب الى الارجنين في خفض تركيز الانترلوكين - 6 لحماية من سمية خلايا الرصاص الذي حرضت على الالتهابات، كما يعمل على تحسين بنية ووظيفة الكلى ويعمل على زيادة الكلوتاثيون بيروكسيديز ويقلل من الاجهاد التأكسدي والالتهابات(9,13).

الاستجابة المناعية و كمؤشر لسمية المناعة و تلف كلوي تأثير المعادن الثقيلة (الرصاص) على مستوى الانترلوكين السادس ارتفاعه ادى الى اضطرابات في وظائف الكلى بسبب الاجهاد التأكسدي الذي يؤدي الى تليف و تلف الكلية هذا الارتفاع ناجم عن السموم الكلوية(14). وتولد المادة السامة انواع من الاوكسجين الفعال (11) بينت النتائج انخفاض معنوي في تركيز الانترلوكين السادس في المجموعة الثالثة المعاملة بخلايا الرصاص مع الحامض الاميني

جدول(1): مستويات اليوريا والالبومين والانترلوكين السادس في مصل دم ذكور الارانب

Interleukin - 6 ml/ng	dl/Albumin mg (Mean ± St.d)	dl/Urea mg (Mean ± St.d)	المتغيرات المجاميع المدروسة
15.19 ± 6.07 d	4.740 ± 0.0548 a	42.28 ± 5.26 e	المجموعة الاولى (السيطرة)
38.99 ± 7.21 a	3.680 ± 0.1304 d	60 ± 13.0978. e	المجموعة الثانية (خلايا الرصاص)
16.8 ± 11.13 d	3.460 ± 0.1673 d	64.82 ± 6.90 b	المجموعة الثالثة (خلايا الرصاص+الارجنين)

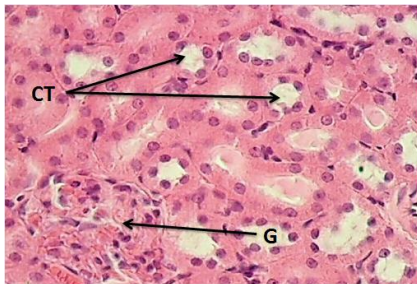
الحروف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فرق معنوي بينهما بمستوى معنوي (P ≤ 0.05)



صورة (2): كلية المجموعة المجرعة خلايا الرصاص يوضح تحطيم الكبيبة (DG) وتنكس خلايا (H) ونزيف الدموية (D) الملوتوية النبات H&E X400

ثالثاً: مجموعة خلايا الرصاص والارجنين :

أظهرت الدراسة النسيجية لكلي ارناب المجموعة المعاملة بخلايا الرصاص 50ملغم/كغم والارجنين L-arginin 28ملغم/كغم الإصلاح في الكبيبة Glomerulus والنيبيات الملوتوية Convoluted Distal tubules كما في صورة(3) مقارنة مع المجموعة السيطرة صورة رقم(1)، وتعود الحماية الكلوية الى الارجنين وما اثبت بدوره في تخفيف الاجهاد التأكسدي وتثبيط اوكسيد النتريك وحماية ضد بيروكسيده الدهون lipid peroxidation ، وبهذا يحمي أنسجة الكلية ضد سمية خلايا الرصاص(7).

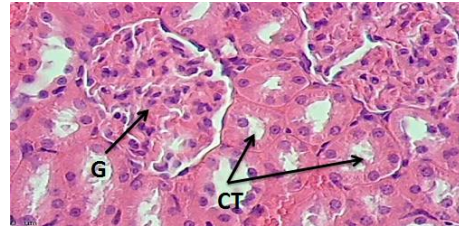


صورة (3): كلية المجموعة المجرعة خلايا الرصاص ومعالجة بالارجنين يوضح شكل الكبيبة

الدراسة النسيجية للكليتين :

أولاً: مجموعة السيطرة :

أظهرت الدراسة النسيجية للمقاطع المستعرضة المحضرة لكلي أرناب مجموعة السيطرة الشكل الطبيعي للكبيبة Glomerulus مع الشكل الطبيعي للطبقة المحيطة المسمى بمحفظة بومان Bowman Capsule والشكل الطبيعي لنيبيات الملوتوية Gonvoluted Tubules المتمثلة بالنيبيات القريبة Proximal tubules والنيبيات البعيدة Distal tubules كما في الصورة رقم (1)



صورة (1): تركيب كلية مجموعة السيطرة يوضح الشكل الطبيعي للكبيبة (G) النبيات الملوتوية (CT) H&E X400

ثانياً: مجموعة خلايا الرصاص

أظهر الفحص المجهرى لكلي أرناب المجموعة المعاملة بجرعة 50ملغم/كغم من خلايا الرصاص، فإن السمية الناتجة عن خلايا الرصاص تسبب تلف في الكلى يوضح تحطيم الكبيبة damage Glomerulus مع نزف دموي Hemorrhage كما في صورة (2)، وقد تعزى التأثيرات السلبية النسيجية إلى دور خلايا الرصاص في توليد أصناف الأوكسجين الفعالة التي تسبب بيروكسيده الدهون في أغشية الخلايا وتحلل ال DNA كذلك تنكس الخلايا المبطن للنيبيات الكلوية (6).

المصادر

9. Bergeron, N.; Robert, C. and Guay, F. (2014). Antioxidant status and inflammatory response in weanling piglets fed diets supplemented with arginine and zinc. *Can J Anim Sci* 2014;94(1):87-97.
10. Fafula, R.V.; Jefremova, U.P.; Olena, K. and Onufrovych, (2018). Alterations in Aeginase -NO-Synthase system of spermatozoa of in human subjects with different fertility potential. *J. Med. Biochem.* 37: 134 –140.
- Fenga, C.; Gangemi, S.; Giambò, F.; Tsitsimpikou, C.; Golokhvast, K.; Tsatsakis, A., and et al (2016). Low-dose occupational exposure to benzene and signal transduction pathways involved in the regulation of cellular response to oxidative stress. *Life sciences*, 147, 67-70.
11. Manna, C.; Migliardi, V.; Sannino, F.; DeMartino, A. and Capasso, R. (2005). Protective effects of synthetic hydroxytyrosol acetyl derivatives against oxidative stress in human cells. *J. Agric. Food Chem.* 53: 9602-9607.
12. Manssor, A. R. J.; Al-Mahdawi, Z. M. M.; and Hadi, A. M. (2019). The effect of L-Arginine of treatment for infertile men on semen parameters. *Tikrit Journal of Pure Science*, 24(5), 1-4.
13. Maria, B.; Koizumi, S. and Jonai, H. (2000). Cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells after exposure to heavy metals. *Journal of health science*, 46(5), 358-362.
14. Plumlee, K.H. (2004). *Clinical veterinary toxicology*. 1st ed. Mosby Inc. U.S.A.
15. Song, X. B.; Liu, G.; Liu, F.; Yan, Z. G.; Wang, Z. Y.; Liu, Z. P. and et al (2017). Autophagy blockade and lysosomal membrane permeabilization contribute to lead-induced nephrotoxicity in primary rat proximal tubular cells. *Cell Death & Disease*, 8(6), e2863-e2863.
1. الدليمي، عدنان محمد أحمد (2016). تأثير أوراق القريص وأوراق وبذور المورنجا في تقليل التسمم بالكاديوم والرصاص في ذكور الجرذان البيض. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم الزراعة. جامعة تكريت.
2. السيد، جمال عويس (2000). "الملوثات الكيميائية للبيئة". دار الفجر للنشر والتوزيع، القاهرة/مصر.
3. بودقجي، عامر وكمال، محمود (1999). "التلوث والامن الصناعي". مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية ، حلب/سورية.
4. طياوي، حسين محمد (2015). مقارنة تأثير الكارنتين والجنسغ والشبنت والأرجنين في بعض المعايير الفسلجية والنسجية وصفات الجهاز التناسلي الذكري في الجرذان البيض السليمة والمعرضة للإجهاد التأكسدي. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم. جامعة تكريت.
5. عبداللطيف، حسين علي، حتروش، ستار جاسم ، شذى حسين (2010). تأثير تركيز مختلفة من كلوريد الكاديوم واليثيوم في بعض الدلائل الكيموحيوية لذكور الأرانب النيوزلندية . مجلة جامعة كربلاء العلمية، المجلد (8)، العدد(4).
6. العيساوي، موفق مطلق زيدان (2013). دراسة تأثير الكارنتين وشراب الشاي الاخضر في التأثيرات للعقار Doxorubicin والاجهاد التأكسدي في ذكور الارانب المحلية . أطروحة دكتوراه ، كلية التربية، جامعة تكريت.
7. النعيمي، عيبر طالب القادر (2016). مقارنة استخدام الارجنين و الميلاتونين للوقاية من امراض القلب الوعائية المستحدثة بعقار Doxorubicin وبيروكسيد الهيدروجين في ذكور الارانب. أطروحة دكتوراه، كلية التربية ، جامعة تكريت.
8. AL-Okaily, B. N. and AL – Shammari, Z. M. (2017). Histological changes in pituitary-testes axis in rats exposed to cadmium chloride; protective role of Eruca sativa seeds. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 41(1):76-85.

Protective L-arginine role against Nephrotoxicity induced by lead pollution in male Robbits

Aseel salah Mahmood , Moafaq Mutlak Zeidan , Suadat Mustafa Mohmmmed

Department of Biology, College of Science , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

Abstract

This study was designed to evaluate the protective role of L- arginine in the Physiological, Biochemical, Immunity and histological effects in decrease the toxicity of lead in male domestic rabbits , which has been used in the events of toxicity and oxidative stress and its effect on the kidney. The study included 15 male rabbits aged between (6-7 months) which were randomly divided into 3 groups, each group included (5) animls, at the similar age and the treatment period is 30 days. the first group considered as control were given water and diet, the second group was treated at a dose of lead 50 mg / kg b.w., group third were given L- arginine 28 mg / kg .b. w. with lead, The results showed that the treatment of animals lead led to a significant increase ($P < 0.05$) in concentration of Urea, and significant decrease ($P < 0.05$) in concentration the Albumin, and significant increase ($P < 0.05$) in concentration of Interleukin- 6 (IL-6) in the blood serum compard with the control group, The results showed that the treatment of animals with L-arginine led to the positive improvement for most of the values of previous indicators. The results showed that lead poisoning caused clear histopathological changes, but treatment with L-arginine reduced the damage to the kidney.