

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

* جبار عباس احمد الساعدي ** احمد جاسم حسن النانلي ** 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-Qadisiya

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 CdCl₂ 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 الفاييتيز المايكروبي والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء في تقليل التأثيرات السمية لكلوريد الكاديوم في بعض معايير الدم (عدد كريات الدم الحمراء وتركيز خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص والعدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض وتراكيز الإنزيمات الناقلة للأمين AST و ALT وإنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP).

تم تقسيم (٤٠) جرذاً ذكراً بالغاً عشوائياً على ٤ مجموعات متساوية، وأسقيت الحيوانات ماء الشرب الحاوي على كلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر. إذ تركت الأولى بدون أي معاملة إضافية (السيطرة) وتناولت الثانية (T1) إنزيم الفاييتيز مع العليقة بنسبة ٥٠٠ ملغم/كغم. وتناولت الثالثة (T2) مستخلص بذور الحبة السوداء مع ماء الشرب بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر وتناولت الرابعة (T3) المعاملتين معاً. 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 الآخر لعزل مصلى الدم لغرض قياس الإنزيمات ALT و AST و ALP.

أظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في عدد كريات الدم الحمراء 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 إلى حصول انخفاض معنوي في نسبة الخلايا العذلة والحمضة لمجموعات المعاملة (T1 و T2 و T3) عند مقارنتها مع السيطرة في حين حصل العكس لنسبة الخلايا اللمفية التي أشارت نتائجها إلى الارتفاع المعنوي في مجموعات المعاملة مقارنة مع السيطرة. كما أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في تركيز الإنزيمات ALT و AST و ALP لحيوانات مجموعات المعاملة (T1 و T2 و T3) بالمقارنة مع حيوانات السيطرة، وخصوصاً في مجموعة T3 التي تناولت حيواناتها كل من إنزيم الفاييتيز ومستخلص بذور الحبة السوداء معاً.

يمكن الاستنتاج أن إنزيم الفاييتيز وبذور الحبة السوداء دوراً إيجابياً في تقليل التأثيرات السمية لكلوريد الكاديوم للجرذان وخصوصاً عند أعطائهما معاً.

المقدمة

تعد المخلفات الصناعية الحاوية على الكاديوم من أخطر الملوثات البيئية التي تضر بصحة الإنسان (He et al., 2005). إذ إن 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 إلى الإنسان والكائنات الأخرى (WHO, 2002). يؤثر الكاديوم 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 بالكاديوم بعد التعرض له (Smalinskiene et al., 2004).

يؤدي تناول الغذاء الحاوي على الكاديوم وخاصة في المناطق الملوثة صناعياً إلى 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 للكاديوم إلى زيادة عمليات أكسدة الدهون وتكوين الجذور الحرة التي تؤثر في العديد من المكونات الخلوية المهمة كالدهون والبروتينات والأحماض النووية، مؤدية إلى تلف الأغشية الخلوية (Sarkar et al., 1998). وعليه وجد إن تحسين المستوى الغذائي وتوفير المعادن الأساسية كالحديد والنحاس والكاديوم وتوفير الفيتامينات والمركبات العضوية بوصفها مضادات للأكسدة يقي الكائنات الحية من سمية هذه العناصر (Rana et al., 1996). وقد وجد أن بذور الحبة السوداء تمتلك العديد من المركبات الفعالة التي تعمل على وقاية الحيوانات من فعل الجذور الحرة (Brouzetti, 1997).

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

صممت التجربة الحالية لدراسة التأثيرات التي يمكن أن يؤديها استخدام إنزيم الفاييتيز ومستخلص بذور الحبة السوداء على أفراد أو مع بعضهما في تقليل سمية كلوريد الكاديوم 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 إلى 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 الكاديوم:** استخدم في هذه الدراسة كلوريد الكاديوم $CdCl_2$ عالي النقاؤه 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 الفاييتيز: استخدم إنزيم الفاييتيز (Novozymes (Bio-Feed® phytase)- Denmark 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 Soxhlate. 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 الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/ لتر
- ٢- المعاملة الأولى (T₁): أعطيت ماء الشرب الحاوي على كلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/ لتر مع إضافة إنزيم الفاييتيز مع العليقة بنسبة ٥٠٠ ملغم/ كغم.
- ٣- المعاملة الثانية (T₂): أعطيت ماء الشرب الحاوي على كلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/ لتر مضافاً إليه مستخلص بذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/ لتر.
- ٤- المعاملة الثالثة (T₃): أعطيت ماء الشرب الحاوي على كلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/ لتر مضافاً إليه مستخلص بذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/ لتر من ماء الشرب مع إضافة إنزيم الفاييتيز مع العليقة بنسبة ٥٠٠ ملغم/ كغم.

بعد مرور ٢٤ ساعة على آخر يوم من مدة التجربة البالغة ثمانية 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 (10×10^{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/١٠٠ مل) **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 (10×10^9 /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 للأمين ALT و AST اتبعت الطريقة اللونية للعالمين Reitman & Frankel (1957) لتقدير فعالية الإنزيمات الناقلة للأمين ALT و AST واستخدمت عدة التحاليل Kit المجهزة من شركة Giese 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 (Biomérieux) 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 لكوريد الكادميوم (جدول ١)، مما يشير إلى أن التسمم بهذا العنصر يؤدي إلى حصول حالة من فقر الدم جاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصل إليه Ognjaronic et al., (2003). إذ يؤدي التسمم بكوريد الكادميوم إلى حدوث اضطرابات في تصنيع هرمون الارثروبويتين المسؤول عن تنظيم إنتاج كريات الدم الحمر ونضجها في نخاع العظم نتيجة للخلل الذي يحصل في النيبات الكلوية الدانية، لاسيما أن هذه النيبات تعد الموقع الرئيسي لتصنيع العامل Renal erythropoietic factor المسؤول عن تصنيع هذا الهرمون (Loga et al., 1992)، إذ أن التسمم بالكادميوم يؤثر بصورة مباشرة في أنسجة الكليتين وخصوصاً تلف ظهارة هذه الانبيبات (Jarup et al., 2000, Jarup., 2002) وعليه تؤدي الاضطرابات الحاصلة في تصنيع الارثروبويتين إلى 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) إلى أن استخدام الفاييتز والحبة السوداء مع الكادميوم أدى إلى تحسين معايير الدم لتصل إلى مستوى قريب من معدلات في مجموعة السيطرة واتفقت هذه النتائج مع ما توصل له Stahl et al., (١٩٩٩). حيث إن إضافة الفاييتز إلى الغذاء يزيد من تحرر الحديد من الفاييتيت في القناة الهضمية وزيادة امتصاصه وبالتالي ينعكس ذلك إيجاباً في تحسين مستوى خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص. فضلاً عن الدور الإيجابي للفايتيز في تحرير الفسفور من الفاييتيت والذي يحسن من التفاعلات الإنزيمية وأيض الكاربوهيدرات والدهون، وأن زيادة تلك الفعاليات يحتاج كميات إضافية من الأوكسجين مما يحفز الكليتين لإفراز كميات إضافية من الارثروبويتين لغرض تنشيط نخاع العظم وإنتاج كريات الدم الحمراء (Ekelund, 2003).

من جانب آخر أدى المستخلص الكحولي للحبة السوداء دوراً مهماً في حماية أغشية كريات الدم الحمر من الآثار السلبية للجذور الحرة المتولدة بفعل الكادميوم وذلك يعود إلى 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 الكاديوم 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 آخر 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 (Rebaud et al., 2005 a, b). فقد لوحظ أن التعرض لأكاسيد الكاديوم عن طريق الاستنشاق أو تناول كلوريدات وكبريتات الكاديوم 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 فإن 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 آخر يمكن عزو إنخفاض أعداد الخلايا اللمفية الى تأثير الكاديوم في الجهاز المناعي وتثبيط المناعة الخلوية (T اللمفية) (Vodella et al., 1997) إذ تؤدي حالة الإجهاد والكبح المناعي الحاصل للجهاز المناعي بفعل التسمم بالكاديوم إلى خفض أعداد تلك الخلايا (Weshana, 2000)، إذ يسبب تأثير الكاديوم 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 آخر أظهرت الدراسة الحالية أن الحيوانات التي تناولت الفاييتيز وخلصه بذور الحبة السوداء مع الكاديوم وصلت فيها أعداد خلايا الدم البيض الى معدلاتها الطبيعية حيث أدت المعاملتان في المجموعتين T_2 و T_3 الى زيادة أعداد خلايا اللمفية في الأسبوع الثامن مما يشير الى الدور الإيجابي الذي يلعبه الفاييتيز من خلال توفير عنصر الزنك الذي يعد ضرورياً لهذه الخلايا (Brzoska et al., 2000).

التغيرات الكيموحيوية

أكدت نتائج الدراسة الحالية على أن الكبد هو أكثر الأعضاء تأثراً بالتسمم بالكاديوم 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 (Eroschenko, 2000)، إذ أن هذا التأثير ينعكس سلباً في قابلية الكبد على أداء الفعاليات التمثيلية للبروتينات والدهون والكاربوهيدرات وإنتاج بروتينات مصل الدم والإنزيمات المختلفة، علاوة على تعطيل دور الكبد في إزالة المواد السامة (Habeebu et al., 2002).

يستخدم قياس تركيز الإنزيمات الناقلة للأمين ALT و AST 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 بالكاديوم عليها وبالتالي على الأنظمة الحيوية للجسم، حيث أشارت النتائج الى حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) تدريجي في تركيز الإنزيمات الناقلة للأمين ALT و AST و ALP وتناسب هذا الارتفاع مع زيادة مدة التعرض في مجموعة السيطرة المعاملة بكلوريد الكاديوم 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, Kowalczyk et al., 2003). إضافة الى التأثيرات السلبية للجذور الحرة المتولدة (Stohs et al., 2001).

كما أشارت النتائج الى إن الحيوانات التي تناولت إنزيم الفاييتيز و خلاصة بذور الحبة السوداء مع الكادميوم قد حافظت على تراكيز هذه الإنزيمات بمستوى قريب من معدل مجموعة السيطرة مما يؤكد الدور الوقائي الذي يلعبه إنزيم الفاييتيز و خلاصة بذور الحبة السوداء في كبح نشاط الجذور الحرة المتولدة بفعل الكادميوم وبالتالي حماية خلايا الكبد، حيث إن الفاييتيز 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 إنتاج الميثالوثايونين الذي يرتبط مع الكادميوم ويحجزه في الساييتوبلازم 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 التأزر بين بذور الحبة السوداء وإنزيم الفاييتيز في توفير الحماية القصوى لخلايا الكبد في المجموعة T3 في الأسبوع الثامن.

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

المجاميع	عدد كريات الدم الحمراء (×١٠ ^٦ /لتر)	تركيز خضاب الدم (غم/١٠٠ مل)	حجم الخلايا المرصوص (%)	عدد كريات الدم البيضاء (×١٠ ^٣ /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.
- T₁ المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفاييتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم عليقة.
- T₂ المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.
- T₃ المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفاييتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.

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

المجموع	الخلايا الحبة (%)	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 ($p < 0.05$).
- المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر.
- T₁ المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفاييتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم عليه.
- T₂ المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.
- T₃ المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفاييتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.

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

المجموع	(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 ($p < 0.05$).
- المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر.
- T₁ المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفاييتيز بواقع ٥٠٠ ملغم/كغم عليه.
- T₂ المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.

- T₃ المجموعة المعاملة بكلوريد الكاديوم بتركيز ٣٠ ملغم/لتر وإنزيم الفايبيز 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 postnatal 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. & Rogaska, 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.Sanders.Co.
- Dacie, J.V. and Lewis, S.M. (1984).** *Practical hematology*. Ch3, 6th edition. Churchill Livingstone, Edinburgh. London, Melbourne 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 Superelemente.14. Arbeitstagung, Jena* 25/26 November, edited by Anke, M. and Meissner, D. PP.435-440; 12 ref. Leipzig, Germany; Verlag. 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) Effect of black cumin (*Nigella sativa*) 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 in rats 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. *Poult. 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., Roncker, 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.
- Vodola, J.K., Renden, J.A., Lenz, S.D., Meclhenney, 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.

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