جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

دراسة فسيولوجية لتأثيرات تراكيز مختلفة من فيتامين D3 على كلى وكبد ودم الجرذان المعاملة بكلوريد الكاديوم $CdCl_2$

براء يعقوب يوسف محمد الرحو

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

المدرس

الدكتور بنان راكان دبدوب

1442 هـ

2021م

الخلاصة Abstract

أُجريت الدراسة الحالية على ذكور الجرذان Rattus rattus norvigicus بعمر شهرين، بلغت معدل أوزانها من 200 gm–250. حددت الجرعة الوسطية المميتة LD50 لكلوريد الكادميوم وأُختير التركيز 5mg/kg لحقن الجرذان تحت الغشاء البريتوني pertouniam membrane. قسمت الجرذان إلى 8 مجاميع كل مجموعة تتألف من8 جرذان. المجموعة الأولى كانت مجموعة السيطرة خالية من كلوريد الكادميوم وفيتامين D3. المجموعة الثانية حقنت في التجويف الخلب البريتوني بكلوريد الكادميوم $CdCl_2$ بتركيز 5mg/kg مرة واحدة خلال شهر. المجموعة الثالثة حقنت بريتونيا" 5mg/kg وبواقع مرة واحدة لكل من الثمان جرذان ثم جرعت فمويا" بفيتامين D3بعد اسبوع من الحقن بكلوريد الكادميوم بتركيز 1000IU/kg بواقع ثلاث جرعات في الاسبوع وكذلك لباقي التراكيز. المجموعة الرابعة حقنت بريتونيا" بكلوريد الكادميوم وبتركيز 5mg/kg وبواقع جرعة واحدة ثم جرعت فمويا" بفيتامين D3 بعد أسبوع من الحقن بكلوريد الكادميوم بتركيز 2000IU/kg. المجموعة الخامسة حقنت برتونيا" بكلوريد الكادميوم وبتركيز 5mg/kg وبواقع مرة واحدة ثم جرعت فمويا" بفيتامينD3 بعد اسبوع من الحقن بكلوريد الكادميوم وبتركيز 4000 IU/kg. المجموعة السادسة تضمنت 8 جرذان مجرعة فمويا" بالفيتامين D3 فقط وبتركيز 1000 IU/kg وبواقع ثلاث جرعات كل أسبوع كذلك باقي التراكيز. المجموعة السابعة تضمنت 8 جرذان مجرعة فمويا" بفيتامين D3 فقط وبتركيز 2000 IU/kg. المجموعة الثامنة تضمنت 8 جرذان مجرعة فمويا" بفيتامين D3 فقط وبتركيز 4000 IU/kg.

بعد الاسبوع الثاني من الحقن والتجريع، سحب الدم من نصف العدد من الجرذان في كل مجموعة من المجاميع، ثم شرحت الجرذان وأُخذ الكبد والكلية لإجراء الفحوصات، والنصف المتبقي من الجرذان المعاملة تم سحب الدم وتشريحها بعد اربع اسابيع من الحقن. هدفت الدراسة الحالية الى اختبار التأثير العلاجي لفيتامين D3 مضاد للأكسدة في كبد وكلى ودم الجرذان التي حقنت بالمعدن الثقيل كلوريد الكادميوم $CdCl_2$ ودراسة بعض التغيرات البيوكيميائية والفسيولوجية والنسجية فيها من خلال دراسة وظائف الكبد والكلية، والتعداد الكلي لخلايا الدم البيض، وهموكلوبين الدم لجرذان التجربة في المعاملات ومقارنتها مع مجموعة السيطرة فضلا" عن دراسة

مستوى الاجهاد التاكسدي ومضادات الاكسدة في كبد وكلية الجرذان نتيجة لحقنها بكلوريد الكادميوم، ومن ثم معالجتها بتراكيز محددة من فيتامين D3.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أنَّ لكلوريد الكادميوم سُمية عالية وتاثير كبير على وظائف الكبد والكلية وتركيبهما النسجي وزيادة الجهد التاكسدي فضلا" عن هيموكلوبين الدم والتعداد الكلي لكريات الدم البيض موضوع الدراسة، إذ كان هناك فروق معنوية كبيرة بين مجموعة الجرذان المعاملة بـ CdC_2 عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة.

كما أثبتت نتائج الدراسة أنَّ لفيتامين D3 دورا" كمضـــاد للاكسدة وكعلاج في تقلـــيل التأثيـــر السمـــي لكلوريد الكادميـــوم الى حد كبـــير جدا. كان افضل تركيز لفيتامين D3 استعمل في الدراسة الحالية هو 2000 IU/kg والذي جرع للجرذان وبواقع ثلاث جرعات في الاسبوع لمدة أربعة أسابيع وبعد حقنها بكلوريد الكادميوم، إذ كان هناك انخفاضا معنويا عند مستوى احتمالية $P\leq0.05$ في تركيز اليوريا في مصل الدم، ومستوى تركيز انزيم Alanin aminotransferase (ALT) ومستوى المالونديالديهايد Malondialdehyde (MDA) في كلية الجرذان عند مقارنتها بمجموعة السيطرة، من ناحية أخرى كان هناك ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية $P\leq0.05$ في مستويات الكلوتاثيون Glutathion (GSH) والكتاليز Catalase (CAT) في كبد الجرذان عند نفس التركيز من فيتامين D3 عند مقارنته مع مجموعة السيطرة، بينما كان هناك تحسن واضح في الكرياتنين، وأنزيم الأسبارتيت أمين ترانزفريس Aspartate amino trasferase (AST)، ومستويات الكلوتاثيون (GSH) والكتاليز (CAT) في الكلية والمالونديالديهايد (MDA) في الكبد فضلا" عن نسبة الهيموكلوبين في الدم والتعداد الكلي لكريات الدم البيض اذ كانت النتائج مقاربة بشكل كبير لنتائج مجموعة السيطرة.

بينت الدراسة ان فيتامين D3 قد يعزز مقاومة الجسم والتقليل من خطر الاصابة بالخلل الانبوبي الكلوي والفشل الكلوي الناجم عن التعرض لكلوريد الكادميوم اذ ثبط زيادة تأثير كلوريد الكادميوم وأدى الى تغييرات في مستوى واليوريا والكرياتينين في مصل الدم، وبالتالي اختزلت التشوهات النسجية في الكبد والكلية.

أوضحت نتائج الدراسة الحالية ايضا حصول ارتفاع معنوي في مستوى تركيز انزيمات ALT و AST في مصل جرذان المجموعة التي حقنت فقط بـ CdCl2 وهذا الامر يمثل مؤشرات حيوية لتلف الكبد وإصابة مساحات واسعة من النسيج الكبدي، والتي سببها زيادة في أكسدة الدهون

التي لها القدرة على تحطيم وتلف اغشية الغشاء الخلوي وإرتفاع مستوى الانزيمات في الدم نتيجة تسربها من الخلايا الكبدية، لفيتامين D3 الدور في تقليل من تراكم كلوريد الكادميوم في خلايا الكبد مما قد يؤدي إلى انخفاض مستوى الهيدروبروكسيد، وقد يخفف من الآثار الضارة للكادميوم على إنزيمات الكبد.

ارتفعت مستويات الـ MDA في كل من الكبد والكلية، وأدت هذه الزيادة الى تزنخ الدهن والتقليل من فعالية ونشاط الانزيمات المضادة للاكسدة الـ GSH و CAT في نسيج الكبد نتيجة" لتفاعل كلوريد الكادميوم مع نظام الأكسدة في المايتوكوندريا الذي يعزز من إنتاج أصناف الأوكسجين التفاعلية ROS Reactive Oxygen Speciese وتحريرها في السايتوبلازم والتي تعد مدمرة للأحماض الدهنية غير المشبعة والمحفزة على الموت الخلوي المبرمجِ Apoptosis ومن ثم تلف النسيج بأكمله، معاملة الجرذان بفيتامين D3 أدت إلى تقليل من اضرار الجهد التاكسدي عن طريق زيادة الأنزيمات المضادة للأكسدة والتقليل من بيروكسيد الدهون، اذ قلل فيتامين D3 من التأثير السام لكلوريد الكادميوم من خلال التحسن الوظيفي لكل من الكبد والكلية.

ان فقر الدم الناجم عن الكادميوم يمكن أن يُعزى إلى نقص هرمون الإريثروبويتين بسبب تأثير التسمم المزمن لكلوريد الكادميوم على الخلايا المنتجة للإريثروبويتين في الكلية، فضلا" عن التراكم السمي في الكلية والطحال والكبد وفي الأنسجة المكونة للدم. إن فيتامين D3 زاد من هجرة خلايا الدم البيض من الأنسجة إلى الدم، وقد تحسن مستوى الهيموكلوبين في الدم وإزدادت أعداد الخلايا الدم البيض WBC في المجاميع المحقونة بالكادميوم والمجرعة بفيتامين D3.

ربما من المحتمل أن يوفر تجريع فيتامين D3 للجرذان المحقونة بكلوريد الكادميوم حماية في التقليل من التأثير السام للكادميوم في الكبد والكلية والدم في الحيوان.

Abstract

Current study were conducted on male *Rattus rattus norvigicus* ,at age of two months, with an average weight of (200-250gm). The lethal average dose of (LD50) for cadmium chloride and the choice of (5mg/kg) to inject rats Intraperitonially was determined.

Rats were divided into 8 groups for each group of 8 rats. The first group was a control group free of cadmium chloride and vitamin D3. The second group was injected into the peritoneal cavity with $CdCl_2$ cadmium chloride at a concentration of 5mg/kg one dose for at four week. The third group injected Peritonially 5mg/kg with one dose for each of the eight rats and then orally doses of vitamin D3 after a week of cadmium chloride injection at a concentration of 1000IU/kg at three doses per week as well as for the rest of the concentrations. The fourth group injected Peritonially with cadmium chloride at a concentration of 5mg/kg and a single dose and then dosed orally with vitamin D3 after a week of cadmium chloride injection with a concentration of 2000 IU/kg. The fifth group injected peritoneally cadmium chloride at a concentration of 5mg/kg and at a single dose and then dosed orally with vitamin D3 after a week of cadmium chloride injection and a concentration of 4000 IU/kg. The sixth group included only 8 rats with vitamin D3 with a concentration of 1000 IU /kg and three doses per week as well as the rest of the concentrations. The seventh group included only 8 rats with vitamin D3 and a concentration of 2000 IU/kg. The eighth group included only 8 rats with vitamin D3 and a concentration of 4000 IU/kg .

After the second week of injection and administration, blood was drawn from half the number of rats in each group, then the rats were Slaughtered and the liver and kidney were taken for tests, and the remaining half of the treated rats were with drawn and dissected after four weeks of injection. The current study aimed to use different concentrations of vitamin D3 as a treatment, the antioxidant in the liver, kidneys, and blood of rats injected with heavy metal cadmium chloride $CdCl_2$. Due to the study, some biochemical, physiological, tissue changes in them through the study of liver and kidney function, and the total white blood cells, For hemoglobin blood for rats experimenting with transactions, and comparing them with the control group, in addition to studying the level of oxidative stress and antioxidants in the liver and kidney of rats as a result of their

treatment with cadmium chloride, and then treatment with specific concentrations of vitamin D3.

The results of the current study have also shown that the role of vitamin D3 as an antioxidant and as a treatment in reducing the toxic effect of cadmium chloride to a very largely. The best concentration of vitamin D3 used in the case study was 2000 IU/kg , which was taken for rats and three doses per week for four weeks, and after being injected with cadmium chloride, as there was a significant decrease at the probability level $P \leq 0.05$. For the concentration of urea in the serum, the concentration of the aminotransferase (ALT), and the level of mondaldedehyde (MDA) in the rat kidney, when compared to the control group.

On the other hand, there is a significant rise at the level of probability $P \leq 0.05$ in glutathione (GSH) and catalase (CAT) levels in rat liver, at the same concentration of vitamin D3, when compared with the control group.

While, there was a clear improvement in creatinine, aspartate amine transeferase enzyme (AST) Levels of glutathione (GSH), and catalase (CAT) in the kidney and malondialdehyde (MDA) in the liver. As well as, the percentage of Hemoglobin in the blood and the total number of white blood cells, the results were very similar to those of the control group.

The study showed that vitamin D3 may enhance the body's resistance and reduce the risk of renal tubule dysfunction and renal failure caused by exposure to cadmium chloride, as it inhibits the increased effect of cadmium chloride and led to changes in the level of urea and creatinine in the serum, thus reducing tissue abnormalities in the liver and kidney.

The results of the current study also showed a significant rise in the concentration of ALT and AST enzymes in the rat serum group, that was injected only with CdCl2. This represents vital indicators of liver damage and injury to large areas of hepatic tissue, caused by an increase in the oxidation of fats that can break down and damage the Cell membranes and the high level of enzymes in the blood. As a result of leakage from hepatic cells, vitamin D3 play a role in reducing the accumulation of cadmium chloride in the liver cells, which may lead to a decrease in the level of cadmium chloride and cesium chloride in the liver cells, and a decrease in the level of the blood cells. Hydroxid may mitigate the harmful effects of cadmium on liver enzymes

MDA levels have increased in both the liver and kidneys. This led to fat swells and reduced the effectiveness and activity of GSH and CAT enzymes in liver tissue, as a result of the cadmium chloride reaction with the oxidation system in mitochondria. This may promotes by the production of reactive oxygen speacies ROS and their release in the cytoplasm, which are destructive to unsaturated fatty acids and inducer of apoptosis cells, and then damage the entire tissue. The treatment of rats with vitamin D3 has led to the improvement and reduction of oxidative voltage damage by increasing enzymes. Antioxidant and reducing fat peroxide, vitamin D3 reduced the toxic effect of cadmium chloride through functional improvements in both the liver and kidney.

Cadmium anemia can be attributed to the deficiency of erythropoietin due to the effect of chronic poisoning of cadmium chloride on erythropoietin-producing cells in the kidneys, as well as toxic accumulation in the kidneys, spleen, liver and constituent tissues. For blood, vitamin D3 can increase the migration of white blood cells from tissues to the blood. This can improved the level of hemoglobin in the blood, and increases the total number of WBC white blood cells in groups injected and dosed with vitamin D3.

Perhaps vitamin D3 dosage of cadmium-injected rats may protect improving the toxic effect of cadmium in the liver, kidneys and blood in the animal.

University of Mosul

College of Education

for Pure Science

Physiological study of The Effects of Different Concentration of Vitamin D3 on The Kidneys, Liver and Blood of Rats Treated with cadmium Chloride $CdCl_2$

Baraa Yakoob Yousif Mohammad Al-Rahho

M.Sc.

Biology

Supervised by

Lec.

Dr. Banan Rakan Dabdoub

2021 A. D. 1442 A. H.