Archive of SID

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد سوم، شماره چهارم، ۱۳۹۴
http://ejrr.gau.ac.ir

تأثیر کادمیوم بر عملکرد و برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون بره‌های نر مهربان

*علی‌اصغر بهاری[۱]، حسن علی‌عربی[۲]، رضی‌اله جعفری‌جوزانی[۳] و جمیله سالارآملی[۴]

[۱]استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، [۲]دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، [۳]دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشگاه تبریز، تبریز، [۴]استاد گروه علوم پایه، دانشگاه تهران، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۱۷

چکیده

سابقه و هدف: آلودگی خاک و تجمع فلزات سنگین در گیاهان و محصولات کشاورزی در مناطق صنعتی یکی از مهم‌ترین مسایل زیست‌محیطی است که زندگی گیاهان، حیوانات و انسان را تهدید می‌نماید. کادمیوم (Cd) یک فلز سنگین خطرناک با نیمه عمر طولانی بیولوژیکی است که با سرعت کم از بدن دفع می‌شود. این مطالعه با هدف تعیین اثرات دریافت طولانی مدت کادمیوم بر عملکرد و برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون گوسفند با یک جیره پرواری انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ده راس بره نر مهربان ۹-۸ ماهه بر اساس در یک طرح کاملاً تصادفی به دو گروه شاهد (جیره پایه) و آزمایش (جیره پایه + ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک جیره به صورت کلرید کادمیوم) تقسیم شدند. بره‌ها روزانه در دو نوبت صبح و عصر خوراک‌دهی شدند و در روزهای صفر، ۳۵ و ۷۰ پیش از خوراک نوبت صبح از طریق ورید وداج به‌وسیله لوله‌های خلاء خونگیری شدند. سرم نمونه‌ها جداسازی شد و تا زمان آزمایش در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. کادمیوم، ازت اوره، کراتینین، سدیم، پروتئین کل، آلبومین و فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، گاما گلوتامیل ترانسفراز، کراتین فسفوکیناز، آلکالاین فسفاتاز و ایزوآنزیم استخوانی آن در سرم نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. آزمایش‌های بیوشیمیایی به‌صورت خودکار به‌وسیله دستگاه اتوآنالایزر و کیت‌های بیوشیمیایی شرکت

*مسئول مکاتبه: aliasghar.bahari@basu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

پارس آزمون با استفاده از دستورالعمل سازنده کیت انجام شد. میزان سدیم نمونه‌ها با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر تعیین شد. تجزیه تحلیل آماری داده‌ها به‌وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

یافته‌ها: میانگین افزایش وزن روزانه و ماده خشک مصرفی در گروه دریافت کننده کادمیوم نسبت به شاهد کمتر بود ($P<۰/۰۵$). مقدار آلبومین در روز ۷۰ و میزان فعالیت آلکالاین فسفاتاز و ایزو آنزیم استخوانی آن در روزهای ۳۵ و ۷۰ آزمایش در گروه کادمیوم نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). افزایش میزان فعالیت آنزیم کراتین فسفوکیناز در روزهای ۳۵ و ۷۰ آزمایش در گروه کادمیوم معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های به‌دست آمده نشان داد که سطح ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک جیره در مدت ۷۰ روز در بره‌های در حال رشد تغذیه شده با جیره پرواری، اثرات سمی قابل توجهی ندارد.

واژه‌های کلیدی: سمیت کادمیوم، پارامترهای بیوشیمیایی، گوسفند

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کادمیوم یک فلز سنگین است که در بدن حیوانات دارای نقش تغذیه‌ای نمی‌باشد (۷). توسعه برخی صنایع موجب آلودگی محیط‌زیست می‌شود. به‌علاوه، کادمیوم از طریق کودهای کشاورزی سوپرفسفات با منشاء معدنی به خاک، گیاهان و چرخه غذایی علفخواران وارد می‌شود و دام ها به تبع آن در معرض اثرات سمی کادمیوم قرار می‌گیرند (۲۴). تغذیه در محیط‌های باز و چراگاه‌ها احتمال دسترسی گوسفند به گیاهان رشد یافته در خاک‌های آلوده به کادمیوم را فراهم می‌سازد (۱۸). بیشترین غلظت کادمیوم در کلیه‌ها، بافت پستان و عضلات گوسفندان نگهداری شده در مناطق مجاور برخی از معادن در ایتالیا گزارش شده است (۵) در حالی‌که گلاسر و مولر- پدینگهاوس (۱۹۷۸) در اولین توصیف تغییرات آسیب‌شناسی مسمومیت مزمن با کادمیوم در گوسفند در یک دوره یک ساله، گسترده‌ترین تغییرات را مربوط به کلیه‌ها، کبد و ریه‌ها نشان دادند (۱۸). حضور پروتئین‌های متصل به کادمیوم (متالوتیونین) در کلیه، کبد، پانکراس و غده تیرویید انسان و همچنین تمایل به انباشت مقادیر بسیار زیاد کادمیوم در این اندام‌ها نشان داده شده است (۲۱). مشابهت کادمیوم با سایر کاتیون‌های دو ظرفیتی مانند کلسیم موجب تداخل با عملکرد آن‌ها می‌شود (۱۱). همچنین یون کادمیوم می‌تواند جایگزین عنصر روی و دیگر فلزات دو ظرفیتی در محل اتصال آن‌ها در متالوپروتئین‌ها و متالوآنزیم‌ها شود و از این طریق با تأثیر منفی بر سیستم‌های آنزیمی وابسته به‌این عناصر، مسمومیت ایجاد کند (۲۳، ۲۹).

در نشخوارکنندگان تأثیر افزودن کادمیوم به جیره غذایی به‌صورت اولیه با کاهش مصرف غذا همراه می‌باشد که کاهش خوش‌خوراکی جیره، مهار بخش خاصی از فلور میکروبی شکمبه یا تأثیر یون کادمیوم بر سیستم عصبی مرکزی به‌عنوان دلایل احتمالی آن مطرح شده است (۳، ۱۷). تغییرات بعضی پارامترهای بیوشیمیایی خون در مسمومیت طولانی مدت با کادمیوم به شکل کلرید کادمیوم با خوراندن روزانه مقدار ثابت یک میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن زنده در گوسفند توصیف شده است (۱، ۱۴). بنابراین پژوهش هدف از پژوهش حاضر بازسازی شرایط طبیعی دریافت مقدار مشخص کادمیوم به صورت خوراکی به‌منظور نشان دادن اثرات آن بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در بره‌های نر مهربان بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش در یک طرح کاملا تصادفی از تعداد ده راس بره نر به ظاهر سالم نژاد مهربان (۷ تا ۸ ماهه با میانگین وزن اولیه ۳/۵ ± ۳۱/۱ کیلوگرم)، استفاده شد. بره‌ها در جایگاه‌های انفرادی دارای آخور و آبخوری جداگانه نگهداری شدند. پیش از آغاز دوره آزمایش، برای از بین بردن

www.SID.ir

Archive of SID

انگل‌های داخلی از بولوس‌های ۱۵۲ میلی‌گرمی آلبندازول به‌میزان ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن زنده دام استفاده شد. برای تأمین نیازهای غذایی دام‌ها بر اساس پیشنهاد جداول NRC (۲۰۰۷) جیره‌ای پرواری متشکل از ۳۰ درصد یونجه خشک، ۶۷ درصد دانه جو و ۳ درصد سبوس گندم تهیه شد. ترکیب شیمیایی مواد خوراکی و جیره پایه استفاده شده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی مواد خوراکی مورد استفاده در جیره پایه.

Table 1. Chemical composition of experimental feed in the basal diet.

جیره پایه Basal diet	سبوس گندم Wheat bran	جو Barley grain	یونجه Alfalfa hay	ترکیب شیمیایی Chemical composition
93.1	90.2	93.5	92.5	ماده خشک (درصد) Dry matter (%)
13.0	16.6	11.8	15.4	پروتئین خام (درصد ماده خشک) Crude protein (% DM)
1.7	2.0	1.6	1.8	عصاره اتری (درصد ماده خشک) Ether extract (% DM)
31.7	50.2	20.8	53.9	ان- دی- اف (درصد ماده خشک) Neutral detergent fiber (% DM)
15.8	11.5	7.0	36.0	ای- دی- اف (درصد ماده خشک) Acid detergent fiber (% DM)
5.7	6.6	4.6	7.9	خاکستر خام (درصد ماده خشک) Ash (% DM)
2.8	2.5	3.1	2.0	انرژی قابل متابولیسم[1] (مگاکالری بر کیلوگرم) ME[1](Mcal/kg)
0.6	0.1	0.1	1.7	کلسیم (درصد ماده خشک) Ca (% DM)
23.1	80.3	20.5	23.3	روی (میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک) Zn (mg/kg DM)
11.0	9.0	7.0	20.0	مس (میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک) Cu (mg/kg DM)
178.2	153.6	90.4	377.1	آهن (میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک) Fe (mg/kg DM)
40.0	40.0	40.0	70.0	کادمیوم (میکروگرم بر کیلوگرم ماده خشک) Cd (µg/kg DM)

۱- انرژی قابل متابولیسم بر اساس NRC (۲۰۰۷) محاسبه شده است.

1- Metabolizable Energy was calculated based on NRC (2007)

www.SID.ir

Archive of SID

پیش از شروع آزمایش بره‌ها ابتدا در یک دوره سه هفته‌ای با جیره و محیط سازگاری یافتند و پس از وزن‌کشی در پایان این دوره، به‌صورت کاملاً تصادفی به دو گروه مساوی شاهد و آزمایش (کادمیوم) تقسیم شدند. خوراک‌دهی بره‌ها در دو نوبت صبح (ساعت ۸) و بعد از ظهر (ساعت ۱۶) انجام شد و در طول یک دوره ۷۰ روزه بر اساس غذای دریافت شده روز قبل، در نوبت غذایی صبح روز بعد کادمیوم (به شکل کلرید کادمیوم) به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذای مصرفی محاسبه و به‌صورت مخلوط با سبوس گندم، به بره‌های گروه آزمایش خورانده شد. هنگام ریختن خوراک وعده صبح، باقیمانده خوراک روز قبل از آخور جمع‌آوری شد. مقدار خوراک داده شده و باقیمانده خوراک روزانه توزین و ثبت شد (بر اساس ماده خشک) تا مقدار خوراک مصرفی روزانه هر دام مشخص گردد. همه بره‌ها در ابتدای آزمایش وزن‌کشی شدند. جهت بررسی وضعیت رشد، تغییرات وزن بره‌ها هر پانزده روز یکبار و در پایان دوره (میانگین وزن دو روز آخر) با اعمال محرومیت غذایی (۱۴-۱۶ ساعت محرومیت از آب و خوراک) تعیین شد.

در روزهای صفر، ۳۵ و ۷۰ آزمایش پیش از نوبت غذایی صبح، به‌وسیله لوله‌های ونوجکت از طریق ورید وداج از تمام بره‌ها نمونه خون تهیه شد. در آزمایشگاه برای تهیه سرم، نمونه‌های خون به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شدند و سرم نمونه‌ها تا زمان آزمایش‌های بیوشیمیایی در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌های سرم برای اندازه‌گیری پروتئین کل، آلبومین، سدیم، ازت اوره و کراتینین و فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT)، آلکالاین فسفاتاز (ALP)، ایزوآنزیم استخوانی آلکالاین فسفاتاز (Bone Specific ALP) و کراتین فسفوکیناز (CPK) استفاده شد. برای اندازه‌گیری ایزوآنزیم استخوانی ALP، پس از اندازه‌گیری ALP، نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبگرم در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا ایزوآنزیم استخوانی غیرفعال گردد و پس از سرد شدن، با همان روش، دوباره ALP اندازه‌گیری شد. با تفاضل نتیجه آزمایش اول و دوم مقدار ایزوآنزیم استخوانی ALP نمونه‌ها تعیین گردید. میزان سدیم با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر (Corning 410 ساخت انگلستان) تعیین شد. آزمایش‌های بیوشیمیایی بوسیله دستگاه اتوآنالایزر (BT-1500 ساخت ایتالیا) و کیت‌های بیوشیمیایی شرکت پارس آزمون (پروتئین کل شماره ۱۵۰۰۰۲۸، آلبومین شماره ۱۵۰۰۰۰۱، ازت اوره شماره ۱۴۰۰۰۲۹، کراتینین شماره ۱۴۰۰۰۰۹، آسپارتات آمینوترانسفراز شماره ۱۴۰۰۰۱۸، آلانین آمینو ترانسفراز شماره ۱۴۰۰۰۱۹، گاما گلوتامیل ترانسفراز شماره ۱۲۰۰۰۲۰،

www.SID.ir

Archive of SID

آلکالاین فسفاتاز شماره ۱۴۰۰۰۰۲، کراتین فسفوکیناز شماره ۱۱۰۰۰۱۵) با استفاده از دستورالعمل سازنده کیت انجام شد.

کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز شدند. صفات عملکردی (خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی) با لحاظ کردن عامل کوواریت در چارچوب طرح کاملاً تصادفی و سایر صفات (صفاتی که در زمان‌های مختلف اندازه‌گیری شدند) به‌صورت اندازه‌های تکرار شده در واحد زمان در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن با سطح خطای ۰/۰۵ صورت گرفت.

نتایج و بحث

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد بره‌ها در جدول ۲ آورده شده است. میانگین ماده خشک مصرفی روزانه در گروه شاهد ۴۸ ± ۱۱۸۴ گرم و در گروه کادمیوم ۸۰±۹۷۳ گرم به‌طور معنی‌داری دارای اختلاف بود (P<۰/۰۱). همچنین، میانگین افزایش وزن روزانه (۱۳±۲۱۴ گرم برای گروه شاهد در مقابل ۱۶±۷۸ گرم برای گروه کادمیوم) و ضریب تبدیل غذایی (۰/۳±۵/۵ برای گروه شاهد در مقابل ۱/۹±۱۰/۶ برای گروه کادمیوم) دارای اختلاف معنی‌دار بودند (P<۰/۰۱).

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد بره‌ها.

Table 2. Effect of experimental treatments on performance of lambs.

P- value	کادمیوم Cadmium	شاهد Control	فاکتور Item
<0.01	973^{b}±80	1184^{a}±48	ماده خشک مصرفی (کیلوگرم بر روز) Dry matter intake (g/day)
<0.01	78^{b}±16	214^{a}±13	افزایش وزن روزانه (گرم بر روز) Average daily gain (g/day)
<0.01	10.6^{b}±1.9	5.5^{a}±0.3	ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

Means with different superscript letters in rows are significantly different (p<0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر ماده خشک مصرفی در این پژوهش با نتایج سایر محققین همخوانی دارد (۳، ۱۷). ضمن آن‌که مشابه با نتایج پژوهش حاضر، لیمبروپلوس و همکاران (۲۰۰۰) در مطالعه‌ای بر روی بره‌های تغذیه شده با کادمیوم (۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده) کاهش میانگین افزایش وزن را گزارش کردند (۱۵). تأثیر منفی کادمیوم بر عمل غده تیروئید گوسفند نشان داده شده است (۱). با توجه به نقش مهم این غده در استفاده از انرژی متابولیسم و فرآیند رشد، در پژوهش حاضر ممکن است کادمیوم از طریق اختلال در کارکرد این غده در کاستن از افزایش وزن روزانه دخالت داشته باشد. اگرچه نشان داده شده است که تأثیر افزودن کادمیوم به جیره غذایی در نشخوارکنندگان با کاهش مصرف غذا همراه می‌باشد (۳، ۱۷).

بره‌های گروه کادمیوم چند روز پس از شروع تحقیق دچار کاهش اشتهاء شدند و از حدود روز سی‌ام پشم‌ریزی و پشم‌خوری در میان آن‌ها به‌طور مشخصی جلب توجه می‌نمود. در پایان آزمایش، بره‌ها دچار لنگش و راه رفتن روی قلم دست و دندان قروچه شدند و در معاینه بالینی تورم و درد مفاصل به‌ویژه در کارپ و بخولوق اندام حرکتی قدامی و نرمی بافت شاخی سم قابل تشخیص بود. کادمیوم به‌میزان بیش از ۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم ماده خشک جیره برای گوسفند مسمومیت زا اعلام شده است (۲۴). هرچند، میانگین ماده خشک مصرفی روزانه در طول دوره (۸۰±۹۷۳ گرم) نشان می‌دهد که بره‌های گروه آزمایش به‌طور متوسط روزانه ۸±۹۷/۳ میلی‌گرم کادمیوم دریافت کرده‌اند.

بررسی پارامترهای بیوشیمیایی خون به‌عنوان شاخصی در ارزیابی وضعیت سلامت حیوانات دارای اهمیت است (۱۲). نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی و زمان بر پارامترهای غیرآنزیمی بره‌های مورد مطالعه در جدول‌های ۳ و ۴ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد، غیر از آلبومین در روز ۷۰ آزمایش، هیچکدام از پارامترهای غیرآنزیمی سرم خون بره‌ها (ازت اوره سرم، کراتینین، سدیم، پروتئین تام) در روزهای مختلف نمونه‌برداری تحت تأثیر معنی‌دار اثر تیمار قرار نگرفتند. آلبومین در فاز حاد التهاب به‌عنوان واکنش دهنده منفی شناخته می‌شود و میزان سرمی آن در جراحات یا التهاب حاد بافتی، اندکی کاهش می‌یابد (۸). نتایج پژوهش حاضر در پایان دوره با این یافته همخوانی دارد. در مسمومیت با مقادیر غیرکشنده کادمیوم در گوسفند به‌عنوان اولین ضایعات، تغییرات دژنراتیو در بافت پوششی مجاری کلیوی و هپاتوسیت‌های کبدی گزارش شده است (۲۲). در حالی‌که نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

(جدول ۳) تغییرات قابل توجهی را بر ازت اوره و کراتینین به‌عنوان شاخص های سرمی مهم ارزیابی فیلتراسیون گلومرولی (۱۲) در پژوهش حاضر نشان نداد.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر پارامترهای غیرآنزیمی سرم بره‌ها.

Table 3. Effect of experimental treatments on serum none enzymatic parameters of lambs.

P- value	کادمیوم Cadmium	شاهد Control	روز Day	پارامتر Parameter
0.56	19.40 ± 10.2	16.40 ± 4.6	0	ازت اوره سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
0.01	24.20^{a} ± 2.4	19.20^{b} ± 4.9	35	
0.18	23.20 ± 9.5	20.40 ± 0.9	70	Serum urea nitrogen (mg/dl)
0.64	1.22 ± 0.1	1.18 ± 0.1	0	کراتینین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
0.81	1.20 ± 0.2	1.18 ± 0.1	35	
0.52	1.20 ± 0.1	1.24 ± 0.1	70	Creatinine (mg/dl)
0.56	142.60 ± 4.8	143.40 ± 2.4	0	سدیم (میلی‌مول بر دسی‌لیتر)
0.09	142.80 ± 4.1	139.20 ± 0.1	35	
0.52	140.20 ± 5.8	142.40 ± 5.3	70	Sodium (mmol/dl)
0.89	618 ± 0.5	6.12 ± 0.9	0	پروتئین تام (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
0.84	6.68 ± 0.6	6.74 ± 0.3	35	
1.00	6.78 ± 0.5	6.78 ± 0.4	70	Total protein (g/dl)
0.28	3.92 ± 0.3	4.08 ± 0.2	0	آلبومین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
0.10	3.82 ± 0.3	4.10 ± 0.9	35	
0.04	3.72^{a} ± 0.3	4.06^{b} ± 0.1	70	Albumin (g/dl)

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p<0.05$).

لیو و همکاران (۱۹۹۶) با خوراندن روزانه یک میلی گرم کادمیوم (به‌صورت کلرید کادمیوم) به ازاء هر کیلوگرم وزن زنده به گوسفند در روز بیستم آزمایش علاوه‌بر نشانه‌های بالینی مسمومیت، اختلاف معنی‌داری را در میزان ازت اوره خون، پروتئین کل و آلبومین سرم میان گروه کادمیوم و شاهد گزارش نمودند (۱۴).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- اثر زمان بر پارامترهای غیرآنزیمی سرم بره‌ها.

Table 4. Effect of time on serum none enzymatic parameters of lambs.

P- value	روز ۷۰ Day 70	روز ۳۵ Day 35	روز صفر Day 0	تیمار Treatments	پارامتر Parameter
0.10	20.40^{a}±0.9	19.20^{ab}±2.4	16.40^{b}±4.1	شاهد Control	ازت اوره سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
0.49	23.20±4.2	24.20±2.2	19.40±10.2	کادمیوم Cadmium	Serum urea nitrogen (mg/dl)
0.93	1.20±0.1	1.18±0.1	1.18±0.1	شاهد Control	کراتینین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
0.95	1.24±0.1	1.20±0.2	1.22±0.1	کادمیوم Cadmium	Creatinine (mg/dl)
0.09	142.40^{ab}±4.5	139.20^{b}±1.1	143.40^{b}±1.5	شاهد Control	سدیم (میلی‌مول بر دسی‌لیتر)
0.59	140.20 ±5.8	142.80 ±4.1	142.60 ±6.0	کادمیوم Cadmium	Sodium (mmol/dl)
0.12	6.78±0.3	6.74±0.3	6.12±0.8	شاهد Control	پروتئین تام (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
0.20	6.78±0.5	6.68±0.5	6.18±0.5	کادمیوم Cadmium	Total protein (g/dl)
0.88	4.06±0.1	4.10±0.1	4.08±0.2	شاهد Control	آلبومین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
0.58	3.72±0.3	3.82±0.3	3.92±0.3	کادمیوم Cadmium	Albumin (g/dl)

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p<0.05$).

همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌گردد، هیچ یک از پارامترهای غیرآنزیمی سرم خون بره‌ها (ازت اوره سرم، کراتینین، سدیم، پروتئین تام) در روزهای مختلف نمونه‌برداری تحت تأثیر معنی‌دار اثر زمان قرار نگرفتند. اگر چه افزایش نسبی پروتئین کل را با توجه به ثابت ماندن میزان آلبومین در طول آزمایش می‌توان به اثر پروتئین جیره بر افزایش ایمونوگلبولین‌های سرم نسبت داد (۹).

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی و زمان بر فعالیت آنزیم‌های سرم بره‌های مورد مطالعه در جدول‌های ۵ و ۶ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد، به غیر از آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، ایزو آنزیم استخوانی آن و کراتین فسفوکیناز (CPK) در روزهای ۳۵ و ۷۰، فعالیت هیچ‌کدام از آنزیم‌های سرم خون بره‌ها در روزهای مختلف نمونه‌برداری تحت تأثیر اثر تیمار قرار نگرفت. اگرچه آغاز آسیب کبدی به‌صورت افزایش غیرمعنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز

www.SID.ir

Archive of SID

(AST) سرم از اواسط دوره خودنمایی می‌کند. لازم به ذکر است که میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) کبد نشخوارکنندگان اندک می‌باشد و لذا به‌عنوان شاخص آسیب کبدی محسوب نمی‌گردد و افزایش آن احتمالاً می‌تواند ناشی از آسیب عضلانی باشد (۱۲) در حالی‌که چنین روندی در نتایج این پژوهش حاضر مشاهده نشد.

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های سرم بره‌ها.

Table 5. Effect of experimental treatments on serum enzyme activity of lambs.

P- value	کادمیوم	شاهد	روز	پارامتر
	Cadmium	Control	Day	Parameter
0.21	117.20 ± 16.1	106.40 ± 8.7	0	آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر)
0.13	139.80 ± 20.1	119.80 ± 10.6	35	
0.18	133.20 ± 23.7	116.40 ± 9.9	70	Aspartate aminotransferase (U/L)
0.83	36.80 ± 10.3	35.60 ± 6.7	0	آلانین آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر)
0.71	39.20 ± 5.1	38.20 ± 2.5	35	
1.00	39.20 ± 1.9	39.20 ± 4.3	70	Alanine aminotransferase (U/L)
0.87	49.80 ± 8.5	50.60 ± 3.1	0	گاماگلوتامیل ترانسفراز (واحد بر لیتر)
0.28	61.40 ± 10.1	67.60 ± 7.1	35	
0.88	65.60 ± 6.5	66.40 ± 10.5	70	Gamma glutamyl transferase (U/L)
0.78	324.20 ± 65.2	337.60 ± 92.6	0	آلکالین فسفاتاز (واحد بر لیتر)
0.02	351.20 ^{a} ± 110.3	682.80 ^{b} ± 266.8	35	
0.02	388.40 ^{a} ± 94.1	649.40 ^{b} ± 121.9	70	Alkaline phosphatase (U/L)
0.73	305.60 ± 56.9	320.60 ± 85.2	0	ایزوآنزیم استخوانی آلکالین فسفاتاز (واحد بر لیتر)
0.02	331.40^{b} ± 88.7	479.60^{a} ± 203.7	35	
0.02	334.20^{b} ± 41.1	503.60^{a} ± 189.2	70	Bone specific alkaline phosphatase (U/L)
0.60	311.20 ± 191.2	262.20 ± 71.4	0	کراتین فسفوکیناز (واحد بر لیتر)
0.04	343.40 ^{a} ± 96.5	229.20 ^{b} ± 52.5	35	
<0.01	327.80 ^{a} ± 32.5	180.20 ^{b} ± 38.7	70	Creatine phosphokinase (U/L)

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p<0.05$).

در حیوانات تغییر در فعالیت آنزیم ALP به‌عنوان شاخصه‌ای است که نشان‌دهنده وضعیت عنصر روی در بدن می‌باشد (۲۷). این آنزیم دارای ایزوآنزیم‌های کبدی، روده‌ای و استخوانی می‌باشد. اگرچه افزایش فعالیت ALP می‌تواند شاخصی برای تأیید مشکلات مجاری صفراوی هم باشد، در نشخوارکنندگان آنزیم گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) بدین منظور ترجیح داده می‌شود (۱۲). کاهش معنی‌دار فعالیت ALP و ایزوآنزیم استخوانی آن در روزهای ۳۵ و ۷۰ در گروه تیمار شده با کادمیوم، احتمالاً مربوط به تداخل کادمیوم و عنصر روی از یک سو و کاهش فعالیت ایزوآنزیم‌های استخوانی و

www.SID.ir

Archive of SID

روده‌ای در این گروه می‌باشد. شاید بتوان بخشی از کاهش فعالیت ایزوآنزیم استخوانی ALP را ناشی از تداخل کادمیوم و کلسیم نیز دانست (۲۴).

آنزیم CPK یکی از اختصاصی‌ترین آنزیم‌ها است که فعالیت سرمی آن دارای منشاء عضلانی می‌باشد و میزان آن با افزایش سن کاهش می‌یابد (۴). همان‌طور که در جدول ۵ مشاهده می‌گردد، فعالیت CPK در گروه شاهد در روزهای ۳۵ و ۷۰ آزمایش روند کاهشی نشان می‌دهد که با یافته فوق همخوانی دارد. در حالی‌که کاهش نیافتن آن در طول دوره در گروه تیمار شده با کادمیوم و البته بالاتر بودن هرچند به‌صورت غیر معنی‌دار آن در گروه فوق می‌تواند با تداخل کادمیوم و سلنیوم مرتبط باشد (۲۴).

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های سرم خون بره‌ها.

Table 6. Effect of time on blood serum enzyme activity of lambs.

P-value	روز ۷۰ Day 70	روز ۳۵ Day 35	روز صفر Day 0	تیمار Treatments	پارامتر Parameter
0.21	116.4±8.9	119.8±16.3	106.4±7.5	شاهد Control	آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر)
0.24	133.2±23.8	139.8±20.8	117.2±16.1	کادمیوم Cadmium	Aspartate aminotransferase (U/L)
0.42	39.2±3.6	38.2±2.9	35.6±5.8	شاهد Control	آلانین آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر)
0.82	39.2±2.4	39.2±5.1	36.8±10.4	کادمیوم Cadmium	Alanine aminotransferase (U/L)
<0.01	66.4^{a}±9.1	67.6^{a}±6.2	50.6^{b}±2.7	شاهد Control	گاماگلوتامیل ترانسفراز (واحد بر لیتر)
0.03	65.6^{a} ±6.5	61.4^{a} ±10.1	49.8^{b} ±7.9	کادمیوم Cadmium	Gamma glutamyl transferase (U/L)
0.01	682.8^{a}±69.0	649.4^{a}±91.2	337.6^{b}±80.4	شاهد Control	آلکالین فسفاتاز (واحد بر لیتر)
0.56	388.4±94.1	351.2±110.3	324.2±63.4	کادمیوم Cadmium	Alkaline phosphatase (U/L)
0.01	503.6^{a}±94.7	479.6^{a}±77.1	320.6^{b}±74.1	شاهد Control	ایزوآنزیم استخوانی آلکالین فسفاتاز (واحد بر لیتر)
0.78	334.2±64.6	331.4±85.5	305.6±58.4	کادمیوم Cadmium	Bone specific alkaline phosphatase (U/L)
0.06	180.2^{b}±33.6	229.2^{ab}±46.3	262.2^{a}±62.2	شاهد Control	کراتین فسفوکیناز (واحد بر لیتر)
0.92	327.8±32.6	343.4±96.5	311.2±91.2	کادمیوم Cadmium	Creatine phosphokinase (U/L)

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p<0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID

همان‌طور که در جدول ۶ مشاهده می‌گردد، فعالیت ALP، ایزوآنزیم استخوانی آن و GGT در گروه شاهد تحت تأثیر اثر زمان قرار گرفت که با توجه به وضعیت سنی و در حال رشد بره‌ها، افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های ALP و ایزوآنزیم استخوانی آن کاملاً قابل توجیه می‌باشد (۱۲) در حالی‌که تأثیر تیمار مانع از این افزایش در گروه کادمیوم شد. کاهش میزان فعالیت آنزیم CPK با افزایش سن نشان داده شده است (۴)، این روند کاهشی در گروه شاهد تحت تأثیر غیر معنی‌دار اثر زمان قرار گرفت ولی همان‌طور که بالا ذکر شد، کاهش نیافتن آن در گروه کادمیوم می‌تواند تحت تأثیر تداخل کادمیوم و سلنیوم قرار گرفته باشد (۲۴).

بدیعی و همکاران (۲۰۰۹) با خوراندن روزانه یک میلی‌گرم کادمیوم (به‌صورت کلرید کادمیوم) به ازاء هر کیلوگرم وزن زنده به در گوسفندان یک ساله از روز ۱۴ آزمایش اختلاف معنی‌داری را در فعالیت AST، ALT و GGT گزارش نمودند و آن را نشانه آسیب به سلول‌های کبد ارزیابی نمودند (۱). در حالی‌که در پژوهش حاضر با وجود دریافت میانگین روزانه بالاتر کادمیوم توسط بره‌ها، اختلاف در میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی میان دو گروه معنی‌دار نبود.

به‌طور کلی با توجه به مقادیر به‌دست آمده برای پارامترهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده (جداول ۳ تا ۶) به‌نظر می‌رسد در دوره ۷۰ روزه این پژوهش، آسیب قابل توجهی به اندام‌های داخلی وارد نشده است. به‌علاوه، نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش لیو و همکاران (۱۹۹۶) و بدیعی و همکاران (۲۰۰۹) که با خوراندن روزانه یک میلی‌گرم کادمیوم (به‌صورت کلرید کادمیوم) به ازاء هر کیلوگرم وزن زنده بدن در گوسفند مسمومیت تجربی ایجاد نمودند (۱، ۱۴) همخوانی ندارد، در حالی‌که در پژوهش حاضر بره‌ها به‌طور میانگین با دریافت روزانه حدود سه میلی‌گرم کادمیوم (به‌صورت کلرید کادمیوم) به ازاء هر کیلوگرم وزن زنده بدن، سه برابر گوسفندان در پژوهش‌های محققین یادشده کادمیوم دریافت کردند ولی در دوره ۷۰ روزه آزمایش نشانه‌های مسمومیت حاد با کادمیوم در بره‌ها شکل نگرفت.

این امکان وجود دارد که در جیره‌های غنی از مواد دانه‌ای (مثل دانه جو) مقداری از فیتات بدون تغییر از شکمبه دام عبور نماید و بعضی نیازهای تغذیه‌ای دام علفخوار را افزایش دهد (۲، ۱۰). در همین ارتباط نشان داده شده است که جیره‌های تهیه شده از دانه جو ممکن است در شکمبه به‌طور کامل هضم نشود و به تبع آن عبور فیتات هضم نشده از شکمبه بتواند در جذب مواد معدنی در روده تداخل نماید (۶، ۱۳). رز و کوارترمن (۱۹۸۴) و توره‌کی و همکاران (۱۹۹۵) تأثیر اسید فیتیک بر

www.SID.ir

Archive of SID

جذب و زیست فراهمی کادمیوم را در رت نشان دادند (۱۹، ۲۶). همچنین گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد در شرایط آزمایشگاهی و خارج از بدن موجود زنده کمپلکس فیتات کلسیم به کادمیوم متصل می‌شود و جذب روده‌ای آن را کاهش می‌دهد (۲۵، ۲۸).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده نشان داد که سطح بالای کادمیوم (۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم به شکل کلرید کادمیوم به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک جیره) در مدت ۷۰ روز در بره های در حال رشد تغذیه شده با جیره پرواری، اثرات سمی قابل توجهی ندارد که این موضوع می‌تواند ناشی از کاهش جذب کادمیوم به‌دلیل ایجاد ترکیبات نامحلول این عنصر در شکمبه و روده مانند تشکیل کمپلکس کادمیوم با فیتات کلسیم ناشی از عبور فیتات‌های هضم نشده در جیره غنی از مواد دانه‌ای (جو) در این پژوهش باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش با اعتبار دانشگاه بوعلی سینا در قالب طرح پژوهشی شماره ۶۶۵-۳۲ انجام شده است. نگارندگان از کمک و همفکری آقایان دکتر علیرضا نوریان و دکتر جواد اشرفی هلان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

1.Badiei, K., Nikghadam, P., and Mostaghni, K. 2009. Effect of cadmium on thyroid function in sheep. Comp Clin Path. 18: 3. 255-259.
2.Bravo, D., Sauvant, D., Bogaert, C., and Meschy, F. 2003. III. Quantitative aspects of phosphorus excretion in ruminants. Reprod Nutr Dev. 43: 3. 285-300.
3.Doyle, J., Pfander, W., Grebing, S., and Pierce, J. 1974. Effect of dietary cadmium on growth, absorption and cadmium tissue levels in growing lambs. J Nutr. 104: 160-166.
4.Echegaray, M., and Rivera, M.A. 2001. Role of creatine kinase isoenzymes on muscular and cardiorespiratory endurance. Sports Med. 31: 13. 919-934.
5.Enne, G., Leita, L., Giardini, I., and Sequi, P. 1989. Studies on dependence between heavy metals contamination degree and its accumulation in sheep organism. Med Weter. 45: 565-568.

www.SID.ir

Archive of SID

6.Fadayifar, A., Aliarabi, H., Tabatabaei, M.M., Zamani, P., Bahari, A., Malecki, M., and Dezfoulian, A.H. 2012. Improvement in lamb performance on barley based diet supplemented with zinc. Livest Sci. 144: 3. 285-289.
7.Hooser, S.B. 2012. Cadmium. Pp: 503-507, In: R.C. Gupta (eds), Veterinary toxicology: basic and clinical principles. Academic press, USA.
8.Jain, S., Gautam, V., and Naseem, S. 2011. Acute-phase proteins: As diagnostic tool. J. Pharm Bioall Sci. 3:1. 118-127.
9.Keser, O., Bilal, T., and Kutay, H. 2008. The effect of different dietary crude protein level on performance and serum immuno-globulin G in male Kivircik lambs. Bulg. J. Vet. Med. 11: 1. 49-54.
10.Kincaid, R.L., Garikipati, D.K., Nennich, T.D., and Harrison, J.H. 2005. Effect of grain source and exogenous phytase on phosphorus digestibility in dairy cows. J. Dairy Sci. 88: 2893–2902.
11.Klasing, K.C. 2005. Cadmium. Pp: 79-96. In: National Research Council, Mineral Tolerances of Animals. The National Academies Press, Washington, DC, USA.
12.Latimer, K.S., Mahaffey, E.A., and Prasse, K.W. 2003. Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology. Blackwell, Oxford, UK.
13.Leytem, A.B., Taylor, J.B., Raboy, V., and Plumstead, P.W. 2006. Dietary low phytate mutant-M 955 barley grain alters phytate degradation and mineral digestion in sheep fed high-grain diets. Anim. Feed Sci. Technol. 138: 13–28.
14.Liu, Z., Ma, Z., Li, W., Cheng, X., and Hui, T. 1996. Studies on toxicology of cadmium in Sheep. Xu Mu Shou Yi Xue Bao. 27: 6. 546-553.
15.Lymberopoulos, A.G., Kotsaki-Kovatsi, V.P., Papaioannou, N., Taylor, A., Brikas, P., and Belibasaki, S. 2003. Effects of cadmium chloride administration on the testicular growth and plasma testosterone secretion of Chios ram-lambs. Small Ruminant Res. 49: 1. 51-60.
16.National Research Council (NRC). 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants. Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academies Press, Washington, DC, USA.
17.Powell, G., Miller, W., Morton, J., and Clifton, C. 1964. Influence of dietary level and supplemental zinc on cadmium toxicity in the bovine. J Nutr. 84: 205-214.
18.Rogowska, K.A., Monkiewicz, J., and Grosicki, A. 2009. Lead, cadmium, arsenic, copper, and zinc contents in the hair of cattle living in the area contaminated by a copper smelter in 2006-2008. Bull Vet Inst Pulawy. 53: 703-706.
19.Rose, H.E., and Quarterman, J. 1984. Effects of dietary phytic acid on lead and cadmium uptake and depletion in rats. Environ Res. 35: 2. 482-489.
20.SAS. 2004. User's guide: Statistics, Version 9.1. SAS Inst., Inc., Cary, NC.

www.SID.ir

Archive of SID

21.Sato, M., and Takizawa, Y. 1982. Cadmium-binding proteins in human organs. Toxicol Lett. 11: 3. 269-273.
22.Stoev, S.D., Grozeva, N., Simeonov, R., Borisov, I., Hubenov, H., Nikolov, Y., Tsaneva, M., and Lazarova, S. 2003. Experimental cadmium poisoning in sheep. Exp Toxicol Pathol. 55: 4. 309-314.
23.Stosh, D., Bagchi, M., Hassoun, E.A., and Stohs, S.J. 1996. Cadmium induced excretion of urinary lipid metabolites, DNA damage, glutathione depletion and hepatic lipid peroxidation in Sprague-Dawleyrats. Biol Trace Elem Res. 52: 143-153.
24.Suttle, N.F. 2010. Mineral Nutrition of Livestock.4th ed. CABI Publishing, New York, Pp: 548-555.
25.Turecki, T., Ewan, R.C., and Stahr, H.M. 1994. Effect of phytic acid and calcium on the intestinal absorption of cadmium in vitro. Bull Environ Contam Toxicol. 53: 3. 464-470.
26.Turecki, T., Ewan, R.C., and Stahr, H.M. 1995. Effect of dietary phytic acid and cadmium on the availability of cadmium, zinc, copper, iron, and manganese to rats. Bull Environ Contam Toxicol. 54: 5. 760-767.
27.Vergnes, H.A., Courdouhji, M.K., Guelfi, J.F., Grozdea, J.G., and Lamand, M. 1990. Effect of zinc deficiency in lambs on plasma and neutrophil alkaline phosphatase. Small Rumin Res. 3: 2. 167-177
28.Wise, A., and Gilburt, D.J. 1981. Binding of cadmium and lead to the calcium-phytate complex in vitro. Toxicol Lett. 9: 1. 45-50.
29.Xu, G., Zhou, G., Jin, T., Zhou, T., Hammarstrüm, S., Bergh, A., and Nordberg, G. 1999. Apoptosis and p53 gene expression in male reproductive tissues of cadmium exposed rats. Biometals. 12: 2. 131-139.

www.SID.ir

Archive of SID

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 3(4), 2016
http://ejrr.gau.ac.ir

Effects of cadmium on performance and some serum biochemical parameters of Mehraban male lambs

***A.A. Bahari[1], H. Aliarabi[2], R. Jafari Jozani[3] and J. Salar Amoli[4]**
[1]Assistant Prof., Dept. of Clinical Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran,
[2]Associated Prof., Dept. of Animal Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran,
[3]Associated Prof., Dept. of Clinical Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran,
[4]Professor, Dept. of Basic Sciences, Tehran University, Tehran, Iran
Received: 01/12/2015; Accepted: 03/07/2016

Abstract

Background and objectives: Soil pollution and accumulation of heavy metals in plants and crops in industrial areas is one of the most important environmental threats for plants, animals and humans' life. Cadmium (Cd) is a hazardous heavy metal with a long biological half-life and low rate of elimination from the body. The aim of this study was to determine the effects of long term cadmium uptake on performance and several serum biochemical parameters in lambs fed on a growing diet.

Materials and methods: Ten male Mehraban lambs of 8-9 months old were randomly assigned to two dietary groups as control (basal diet) and treatment (basal diet + 100 mg Cd/kg DM as $CdCl_2$). The lambs were fed twice daily at early morning and evening, and blood samples were collected from jugular vein on days 0, 35 and 70 before morning feeding using vacutainer tubes. Sample sera were separated and stored at -20°c until analysed. The serum biochemical parameters including Cd, urea nitrogen (SUN), creatinine, sodium, total protein (TP), albumin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), Gamma glutamyl transferase (GGT), creatine phosphokinase (CPK), alkaline phosphatase (ALP) and its bone specific isoenzyme (BALP) were measured. Serum biochemical parameters were analyzed by an auto-analyzer using correspondences Pars Azmoon kit according manufacturer manuals. Sodium was measured using flame photometry method. Statistical analysis was carried out using Duncan's multiple range tests.

*Corresponding author: aliasghar.bahari@basu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

Results: Average daily weight gain and dry matter intake were lower in the Cd group ($P<0.05$). In day 70, Albumin; in days 35 and 70, ALP and BALP decreased in the Cd receiving compared with the control group ($P<0.05$). CPK was increased in Cd compared with control group in days 35 and 70 ($P<0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that ingestion of Cd at level of 100 mg /kg DM has not been considerable toxic effect on growing lambs during 70 days.

Keywords: Cadmium toxicity, Biochemical parameters, Sheep

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir