*Basrah Journal of Veterinary Research,Vol.17, No.3,2018*
*Proceeding of 6th International Scientific Conference,College of Veterinary Medicine*
*University of Basrah,Iraq*

# التغييرات الكيموحيوية والنسجية لكبد وكلية اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio L.* والمعاملة باوكسيد الخارصين (الصغائر والكل)

شهباء خليل الطائي ،الاء حسين علي الحمداني

**فرع الامراض وامراض الدواجن ,كلية الطب البيطري جامعة الموصل, الموصل ،العراق**

*Corresponding Author e .mail: shahbaa_khalil@yahoo.com*

## الخلاصة

درست التأثيرات المرضية للتركيز دون المميت الوسطي لكل من صغائر اوكسيد الخارصين٩ ملغم/لترواوكسيد الخارصين الكل ١٢ ملغم/لتر في الاسماك ولمدة (٧و١٤و٢١و٢٨و٣٥و ٤٢) يوم ولوحظ وجود ارتفاع معنوي (P≤٠.٠١) في معدل مستوى الكرياتينين ومعدل نشاط الانزيم الناقل للحامض الأميني الالنين(Alanine amino Transferase(ALT في مصل دم الأسماك بعد مرور ٧ و٢١ يوماً من المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين وكان معدل نشاط انزيم الفوسفتيز القاعدي (Alkaline phosphatase (ALP في مصل دم الأسماك المعاملة بأوكسيد الخارصين الكل ١٢ ملغم/لتر مرتفعا" معنويا"( P≤ ٠.٠١)عن السيطرة بعد ٢١ يوم من المعاملة.

وتمثلت الافات المرضية في الكبد باحتقان الجيبانيات والتنكس الفجوي في الخلايا الكبدية بعد مرور (14) يوماً من المعاملة بالتركيز دون المميت الوسطي لصغائر اوكسيد الخارصين، وبعد مرور ٣٥و٤٢ يوماً من المعاملة لوحظ انكماش وضمور نسيج البنكرياس واحلال النسيج الدهني وتكاثر الخلايا الليفية في نسيج الكبد فضلا عن احتقان الأوعية الدموية وترسب القوالب البروتينية في النبيبات الكلوية في كلية الأسماك المعاملة بالتركيز دون المميت الوسطي لصغائر اوكسيد الخارصين وبعد مرور (٧و ١٤و٢١) يوماً من المعاملة وعند استمرار تعرض الأسماك لصغائر اوكسيد الخارصين ولمدة (٣٥و٤٢) يوماً فقد تمثلت الافة المرضية بحدوث النخر للنبيبات الكلوية.

## المقدمة

شهد العقدان الماضيان تطورا في مجال التكنولوجيا الصغائر وعلم الصغائر وصناعة صغائر المواد والتي دخلت في التطبيقات الصناعية، المجال الطبي، الزراعة والبيئة (1).

تعرف صغائر المواد (Nano particles (NP بانها جزيئات متناهية الصغر يتراوح حجمها بين ١-١٠٠ نانوميتر ($10^{-9}$) من المتر والتي تتميز بامتلاكها مساحة سطحية كبيرة (Specific Surface Area (SSA مما يجعلها اكثر فعالية من المواد كبيرة الحجم والتي تسمىBulk (3 ; 2)

تعد صغائر أوكسيد الخارصين ثالث صغائر المواد انتاجا بعد صغائر أوكسيد السليكا وصغائر أوكسيد التيتانيوم ، اذ تقدر كمية انتاج صغائر أوكسيد الخارصين بـ ٣٣.٤٤٠٠ – ٥٥٠ طن سنويا (4)،تدخل صغائر أوكسيد الخارصين

في صناعات عديدة منها صناعة مواد التجميل والمراهم الواقية من أشعة الشمس، صناعة الأصباغ، الزجاج، السمنت ويدخل في صناعة المرشحات الضوئية ولذا فانه يطرح بصورة مباشرة أو غير مباشرة الى البيئة المائية فيكون له تأثير على بايولوجية الكائنات المائية ثم على الانسان (5).

تدخل صغائر أوكسيد الخارصين جسم الأسماك عن طريق الغلاصم، الجهاز الهضمي والجلد وبسبب صغر حجم الجزئية فان له قابلية اختراق الغشاء الخلوي مما يؤدي الى خلل في نضوحية الغشاء الخلوي وله دور في تحرر جذور الأوكسجين الحرة وحدوث الإجهاد التأكسدي(6)، وبصورة عامة تختلف سمية صغائر أوكسيد الخارصين باختلاف نوع الحيوان، تركيز المادة، مدة وطريقة التعرض فضلا عن خصائصه الفيزيائية –الكيميائية.( 7)

## المواد وطرائق العمل

### الأسماك

استخدمت في هذه الدراسة أسماك الكارب الشائع Cyprinus carpio وبواقع (٧٠) سمكة وقد تراوحت أوزانها بين ١٥٠±١٠ غم. وضعت الأسماك في احواض زجاجية قياسها ٨٠*٤٠*٤٠ سم$^{٣}$ في ماء خال من الكلور Dechlorinated water وكانت الدالة الحامضية pH٧.٥ ودرجة حرارة الماء٢٣ ±٢ م$^{\circ}$ مع توفر الأوكسجين طول مدة التجربة، تركت الأسماك لمدة اسبوع للتأقلم وللتأكد من خلوها من الأمراض، استمرت تغذية الأسماك طول مدة التاقلم وقطع عنها الغذاء قبل بدء التجربة بـ٢٤ ساعة .

### جمع العينات

استعملت طريقة إتلاف النخاع الشوكي لتخدير الأسماك(٨) وجمعت عينات الدم من الوريد الذنبي Caudal vein بواسطة محقنة بلاستيكية سعة ٢.٥ سم$^{٣}$ ووضع الدم في أنابيب زجاجية خالية من مانع التخثر التي وضعت بشكل مائل وبدرجة حرارة الغرفة ولمدة ٣٠ دقيقة، وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي وبسرعة ٣٠٠٠ دورة /١٠ دقائق لغرض الحصول على المصل الذي وضع في أنابيب بلاستيكية Eppndorf وحفظ بالتجميد الى حين اجراء الفحوصات الكيموحيوية.

### جمع الأنسجة

بعد تخدير الاسماك اجريت الصفة التشريحية، اذ عمل شق طولي من فتحة المخرج باتجاه غطاء الغلاصم ثم عمل شق اخر عمودي على الخط الجانبي Lateral line امتد طوليا باتجاه غطاء الغلاصم وموازياً للخط الأول، اخذت عينات من الكبد و الكلية وحفظت في الفورمالين الدارئ ١٠% الى حين اجراء الفحوصات النسجية بالمجهر الضوئي الاعتيادي،

- **عدة قياس ألانزيم الناقل للحامض الاميني الالنين -Alanine amino transferase ALT /Biolabo /(Kit) فرنسا.**

تستخدم هذه الطريقة لتحديد القياس اللوني للعينة لغرض قياس نشاط الأنزيم الناقل للأمين في مصل الدم (وحدة دولية/لتر)، إذ تقاس الكثافة الضوئية على طول موجي قدره ٥٠٥ نانوميتر .

- **عدة قياس أنزيم الفوسفيتيز القاعدي Alkaline –Phosphatase (ALP-Kit) /شركة Biolabo /فرنسا.**

تستخدم هذه الطريقة لتحديد التفاعل اللوني للعينة لغرض قياس أنزيم ALP في مصل الدم (وحدة دولية/لتر) وتقاس الكثافة الضوئية بجهاز المطياف الضوئي وعلى طول موجي قدره ٥٠٥ نانوميتر وبعدها تم حساب فعالية الأنزيم حسب المعادلة التالية :-

$$\text{ALP Activity (IU\textbackslash L)} = \frac{\text{Absorbance assay} - \text{Absorbance specimen blank}}{\text{Absorbance Stander}} \times 20$$

- **عدة قياس الكرياتينين Creatinine Kit (CK-Kit) /شركة Biolabo/ فرنسا.**

وهي طريقة لتحديد التفاعل اللوني colourometric reaction للكرياتينين مع alkaline piorate للعينة المجهولة في جهاز المطياف الضوئي وعلى طول موجي قدره ٤٩٠ نانوميتر، ويحسب تركيز الأنزيم ملغم /ديسلتر وحسب المعادلة الآتية :-

$$\text{Createnine Activity (mg\textbackslash dl)} = \frac{A_2 - A_{1assay}}{A_2 - A_{1stander}} \text{ XStander concentration}$$

**التحليل الاحصائي :**

تم تحليل البيانات باستخدام تحليل التباين العشوائي CRD والتجربة العاملية ( ذات عاملين ) لمعرفة الفروق المعنوية بين متوسطات المعاملات وباستخدام اختبار دنكن (9) لتحديد التفوق المعنوي بين المجاميع حسب البرنامج( ١٠).

## النتائج

**تأثيرصغائر اوكسيد الخارصين وأوكسيد الخارصين الكل على مستوى الكرياتينين ملغم/ديسي لتر في مصل دم اسماك الكارب الشائع :_**

لم يلاحظ وجود فروق معنوية في معدل مستوى الكرياتينين في مصل دم الاسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين وللمدة(٧و١٤و٢٨و٣٥و٤٢) يوم عن مجموعة السيطرة في حين لوحظ الارتفاع المعنوي($P\leq0.01$) في معدل مستوى الكرياتينين في مصل دم الاسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين ولمدة ٢١ يوم عن مجموعة السيطرة وايضا لوحظ التفوق المعنوي لهذه المعاملة عن مجموعة الاسماك المعاملة باوكسيد الخارصين الكل ولمدة ٢١ يوم في حين لم يكن هنالك اختلاف معنوي بين هذ المجموعات عن مجموعة السيطرة ولوحظ الارتفاع المعنوي ($P\leq0.01$) في معدل مستوى الكرياتينين في مصل دم الاسماك المعاملة باوكسيد الخارصين الكل وبعد ٤٢ يوم اذ بلغ(١.٠٤)ملغم/ديسي لتر وتفوق معنويا عن مجموعة السيطرة وعن

بقية المجموعات وللمعاملة نفسها وعن المجموعة المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين وللمدة الزمنية نفسها الجدول رقم (١).

| **الجدول (1):تأثيرصغائر اوكسيد الخارصين وأوكسيد الخارصين الكل على مستوى الكرياتينين ملغم /ديسي لترفي مصل دم اسماك الكارب الشائع** | | |
|---|---|---|
| **المجموعات** | **المعاملات بصغائر اوكسيد الخارصين** | **المعاملات باوكسيد الخارصين الكل** |
| مجموعةالسيطرة | ٠.١٤±٠.٤١<br>cd | ٠.١٤±٠.٤١<br>cd |
| المجموعةالمعاملةلمدة ٧ أيام | ٠.٠٣±٠.١١<br>d | 0.1±0.20<br>d |
| المجموعة المعاملة لمدة ١٤ يوم | 0.01±0.82<br>cb | 0.00±0.17<br>d |
| المجموعةالمعاملةلمدة ٢١ يوم | ٠.١٨ ±١.٥٨<br>a | 0.01 ±0.30<br>cd |
| المجموعةالمعاملةلمدة ٢٨ يوم | ٠.٢٣ ± ٠.٤٩<br>cd | 0.08 ±0.24<br>d |
| المجموعةالمعاملةلمدة ٣٥ يوم | ٠.٠٢±٠.١٤<br>d | 0.023 ±0.19<br>d |
| المجموعة المعاملة لمدة ٤٢ يوم | 0±0.22<br>d | 0.17±1.04<br>b |

*القيم معبر عنهابالمعدل±الخطأالقياسي.*الاحرف المختلفةعلى المعدلات تعني وجودفروق معنوية($P\leq 0.01$)

**التغيرات في معدل نشاط الانزيمات في مصل دم اسماك الكارب الشائع**

**تأثيرصغائر اوكسيد الخارصين وأوكسيد الخارصين الكل على معدل نشاط الأنزيم ALT وحدة دولية/لترفي مصل دم اسماك الكارب الشائع.**

لم يلاحظ وجود فارق معنوي في مجموعات الاسماك المعاملة بالتركيز دون المميت الوسطي لصغائر اوكسيد الخارصين٩ ملغم/لتر ماعدا المجموعة المعاملة لمدة ٧ أيام اذ لوحظ الارتفاع المعنوي (P≤0.01) في معدل نشاط أنزيم ALT عن مجموعة السيطرة اذ بلغ(١٤١.٥) وحدة دولية/لتر وعن مجموعة الاسماك المعاملة بالتركيز دون المميت الوسطي بأوكسيد الخارصين الكل وللمدة الزمنية نفسها اذ كان (١٠٠.٣٣) وحدة دولية/لتر وكان التفوق معنويا في هذه المجموعة عند اليوم ١٤ من المعاملة باوكسيد الخارصين الكل عن مجموعة السيطرة وعن المجموعة المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين الجدول رقم(٢) .

| **الجدول رقم (٢): تأثير صغائر اوكسيد الخارصين وأوكسيد الخارصين الكل على معدل نشاط أنزيم ALT وحدة دولية/لتر في مصل دم اسماك الكارب الشائع** | | |
|---|---|---|
| **المجموعات** | **المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين** | **المعاملة باوكسيد الخارصين الكل** |
| مجموعة السيطرة | 1.4±91.28<br>c | 1.4±91.28<br>c |
| المجموعة المعاملة لمدة ٧ أيام | ١٤١.٥ ± ٣.٥<br>a | ١٠٠.٣٣ ± ٥.٣<br>bc |
| المجموعة المعاملة لمدة ١٤ يوم | ٨٨.٥ ± ١.٦<br>c | ١٠٨.٧٥ ± ٧.٤<br>b |
| المجموعة المعاملة لمدة ٢١ يوم | ٩٩.٧ ± ١.٧<br>bc | ٩٥.٠٠ ± ٢.٦<br>bc |
| المجموعة المعاملة لمدة ٢٨ يوم | ١٠٢.٢٥ ± ٣.٤<br>bc | ٩٨.٥ ± ١.٢<br>bc |
| المجموعة المعاملة لمدة ٣٥ يوم | ٩٧.٦٦ ± ١.٧<br>bc | ١٠٢.٢٥ ± ١.٣<br>bc |
| المجموعة المعاملة لمدة ٤٢ يوم | 2.13±100.33<br>bc | 6.7±105<br>bc |

*القيم معبر عنهابالمعدل±الخطأ القياسي .*الاحرف المختلفة على المعدلات تعني وجود فروق معنوية(P≤ 0.01)

**تأثير صغائر اوكسيد الخارصين وأوكسيد الخارصين الكل على معدل نشاط أنزيم الفوسفيتيز القاعدي ALP وحدة دولية/لتر في مصل دم الاسماك:**

النتائج الموضحة في الجدول (٣) تشير الى عدم وجود تاثير سمي معنوي لصغائر اوكسيد الخارصين واوكسيد الخارصين الكل على معدل نشاط انزيم ALP في مصل دم اسماك الكارب الشائع، اذ لوحظ عدم وجود فروق معنوية في معدل نشاط هذا الأنزيم ولكلا المعاملتين عن مجموعة السيطرة ماعدا في أسماك المجموعة المعاملة بأوكسيد الخارصين الكل ولمدة ٢١ يوم، اذ لوحظ وجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.01$) في معدل نشاط أنزيم ALP في هذه المجموعة عن مجموعة السيطرة.

**الجدول رقم(٣) تأثير صغائر اوكسيد الخارصين وأوكسيد الخارصين الكل على معدل نشاط أنزيم ALP وحدة دولية/لتر في مصل دم الكارب الشائع.**

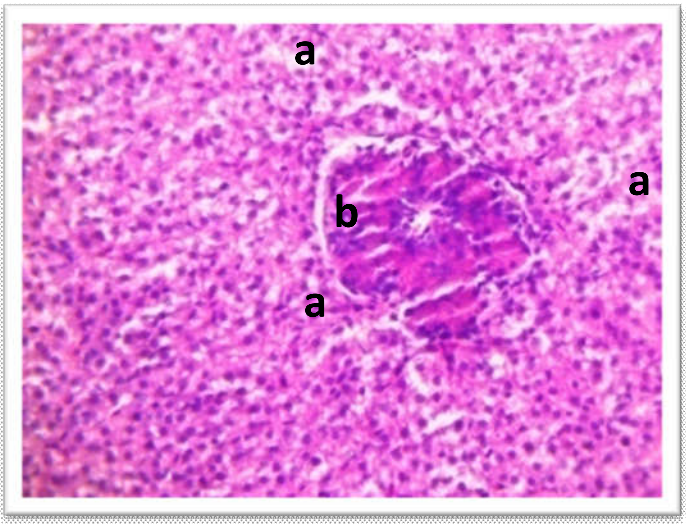
| المجموعات | المعاملة بصغائراوكسيد الخارصين ٩ملغم/لتر | المعاملة باوكسيد الخارصين الكل ١٢ملغم/لتر |
|---|---|---|
| مجموعةالسيطرة | ١.٩± ٠.٨٥<br>b | ١.٩ ± ٠.٨٥<br>b |
| المجموعة المعاملة لمدة ٧ أيام | 0.46±1.03<br>b | ٣.٥٦± ٠.٥٤<br>ab |
| المجموعةالمعاملةلمدة ١٤ يوم | 7.49 ± ١.٦٥<br>ab | 0.42 ±2.62<br>ab |
| المجموعةالمعاملةلمدة ٢١ يوم | ٤.٢٩±١.٢<br>ab | ٨.٩٨±2.40<br>a |
| المجموعةالمعاملةلمدة ٢٨ يوم | 3.15 ± 7.7<br>ab | 0.92 ±3.48<br>ab |
| المجموعةالمعاملةلمدة ٣٥ يوم | ٢.٠٧± ٠.٣١<br>b | ٢.٨٦± ١.٦٢<br>ab |
| المجموعةالمعاملة لمدة42 يوم | ١.٨٥±٠.٧١<br>b | ٢.٠٧±٠.٣٦<br>b |

- القيم معبر عنها بالمعدل ±الخطأ القياسي.
- الاحرف المختلفة على المعدلات تعني وجود فروق معنوية($P \leq 0.01$).

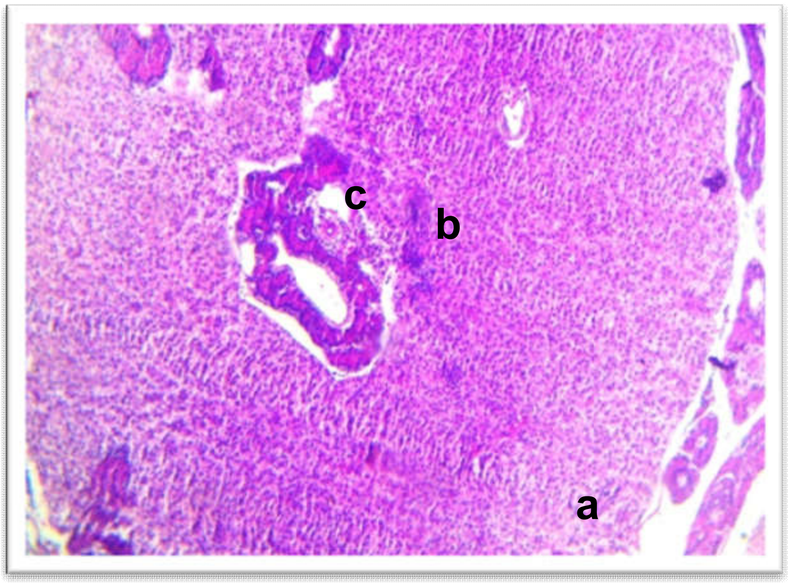
**التغيرات المرضية النسجية.**

اما الآفات المرضية النسجية التي لوحظت في نسيج **كبد** الأسماك المعاملة بالتركيز دون المميت الوسطي لصغائر اوكسيد الخارصين٩ ملغم /لتر وأوكسيد الخارصين الكل ١٢ ملغم / لتر ولمدة٧ ايام تمثلت بحدوث احتقان الأوعية الدموية ولكلتا المعاملتين، اما بعد مرور ١٤يوم فقد كانت الافات متمثلة بحدوث التنكس الفجوي في الخلايا الكبدية وارتشاح الخلايا الالتهابية في نسيج كبد الاسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين الصورة(١) وتمثلت هذه الافات نفسها في نسيج كبد الأسماك المعاملة بأوكسيد الخارصين الكل ولمدة ٢١ يوم، وعند استمرار معاملة الأسماك بصغائر اوكسيد الخارصين لمدة ٢٨ يوم فقد اظهرت نتائج الفحص النسجي حدوث النخر في نسيج الكبد وارتشاح الخلايا الالتهابية وتثخن بجدران الأوعية الدموية مع حدوث فرط تنسج الخلايا الظهارية المبطنة للقناة الصفراوية الصورة(٢) فضلا عن انكماش وضمور نسيج البنكرياس واحلال نسيج دهني مكانهAdipose tissue deposition بعد مرور ٣٥ يوم من المعاملة الصورة(٣) بينما كان الافات اقل شدة في نسيج كبد الأسماك المعاملة بأوكسيد الخارصين الكل اذ تمثلت الافات المرضية بحدوث تنكس فجوي وارتشاح للخلايا الالتهابية فقط بعد مرور ٢٨ يوم ولوحظ تكاثر الخلايا الليفية Fibroblast وتثخن الحويجزات بين فصيصات كبد الأسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين ولمدة ٤٢ يوم الصورة(٤)

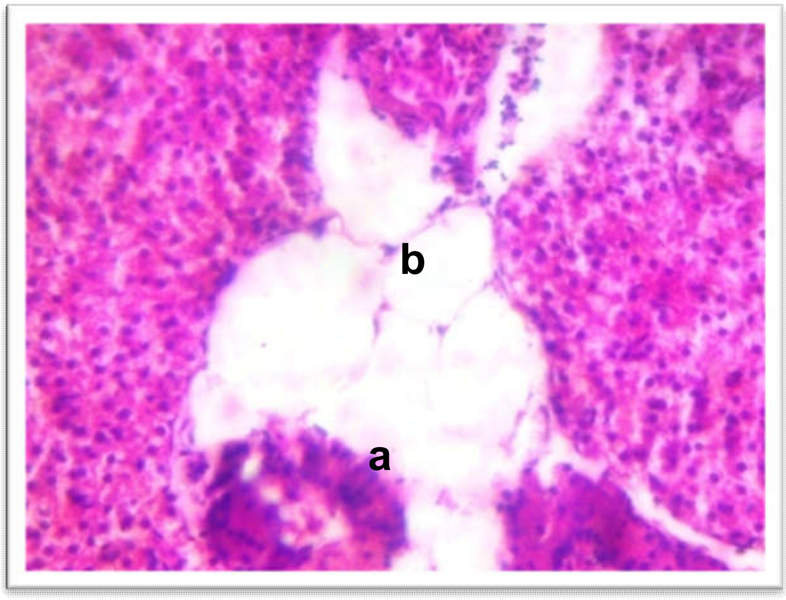
اظهر الفحص المجهري **لكلية**الأسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين٩ ملغم /لتر ولمدة ٧أيام حدوث النزف وكانت الافات المرضية اكثر شدة حسب مدة التعرض، اذ كانت الافة المرضية لكلية الأسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين ولمدة ١٤و٢١ يوم متمثلة باحتقان الأوعية الدموية وحدوث النخر مع ارتشاح الخلايا الالتهابية في النسيج الخلالي الكلوي Interstetial nephritis فضلا عن ترسب القوالب البروتينية Protein Castداخل النبيبات الكلوية الصورة (5)، ولوحظت الافات المرضية نفسها في كلية الأسماك المعاملة بأوكسيد الخارصين الكل بعد ٢١يوم ولكن اقل شدة اذ تمثلت باحتقان الأوعية الدموية وارتشاح الخلايا الالتهابية، وعند استمرار معاملة الأسماك بصغائر اوكسيد الخارصين ولمدة ٢٨يوم لوحظ وجود خضاب الدم الهيموسيدرين مترسبة في سايتوبلازم الخلايا البلعمية الى جانب حدوث التورم الغيمي Cloudy swelling وارتشاح للخلايا الالتهابية الصورة(٦)، تمثلت هذه الافات نفسها ولكن بشدة اقل عند اجراء الفحص النسجي لكلية الأسماك المعاملة بأوكسيد الخارصين الكل لمدة ٢١-٢٨ يوم. واظهر الفحص المجهري النسجي لكلية الأسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين ولمدة ٣٥ يوم حدوث النخر في بعض من النبيبات الكلوية وتوسف الخلايا الظهارية المبطنة للنبيب الكلوي وأنسلاخها لداخل تجويف النبيب الكلوي وارتشاح الخلايا الالتهابية الصورة(٧) وكانت الافات المرضية النسجية اكثر شدة عند اليوم ٤٢ من المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين اذ لوحظ حدوث نخر شديد في النبيبات الكلوية وانسلاخ الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية فضلا عن ارتشاح الخلايا الالتهابية في النسيج الكلوي الخلالي وبشكل منتشر Diffuse infiltration الصورة(٨)، اما الافات المرضية لكلية الأسماك المعاملة بأوكسيد الخارصين الكل لمدة ٤٢ يوم كانت اقل شدة اذ لوحظ حدوث التورم الغيمي وضخامة الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية.



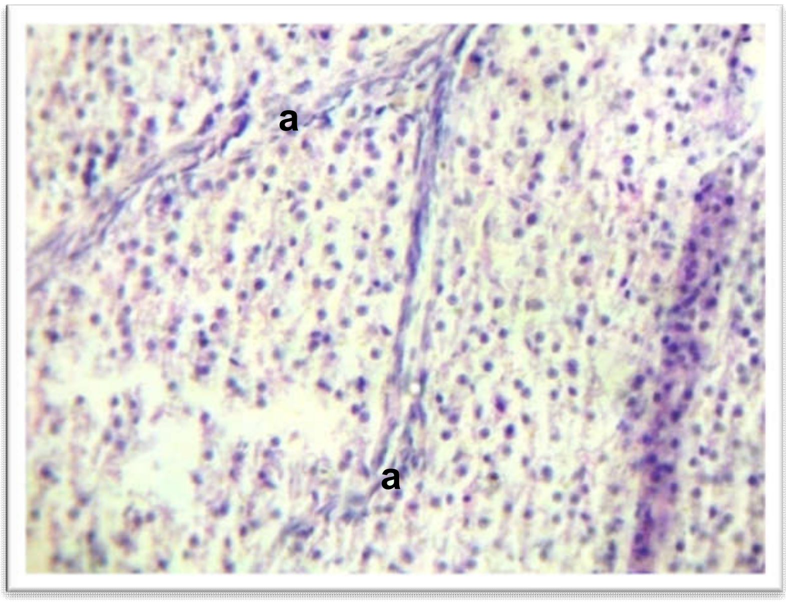

الصورة(١) مقطع في نسيج كبدلإسماك الكارب الشائع معاملة بتركيز ٩ملغم /لتر لمدة ١٥ يوم يوضح حدوث التنكس الفجوي في الخلايا الكبدية (a) وارتشاح الخلايا الالتهابية(b)H&E،105X.



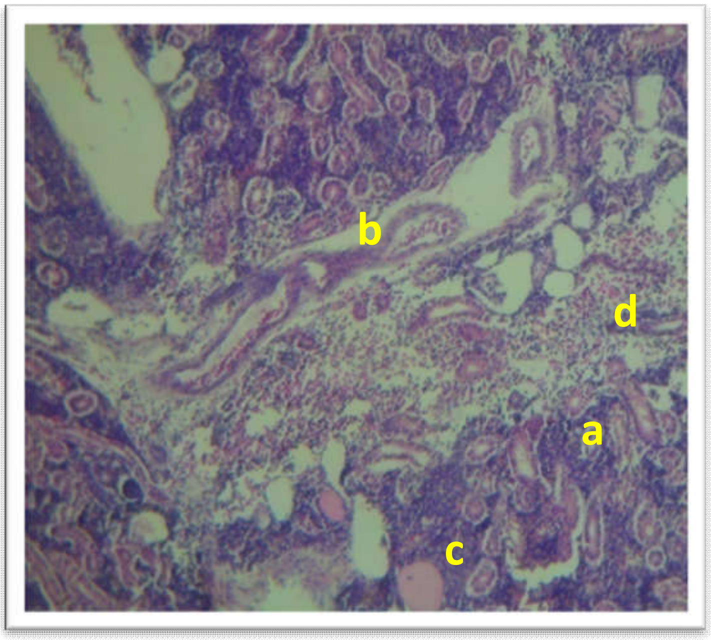

الصورة(2)مقطع في نسيج كبد لإسماك الكارب الشائع معاملة بتركيز ٩ملغم /لتر لمدة ٢٨ يوم يوضح فيها حدوث النخر (a) وارتشاح الخلايا الالتهابية(b)مع تثخن لجدار الأوعية الدموية(c) H&E،105X.



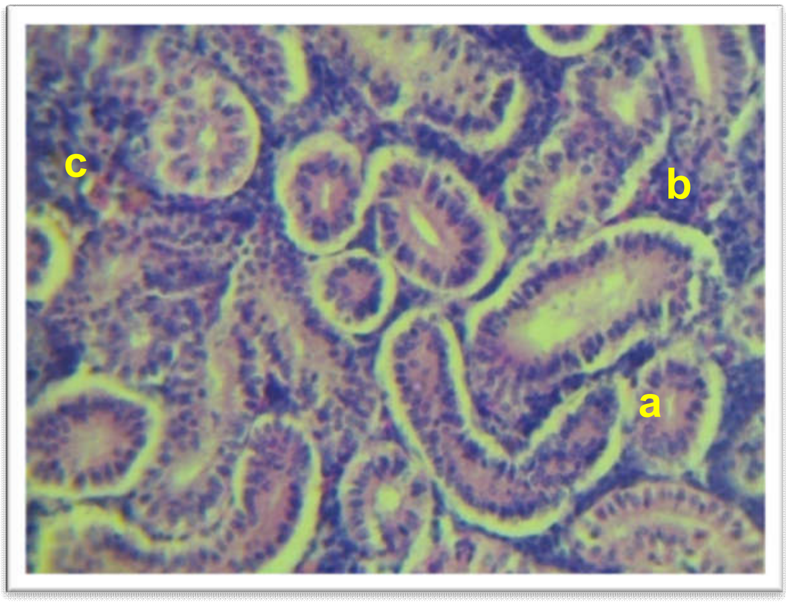

الصورة(3)مقطع في نسيج كبد لإسماك الكارب الشائع معاملة بتركيز ٩ملغم /لتر لمدة ٣٥ يوم يظهر فيها انكماش وضمور نسيج البنكرياس(a) واحلال نسيج دهني مكانه(b) H&E، 420X.



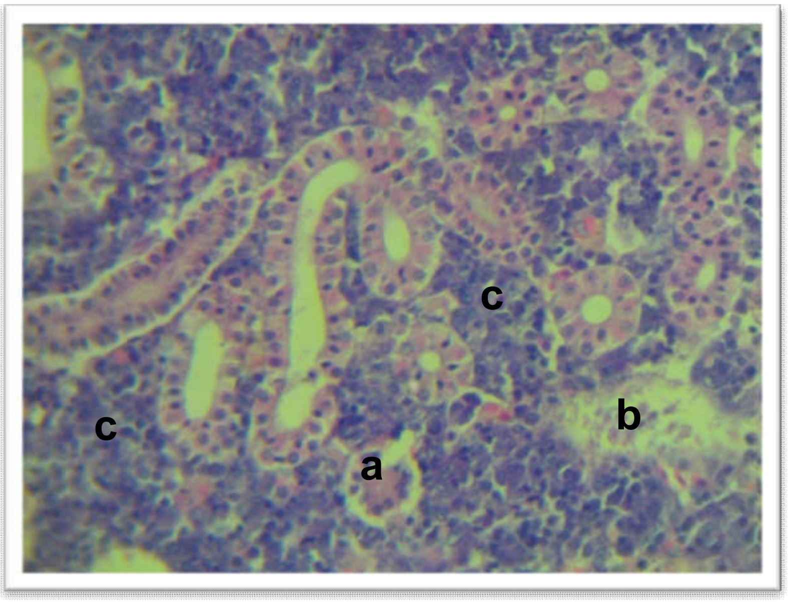

الصورة(4) مقطع في نسيج كبد لإسماك الكارب الشائع معاملة بتركيز ٩ملغم /لتر ولمدة٤٢ يوم يظهر فيها تكاثر الخلايا الليفية وتثخين حويجزات فصيصات الكبد (a) H&E،420X.



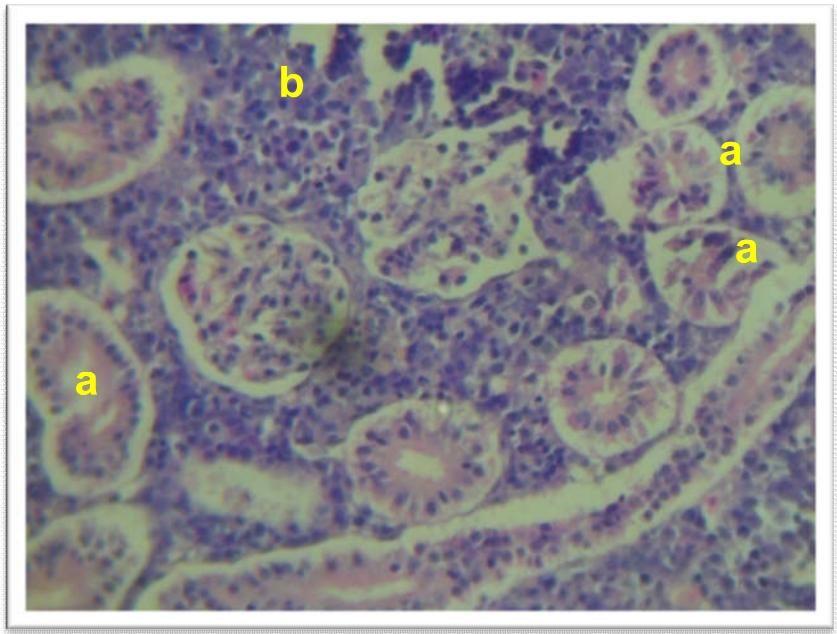

الصورة (5) مقطع في نسيج كلية لأسماك معاملة بتركيز ٩ملغم /لتر ولمدة١٥و ٢١ يوم يوضح حدوث ارتشاح الخلايا الالتهابية (a) احتقان الأوعية الدموية (b)، ترسب القوالب البروتينية(c) وحدوث النخر (d)، H&E، 105X.




الصورة(6) مقطع في نسيج كلية لإسماك الكارب الشائع معاملة بتركيز ٩ملغم /لترولمدة ٢٨ يوم يوضح التورم الغيمي (a) ارتشاح الخلايا الالتهابية (b)، ترسب الهيموسيدرين(c)H&E،420X




الصورة(٧)مقطع في نسيج كلية لإسماك الكارب الشائع معاملة بتركيز٩ملغم /لتر ٣٥ يوم يوضح فيه توسف الخلايا الظهاريةالمبطنة للنبيب الكلوي (a) حدوث النخر(b) وارتشاح الخلايا الالتهابية( c(H&E،420X.




الصورة(٨)مقطع في نسيج كلية لإسماك الكارب الشائع معاملة بتركيز ٩ملغم /لتر ٤٢ يوم يوضح النخر الشديد للنبيبات الكلوية وانسلاخ الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية(a) وارتشاح الخلايا الالتهابية في النسيج الكلوي الخلالي(b)، H&E،420X.

## المناقشة

**تاثير صغائر اوكسيد الخارصين واوكسيد الخارصين الكل على معدل مستوى الكرياتينين ملغم/ديسي لترفي مصل دم الأسماك :-**

تتركز الاهمية السريرية لتقدير معدل نشاط الكرياتينين في مصل دم الأسماك لما له علاقة بوظائف الكلية اذ يعد مؤشراً جيداًعلى معدل ترشيح الكبيبة والكرياتينين ناتج نهائي لتكسير الكرياتين فوسفيت Creatine Phosphate في الجسم ويطرح الى خارج الجسم عن طريق الكلية وبمعدلات ثابتة وفي الأسماك لوحظ بأن مستويات الكرياتينين تكون ضمن المستويات نفسها في كل الاسماك (١١).

تطابقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج الباحث (12) الذي اشار الى انه كلما إزداد تركيز ومدة التعرض للمادة السمية يؤدي الى حدوث ارتفاع في معدل نشاط الكرياتينين في مصل دم اسماك الكارب المعرضة لكبريتات الخارصين وبالتراكيز(٥ و١٠) ملغم/لتر ولمدة ٧و١٤و٢٨ يوم واشار الباحث (١٣) الى ان تعرض أسماك القوس قزح للـ$TiO_2$ عن طريق الحقن بالوريد وبتراكيز ٢٠٠ مايكروغرام يؤدي الى حدوث زيادة في معدل نشاط الكرياتينين في مصل دم الأسماك.

**تأثير صغائر اوكسيد الخارصين واوكسيد الخارصين الكل على معدل نشاط أنزيم ALT وحدة دولية/لتر في مصل دم الأسماك:-**

يعد أنزيم ALT مؤشراً على حدوث الاذى الخلوي في نسيج الكبد(١٤)، لذا أدى تعرض الأسماك للتركيز دون المميت الوسطي لصغائر أوكسيد الخارصين ٩ملغم/لتر وأوكسيد الخارصين الكل ١٢ملغم/لتر الى حدوث تغير في معدل نشاط أنزيمALT في المجموعات التي تمت معاملتها بكلتا المادتين عن مجموعة السيطرة واتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج الباحثان(١٥) الذي أشار الى حدوث زيادة في نشاط أنزيم ALT في مصل دم أسماك*O.mossambicus* عند تعرضها لصغائر أوكسيدالخارصين ولمدة ٢١ يوم.

هذه الزيادة في نشاط هذا الأنزيم ناتجة عن التأثير المزمن لصغائر أوكسيد الخارصين والذي يؤدي الى حدوث الإجهاد التأكسدي والتي هي احدى الاليات الرئيسة لحدوث التسمم بصغائر المواد وهذا ماأشار اليه الباحث (١٦)، إن عملية الإجهاد التأكسدي تؤدي الى تكوين جذور الأوكسجين الحرة والتي بدورها تؤثر على غشاء الخلية وما تسببه من أكسدة الطبقة الدهنية في الغشاء وبالتالي خلل في نضوحية الغشاء الخلوي ثم اضطراب في وظائف عضيات الخلية وتحرر مكونات الخلية الى خارجها وبالتالي ارتفاع مستوى الأنزيمات (17).

**تأثير صغائر اوكسيد الخارصين واوكسيد الخارصين الكل على معدل نشاط أنزيم ALP وحدة دولية /لتر في مصل دم الأسماك :-**

اتضح من هذه الدراسة أن معاملة الأسماك بأوكسيد الخارصين الكل ولمدة ٢١ يوم قد ادى الى حدوث زيادة معنوية ($P\leq0.01$) في نشاط أنزيم ALP عن مجموعة السيطرة وجاءت نتيجة هذه الدراسة متطابقة مع نتائج دراسة الباحث (١٨) الذي اشار الى حدوث ارتفاع معنوي في مصل دم اسماك*O.niloticus* عند تعرضها للتركيز دون المميت الوسطي للخارصين الكل بعد ٧و١٤ و٢٨ يوم واتضح من الجدول (٣) ان معاملة الاسماك بصغائر اوكسيد الخارصين واوكسيد الخارصين الكل وللمدة (٧ و١٤و٢١و٢٨ و٣٥و٤٢) يوم لم تختلف معنويا

عن مجموعة السيطرة الا انه كان هناك فروق حسابية بين هذه المجموعات عن مجموعة السيطرة وهذه النتائج تعطي مؤشراً حيوياً لحدوث الأذى السمي في نسيج الكبد وأنسداد القناة الصفراوية فضلا عن أمراض الجهاز الهيكلي العظمي . اتفقت هذه النتائج مع نتائج الباحثان(15) والذي أشار الى أن تعرض أسماك *O.mossambicus* لتراكيز مختلفة من صغائر اوكسيد الخارصين قد تراوحت بين (٧٠و٨٠و١٠٠) جزءاً بالمليون مما ادى الى حدوث ارتفاع في مستوى نشاطALP في مصل الدم.

**التغيرات المرضية النسجية للتركيز دون المميت الوسطي لصغائر اوكسيد الخارصين وأوكسيد الخارصين الكل في أسماك الكارب الشائع.**

يعد الخارصين من العناصر الأساسية المهمة ويدخل في كثير من العمليات الايضية وتصنيع الأنزيمات وهو مهم لنمو الأسماك غير أن زيادة تركيزه عن المستوى الطبيعي الذي تحتاجه الأسماك يؤدي الى اضطرابات أيضية (19) .

يمثل الكبد العضو الاساس في تراكم المواد السمية والمعادن الثقيلة وازالتها من الجسم (20) فضلا عن هذا ففي الأسماك يعد الكبد مؤشراً حيوياً لحدوث التلوث في البيئة المائية وذلك من خلال حدوث تغييرات واضطرابات فسلجية فضلاعن خلل في فعالية الأنزيمات وتحطم العضيات وهذا مادلت عليه نتائج هذه الدراسة حيث لوحظ أنه عند معاملة الأسماك بالتركيز دون المميت الوسطي لكلتا المادتين صغائر اوكسيد الخارصين وأوكسيد الخارصين الكل ولفترات زمنية مختلفة قد ادى الى حدوث تغيرات مرضية نسجية في كبد الأسماك المعاملة بكلتا المادتين وكلٌ على حدة وحسب مدة التعرض ولوحظ أنه بعد ٧ أيام من المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين وأوكسيد الخارصين الكل حدوث النزف في متن الكبد وهذا ما اشار اليه الباحثان (٢١) من ان تعرض اسماك *O.mossambcus* للتركيز المميت الوسطي لصغائر اوكسيد الالمنيوم AL2O3 ( ٢٣٥و٢٤٥) جزء بالمليون لمدة ٩٦ ساعة قد ادى الى حدوث تغير مرضي في تركيب الوريد البابي Portal Vein وتنكس الخلايا الكبدية وتجمع خلايا الميلانيةالبلعميةMelanomacrophage وكانت الافة المرضية اكثر شدة عند استمرار معاملة الأسماك بالتركيز دون المميت الوسطي لصغائر اوكسيد الخارصين ولمدة(١٥ و٢١) يوماً من المعاملة اذ لوحظ حدوث التنكس الفجوي وترسب صبغة الهيموسيدرين وتطابقت هذه النتائج مع ما ذكره الباحث (22) من أن معاملة أسماك الكارب بصغائر أوكسسيد التيتانيوم (١٠٠ ،٢٠٠) ملغم /لتر قد ادى الى حدوث النخر والموت المبرمج لكبد الأسماك وجاءت نتائج الفحص المجهري للنسيج الكبدي –البنكرياس لمجموعة الأسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين٩ ملغم/لتر ولمدة ٣٥ يوم والتي دلَت على حدوث ضمور النسيج البنكرياسي واحلال النسيج الدهني حول نسيج البنكرياس متطابقة مع نتائج الباحث(23) الذي أشار الى أن تعرض أسماك *O.myksis* لصغائر أوكسسيد التيتانيوم قد ادى الى حدوث النخر الدهني حول نسيج البنكرياس .

إن سبب حدوث النزف عند معاملة الأسماك بصغائر اوكسيد الخارصين وأوكسيد الخارصين الكل وذلك بسبب أيون الخارصين والذي يتحرر من جزيئة أوكسيد الخارصين مما يؤدي الى تغير في نضوحية الاغشية الخلوية ومنها غشاء الخلايا الظهارية المبطنة للوعاء الدموي والذي يؤدي الى حدوث الانسلال diapedesis (24)

وحدوث الذوى Ischemia نتيجة لقلة التجهيز الدموي ونقص الأوكسجين ومن ثم حدوث النخر. وايضا كنتيجة لخلل في إنسلال كريات الدم الحمر فأن هذه الكريات ستكون اكثر هشاشة واكثر قابلية للتكسر لتعطي الهيموغلوبين والذي يتحلل الى المادة البروتينية globin والى الحديد haem والذي يتجمع داخل الخلية البلعمية مؤدياً الى التخضب بالهيموسيدرين(٢٥).

اظهر الفحص المجهري لنسيج كلية الاسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين واوكسيد الخارصين الكل ولفترات زمنية مختلفة تغيرات مرضية نسجية تطابقت مع نتائج الفحص المجهري لكلية اسماك الكارب الشائع المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين(٥٠ و ٥٠٠)ملغم/ كغم من وزن الجسم (٢٦) والذي اشار الى حدوث النزف وتنكس النبيبات الكلوية وقد يكون سبب هذه التغيرات المرضية الى أن صغائر المواد قابلية الادمصاص بمكونات غشاء الخلية مما يؤدي الى تغير في تركيب الخلية وخلل في وظيفة الغشاء الخلوي ويؤدي الى أكسدة الدهون وتحرر جذور الأوكسجين الحرة (27).

وقد تزداد أعداد الأجسام الحالة في أنسجة الجسم كاستجابة دفاعية وأشار الباحث (٢٨) الى أنه عند اجراء الفحص المجهري الألكتروني لكلية الأسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين بتركيز ٢.٤ملغم/لتر ولمدة ١٢ اسبوعاً أدى الى تجمع الأجسام الحالة في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية وهذه الأجسام الحالة قد تفقد نفاذية غشائها الخلوي إما بتأثير جذور الأوكسجين الحرة أو بسبب تأثير صغائر المواد والتي تؤدي الى فشل في وظيفة الأجسام الحالة Lysosomal dysfunction وبالتالي حدوث خلل في نضوحية غشاء الاجسام الحالة وبالتالي تحرر الأنزيمات الحالة مثل كاثابسينcathapsins وlysosomal iron mediated oxidative stress، هذه الأنزيمات تؤثر على عضيوات الخلية وتحطم المتقدرات (29) وأن تحطم المتقدرات يؤدي الى فشل في مضخة $Na^{+}/K^{+}$ -ATPase وبالتالي تحرر أيون البوتاسيوم واحتباس أيون الصوديوم داخل الخلية مما يؤدي الى حدوث خلل واضطراب في الضغط الأوزموزي وبالتالي حدوث التنكس الفجوي (٢٥) ، وكنتيجة لتحطم المتقدرات وتكون جذور الأوكسجين الحرة فأن هذا يؤدي الى حدوث موت الخلية المبرمج أو ربما تؤدي كل هذه المسببات الى حدوث النخر وهذا ما تمت ملاحظته عند اجراء الفحص المجهري لكلية الأسماك المعاملة بصغائر اوكسيد الخارصين ولمدة ٣٥ يوم بحيث لوحظ حدوث النخر التجلطي للنبيبات الكلوية.

# BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL CHANGES IN LIVER AND KIDNEY OF *CYPRINUS CARPIO L.* TREATED WITH ZINC OXIDE(NANO & BULK)

## ABSTRACT

The toxic effects of sub lethal concentrations of both N ZnO was 9 mg/L and for ZnO was 12 mg/L were used for 7, 14. 21, 28, 35 and 42 day. The activity of Alanine amino Transferase ALT and Creatinine in serum were significantly increased ($P \leq 0.01$) in fish treated by N ZnO for 7 and 21 day, while in fish exposure to ZnO for 21 day revealed significant increase($P \leq 0.01$) only in the activity of Alkaline Phosphatase ALP in the serum comparing with the non treated group.

The toxic effects of both N- ZnO and ZnO in fish caused histopathological lesions in liver and kidney, these lesions were more sever in fish exposed to N- ZnO in correlation with progression of exposure periods,.In the liver there were congestion of sinusoids, vacuolar degeneration in hepatic cells at the 14$^{th}$ day from exposure to N ZnO, these lesions become more sever with progression exposure period which characterized by atrophy of pancreatic tissue with deposition of adipose tissue and proliferation fibroblast cells after 35 and 42 day from exposure to N ZnO, while in the kidney there were congestion of blood vessels with protein cast deposition in renal tubules at 7, 14 and 21 day from exposure to N ZnO, with exposure progression to N ZnO for 35 and 42 day the lesion become more sever and represented by necrosis of renal tubules.


## المصادر


1- **Gonzales**, Hernandez, R.; Martinez, A.I.; Falcony, C. and , A.A.(2010). Study of the properties of Undoped and Fluorine Doped Zinc oxide Nanoparticles.Mater.Lett. 64(13) : 1493-1495.

2- **Cumberland**, S.A. (2010). Synthesis and Environmental chemistry of silver and iron oxide nanoparticles.PH.D.Thesis in the university of Birmingham.

3- **Cole**, P. (2011). Nanoparticles in aqeuos environments:Aphysicochemical and ecotoxicological study of cerium dioxide.PH.D.Thesis in the university of Birmingham.

4- **Piccinno**, F.; Gottschalk, F.; Seeger, S. and Nowack, B.(2010).Industerial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials for Europe and the world .J. Nanopart. Res. 14:1109-1120.

5- **Yu**, L.P.; Fang, T.; Xiong, D.W.; Zhu, W.T. and Sima, X.F. (2011). Comparatrive toxicity of nano-ZnO and Bulk suspensions to zebrafish and the effects of sedimentation ,$OH^-$Production and particle dissolution in distilled water.J. Environmental Monitoring.13: 1975-1982.

6- **Mam**, H.; Williams, P.L. and Diamond, S.A. (2013). Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles-Areview. Environmental Pollution, 172:76-

7- **Mam , H.; Williams, P.L. and Diamond, S.A. (2013).** Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles – Areview .Environmental of Pollution, 172: 76-85.

8- **Lucky**, Z.(1977).The diagnosis of Bacterial disease by infection experiments. In Hoffman G.L(ed) methods for diagnosis of fish disease, Amerind New Delhi,p 40.

9- **SAS Institute.** (2003). SAS Statistcal guide for perssonalcomputers, 6th ed. Cary, Nourth Carolina.

١٠- **داؤود، خالد محمد وعبد الياس، زكي.** (١٩٩٠). الطرق الاحصائية للابحاث الزراعية. الطبعة الثانية. دار الكتب للطباعة والنشر،الموصل-العراق.

11- **Manera**, M. and Britti, D. (2006). Assessment of blood chemistry normal range in rainbow trout. J.Fish Biol. 69:1427-1434.

12- **Abdel-Tawwab**, M.; Mouse, M. N. M; Sharafeldin, K. M. and Ismaiel, N. E. M.(2013). Changes in growth and biochemical status of common carp (*Cyprinus carpio* L.) exposed to water –born zinc toxicity for different periods.internatonal Aquatic Research. 5(11):6970.

13-**Scown**, T.(2009). Uptake and Effets of nanoparticles in fish.PH.D. thesis in the Exter University p,70.

14- **Denny**, J.M. and John, W.H. (2004). Veterinary Labrotory Medicine, Interpretation and diagnosis.3rd ed..Printed the United State of Americ.

.

15- **Amutha,** C. and Subramanian, P.(2009). Tissues damaging effect of zinc oxide nanoparticles on *Oreochromis mossambicus*. Biochem Cell Arch. 9(2):235-239.

16- **Nel**, A.; Xia, T.; Madler, L. and Li, N. (2006). Toxic potential of material at the nanolevel. Science. 311:622-627.

17- **Vindohini**, R. and Narayanan, M. (2009). Biochemical changes of antioxidant enzyme in common carp(*Cyprinus carpio*)after heavy metal exposure.Turk. J. Vet.Anim. Sci. 33(4):273-278.

18- **Abdel-Khalek**, A. A.; Kadry, M.; Hamed, A.and Marie, M. A. (2015). Ecotoxicological impacts of zinc metal in comparison to its nanoparticles in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*.The Journal of Basic and Applied Zoology. 72:113-125.

19- **Senthil**, M.S.; Karuppasamy, R.; Poongodi, K.and Puvaneswari, S. (2008). Bioaccumulation pattern of zinc in fresh water Channa punctatus(Bloach) after chronic exposure. Turk. J.Fish Aquat Sci. 8:55-59.

20- **Olojo**, E.A.A.; Olurine, K.B.; Mbaka, G. and Oluwemimo A.D. (2005). Histopathology of gill and liver tissue of the African cat fish *Clarias gariepinus* exposed to lead .African J. Biotechnol. 4(1):117-122.

21- **Murali**, M.; Singhal, R.K. (2017). Histological alteration in the hepatic tissues of $AL_2O_3$ nanoparticles exposed freshwater fish *Oreochromis mossambicus* .Journal of trace elements in Medicine and Biology. 44: 125-131.

22- **Hao**, L.; Wang, Z. and Xing, B. (2009). Effect of sub acut exposure to $TiO_2$ nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in juvenile carp(*Cyprinus carpioL.*). J Environ. Sci. 21 : 1459-1466.

23- **Federici,** G.; Shaw, B. J. and Handy, R.D. (2007). Toxicty of Titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout(Oncorhynchus mykiss: gill injury, oxidative stress and other physiological effects. Aquat. Toxicol .84:415-430.

24- **Slauson**, D.O. and Cooper, B.J. (2002). Mechanisms of disease Atextbook of comparative general pathology .3rd edition. Mosby, Philadelphia ,USA.P:83.

25- **Kumar**, V.M.; Cotran, M.D.and Robbins, M.D. (2003).Basic pathology. 7th edition.Sauners, Philadelphia p:4.

26- **Chupani**, L.; Niksirat, H.; Velíšek, J.; Stará,A.;Hradilová,S.; Kolařík, J.; Panáćek, A. and Zusková, E.(2018). Chronic dietary toxicity of zinc oxide nanoparticles in common carp(*Cyprinus carpio*L.):Tissue accumulation and physiological responses.Ecotoxicology and Environmental Safety,147:110-116.

27- **Fent**, K. (2010). Nanoparticles in $H_2O$ cycle.Chapter 11 Ecotoxicology of Engineered Nanoparticles. Spriner- Verlag Berlin Heidelberg.p:190.

28- **Lee,** J.W.; Kim, J.E.; Shin, Y.J.; Ryu, J.S.; Eom, I.C.; Lee, J.S.; Kim, Younghum; Kim, P.J.; Eom, K.H.; Lee,B.C. (2014). Serum and ultrastructure responses (*Cyprinus carpio* L.) during long –term exposure to zinc oxide nanoparticles. Ecotoxicology and Environmental Safety. 104:9-17.

29- **Stern**, S.T.; Adiseshaiah, P. and Crist, R.M.(2012). Autophagy and lysosomal dysfunction as emerging mechanisms of nonmaterial toxicity. BioMed Central, www.particleandfiberetoxicology.com.