# تأثير التراكيز تحت القاتلة لثنائي كلوريد الرصاص في فترتي التعرض الحاد والمزمن في كريات الدم الحمر ومعدل شذوذ النوى في أسماك البعوض Gambusia affinis\*

#### آمال عبدالاله الخشاب

قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة الموصل، موصل - العراق.

#### أمامة قاسم فتحى

قسم تقنيات المختبرات الطبية، كلية الحدباء الجامعة، موصل - العراق.

#### المستخلص

تهدف الدراسة الحالية الى معرفة التأثير الحاد والمزمن لثنائي كلوريد الرصاص من خلال الفحص المجهري لأنوية كريات الدم الحمر وإجراء تعداد نسبي للكريات غير الطبيعية. جُمعت أسماك البعوض لأجل الدراسة من ضفاف نهر دجلة شرق مدينة الموصل في الجانب الأيسر قرب الجسر الرابع للفترة من شهر تموز الى تشرين الثاني لعام 2019 وكان معدل أطوال إناث الأسماك وأوزانها 3,48 سم، 2.21فم على التوالي، في حين بلغ معدل أطوال وأوزان ذكور الأسماك 7.52سم،

أظهرت نتائج دراسة تأثير التراكيز تحت القاتلة لثنائي كلوريد الرصاص في كريات الدم الحمر ولفترتي التعرض الحاد لمدة 24 و96 ساعة بتركيز 20 و25ملغم/ لتر والتعرض المزمن في الفترتين لمدة 15 و30يوماً بتركيز 5 و10ملغم/لتر، أدت الى حدوث ارتفاع معنوي في معدل شذوذ النوى في كريات الدم الحمر في أسماك البعوض.

يستنتج من هذه الدراسة أن للرصاص تأثيراً ضاراً في أسماك البعوض حتى في التراكيز تحت القاتلة ويزداد تأثير المعدن فيها بإزدياد التركيز وإزدياد فترة التعريض.

الكلمات المفتاحية: المعادن الثقيلة، اسماك البعوض Gambusia affinis، التأثير الحاد، التأثير المزمن، ثنائي كلوريد الرصاص.

<sup>\*</sup> البحث مستل من رسالة ماجستير بعنوان (دراسة التأثيرات الكيموحيوية والمرضية النسجية لثنائي كلوريد الرصاص في بعض أعضاء أسماك البعوض Gambusia affinis).

# Effect of sub-lethal concentrations of lead dichloride in Red Blood Cells and nuclear abnormalities rate of mosquito fish Gambusia affinis\*

#### Amal A. Al-kshab

Department of Biology, College of Education for pure sciences, University of Mosul, Mosul - Iraq.

#### **Omamah Qasim Fathi**

Department of Medical Laboratory Techniques, Al-Hadba University College, Mosul - Iraq.

#### **Abstract**

The current study aims to know the acute and chronic effect of lead dichloride through microscopic examination of the nuclei of red blood cells and a relative enumeration of abnormal cells.

Mosquito fish were collected for the study from the banks of the Tigris River, east of the city of Mosul, on the left side near the fourth bridge, for the period from July to November of the year (2019). The fish are 2.57cm, 0.120gm, and then the fish were transferred to the Scientific Research Unit of the College of Education for Pure Sciences/ Life Sciences. The results of the study showed the effect of sublethal concentrations of lead dichloride on red blood cells and for the two periods of acute exposure 24 and 96 hours at a concentration of 20 and 25mg/L and chronic exposure in the two periods for 15 and 30 days at a concentration of 5 and 10mg/L resulted in a significant increase in the rate of nuclei abnormalities in the red blood cells of mosquito fish.

It is concluded from this study that lead has a harmful effect on mosquito fish even in sub-lethal concentrations, and the effect of the metal increases with increasing concentration and increasing exposure period.

**Keywords:** Heavy metals, Mosquito fish Gambusia affinis, Acute toxicity, Chronic toxicity, lead dichloride.

<sup>\*</sup> Research extracted from Master Thesis (Study the Biochemical and Histopathological Effects of Lead (II) chloride in Some Organs of Mosquito fish Gambusia affinis.

#### المقدمة

يُعدّ التلوث البيئي أحد المشاكل الرئيسة في العصر الحديث، لما له من تأثيرات ضارة على البيئة. إذ تستقبل البيئات المائية مجاميع واسعة من الملوثات والتي قد تلوث تجمعات المياه بأكملها، توجد المعادن الثقيلة Heavy metals في الهواء والماء والتربة، وقد بينت العديد من الدراسات أن للمعادن الثقيلة العديد من التأثيرات على الأسماك وذلك من خلال تأثيرها على الإنزيمات والمتغيرات الكيموحيوية فضلاً عن تأثيرها على الدم[1]. يعد الرصاص أحد عناصر المعادن الثقيلة المنتشر في البيئة ويكثر انتشاره في البيئات المائية والترب القريبة من المناطق الصناعية[2]. تعد الأسماك من أهم الحيوانات المائية المستخدمة كمؤشرات بايولوجية للتلوث البيئي، بمجرد دخول المادة السامة إلى أجسامها، فإنها تؤدى إلى اضطرابات فسلجية ومرضية، اذ تعد سمكة البعوض G. affinis من الأسماك الصغيرة الحجم، تمتلك نظام تغذية متعدد، اذ تتباين تغذيتها بين البقايا والهائمات الحيوانية والفقريات الصغيرة[3]. تنتج الملوثات تغيرات سريعة نسبياً في الخصائص الدموية للأسماك، وقد وجد أن التغيرات التي تحصل في المكونات الدموية تعتمد على تركيز الملوثات ومدة التعرض لها ونوع وعمر الأسماك وحالتها الصحية[4]. يعد الدم من النسج الحساسة التى تتأثر بالتغييرات البيئية" إذ تسبق التغييرات الدموية التغييرات الشكلية والفسلجية في الوسط المائي، تمثل كريات الدم الحمر %97 من خلايا الدم للأسماك بينما تمثل خلايا الدم البيض نسبة 3%، لذلك يمكن الاعتماد على المكونات الدموية كمؤشرات لمعرفة التغييرات البيئية[5]. تعد كريات الدم الحمر أحد الأهداف الرئيسة لسمية الرصاص، إذ يتم نقل المعادن من خلال الدم، وهذا يعنى أن كريات الدم الحمر تواجه المعادن بشكل مستمر، إن الهدف من الدراسة الحالية هو دراسة دم أسماك البعوض وذلك من خلال الفحص المجهري لأنوية كريات الدم الحمر واجراء تعداد نسبى للكريات غير الطبيعية.

#### المواد وطرق العمل Materials and Methods

### • جمع اسماك البعوض Collecting Mosquito Fish

جمعت أسماك البعوض Gambusia affinis من محاذاة نهر دجلة قرب الجسر الرابع، وتحديداً من ضفاف النهر في منطقة حي الفرقان حي البعث سابقاً، في الجانب الأيسر شرق مدينة الموصل نهاراً بواساطة شباك يدوية للفترة من شهر تموز إلى تشرين الثاني لعام 2019، وبمعدل مرة واحدة كل أسبوع.

### • تجهيز العينات Specimens Preparation

تم نقل الأسماك إلى مختبر الفسلجة في وحدة البحوث العلمية التابعة لكلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة الموصل في أوعية بلاستيكية ووضعت في حوض زجاجي بلغت أبعاده (60×30×45)سم، سعته 81 لتر وضع فيه ماء منزوع الكلور وضع الكلور وضع فيه ماء منزوع الكلور وبنسبة ثلاثة أرباع من الماء منزوع الكلور إلى ربع من ماء النهر تم وضع الأسماك فيه لمدة أسبوعين لتتأقلم. كما تم تنظيف الأحواض وتغيير مياهها إسبوعياً. كما واستُخدمت مضخات هوائية لتوفير الأوكسجين، ولقد استخدم الغذاء الجاهز Guangzhou Siso Bio-tech المصنع من شركة Guangzhou Siso Bio-tech الصينية.

# • تحضير المحلول القياسي Preparation of Stock Solution

تم تحضير المحلول القياسي Stock Solution بتركيز 100ملغم/لتر، ومنه حضرت التراكيز المطلوبة (5,10,20,25)ملغم/لتر لإجراء التجارب الأُخرى.

## • التصميم التجريبي Experimental Design

من أجل إجراء التجارب استُخدِمت أحواض زجاجية تراوحت أبعادها  $\times 30^{\times}$  من أجل إجراء التجارب استُخدِمت بعضها لدراسة التأثير الحاد والمزمن كلّ على حدة لثنائي

كلوريد الرصاص في فترتي التعريض لمدة  $24 \, 96$  ساعة،  $15 \, 160$  يوماً على التوالي. وقُسمتُ الأحواض إلى خمس مجاميع:

- المجموعة الأولى: استخدم حوضان يحتويان على محلول مائي لثنائي كلوريد الرصاص بتركيز 20ملغم/لتر للفترتين 24و96ساعة كلّ على حدة لدراسة التأثير الحاد.
- المجموعة الثانية: استخدم حوضان يحتويان على محلول مائي لثنائي كلوريد الرصاص بتركيز 25ملغم/لتر للفترتين 24و96ساعة كلّ على حدة لدراسة التأثير الحاد.
- المجموعة الثالثة: استخدم حوضان يحتويان على محلول مائي لثنائي كلوريد الرصاص بتركيز 5ملغم/لتر للفترتين 15و30يوماً كلّ على حدة لدراسة التأثير المزمن.
- المجموعة الرابعة: استخدم حوضان يحتويان على محلول مائي لثنائي كلوريد الرصاص بتركيز 10ملغم/لتر للفترتين 15و30يوماً لدراسة التأثير المزمن.
  - المجموعة الخامسة: السيطرة الـ Control تحتوى على ماء منزوع الكلور.

تم وضع في كل حوض زجاجي حوالي 35سمكة متساوية في الحجم تقريباً، مع كتابة التركيز وتاريخ بدء التجربة على جدار الحوض ليتم احتساب الفترة الزمنية اللازمة لكل تجربة.

## • تحضير شرائح الدم Preparation of Blood Smear

حضرت شرائح الدم، بأخذ قطرة من دم السمكة وذلك بعد قطع منطقة الزعنفة الذيلية باستخدام شفرة حادة، حيث تفرش قطرة الدم على شريحة زجاجية نظيفة وجافة، ومن ثم تصبغ بصبغة ليشمان Leishman Stain [6].

Altay international فُحِصت الشرائح بإستخدام المجهر الضوئي المركب نوع Digital camera باستخدام العدسة الزيتية ومن ثم صُورِت باستخدام كاميرا رقمية MDCE-5A نوع MDCE-5A.

### • التحليل الإحصائي Statical Analysis

استخدم البرنامج Graph pad prism 5 التحليل البيانات إحصائياً، قورن الوسط الحسابي باستخدام برنامج ANOVA One Way عن طريق تحليل التباين الخطي الخطي Analysis of variance للمتغيرات في المكونات قيد الدراسة لكل مجموعة على حدة، فضلاً عن مجموعة السيطرة، باستخدام اختبار (Tukey) عند مستوى معنوية (p<0.05) للمقارنة بين تأثير الرصاص في الأعضاء قيد الدراسة ضمن فترات التعريض المختلفة، وقد وضعت الحروف في الجداول للدلالة على الفروقات المعنوية[7].

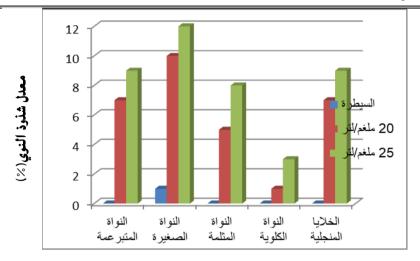
## • النتائج والمناقشة Results and Discussion

أوضحت نتائج دراسة التأثير الحاد ولكلا التركيزين 20و25ملغم/لتر حدوث ارتفاع معنوي في معدل نسبة شذوذ النوى مقارنة مع مجموعة السيطرة وكما موضح في الجدول رقم (١) والشكل رقم (١).

الجدول (\) معدل النسبة المئوية لشذوذ النوى في دم أسماك البعوض المعاملة 20ميزي20و25ملغم/لتر من ثنائي كلوريد الرصاص في فترة التأثير الحاد

التركيز	السيطرة	20ملغم/لتر	25ملغم/لتر
المحيد	معدل ±	معدل ±	معدل ±
اشكال الأنوية	الإنحراف	الإنحراف	الإنحراف
	المعياري	المعياري	المعياري
النواة المتبرعمة الشكل %(NB)	0.00	1±7.0	2.0±9
	А	bc	С
النواة الصغيرة %(MN)	0.1±1.0	3.0±10.0	3.7±12.0
	а	bc	С
(N)0/ * 4 u * 4	0.0	1.3±5.0	2.5± 8.0
النواة المثلمة %(N)	а	bc	В
النواة الكلوية %(KN)	0.00	0.1±1.0	1.0±3.0
	а	ab	С
النواة الجانبية في الخلايا المنجلية	0.0	0 .1±7.0	0.2±9.0
(LN) in (SK)%	а	bc	С

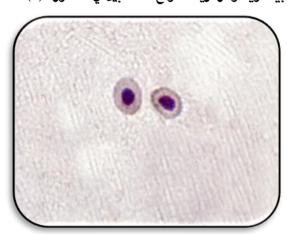
 $<sup>(</sup>P \le 0.05)$  عند مستوى احتمالية على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية  $^*$  الأرقام المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى  $^*$  والعكس صحيح.



الشكل (١)

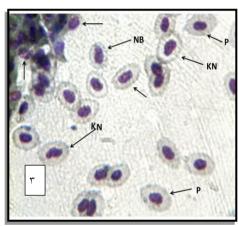
معدل النسبة المئوية لشذوذ النوى في دم أسماك البعوض المعاملة بتركيزي 20 و25ملغم/لتر معدل النسبة المئوية لشذوذ النوى في فترة التأثير الحاد

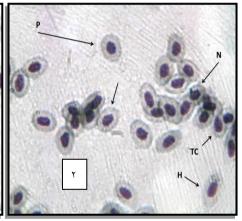
تبين أثناء الفحص المجهري لكريات الدم الحمر في مجموعة السيطرة بيضوية الشكل وذات نواة بيضوية ومركزية الموقع كما مبين في الصورة (١).



الصورة (١) كريات الدم الحمر في الدم المحيطي لسمكة البعوض في مجموعة السيطرة يبين انها بيضوية الشكل وذات نواة بيضوية ومركزية الموقع

اظهرت الصورة (٢) التغيرات المبينة في كريات الدم الحمر من خلال الفحص المحهري لمسحة الدم للأسماك المعاملة بتركيز 20ملغم/ لتر، النواة المثلمة Notched، الخلايا الدمعية الشكل Tear cell، خلايا دم متحللة Hemolyzed cells، خلايا هرمية الشكل Pyramid shape cells، تحلل الكروماتين، في حين أن التغيرات الملاحظة في دم الأسماك المعاملة بتركيز 25ملغم/ لتر شملت النواة الكلوى Kidney shape nucleus، النواة المتبرعمة Nuclear bud، النواة الهرمية الشكل وبتحلل الكروماتين كما ميين في الصورة (٣).





الصورة (٣) الصورة (٢)

كريات الدم الحمر في الدم المحيطي لسمكة كريات الدم الحمر في الدم المحيطي لسمكة البعوض المعاملة بكلوريد الرصاص، بتركيز البعوض المعاملة بكلوريد الرصاص، بتركيز 20ملغم/لتر، فترة التعرض 96ساعة. تلاحظ 25ملغم/لتر، فترة التعرض 24ساعة. تلاحظ النواة المثلمة N، الخلايا الدمعية الصورة النواة الكلوية KN، النواة المتبرعمة NB، TC، خلايا دم متحللة H، خلايا هرمية النواة الهرمية الصورة P، تحلل الكروماتين (السبهم).

الصورة P، تحلل الكروماتين (السهم).

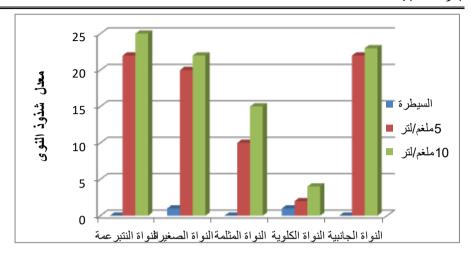
كما وجد عند معاملة الأسماك بالتركيزين 20 و25ملغم/لتر في فترة التأثير الحاد أن أعلى نسبة مئوية لشذوذ النوى تمثلت في شكل النواة الصغيرة لمعدل (3.7) للتركيز الثاني مقارنة مع السيطرة. وأما من حيث مجمل التجربة. فقد لوحظ وجود اختلاف معنوي في المجموع الكلي لشذوذ النوى بين التركيزين، ووجد أن أعلى نسبة مئوية له في التركيز الثاني كما موضح في الجدول (1).

كما لوحظ في الجدول (٢) والشكل (٢) حدوث ارتفاع معنوي في معدل نسبة شذوذ النوى عند معاملتها بكلا التركيزين 5 و10ملغم/لتر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

الجدول  $(\mathsf{Y})$ معدل النسبة المئوية لشذوذ النوى في دم أسماك البعوض المعاملة بتركيزي 5 و5ملغم/لتر ثنائى كلوريد الرصاص في فترة التأثير المزمن

التركيز	السيطرة	5ملغم/ لتر	10ملغم/ ئتر
	معدل ± الإنحراف	معدل ± الإنحراف	معدل ± الإنحراف
اشكال الأنوية	المعياري	المعياري	المعياري
النواة المتبرعمة الشكل	0.00	1±22.0	2.0±25
(NB)%	а	В	С
النواة الصغيرة %(MN)	0.1±1.0	3.0±20	3.7±22
	А	Вс	С
النواة المثلمة %(N)	0.0	1±10	2.5±15.0
	А	Bc	С
النواة الكلوية الشكل%(KN)	0.00	0.1± 2.0	3.0±4.0
	а	Ab	С
النواة الجانبية في الخلايا	0.00	4.0±22.0	3.0±23
المنجلية %(LN) in (SK)	Α	Вс	С

 $<sup>(</sup>P \le 0.05)$  الأرقام المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية Tukey والعكس صحيح.

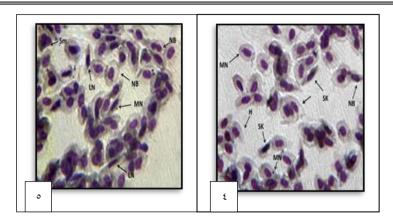


معدل النسبة المئوية لشذوذ النوى في دم أسماك البعوض المعاملة بتركيزي 5 و10ملغم/لتر ثنائي كلوريد الرصاص في فترة التأثير المزمن

الشكل (٢)

تضمنت التغيرات الملاحظة في خلايا الدم الحمر للأسماك المعاملة بالتركيز 5ملغم/لتر من ثنائي كلوريد الرصاص خلايا دم حمر متحللة، الخلايا المعجرة Smudge Cells، خلايا هرمية الشكل، النواة المثلمة، النواة الكلوية، النواة المتبرعمة، الخلايا المنجلية Sickle Cell، النواة الدقيقة Micronucleus، وتنظيم خلايا الدم الحمر بشكل نضائد Rouleaux Formation كما مبين في الصورة (٤).

في حين شملت التغيرات الملاحظة في دم الأسماك المعاملة بالتركيز الثاني 10ملغم/لتر من ثنائي كلوريد الرصاص النواة المتبرعمة، النواة الدقيقة، الخلايا المعجرة، والنواة الجانبية Lateral Nucleus كما مبين في الصورة (٥).



الصورة (٥) الصورة (٤)

كريات الدم الحمر في الدم المحيطى كريات الدم الحمر في الدم المحيطى لسمكة لمدة 30يوماً.

لسمكة البعوض المعاملة بتركيز 5ملغم/لتر البعوض المعاملة بتركيز 10ملغم/لتر من من ثنائى كلوريد الرصاص في فترة ثنائي كلوريد الرصاص في فترة التعرض التعرض لمدة 30يوماً.

تلاحظ النواة الدقيقة MN، الخلايا تلاحظ النواة الجانبية LN، النواة الدقيقة المنجلية الصورة SK، النواة المتبرعمة MN، النواة المتبرعمة NB، الخلايا NB، الخلايا المتحللة H تنظيم خلايا المعجرة SM. الدم الحمر بشكل نضائد (السهم).

كما وجد عند معاملة الأسماك بتركيزين 5 و10ملغم/لتر في فترة التأثير المزمن أن أعلى نسبة مئوية للشذوذ النوى، لوحظت في الخلايا المتبرعمة الشكل، إذ بلغت نسبتها بمعدل (25±2.0) للتركيز الثاني. وأما من حيث مجمل التجربة. فقد لوحظ وجود اختلاف معنوي في المجموع الكلى لشذوذ النوى بين التركيزين، ووجد أن أعلى نسبة مئوية في التركيز الثاني كما مبين في الجدول (٢).

تتفق نتائج الدراسة مع ما توصل اليه Hamed واخرون 2019 عند تعريض أسماك Clarias Gariepinus لنترات الرصاص في الفترتين 14 و30يوماً، إذ أدى إلى زيادة التغير في شكل خلايا الدم الحمر Poikilocytosis وازدياد نسبة شذوذ النوى والتي شملت النواة الصغيرة والخلايا المتحللة Hemolyzed Cells والخلايا المنجلية Sickle Cells وخلايا الدم بشكل القطرة (دمعة) Tear like drop والخلايا ذات الفجوات Vacuolated Cells والخلايا المنشقة Schistocytosis بازدياد فترة التعرض[8]. كما تتفق مع ما توصلا اليه Alimba & Laide 2019 إلى أن تأثير السمية الجينية للكادميوم والرصاص والمنغنيز بصورة مفردة أو خليط في خلايا الدم الحمر لأسماك السلور Clarias gariepinus ادت إلى حدوث خلل جينى وزيادة العيوب وتشوهات النوى Nuclei Abnormal (NAs) وظهور النواة الصغيرة في خلايا الدم الحمر[9]. كما تتفق مع ما توصلت اليه نتائج احدى الدراسات عند معاملة أسماك Gambusia Holbrooki بتراكيز مختلفة من كلوريد الكادميوم في فترتى التأثير الحاد والمزمن، أدى إلى حدوث العديد من الأشكال المرضية لكريات الدم الحمر والتي شملت شكل النواة الهلالي Crescent shape الخلايا المعجرة، النواة المثلمة، النواة الحلقية الشكل Ring Shape، المتبرعمة، النواة الكلوية الشكل، النواة الدقيقة، تفجى السايتوبلازم، النواة الجانبية ، تغلظ الأنوية وتكثف الكروماتين، وتحلل كريات الدم الحمر وتنكسها [10].

يعد الرصاص عاملاً مطفراً لخلايا الدم، إذ يسبب اختلالاً في المتغيرات الكيموحيوية للدم في الأسماك[11] يمكن ملاحظة حالة الإجهاد للأسماك من خلال تشوهات النوى وخاصة شكل النوية في كريات الدم الحمر[12]، إذ يمتلك الرصاص انجذاباً عالياً لكريات الدم الحمر إذ يثبط إنزيم الفا —حامض امين ليفيولينك ديهيدريتين المجذاباً عالياً لكريات الدم الحمر إذ يثبط إنزيم الفا —حامض امين ليفيولينك ديهيدريتين المجاه عالياً لكريات الدم الحمر إذ يتبط إنزيم الفا —حامض امين ليفيولنيك يساهم في الكوين الهيم[13]، والذي يتركب من جزيئتين مختلفين دلتا —حامض امين ليفيولنيك المجاه Delta aminlevulinic acid(ALA)

يحتاج الخارصين كعامل مساعد ولأنه غنى بمجاميع السلفاهيدريل Sulphdryl فإنه يظهر إلفة مع المعادن الأخرى التي سوف تحل محل الخارصين في المواقع النشطة الجزيئية والتى ينتج عنها تراكيب جزيئية متطابقة لكن تؤدى وظائف غير صحيحة وبالتالى تثبيط فعالية انزيم ALA [14]. والذي يرتبط مع ارتفاع حامض ALA التي تؤدي إلى إنتاج أصناف الأوكسجين الفعالة ROS [15]، كما يسبب التعرض للرصاص في ضرر بالحامض النووى الرايبوزى منقوص الاوكسجين DNA [16]. ويمكن تفسير ذلك بأنه بثبط الإنزيمات المنظمة لتضاعف Replication اله DNA الم وإنزيمات إصلاحه Repair، وإعادة التركيب Recombination، وتعدّ العامل المطفر Mutagenic ومكسراً للصيغيات Clastogenic]، يمكن أن تنشأ تشوهات النوى لكريات الدم الحمر أثناء عملية تكرار الحامض النووي[18] إذ يرتبط الرصاص مباشرة بالحامض النووي[19]. تحفز أملاح الرصاص تكون النوى الدقيقة عن طريق الإخلال في وظيفة النبيبات الدقيقة Microtubule]. تحدث النواة الدقيقة عندما بفشل كروموسوم كامل أو جزء من الكروموسوم في الهجرة مع واحد من نواتى الدم المتكونتين أثناء الانقسام الخيطي Mitosis [21] وتعرف بأنها كتلة صغيرة من الكروماتين الخلوي موجودة خارج النواة الرئيسية والتي يمكن أن تنشأ إما عن كسر الكروموسومات أو خلل في خيوط المغزل أثناء الانقسام[22] وقد تحدث بسبب وجود خلل في الكروموسومات أو تضخم الحامض النووى أثناء عملية تكوين الدم[23] وقد أقترح أن الخلل أو المشاكل في فصل الكروموسومات المتشابكة وتضخم الجينات أو الحامض النووي يمكن أن يسبب تكوين النواة المفصصة وتحث عملية التبرعم للنواة خلال مرحلة الطور البنائي Synthesis phase (S Phase) من الانقسام الخلوى والتي تتميز بامتلاكها نفس شكل النواة الصغيرة باستثناء أنها متصلة بساق ضيق أو واسع من مادة البلازم النووي[24]. ولقد ارتبطت تكون النوى ذات الفجوات Vacuolated Nucleiمع الإصابات الخلوية الناجمة عن اختلال صيغة الصبغيات Aneuploidy والتي تكون قادرة على حث الموت الخلوى المبرمج Apoptosis والتنخر[25]. كما تعد حالة تحلل الدم Hemolysis النتيجة النهائية لبيروكسيدة الدهون (الاكسدة الفوقية للدهون) Lipid peroxidation والتي تولده ROS في اغشية كريات الدم الحمر وفي جميع الأغشية الخلوية، فالرصاص يرتبط مباشرة مع الدهون المفسفرة Phospholipids للاغشية وخاصة مع Phosphatidylcholine ويحد من مستوياتها في اغشية هذه الكريات[26].

## الاستنتاجات Conclusion

يستنتج من الدراسة الحالية أن للرصاص تأثيراً ضاراً في خلايا الكائنات الحية حتى في التراكيز تحت القاتلة . وإن التعرض الحاد والمزمن للرصاص تسبب في إحداث العديد من شذوذ النوى المختلفة لخلايا الدم الحمر في دم أسماك البعوض تمثلت بالنواة الدقيقة، النواة المتبرعمة، النواة المنجلية، النواة المثلمة والنواة الكلوية.

#### المصادر

- [1] Larsson, A.; Haux, C.; Sjobeck, M. L. and Lithner, G. (1984) Physiological effects of an additional stressor on fish exposed to a Simulated heavy metal-Containing effluent from a Sulfide ore smeltery. **Ecotoxicology Environmental Safety**. 8 (2):118-128.
- [2] Wu, X.; Chen, S.; Guo, J. and Gao, G. (2018) Effect of air pollution on the stock yield of heavy pollution enterprises in China's key control cities. **Journal of Cleaner Production**, 170: 399–406.
- [3] Blanco, S.; Romo, S. and Villena, M. J. (2004) Experimented study on the diet of mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) under different ecological conditions in shallow lake. **International Review of Hydrobiology**, 89: 250-262.
- [4] Adakole, J. A. (2012) Changes in some haematological parameters of the African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to a metal finishing company effluent. **Indian Journal of Science and Technology**, 5 (4): 2510–2514.
- [5] Mitchelmore, C. L. and Chipman, J. K. (1998), DNA strand breakage in aquatic organisms and the potential value of the comet assay in environmental monitoring. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, 399 (2):135-147.
- [6] Culling, CF.; Allison, RT. and Barr, WT. (1985). Cellular Pathology Technique. 4th ed. New York: Butterworth 5. 642 p. Doi: 10.1016/C2013-0-06260-3.
- [7] Steel, R. G. and Torri, J. H. (1980). "Principle and procedures of statistics". 2<sup>nd</sup> ed., McGraw-Hill Company, Inc. London. P. P. 38-41.
  - https://www.statista.com/statistics/264872/worldproduction-of-lead-metal/
- [8] Hamed,M.; Soliman,H. M. and Sayed,A. E. H. (2019) Ameliorative effect of Spirulina platensis against lead nitrate induced cytotoxicity and genotoxicity in catfish *Clarias*

١٢٥

gariepinus. Environmental Science and Pollution Research, 26:20610–20618. doi.org/10.1007/s11356-019-05319-3

- [9] Alimba, c. G. and Laide, A. W. (2019) Genotoxic and cytotoxic assessment of individual and composite mixture of cadmium, lead and manganese in *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) using, Nucleus. https://doi.org/10.1007/s13237-019-00289-w
- [10] Al-Khashab, Amal Abdul-Ilah Younes (2017) Physiological and histopathological effects in some members of the *Gambusis holbrooki* mosquito exposed to cadmium chloride. PhD thesis, published, College of Education for Pure Sciences University of Mosul.
- [11] Sayed, A.H. and Soliman, H.A. (2017) Developmental toxicity and DNA damaging properties of silver nanoparticles in the catfish (*Clarias gariepinus*). **Mutation Research/Genetic Toxicology Environmental Mutagensis**, 822:34–40.
- [12] Nnamdi, A. H.; Olumide, A. A.; Adeladun, A. E.; Oyenike, K. and Rosemary, E. I. (2015) The use of antioxidative stress enzymes, lipid peroxidation, and red blood cell abnormalities as biomarkers of stress *in Periphthalmus papilio* of the polluted coastal Lagos lagoon. **Environmental Monitoring Assessment**, 187 (103):1-11. DOI 10.1007/s10661-015-4331-y
- [13] Costa, J. R. M.A.; Mela, M.; de Assis, H. C. D. S.; Pelletier, E.; Randi, M. A. F. and Ribero, C. A. D. O. (2007). Enzymatic inhibition and morphological changes in *Hoplias malabaricus* from dietary exposure to lead (II) or methylmercury. **Ecotoxicology and Environmental Safety.**, 67:82-88.
- [14] Fernandez, B.; Martínez-Gómez, C.and Benedicto, J. (2015) Delta aminolevulinic acid dehydratase activaty (ALA-D) in red mullet (*Mullus barbatus*) from Mediterranean waters as biomarker of lead exposure. **Ecotoxicology Environmental safety**, 115: 209-216.

- [15] Ademuyiwa,O.; Ugbaja, R.; Ojo, D.; Owoigbe, A. and Adeokun, S. (2005), Reversal of aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) inhibition and reduction of erythrocyte protoporphyrin levels by vitamin C in occupational lead exposure in Abeokuta, Nigeria. Environmental Toxicology and Pharmacology., 20 (3): 404–11..
- [16] Monteiro, V.; Cavalcante, D. G. S. M.; Vilela, M. B. F. A.; Sofia, S. H. and Martinez, C. B. R. (2011). In vivo and vitro exposures for the evalution of the genotoxic effects of lead on the Neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*. Aquatic Toxicology, 104:291-298.
- [17] Bhilave, M.P. and Muley, D.V. (2008), Biochemical changes in the fish *Cirrhinus mrigala* after acute and chronic exposure of heavy metals, **Nature Environmental & Pollution Technology**, 7.
- [18] Gomes, J. M. M.; Ribeiro, H. J.; Procópio, M. S.; Alvarenga, B. M.; Castro, A. C. S.; Dutra, W. O., Silva, J. B. and Junior, J. D. C. (2015). What the erythrocytic nuclear alteration frequencies could tell us about genotoxicity and macrophage iron storage?, **PLOS ONE**., 10 (11): e0143029.
- [19] Hong,F.; Wu,C.; Liu,C.; Wang,L.; Gao,F.; Yang, F.; Xu, J.; Liu,T.; Xie, Y. and Li, X. (2007). Direct evidence for interaction between lead ions and kidney DNA from *silver crucian* Carp. **Chemosphere**, 68: 1442-1446.
- [20] Bonacker, D; Stoiber, T.; Bohm, K.J.; Prots, I.; Wang, M.; Unger, E.; Thier, R.; Bolt, H.M. and Degen, G.H. (2005) Genotoxicity of inorganic lead salts and disturbance of microtubule function. **Environmental Molecular Mutagenesis**, 45:346–353.
- [21] Udroiu, I. (2006), The micronucleus test in piscine erythrocytes. **Aquatic Toxicology**, 79: 201–204.
- [22] Winter, M. J.; Ellis, L. C. J. and Hutchinson, T. H. (2007). Formation of micronuclei in erythrocytes of the fathead

minnow (*Pimephales promelas*)after acute treatment with mitommycin C or cyclophosphamide.**Mutation Research**..629:89-99.

- [23] Poblete-Naredo, I. and Albores, A. (2016), Molecular biomarkers to assess health risks due to environmental contaminants exposure. **Biomedica**, 36: 309–335.
- [24] Fenech, M. and Crott, J.W. (2002), Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes evidence for breakage-fusion –bridge cycles in the Cytokinesis block micronucleus assay. **Mutation Research**, 504 (1-2): 131-136.
- [25] Fulda, S.; Gorman, A.M.; Hori, O. and Samali, A. (2010), Cellular stress responses: cell survival and cell death. **International Journal of Cell Biology**, ID214074:1–23.
- [26] Carocci, A.; Catalano, A.; Lauria, G.; Sinicropi, M. S. and Genchi, G. (2016), Lead Toxicity, Antioxidant Defense and Environment, **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, DOI 10.1007/398\_2015\_5003.