تأثير أستخدام مصادر ومستويات مختلفة من أوميكا–3 وأوميكا–6 (PUFA) في بعض الصفات النسجية لصغار أسماك الكارب الشائع Cyprinus carpoi L.

مهند حباس الأشعب * سعيد عبدالسادة الشاوي ** بشرى أبراهيم القيسي

وزارة العلوم والتكنولوجيا/ دائرة البحوث الزراعية / مركز الثروة الحيوانية والسمكية/ بغداد – العراق

*جامعة بغداد / كلية الزراعة / جامعة بغداد / كلية الطب البيطري / بغداد – العراق

ffffff**جامعة بغداد / كلية الطب البيطري ، بغداد – العراق

الخلاصة

أجريت ثلاث تجارب لمعرفة تأثير مصادر ومستويات مختلفة من أوميكا–3 وأوميكا–6 في علائق الاسماك على بعض الصفات النسجية لأسماك الكارب الشائع .Cyprinus carpoi L

الأولى: أضافة مستويات مختلفة من زيت زهرة الشمس (0 و0.5 و1 و1.5 و2% في العلائق 1–5) وزيت الذرة (نفس المستويات في العلائق 6–9).

الثانية: أضافة مستويات مختلفة من زيت السمك (0 و0.5 و1 و 1.5 و 2% في العلائق 1–5) وزيت الكتان (بنفس المستويات في العلائق 6–9) .

الثالثة أضافة مستويات مختلفة من خليط 1 (1.5 زيت الذرة:1 زيت السمك) وخليط 2 (1.5 زيت الذرة:1 زيت الكتان). أظهرَ الفحص العيني عدم وجود تغييرات مرضية عيانية واضحة على أكباد الاسماك المتغذية على مصادر ومستويات مختلفة من أوميكا–3 وأوميكا–6 بشكل عام من حيث الحجم واللون والتجانس الصبغي للكبد معَ عدم وجود أعراض مرضية عيانية ذات أهمية تُذكر فضلاً عن ظهور بعض التغييرات الدهنية التي لم يكن لها تأثير ملحوظ على الخلايا الكبدية معَ وجود بعض الخلايا اللمفية في أكباد الأسماك المتغذية التي تُعَد مؤشراً على تحفيز الجهاز المناعي في الجسم فضلاً عن ظهور أرتِشاحات خفيفة وظهور احتقان خفيف في الأوردة المركزية للكبد. وظهرت تغييرات تنكسيه خلوية حادة في أكباد الأسماك قبل التجربة مع ارتشاح في الخلايا، وتغييرات تنكسية خلوية حادة ونزف في أكباد أسماك المعاملة العليقة التجارية بدون زيت. أن التراكيز العالية للزيوت (2%) تُسبب ظهور التغييرات الدهنية الحادة والتنكس الحاد التي تُعَدْ بداية لتلف في نسيج الكبد وقد تؤثر سلباً على كفاءة الكبد.

الكلمات المفتاحية: أوميكا–3 وأوميكا–6، الصفات النسجية أسماك الكارب الشائع

The Effect of Different Sources and Levels of Omega-3 and Omega-6 on Some Histological Characteristics of Young Common Carp *Cyprinus carpoi* L.

Mohannad Habbas Alashaab Saad Abdulsaddah A-Shawi* Bushra Abrahem Al-Kaisie**

Ministry of Science and Technology Ministry/ Agricultural Researchers Directorate/ Animal Prodaction and Fishers Center, Baghdad

***College of Agriculture Universityof Baghdad**

**** College of Veterinary medicine / University of Baghdad**

Baghdad - Iraq

Email.m_al_ashaab@yahoo.com

Abstract

Three experiments carried out to study the effect of using various types and levels of omega-3 and omega-6 on histological characteristic of common carp *Cyprinus carpio* L.

(1) Adding various levels of sunflower oil (SO) and corn oil (CO) as omega-6 sources in the diets. Sunflower oil was added at levels of 0, 0.5, 1, 1.5 and 2% in the 1-5 diets and corn oil at the same levels in the 6-9 dites.

(2) Adding various levels of fish oil and linseed oil in diets as omega-3 sources. Fish oil (FO) was added at levels of 0, 0.5, 1, 1.5 and 2% in 1-5 diets and linseed oil (LO) at same levels in the 6-9 dites.

(3) Adding various mixture levels of oil mixture 1 (1.5% CO + 1% FO) and oil mixture 2 (1.5% CO + 1% LO) in fish diet as mixture of omega-3 and omega-6 sources respectively. The grossly exploration of the livers of the experimental fish which fed on different sources and levels of omega-3 and omega-6 declared no ocular morbidity changs in the size, color and pigment sympathy and there were no morbidity or infirmity bane or lesion had significantly seen, and some fatty change noticed with no effect on the liver cells. Microscopically some lymphocytes cells have seen in the livers of the fishes fed ω-3 and ω-6 diet which indicate the promotion of the immune system in the body. Besides mild Congestion of central veins with mild infiltration of lymphocytes were noticed. There was acute cellular degeneration with mild Congestion in the liver cells of fish experiment. Acute cellular degeneration and bleed in the liver of treatment commercial diet without oil was appear highest levels of oils (2%) cause in this study acute fatty change acute cellular degeneration which beginning of hepatitis.

Keywords: Omega-3 and Omega-6, Histological Characteristics and Common Carp fish

المقدمة

أهتم الباحثون بالإضافات الغذائية في علائق الأسماك لتسهم في زيادة قيمتها الغذائية مما ينعكس إيجاباً في دعم معدلات النمو وتحويل وكفاءة الغذاء وكفاءة ترسيب البروتين وتحسين معامل هضم العليقة فضلاً عن تقليل الهلاكات ومقاومة الأمراض (الأشعب، 2013). أنُ أستخدام الإضافات الغذائية في علائق الأسماك دون أسُس علمية قد تسبب بعض الحالات المرضية والأجهاد الغذائي، فلا بد من إجراء دراسات نسجية Histological Studies لأهميتها من الناحيتين النظرية والتطبيقية لأنها تُعدْ الأساس لفهم الوضع الحياتي والنسجي والطبيعي والمرضي للأسماك ولاسيما عند إستخدام مصادر ومستويات زيتية مختلفة في العلائق والتي قد تترك آثاراً فسيولوجية مرضية على الأسماك

(Bell وزملاءه، 2003؛ Caballero وزملاءه، 2004)، وهذه قد تؤثر بصورة مباشرة على أنسجة الأسماك. يهدف البحث إلى أجراء فحوصات نسجية على أكباد صغار أسماك الكارب الشائع Cyprinus carpio المتغذية على مصادر ومستويات مختلفة من أوميكا-6 و وأوميكا-3.

المواد وطرائق العمل

أسماك التجربة والعلائق المختبرية المصنعة

استعملت في الدراسة صغار أسماك الكارب الشائع Cyprinus carpoi L. والتي أجريت في مختبر الاسماك للدراسات العليا في كلية الزراعة-جامعة بغداد، جُلبت من أحد المزارع الأهلية في منطقة المحاويل، أُقلِمتْ الأسماك في ظروف المختبر لمدة 15-20 يوماً قبل بدء التجارب في أحواض كبيرة سعة 2.5 م^3 مجهزة بالأوكسجين. أجريت ثلاث تجارب مختبرية وهيَ:

التجربة الأولى:

أُجريت التجربة لمدة 84 يوماً في 18 حوضاً زجاجياً ذات أبعاد 40 ×30 ×70سم وبسعة 70 لتر ماء وزِعت بها عشوائياً 144 سمكة كارب شائع (12.24 ±1.04غم/سمكة) وبواقع مكررين لكل معاملة و8 أسماك/مكرر وبتسعٍ معاملات تجريبية ذات محتوى من البروتينِ (30.51%-31.82%) وطاقة (1456.7 - 1478.3 كيلو/سعرة) كما يلي:

العليقة الأولى بدون إضافة الزيوت لها والعلائق من الثانية إلى الخامسة أُضيفَ إليها زيت زهرة الشمس بنسب 0.5 و1 و1.5 و2% على التوالي، والعلائق من السادسة إلى التاسعة استخدم فيها زيت الذرة بالنسب السابقة نفسها ، وهذين الزيتين يعدان نباتين مختلفين من أوميكا-6.

التجربة الثانية:

وزِعت 144 سمكة كارب شائع (9.6±1.2 غم/سمكة) عشوائياً على تسعٍ معاملات تجريبية وبواقع مكررين لكل معاملة و 8 أسماك/مكرر، واستخدمَ 18 حوضاً زجاجياً ذات قياس 40×30×70سم ذو سعة 70 لتر ماء، غُذيت أسماك التجربة لمدة 84 يوماً على تسعٍ معاملات تجريبية ذات محتوى من البروتينِ (30.72%-32.36%) وطاقة (1445.95-1473.1 كيلو/ سعرة) كما يلي:

العليقة الأولى بدون إضافة الزيوت لها والعلائق من الثانية إلى الخامسة أُضيفَ إليها زيت السمك بنسب 0.5 و 1 و 1.5 و 2% على التوالي والعلائق من السادسة إلى التاسعة استخدم فيها زيت الكتان بالنسب السابقة نفسها، وهذين الزيتين يعدان مصدرين مختلفين (حيواني ونباتي) من أوميكا-3.

التجربة الثالثة:

استخُدِمَ توازن من أوميكا-6 و أوميكا-3 بالإعتماد على نتائج التجربتين الأولى والثانية، أُستخُدِمت فيها 160سمكة كارب شائع (22غم/سمكة) ووزعت عشوائياً على 20 حوضاً زجاجياً ذات قياس 40×30×70سم وسعة 70 لتر ماء. غُذيت أسماك التجربة لمدة 78 يوماً على المعاملات التجريبية ذات محتوى من البروتينِ 29.88% للعليقة القياسية و10.73% للعليقة التجارية وطاقة (1335.1-1478.9كيلو/ سعرة)، صنعت مختبرياً عشرة علائق

تجريبية وبواقع مكررين لكل معاملة و8 أسماك/مكرر وكما يلي:

أ. العليقة الأولى بدون إضافة الزيوت لها.

ب. العليقة الثانية 1% خليط زيت 1 يتكون من (1.5 زيت الذرة: 1 زيت السمك).

ت. العليقة الثالثة 1.5% خليط زيت 1 يتكون من (1.5 زيت الذرة: 1 زيت السمك).

ث. العليقة الرابعة 1% خليط زيت 2 يتكون من (1.5 زيت الذرة: 1 زيت الكتان).

ج. العليقة الخامسة 1.5% خليط زيت 2 يتكون من (1.5 زيت الذرة: 1 زيت الكتان).

ح. العليقة السادسة (تجارية) بدون إضافة الزيوت لها. واستخدمت نفس نسب إضافة الزيت الممزوج أعلاه في العليقة التجارية في العلائق الأربع الأخيرة (العلائق 7 و8 و9 و10) على التوالي.

التقانة النسيجية Histological Technique

أُخذت نماذج الكبد من أسماك التجربة ثم طبقت عليها التقانة النسيجية التي ذكرها كلٍ من (Luna، 1968 و Preece، 1959) لغرض الحصول على مقاطع نسيجية للكبد والتي أُجرِيت في مختبر التقانات النسيجية للدراسات العليا التابع لقسم الثروة الحيوانية-كلية الزراعة-جامعة بغداد وأجري تصويرها في كلية الطب البيطري-جامعة بغداد، ومرت العينات بالمراحل الآتية:

1. التثبيت Fixation:

وضعت عينات الكبد المأخوذة من أسماك التجربة في محلول الفورمالين المتعادل بتركيز 10% لمدة 48 ساعة، ويرجع استعماله كمثبت للأسباب الآتية:

أ. قابلية نفوذه إلى داخل النسيج سريعة جدا.

ب. يحفظ هيكل النسيج وشكله ولونه ومركباته.

ت. يمكن حفظ النسيج فيه لمدة طويلة جداً ولسنوات عدة ولا يؤثر هذا في تركيب النسيج ونوعيته.

ث. يحافظ على مركبات الخلية وخاصة الدهون والزيوت ولا يذيبها.

ج. ليس هناك ضرورة لتحديد حجم النموذج لأن سرعة نفوذ الفورمالين تثبت النماذج من حجم (1 سم) وأكبر وحتى الأعضاء بكاملها أحيانا

2. غسل العينات Washing:

تغسل العينات بوضعها تحت الماء لمدة 6 ساعة. إنَ الهدفَ الأساسي من عملية غسل العينات بعد عملية التثبيت هو للتخلص من المثبت الزائد (الفورمالين) الموجود في داخل العينة الذي لم يمتزج مع الأنسجة بعد أن انتهت مهمته في التثبيت ولكي يهيئ العينة إلى إجراء العمليات التالية كذلك لكي يتم التخلص من الرواسب التي يخلفها المثبت.

3. انتزاع الماء Dehydration:

تتضمن العملية إمرار العينات في سلسلة من الكحولات متدرجة التركيز (70-80-90-100 و100%) ابتداء من التراكيز الواطئة إلى العالية ولساعتين في كل تركيز، وتكون الكحولات موضوعة في قناني ذات أغطية محكمة لمنع تبخر الكحول ومملوءة إلى ثلاثة أرباعها به. الغرض من العملية أعلاه هو انتزاع الماء من النسيج المثبت وإحلال الكحولات المختلفة التراكيز محله ولكي يتصلب النسيج ليتحمل العمليات اللاحقة.

4. الترويق Clearing:

يُستخدَمَ محلولان من الزايلول (1) و (2)، إذْ توضع العينات فيهِ لمدة لا تزيد عن 1-1.5 ساعة في كل قنينة من الزايلول لجعل النسيج شفافا ورائقا ليسمح بنفوذ حزمة الضوء المنبعث من مصباح المجهر لتسهيل عملية الفحص أولاً، ولإحلال محلول الزايلول يتفاعل مع المادة التي سيجري طمر النموذج فيها بدلا من الكحول المطلق الموجود في النسيج ثانيا.

5. التشبيع Inlitration:

تغمر العينات في حمامين من شمع البارافين وهما حمام البارافين رقم (1) لمدة 2 ساعة في فرن حراري بدرجة 57 مْ، حمام شمع البارافين رقم (2) لمدة 2 ساعة لغرض ارتشاح النسيج بالشمع وبدرجة حرارة 60 مْ.

6. الطمر والصب Embedding and Casting or Blocking:

وقعت العينات في قوالب الشمع النقي لتكون جاهزة للتقطيع بالمشراح الدوار Rotary microtome. تصب العينات في قوالب البارافين الذائب النقي وبصورة عمودية وتترك 24 ساعة ليتجمد البارافين. ويستعمل قوالب معدنية من ثلاث قطع تسمى L-shaped moulds وتتألف من قطعتين متشابهتين على شكل حرف L والثالثة هي القاعدة المعدنية التي تكون إما مربعة أو مدورة الشكل.

7. نحت القالب Trimming Block:

في حالة كون حجم القالب اكبر من الحجم المطلوب أي أن تكون كمية الشمع كثيرة حول العينة لذلك يكون من الضروري نحت القالب لتقليل حجمه باستخدام المشرط ليكون جاهز لتقطيعه بواسطة المشراح الدوار.

8. تقطيع القوالب:

تقطع القوالب Blocks بواسطة جهاز التقطيع النسيجي (المشراح الدوار) وتقطع الشرائح بسمك 5 مايكروميتر، تنقل كل شريحة إلى حمام مائي مثبت على درجة حرارة 52 م° لغرض إزالة التجعيدات الناتجة من القطع، تثبت بعد ذلك على شريحة زجاجية Slide حاوية على مسحة خفيفة من خليط زلال البيض والكليسيرين بنسبة (1:1) مضافا إليه قليل من بلورات الثايمول Thymol لمنع نمو الفطريات، تُجفف الشرائح بالفرن الحراري 54 م° ولمدة 24 ساعة، وتُصَبَغْ الشرائح بأحد الصبغات لإظهار التراكيب المختلفة الموجودة في نسيج نماذج الكبد (Lunna، 1968) وكما يلي:

أ. صبغة هارس هيماتوكسلين – ايوسين Harris Hematoxylin and Eosin Stain.

تستخدم هذهِ الصبغة لإظهار البنيان النسيجي العام للمقطع، الهيماتوكسلين بذاته لا يُعد مادة ملونة إنما مادة الهيماتين الموجودة فيه هي الملون الناتج من عملية تأكسد الهيماتوكسلين. وتُحَضر الصبغة بخلط 1 غم من مسحوق الهيماتوكسلين مع كحول بتركيز 95% (10 مللتر) والومينات الامونيا أو البوتاسيوم (20 غرام) وماء مقطر (200 مللتر).

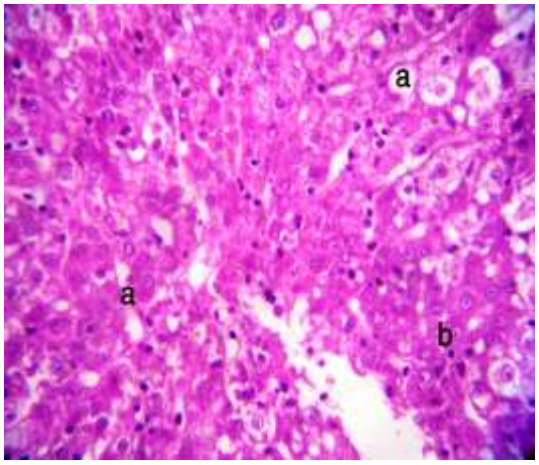
ب. صبغة الايوسين (Eosin)

وهي صبغة اصطناعية تذوب إما في الماء أو الكحول ولها صفات حامضية تلون سايتوبلازم الخلايا بلون وردي. وطريقة تحضير صبغة Eosin تتم بتحضير 5 غرامات من مسحوق الايوسين الى 95 مللتر ماء مقطر أو كحول مثيلي بتركيز 70% ثم تضاف بضع بلورات من الثايمول إلى المحلول لمنع نمو العفن، ويرشح السائل بعد ذلك ويحلل إلى تركيز 1% فقط ويستعمل في التلوين. المحلول قابل للحفظ مدة طويلة.

النتائج والمناقشة

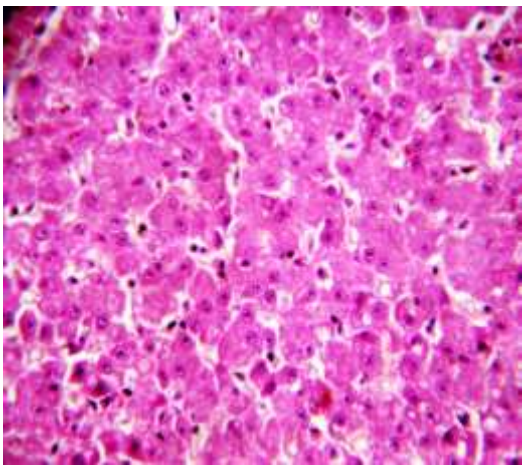
الفحوصات النسجية Histological

أظهرَ الفحص العياني عدم وجود تغييرات مرضية على أكباد أسماك التجارب بشكل عام من حيث الحجم واللون والتجانس الصبغي للكبد معَ عدم وجود أي آفات مرضية عيانية ذات أهمية تُذكر، ومن خِلال الفحص ألمجهري Microscopy في اللاكباد قبلَ جميع التجارب لوحظ ظهور تغييرات تنكسية خلوية حادة ووجود أرتشاح خفيف بالخلايا اللمفية (الشكل 1).



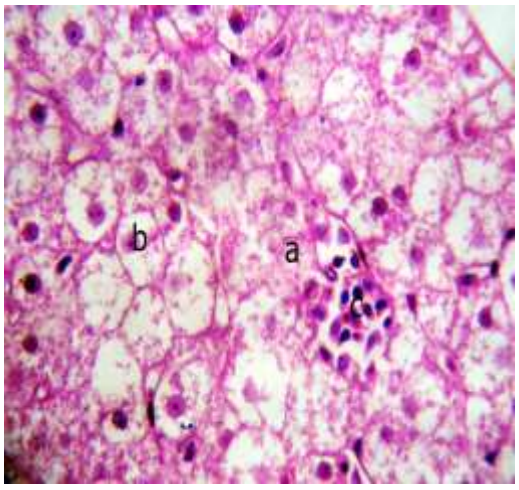
شكل (1) مقطع نسجي في كبد سمكة كارب شائع (قبل جميع التجارب)، a. تغييرات تنكسية خلوية حادة b. وجود أرتشاح خفيف بالخلايا اللمفية (صبغة H & E × 40)

المعاملة الأولى (بدون إضافة زيت) أوضحتْ عدم وجود تغييرات دهنية وعدم وجود تجمعات للخلايا اللمفية حول الأوعية الدموية وعدم وجود تنكس خلوي في الخلايا (الشكل 2).



شكل (2) مقطع نسجي في كبد سمكة كارب شائع (المعاملة الأولى بدون إضافة زيت) يُلاحظ عدم وجود تغييرات دهنية وعدم وجود تجمعات للخلايا اللمفية حول الأوعية الدموية وعدم وجود تنكس خلوي في الخلايا (صبغة H & E × 40)

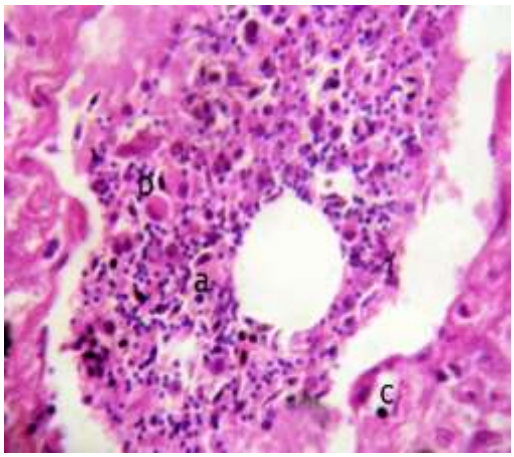
المعاملة الثالثة في التجربة الأولى (1% زيت زهرة الشمس) أظهرَ تنكس طفيف في الخلايا الكبدية مع تغييرات دهنية تتمثل بوجود الفجوات الدهنية و ظهور بؤرة لتجمعات الخلايا اللمفية (الشكل 3).



شكل (3) مقطع نسجي في كبد سمكة كارب شائع (1% زيت زهرة الشمس ω-6) a. تنكس خلوي في الخلايا الكبدية b. تغييرات دهنية تتمثل بوجود الفجوات الدهنية c. بؤرة لتجمعات الخلايا اللمفية (صبغة H & E × 40)

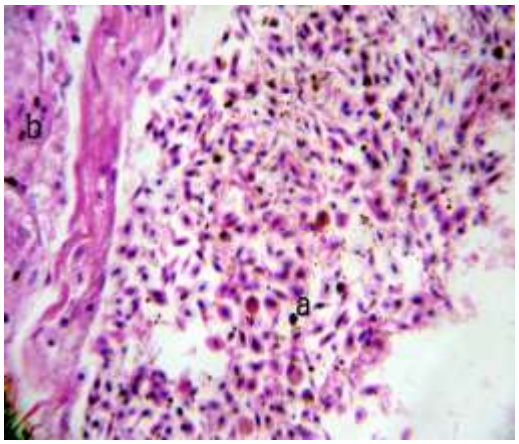
المعاملة الثامنة في التجربة الأولى (1.5% زيت الذرة) بينت ظهور احتقان طفيف في الأوردة المركزية مع تجمعات للخلايا اللمفية حولَ الأوردة في نسيج الكبد ويُعَد عاملاً محفزاً للجهاز المناعي، إما وجود الفجوات الدهنية فتعد من مراحل التنكس الخلوي

الحاد Acute Cellular Degeneration الذي يمكن إزالته بإزالة العامل المسبب (الشكل 4).



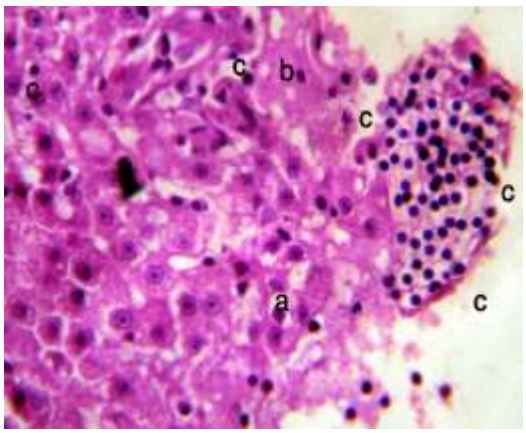
شكل (4) مقطع نسجي في كبد سمكة كارب شائع (1.5% زيت الذرة الصفراء ω-6) a. تجمعات الخلايا اللمفية حول الأوعية الدموية b. خلايا البلاعم الملتهمة للدهون c. تغييرات دهنية تتمثل بوجود الفجوات الدهنية، (صبغة H & E × 40)

المعاملة الثالثة في التجربة الثانية (1% زيت السمك) ظهَرَ احتقان خفيف في الأوردة المركزية للكبد وتنكس خلوي طفيف (الشكل 5).



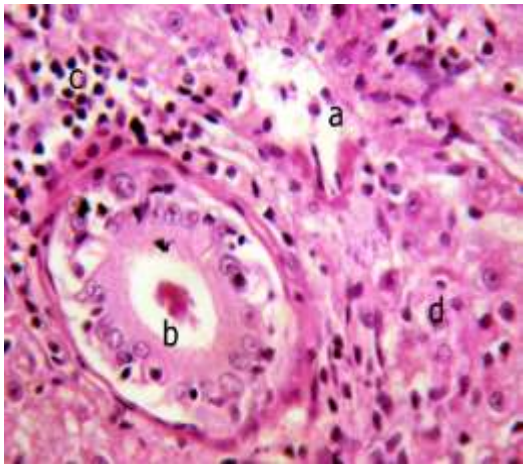
شكل (5) مقطع نسجي في كبد سمكة كارب شائع (1% زيت السمك ω-3) a. احتقان خفيف في الأوردة المركزية للكبد b. تنكس خلوي طفيف (صبغة H & E × 40)

المعاملة الخامسة في التجربة الثانية (2% زيت السمك) أظهرت تغييرات دهنية مع احتقانات بسيطة في الأوردة المركزية وتنكس خلوي وتجمعات للخلايا اللمفية (شكل 6).



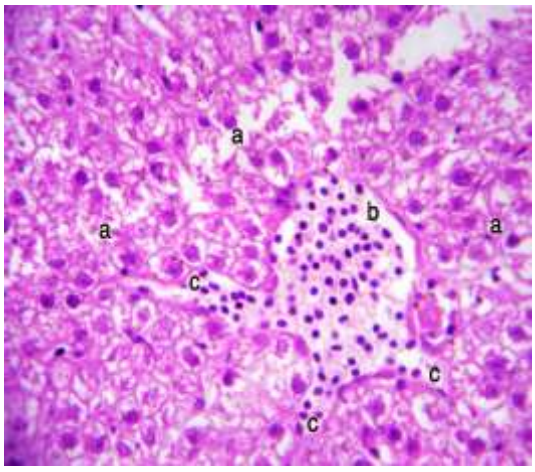
شكل (6) مقطع نسجي في كبد سمكة كارب شائع (2% زيت السمك ω-3) a. تغييرات دهنية طفيفة معَ احتقانات بسيطة في الأوردة لمركزية b. تنكس خلوي حاد c. تجمعات للخلايا اللمفية داخل النسيج الكبدي (صبغة H & E، × 40)

المعاملة الثامنة في التجربة الثانية (1.5% زيت الكتان) يلاحظ فجوات دهنية تدل على تغييرات دهنية مع احتقان خفيف في الأوردة المركزية و ظهور ارتشاحات للخلايا اللمفية وتجمعات للخلايا اللمفية داخل النسيج الكبدي (الشكل 7).



شكل (7) مقطع نسجي في كبد سمكة شائع (1.5% زيت الكتان ω-3) a. وجود فجوات دهنية كبيرة تدل على التغييرات الدهنية واضحة مع احتقان خفيف في الأورة المركزية b. ارتشاحات للخلايا اللمفية c. تجمعات للخلايا اللمفية داخل النسيج الكبدي d. تنكس خلوي (صبغة H & E × 40)

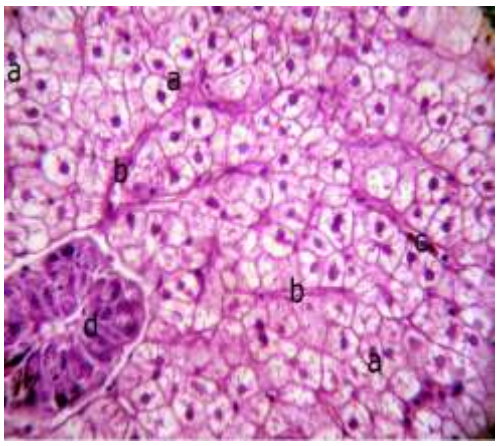
المعاملة السادسة في التجربة الثالثة (علیقة تجارية بدون زيت) لوحِظَ وجود صبغة بنية لامعة (الهيموسيدراين Haemosidrine) منتشرة في الخلايا دليل على وجود النزف الدموي الشديد مما تؤدي إلى انتشارها في نسيج الكبد أو قد يتم عملية بلعمتها من قبل الخلايا الالتهابية (البلاعم الكبيرة) Macrophages الذي يدل على شدة النزف وعدم استطاعة وكفاية أعداد البلاعم الكبيرة من التخلص من صبغة الهيموسيدراين التي قد تكون مسببة نخر Necrosis نسيج الكبد معَ وجود تثخن في جدار الأوعية الدموية وانعدام الجيبانيات وارتشاحات للخلايا اللمفية واحتقان خفيف في الأوردة مما يؤدي إلى بقائها على شكل صبغة بنية لامعة في نسيج الكبد (الشكل 8).



(شكل 8) مقطع نسجي في كبد سمكة كارب شائع (علیقة تجارية بدون زيت) وجود صبغة بنية لامعة وهيَ صبغة الهيموسدرين منتشرة في الخلايا دليل على وجود النزف a. وجود تثخن في جدار الأوعية الدموية b. انعدام الجيبانيات وارتشاحات للخلايا اللمفية c.احتقان خفيف في الأوردة الكبدية (صبغة H & E × 40)

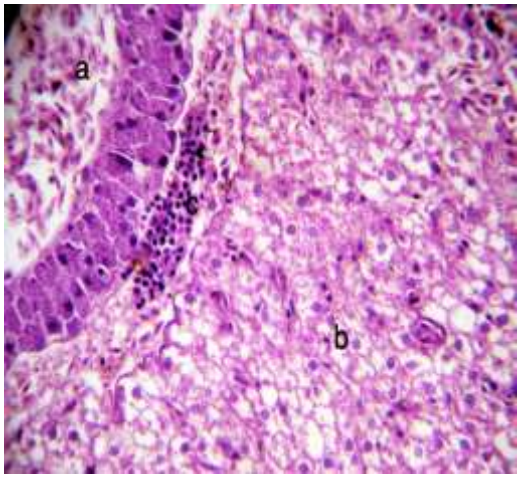
المعاملة التاسعة في التجربة الثانية

(2% زيت الكتان 3–ω) ظهور تغييرات دهنية انعدام الجيبانيات وارتشاحات للخلايا اللمفية واحتقان خفيف في الأوردة (شكل 9) .



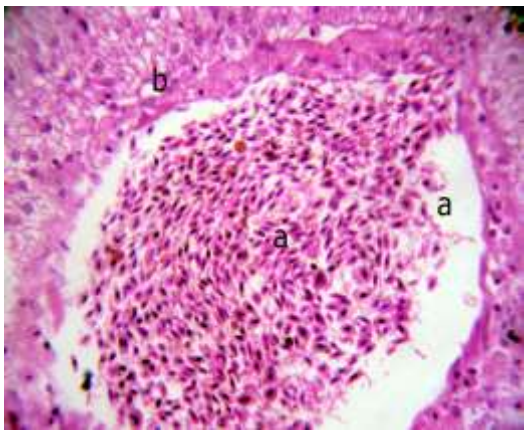
شكل (9) مقطع نسجي في كبد سمكة كارب شائع (2% زيت الكتان 3–ω) ظهور تغييرات دهنية b. انعدام الجيبانيات. C. ارتشاحات للخلايا اللمفية d.احتقان خفيف في الأوردة الكبدية (صبغة H & E × 40)

المعاملة الثانية في التجربة الثالثة 1% خليط (1.5% زيت الذرة+1% زيت السمك) وجود أحتقان بسيط في الأوعية الدموية مع تغييرات دهنية في الخلايا الكبدية وظهور خلايا لمفية متجمعة حول الأوردة الكبدية (شكل 10).



شكل رقم (10) مقطع نسجي في كبد سمكة الكارب 1% زيت (1.5% زيت الذرة + 1%زيت السمك) a. احتقان الأوعية الدموية b. تغييرات دهنية في الخلايا الكبدية c. خلايا اللمفية متجمعة حول الأوردة الكبدية (صبغة H & E × 40)

المعاملة الرابعة في التجربة الثالثة 1% خليط زيت (1.5% زيت الذرة + 1%زيت الكتان) ظهور احتقان في الوريد الدموي وفجوات دهنية منتشرة في النسيج الكبدي (شكل 11).



شكل رقم (11) مقطع نسجي في كبد سمكة كارب شائع 1% زيت (1.5% زيت الذرة + 1%زيت الكتان) a. احتقان الوريد الدموي b. فجوات دهنية منتشرة في النسيج الكبدي (صبغة H & E × 40)

إنَ ظهور بعض التغييرات الدهنية Fatty Changes والتي قد لم يكن لها تأثير ملحوظ على الخلايا الكبدية ربما يعود إلى تأثير الأحماض الدهنية الموجودة في الزيوت المضافة في تقليل الدهون الموضعية Hypolipidaemia (Kalogeropoulos وزملاءه، 1992)، ولوحِظَ وجود بعض الخلايا اللمفية Lymphocyte والبلاعم الكبيرة Macrophages التي تُعَد مؤشراً على تحفيز الجهاز المناعي ولَعَلَ السبب يعود إلى تكوين مركبات الأيكوسانويد Eicosanoid المشتقة من الأحماض الدهنية والتي تعزز الجهاز المناعي للجسم فضلاً إلى تكوين مركبات السايتوكاينيز Cytokines وهي أنواع من الإفرازات التي تفرزها الخلايا المناعية ذات الطبيعة البروتينية، هذه الإفرازات ذات تأثيرات كبيرة وفعالية عالية حتى إذا أفرزت بتراكيز واطئه جداً ولها فعاليه مشابهه للهرمونات، أو تقوم هذه الإفرازات بتنظيم الاستجابة المناعية من خلال التنسيق بين عمل الخلايا المناعية مع بعضها البعض ومن خلال التفاهم مع الجهاز العصبي والغدد الصماء Endocrine Gland، وتتمثل السايتوكينات بمركبات الأنترليوكين Interleukins والأنترفيرون Interferons وتقوم بتنشيط تكوين الكريات الدم البيض وزيادة تكوين الخلايا ألجذعيه Stem cells إضافة إلى تنشيط الخلايا اللمفيه وخلايا الدم البيض الأخرى لأداء دورها المناعي. وتتكون السايتوكينات بفعل وجود الأحماض الدهنية والتي تدعم الجهاز المناعي للجسم إضافة إلى أنَ الفيتامينات الذائبة في الدهون وبالأخص فيتامين A الذي يدعم أنتاج الخلايا اللمفية وكريات الدم البيض ويقوي الاستجابة لإنتاج الأجسام المضادة، أما فيتامين E فوجِدَ أنهُ يقوي الاستجابة المناعية والخلايا البلعمية الكبيرة Macrophages (Kaleeswaran وزملاءه، 2010) وهيَ متوافقة معَ ما توصلوا أليهِ Bell وزملاءه (2003) عندما استخدموا زيت السلجم Rapeseed Oil في علائق أسماك السلمون *Salmo salar* ولاحظوا وجود الخلايا اللمفية وبعض التغييرات الدهنية بدون أن تحدث تغييرات مرضية في الخلايا الكبدية، وأشاروا إلى إنَ (ALA 18:3*n*–3) α–linolenic acid و (EPA 20:5*n*–3) Eicosapentaenoic Acid لهما تأثير إيجابي على الوظائف المناعية والألتهابات وذلكَ بإيقاف تأثير مركبات البروستاغلاندين المسببة للالتهابات. ولاحظَ Caballero وزملاءه (2004) أن الأسماك التي غُذيت على زيت فول الصويا بنسبة 2.8% سببت ظاهرة التشحم الكبدي Steatosis معَ أتِساع حجم الخلايا الكبدية. إنَ ظهور الخلايا اللمفية في أكباد الأسماك كانت متوافقة معَ فحوصات عدد كريات الدم البيض والتي أشار أليها الأشعب والشاوي (2012) وأظهرت ارتفاع عددها معَ ارتفاع نسبة الزيوت المستخدمة من أوميكا–3 وأوميكا–6. إنَ تأثير إضافة الزيوت في العلائق على أيض الدهون في الأسماك قد يكون واضح عِندَ استخدام مصادر مختلفة من أوميكا–3 وأوميكا–6، إذ أنَ المحتوى الغذائي من الأحماض الدهنية للزيوت بمستوياتها ومصادرها المختلفة قد يؤدي إلى اختلال التوازن في الأحماض الدهنية الأساسية أو

غير الأساسية والتي تُؤثر في سلامة الأنسجة من خِلال الدور التي تقوم فيهِ الأحماض الدهنية كونها جزءاً مهماً من تركيب غشاء الخلية وبذلك تحمي الخلايا من اختراق السموم والبكتريا والفيروسات إضافة إلى أن(3–*n*:20 EPA و(3–*n*:22 DHA) لهما تأثير إيجابي على الوظائف المناعية والالتهابات من خلال تثبيط تكوين أو تأثير البروستاغلاند المسببة للالتهابات نوع (PGE2) Series 2 التي تسبب احتباس الماء بوساطة احتباس الصوديوم في الكلى ويسبب الالتهابات والتنكس الخلوي (Bell وزملاءه، 2003). ذكرَ Tacon (1996) أنَ ظاهرة تشحم الكبد لوحِظت مرتبطة بظاهرة اختلال التوازن الغذائي في الأسماك المستزرعة، وفي أسماك البريم البحرية لوحظَ التشحم الكبدي كنتيجة لزيادة في المحتوى الدهني الغذائي (Caballero وزملاءه، 1999) وكنتيجة لنقص في الأحماض الدهنية الأساسية (Montero وزملاءه، 2001) وكنتيجة لاستخدام الأغذية الصناعية (Spisni وزملاءه، 1998) أو كنتيجة إضافة الزيوت النباتية (Alexis، 1997)، على الرغم من أن تأثيرها في التنظيم الوظيفي للكبد وانعكاساتها المحتملة Possible Reversibility قد تكون ليسَت مفهومة جيداً، إذ إنَ بعض الباحثين يعتقد أنَ التشحم الكبدي هو تكيف فسيولوجي على الغذاء (Caballero وزملاءه، 1999)، وأكدَ Mosconi–bac (1990) على الملاحظة المرضية مع وجود التنخر في الخلايا Necrosis تظهر مع المدة الأطول للتغذية بعلائق ذو محتوى عالي من الدهون قد تتلف أو تسبب ضرر في الأنسجة من الصعب إصلاحهُ. وأشارَ Caballero وزملاءه (2004) إلى أنَ كمية ونوعية الزيوت وفترة تغذيتها للأسماك عوامل مؤثرة في تكوين ظاهرة تشحم الكبد من خِلال إجراء اختبار تغذية 60% زيت السلجم و100% زيت السمك في المدة القصيرة والطويلة في أسماك البريم البحرية *S. aurata* فأظهرت تشحم كبدي حاد معَ أنتفاخ أو تورم الخلايا الكبدية الحاوية على تجاويف دهنية متعددة وقد يعود السبب إلى خصائص الزيوت المستخدمة (من ناحية محتواها من الأحماض الدهنية) وطول فترة التغذية فضلاً عن طريقة خزنها سببت ظهور تشحم الكبد. وأوضحَ Halvorsen وزملاءه (2001) أن وجود التغييرات الدهنية في أكباد البريم البحري*S. aurata* المتغذية على زيت اللفت هيَ من الحالات الطبيعية وتعكس مستويات ونوعية الدهون الموجود في الغذاء والتي تؤثر على نشاط إنزيمات أيض الأحماض الدهنية الموجودة في هذهِ الأكباد إضافة إلى *مستوى* حامض الأوليك Oleic acid (9–*n*1:18) الذي يمتلك تأثيراً خافضاً للدهون Hypolipdaemia الموجودة في الأحماض الدهنية من أوميكا–3 ولكن بتأثير أقل وكما لوحِظت في أكباد أسماك البريم البحري *Sparus aurat* زيادة التجويف السايتوبلازمي وإزاحة النواة بشكل ملحوظ وخطورة إرتشاح الدهون بعدَ 6 أشهر من التغذية على العلائق التجريبية معززةً ميلها لتراكم الدهون في أكباد الأنواع الأُخرى المستزرعة ومعَ ذلك وبعدَ فترة تقليل من تغذية زيت السمك لوحِظَ انخفاض في المحتوى الدهني للأكباد معَ زيادة في الفجوات الدهنية في السايتوبلازم للخلايا الكبدية وقلة إزاحة النواة، فالتالي يستعيد الكبد شكلهُ الأصلي. ولاحظا كُلٍ من Kiessling K و Kiessling A (1993) أن زيت الحبار Squid oil أكثر كفاءة في تقليل التشحم الكبدي من زيت فول الصويا إشارة إلى انخفاض مسارات أكسدة بيتا – βOxidation لـ 18:2n–6 وربما يعود إلى تأثير الـ Linolenic Acid في تقليل الدهون في الدم الـ Hypolipidaemia.

الأستنتاجات

نستنتج من الفحوصات النسجية لأكباد أسماك التجارب عدم وجود تغييرات مرضية عيانية واضحة على أكباد أسماك التجارب بشكل عام من حيث الحجم واللون والتجانس الصبغي للكبد معَ عدم وجود أية آفات مرضية عيانية ذات أهمية تُذكر وظهور بعض التجاويف الدهنية. ولوحظ وجود بعض الخلايا اللمفية التي تُعَد مؤشراً على تحفيز الجهاز المناعي في الجسم فضلاً عن ظهور أرتِشاحات خفيفة وظهور احتقان خفيف في الأوردة المركزية للكبد. ولم تظهر حالة التنخر Necrosis في الخلايا الكبدية والتي تُسبب موت الخلية. وظهرت تغييرات تنكسيه خلوية حادة في أكباد أسماك قبل التجربة مع ارتشاح في الخلايا، وتغييرات تنكسية خلوية حادة ونزف في أكباد أسماك المعاملة 6 في التجربة الـ3 (عليقة تجارية بدون زيت). أن التراكيز العالية من الزيوت (2%) تُسبب ظهور التغييرات الدهنية الحادة Lipid Change والتنكس الحاد التي تُعَدْ بداية التلف في نسيج الكبد التي قد تؤثر سلباً في كفاءة الكبد. وإن حالات التنكس الحاد التي وجِدت في الأكباد متمثلة بإزاحة النواة إلى جهة وامتلاء الخلية بالماء حيث إنَ الخلايا المملوءة بالماء تظهر على شكل فراغات داخل السايتوبلازم الذي قد حصلَ من جراءِ سحب الدم من قبل الكحولات والزايلول أثناء تحضير المقاطع النسيجية.

المصادر

الاشعب، مهند حباس والشاوي سعيد عبدالسادة (2012) تأثير اضافة مصادر ومستويات مختلفة من اوميكا–6 وأوميكا–3 إلى العلائق في بعض الصفات الفسلجية لصغار اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. أ. مصل الدم (الكولسترول والبروتينات الدهنية والأنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين. مجلة وادي الرافدين، 40 (2) ، 202 – 212.

الأشعب، مهند حباس و المشهداني احمد جاسم و محمد سليمان داود و فاضل علي عباس(2013) تدعيم علائق منخفضة البروتين بالأوميكا–3 (PUFA) وأثرها على دلائل النمو ومعامل الهضم وبعض الصفات الفسلجية لِصغارِ أسماك الكارب الشائع Cyprinus carpoi L.مجلة البصرة للعلوم الزراعية، 20 (2) 2013.

Alexis, M.N. (1997) Fish Meal and Fish Oil Replacers in Mediterranean Marine Fish Diets. Cahiers Options Mediterranean's, 22, 183–204.

Bell, J.G.; McGhee, F.; Campbell, P.J.; and Sargent, J.R. (2003) Rapeseed Oil as an Alternative to Marine Fish Oil in Diets of Post-Smolt Atlantic Salmon (*Salmo salar*): Changes in Flesh Fatty Acid Composition and Effectiveness of Subsequent Fish Oil Aquaculture, 218, 515 – 528.

Caballero, M.J.; Izquierdo, M.S.; Kjrsvik, E.; Fern_ndez, A.J. and Rosenlund, G. (2004) Histological Alterations in the Liver of Sea Bream, *Sparus aurata* L., Caused by Short- or Long-Term Feeding with Vegetable Oils. Recovery of Normal morphology after feeding fish oil as the Sole Lipid Source. Journal of Fish Diseases, 27: 531–541.

Caballero, M.J.; Lo´pez-Calero, G.; Socorro, J.; Roo F.J.; Izquierdo, M.S. and Ferna´ndez, A.J. (1999) Combined Effect of Lipid level and fish meal quality on liver Histology of Gilthead Sea Bream (Sparus aurata). Aquaculture, 179, 277 – 290.

Halvorsen, B.; Rustan, A.C.; Madsen, L.; Reseland, J.; Berge, R.K.; Sletnes, P. and Christiansen, E.N. (2001) Effects of Long-chain Monounsaturated and *n*-3 Fatty Acids on Fatty Acid Oxidation and Lipid Composition in Rats. Annals of Nutrition & Metabolism. 45, 30–37.

Kaleeswaran, B.; Ilavenil, S. and Ravikumar, S. (2010) Changes in Biochemical, Histological and Specific Immune Parameters in *Catla catla* (Ham.) by *Cynodon dactylon* (L.) .

Journal of King Saud University - Science.

Kalogeropoulos, N.; Alexis, M.N.; and Henderson, R.J. (1992) Effects of Dietary Soybean and Cod-Liver oil Levels on Growth and Body Composition of Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 104, 293 – 308.

Kiessling, K.H. and Kiessling, A. (1993) Selective Utilization of Fatty acids in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) Red Muscle Mitochondria. Canadian Journal of Zoology. 71, 248–251.

Luna, L.G. (1968) Manual of Histological Staining Methods of Armed Forces Institute of Pathology, Third Ed. Mc Graw_Hill Book G. New York. 4, 158-169.

Shearer, K.D. (1994) Factors Affecting the Proximate Composition of Cultured Fishes With Emphasis on Salmonids. Aquaculture. 119, 63 – 88.

Stephanie, F.; Inge, G.; Anne-Marie, E. and Pierre, B. (1998) Histological Changes Induced by Dietary Phospholipids in Intestine and Liver of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Larvae. Aquaculture. 161, 213 – 223.

Spisni, E.; Tugnoli, M.; Ponticelli, A.; Mordenti, T. and Tomasi, V. (1998) Hepatic Steatosis in Artificially Fed Marine Teleosts. Journal of Fish Diseases. 21, 177 – 184.

Tacon, A.G.J. (1996) Lipid nutritional pathology in farmed fish. Archives of Animal Nutrition, 49: 33–39. Wathne, E. (1995) Strategies for Drecting Slaughter Quality of Farmed Atlantic salmon (Salmo salar) with Emphasis on Diet Composition and Fat deposition. Ph.D Thesis, University of Tromso, Norway.

Montero, D.;Robaina L.E**.;** Socorro J.; Vergara J.M.; Tort L. and Izquierdo M.S. (2001) Alteration of Liver and Muscle Fatty Acid Composition in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) Juveniles Held at High Stocking Density and Fed an Essential Fatty Acid Deficient Diet. Fish Physiology and Biochemistry, 24, 63–72.

Mosconi-bac, N. (1990) Reversibility of Artificial Feed-Induced Hepatocyte Disturbances in Cultured Juvenile Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*): an Ultra Structural Study. Aquaculture. 88, 363 –370.

Preece,A.(1959) Amanual for histologic technics. 1st. Ed London.