

دراسة السمية الحادة LC₅₀ لرابع كلوريد الكربون في سمك الكارب في العراق

محمد طلب كوكز* وبشرى إبراهيم مصطفى**

*الهيئة العامة للبيطرة/ وزارة الزراعة

**كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد

الخلاصة

الهدف من البحث هو تحديد التركيز الوسطي المميت لرابع كلوريد الكربون في اسماك الكارب الاعتيادي المرباة في أحواض التربية داخل العراق مع قياس مستوى ارتفاع أو انخفاض إنزيمات الكبد لحميرة الالينين امينوترانزفيريز وخميرة الاسبارتيت امينوترانزفيريز (AST, ALT)، خلال المدة المحددة (3، 7، 14) يوم وتسجيل التغيرات المرضية السمية الحادة في كبد اسماك الكارب الاعتيادي. استعملت في هذه الدراسة 64 سمكة كارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* بوزن يتراوح بين 150-250 غم وزعت إلى تجربتين التجربة الأولى Pilot study شملت 8 اسماك توزعت إلى أربع مجاميع كل مجموعته تحتوي على سمكتان واستخدمت التراكيز التالية (2، 4، 6، 8) ppm على التوالي وكانت الجرعة الحادة محصورة بين (2، 4) ppm إما التجربة الثانية probit study استعملت 56 سمكة من اسماك الكارب الاعتيادي قسمت إلى سبع مجاميع متساوية مع المكررات تحتوي المجموعة الواحدة على 8 اسماك، المجموعة الأولى اعتبرت مجموعة سيطرة بينما اعتبرت المجاميع الباقية مجاميع المعاملات المرضية إذا أعطيت المجاميع (الثانية والثالثة والرابعة والخامسة والسادسة والسابعة) تراكيز مختلفة من محلول رابع كلوريد الكربون وهي (3.5، 3.6، 3.7، 3.8، 3.9، 4) ppm على التوالي. أوضحت النتائج بان التركيز الوسطي المميت لرابع كلوريد الكربون (LC₅₀) في اسماك الكارب الاعتيادي بطريقة ال probit study كان ppm 3.758 وارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في تركيز كل من إنزيم (AST و ALT) في مصل الدم في المجموعة المعاملة عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة، وبين الفحص المرضي ألمجهري لنسيج الكبد وجود تغيرات مرضية في الكبد تتمثل بالنخر وحدوث ارتشاح في الخلايا الالتهابية خاصة العدلات واللمفية مع احتقان شديد في الأوعية الدموية والنزف المنتشر في النسيج، نستنتج من هذه الدراسة إن لرابع كلوريد الكربون تأثير سمي عالي في اسماك الكارب الشائع المرباة في العراق مؤدياً إلى ارتفاع في إنزيمي (AST و ALT) بالإضافة إلى تخريب في أنسجة الكبد.

Acute Toxo-Histopathological study to determining the Median lethal concentration for carbon tetrachloride in liver of common carp (*Cyprinus carpio*) in Iraq

M. T. Kukez* and B. I. Mustafa**

*Authority of Veterinary Medicine/ Ministry of Agriculture

**College of Veterinary Medicine\ University of Baghdad

Abstract

The aims of study to determin the Median Lethal concentration measurement (LC₅₀) of common carp (*Cyprinus carpio*) in Iraq. Also to estimate the level of Aspartate Amino Transaminase (AST) and Alanine Amino Transaminase (ALT) at (3, 7 and 14) day, fish behavior and histopathological changes were reported in liver of acute toxic concentration of common carp (*Cyprinus carpio*). Use 64 fish (common carp) weight (150-250) g were divided into 2 experimental 1st experiment (probit study) include 8 fish (common carp) distributed into 4 sub groups each groups included 2 fish

(common carp) were exposed to (2, 4, 6 and 8) ppm CCl_4 for 72 h. 2nd experimental (probit study) included 56 common carp divided into 7 equal group each group consist of 8 fish (1st group control) and the other group exposed to (3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9 and 4) ppm CCl_4 respectively. Result showed that included fish behavioral changes, C.N.S sings appeared after exposure to various concentration characterized by increase swimming activity, hyper activity and increase movement. LC50 resulted in common carp 3.758 ppm with significant increase ($p \leq 0.05$) in AST and ALT enzyme in blood serum. Liver histopathological examination showed in acute treated group necrosis with inflammatory cells infiltration mostly neutrophils and lymphocytes, congestion of liver blood with extensive hemorrhage. We can concluded from this study there are highly toxicity effect of CCl_4 in common carp that brought in Iraq which leads to increase of liver Enzymes (AST and ALT) as well as hepatic tissue damages.

المقدمة

رابع كلوريد الكربون هو مركب عضوي كيميائي صناعي الصيغة الكيميائية له (CCl_4)، وهو عبارة عن سائل عديم اللون يخرج على شكل أبخره في الهواء في درجة حرارة الغرفة (1). يتواجد رابع كلوريد الكربون في الطبقة الأخيرة من مكونات الكتلة الغازية التي تحيط بالغلاف الجوي للكرة الأرضية (2). استخدم رابع كلوريد الكربون عام 1986 كمبيد للحشرات (3). واستعمل كماده طارده لديدان الكبد والأمعاء في الطب البيطري (4). إن الاستعمال الواسع للملوثات العضوية يؤدي الى انسكابها ورميها في المياه العذبة مما يسبب تلوث وتراكم السموم في الكائنات المائية بالإضافة إلى النشاطات الزراعية والصناعية ذات المصادر الأكثر أهمية للمركبات المكلورة ومبيدات الحشرات الكلورية العضوية التي تكون مصدر التلوث الجوي والتي تنتقل بمعدلات عالية وتتراكم في السلسلة الغذائية والتي تؤثر على الكبد حيث تسبب ندب وتخرشات مقارنة مع العضلات في الدراسة النسجية وان وجود الملوث يتدخل في النشاطات الجزيئية والخلوية مما يؤدي إلى بعض الاضطرابات في إنتاج طاقة الكائنات الحية (5، 6). في الإنسان تم تسجيل حدوث علامات عصبية وخمول والدوران والتقيؤ وفقدان الشهية وإسهال عند استنشاق CCl_4 20 - 80 ppm خلال 2 - 3 شهر. وخلال دراسة لرابع كلوريد الكربون أدى إلى ظهور علامات عصبية وظهور جروح على الكبد وحدوث اليرقان عند التعرض للإنسان لتركيز (10 - 200 جزء من المليون) (7). إن الدراسات الحديثة لتأثير رابع كلوريد الكربون في الأسماك قليلة ونادرة جدا خاصة في العراق إذ بينت بان مستوى الـ LC₅₀ لرابع كلوريد الكربون في اسماك Rosy Barb (*Puntius conchonius*) كان 23.9 ملغم/ لتر بينما كان LC₅₀ في اسماك Amphioxus (*Branchiostoma belcheri*) 18.9 ملغم/ لتر والتي أظهرت علامات شديدة تمثلت بتلف في الكبد والكلى والغلاصم وعلامات سمية شديدة في الجهاز الهضمي (8). بين Ogeturk وجماعته إن العديد من المواد العضوية من ضمنها رابع كلوريد الكربون تؤدي إلى تخريب في الكبد والكلى والتي تعرف بـ hepato and nephrotoxin (9). إن التجريب الفموي الحاد لرابع كلوريد الكربون والمتمثل بمستوى النصف الجرعة السمية (LD₅₀) يتراوح من 10054-2821 ملغم/ كغم من وزن الجسم في الفئران (10). سجل Hussan وجماعة في دراسة لرابع كلوريد الكربون على اسماك الكارب الشائع هناك سمية بالغة التأثير على الكبد إذ أدت الى حدوث احتقان ونزف عند التعرض لتركيز قليلة من رابع كلوريد الكربون 100 مايكروليتر لمدة 45 دقيقة خلال ثلاثة أيام وأوضحت التحليلات الكيميائية الحيوية الى ارتفاع مستوى إنزيم ALT في الكبد (11). بالرغم من منع استخدام الهالوجينات (CCl_4 , $CHCl_3$ or CHI_3) بسبب سميته الحادة إلا أنها تستخدم كمادة نموذجية تبين التأثيرات الميكانيكية السمية الكبدية مثل تحلل الدهون والتليف وموت الخلايا الكبدية و النمو السرطاني (12). في دراسة حديثة أجريت على كبد اسماك الكارب الاعتيادي داخل الأوساط الزرعية (in vivo)

بتركيز 8 mM من رابع كلوريد الكربون وبعد اجراء الفحوصات الكيموحيوية بينت النتائج الى ارتفاع كل من (AST و ALT) و malondialdehyde (MDA). إن المشكلة الرئيسية في المزارع السمكية والعديد من حقول الأسماك هي جروح في الكبد ومتلازمة مرضية في الكبد والصفراء مع تضخم الكبد (13، 14).

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على رابع كلوريد الكربون Carbon tetrachloride النقي بتركيز 99.5% من إنتاج (E.Merck,Darmstadt). فورمالدهايد 10% قياس مستوى انزيمي (AST و ALT) في مصل الدم تبعا لطريقة Reitman and Frankel (15). بدلالة SAST-Kit و SALT من إنتاج شركة Spain ,Biomeriux وحسب التعليمات المرفقة اخذ أنبوبا اختبار (test tubes) لكل نموذج الأول يحتوي على محلول كفاء blank reagent والأخر يحتوي على العينة sample المراد قياس فعالية الإنزيم فيهما.

- اسماك التجربة:

تم جلب 64 سمكة من اسماك الكارب الشائع (*Cyprinus carpoi* L.(Common carp) بأوزان تتراوح بين 150-250 غم، من احد المزارع الأهلية في منطقة الرضوانية باعتبارها سمكة التربية الأساسية في العراق وذلك بواسطة سيارة مجهزه بمعدات لتبادل الماء وتجهيز الأوكسجين لحين وصولها إلى مختبر بحوث الأسماك في كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد. تم نقلها الى أحواض بلاستيكية بسعة 150-200 لتر مجهزه بمصدر أوكسجين، بعد ذلك تم وضع الأسماك في حمام ملحي بتركيز 3% لحين ظهور الإجهاد على الأسماك لغرض التخلص من الطفيليات الخارجية إن وجدت كمرحلة أولية. أقيمت الأسماك في ظروف المختبر (قياس درجة الحرارة ودرجة حامضية الماء pH) وتغذية بنسبة 3% مرتين باليوم صباحا ومساء لمدة 15 يوم قبل بدء التجارب. وزعت الأسماك في أحوض زجاجية حجم (40x40x80) سم يحتوي كل حوض على 80 لتر ماء و 8 اسماك مع مراعاة الأوزان ومجهزة بالماء الحاوي على مادة مضادة للكولور والأوكسجين طيلة مدة الدراسة. استبدل الماء كل 24 ساعة و pH يتراوح بين (7.8-7). يقاس بواسطة PH meter ودرجة حرارة تتراوح بين (21-24م) تقاس بواسطة محرار لاصق على الأحواض كما جهزت الأحواض بسخانات كهربائية للحفاظ على درجة حرارة عند الضرورة منتظمة وإعطاء غذاء على شكل وجبتين باليوم الواحد. وتم إجراء المعايير التالية:

- حساب التركيز الوسطي المميت: تم حساب التركيز الوسطي المميت لرابع كلوريد الكربون وكما يلي:
أ. Pilot method: استعملت 8 اسماك في هذه التجربة قسمت إلى أربع مجاميع كل مجموعه تحتوي على سمكتان واستخدمت التراكيز التالية (2، 4، 6، 8) ppm من رابع كلوريد الكربون وتم ملاحظتها لمدة 24-72 ساعة واختيار التركيز كان محصور بين 2 و 4 ppm من رابع كلوريد الكربون اعتمادا على بقاء وهلاك نصف الأسماك.

ب. probit method: استعملت 56 سمكة قسمت الى 7 مجاميع متساوية كل مجموعه تحتوي على 8 اسماك وكما يلي:
المجموعة الأولى: مجموعة سيطرة.

3.5 ppm ccl ₄	المجموعة الثانية: تم معاملتها بتركيز
3.6 ppm ccl ₄	المجموعة الثالثة: تم معاملتها بتركيز
3.7 ppm ccl ₄	المجموعة الرابعة: تم معاملتها بتركيز
3.8 ppm ccl ₄	المجموعة الخامسة: تم معاملتها بتركيز
3.9 ppm ccl ₄	المجموعة السادسة: تم معاملتها بتركيز
4 ppm ccl ₄	المجموعة السابعة: - تم معاملتها بتركيز

تم مراقبة سلوك الأسماك والعلامات السريرية الظاهرة لمدة 24-72 ساعة وتم اعتماد بقاء وعدد هلاك الأسماك وتم اخذ النظر بالمعايير وكما يلي:

1. تسجيل العلامات السمية الظاهرة ووقت ظهورها واختفاء تلك العلامة في كل مجموعة.
 2. خطورة وشدة العلامات السمية الظاهرة في كل تركيز.
 3. تسجيل عدد ووقت الحيوانات الهالكة ونسبة الهلاك في كل مجموعة.
 4. تحويل نسبة الهلاكات لكل تركيز سمي رقم باعتماد على جدول probit (16).
 5. رسم منحني لوغارتمي لتركيز والنسبة المأخوذة من جدول probit لتحديد التركيز الوسطي المميت وفقا لما جاء بطريقة probit (17).
- الفحص المرضي النسجي: اخذ نماذج الكبد من اسماك التجربة ثم طبقت الدراسة النسجية التي ذكرها كل من Preece و Luna باستخدام جهاز التمرير النسجي Histokinate من إنتاج شركة Shondon ,England (18، 19).
- التحليل الإحصائي: حللت البيانات التي تم الحصول عليها بين المعاملات ولكل مدة زمنية باستخدام تحليل التباين (ANOVA) Analysis of Variance للتصميم العشوائي الكامل وأستخدم اصغر فرق معنوي (LSD) Least Significant Differences بين متوسطات المعاملات المختلفة لمعرفة الفروقات المعنوية وباستخدام البرنامج الإحصائي SPSS (20).

النتائج والمناقشة

الجدول (1) وشكل (1) يوضح زيادة هلاكات الأسماك مع ارتفاع تركيز التسمم برابع كلوريد الكربون إذ كان LC_{50} بتركيز 3.5 ppm و LC_{100} بتركيز 3.8 ppm مقارنة مع مجموعة السيطرة التي لم تشهد إي هلاكات إما العلامات السريرية فكانت تتناسب طرديا مع زيادة تركيز رابع كلوريد الكربون في التراكيز المختلفة الذي يبين التركيز 3.5ppm ظهور علامات سريرية إثناء 10 ساعة شملت سرعة الحركة والقفز وحركة دائرية إما في التراكيز (3.6، 3.7) ppm ظهرت علامات سريرية شديدة إثناء 6 ساعات الأولى غير طبيعية مثل (سرعة الحركة والقفز ومحاولة الهروب والتجمع قرب مصدر الأوكسجين وعلامات عصبية) إما بالتراكيز (3.8، 3.9) ppm ظهرت العلامات إثناء 2 ساعة وتمثلت بعلامات عصبية حادة وسباحة على احد الجانبين مع فقدان التوازن وشلل وركود في قاع الأحواض ثم الهلاك إما بتركيز 4ppm ظهرت العلامات في اقل من ساعة وأدى التركيز العالي الى هلاك الأسماك.

جدول (1) التراكيز اللوغارتمية للتركيز الوسطي المميت لأسمك الكارب الاعتيادي

concentration ppm	Log concentration	N	Live	Dead	Dead %	Corrected %	Probit unit
3.5	0.544	8	8	0	0	3	3.12
3.6	0.556	8	7	1	13	13	3.87
3.7	0.568	8	5	3	25	38	4.70
3.8	0.579	8	4	4	50	50	5.00
3.9	0.591	8	2	6	75	75	5.67
4.0	0.602	8	0	8	100	97	6.88

$$y = 60.316x - 29.708$$

$$5 = 60.316x - 29.708$$

$$60.316x = 5 + 29.708$$

$$x = 34.708 / 60.316$$

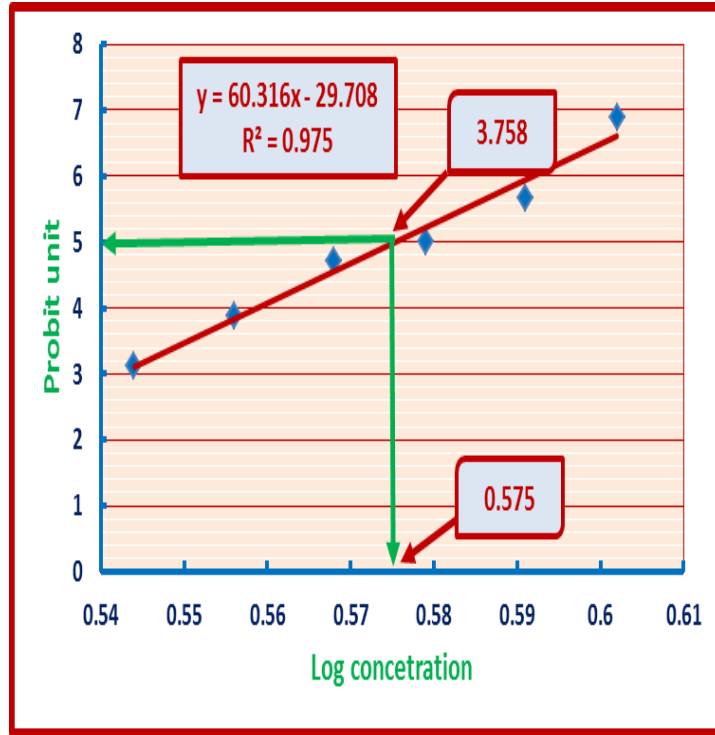
$$x = 0.575$$

$$\text{Antilog}_{(10)} 0.575 = 3.7584 (LC_{50})$$

علما ان:

$$y = a + b x$$

هو معامل الانحدار وان X هو يمثل التركيز Concentration



شكل (1) المنحني اللوغارتمي لتحديد التركيز الوسطي المميت لأسماك الكارب الاعتيادي

*جرى تعديل لنسبتي الهلاك 0 و 100% إذ اعتبرت النسبة المئوية 0% بعد التعديل 3% فيما اعتبرت نسبة الهلاك 100% بعد التعديل 97% عند استعمال طريقة Probit لتقدير القيمة الوسيطة للتركيز المميت (LC_{50}) وذلك لعدم وجود وحدات احتمالية مناظرة إلى الصفر و 100% (21). وقد استعملت المعادلتين التاليتين لتعديل نسبتي الهلاك:

Corrected formula*:

For the 0% dead: $100(0.25/n) = 100(0.25/8) = 3$, For the 100% dead: $100[(n-0.25)/n] = 100; [(8-0.25)/8] = 97$, n = number of animals in the group.

من خلال إجراء التجربة تبين ان التركيز الوسطي المميت لأسماك الكارب الشائع المرباة داخل العراق كان LC_{50} بتركيز 3.8 ppm يساوي 3.7584ppm وهذا يختلف مع ما أوجده العالم Bhattacharya في دراسة لنوعين من اسماك المياه العذبة إذ بين إن مستوى الـ LC_{50} لرابع كلوريد الكربون في اسماك Rosy Barb (*Puntius conchoniensis*) كان 23.9 ملغم/ لتر بينما كان LC_{50} في اسماك Amphioxus (*Branchiostoma belcheri*) 18.9 ملغم/ لتر والتي أوجدت علامات شديدة تمثلت بتلف في الكبد والكلية والغلاصم وعلامات سمية شديدة في الجهاز الهضمي (8). إن رابع كلوريد الكربون يسبب تخريب وتلف في الجهاز العصبي في الحيوانات الفقرية غير اللبونة مثل الطيور وفي اسماك rainbow trout والبلطي (22، 23). وان رابع كلوريد الكربون يسبب تخريب وتلف الدماغ والتجهيز الدموي للدماغ في اللبائن وحدثت العلامات العصبية تمثلت باضطراب وشلل (9).

- قياس مستوى إنزيم (AST و ALT) في مصل الدم: يعكس جدول (3) تأثير التعرض لرابع كلوريد الكربون في إنزيمات الكبد إذ يبين إن هناك تأثير لإنزيمي الكبد (ALT و AST) وكذلك يبين إن زيادة تركيز رابع كلوريد الكربون تؤدي إلى زيادة مستوى إنزيمي الكبد إذ سجل ارتفاع معنوي تحت مستوى ($P < 0.05$) في إنزيم الكبد AST حيث بين الجدول انه هناك ارتفاع مجموعة المعاملة (39.86 ± 0.49)، (42.35 ± 0.86)، (36.13 ± 1.63)، (36.83 ± 1.03) للفترة (3، 7، 14) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة (36.43 ± 1.83) على التوالي كذلك يبين الجدول وجود أعلى زيادة معنوية بمستوى ($P < 0.05$) عند المعاملة الحادة إثناء مدة (7، 14) يوم مقارنة باليوم الثالث من المعاملة كما سجل ارتفاع معنوي تحت مستوى

($P<0.05$) في إنزيم الكبد ALT حيث يبين الجدول إن هناك ارتفاع لمجموعة المعاملة (36.30±2.46، 27.01±1.32، 18.33±1.59) للفترة (3، 7، 14) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة (15.68±0.69، 15.28±0.88، 16.28±0.38) على التوالي كذلك يبين الجدول وجود أعلى زيادة معنوية بمستوى ($P<0.05$) عند المعاملة الحادة إثناء مدة 14 يوم عند مقارنتها مع المدة (3، 7) يوم.

جدول (3) يبين تأثير التعرض الحاد لمادة رابع كلوريد الكربون بتركيز 3.758ppm في إنزيمات الكبد في

اسماك الكارب الاعتيادي *C. Carpio*

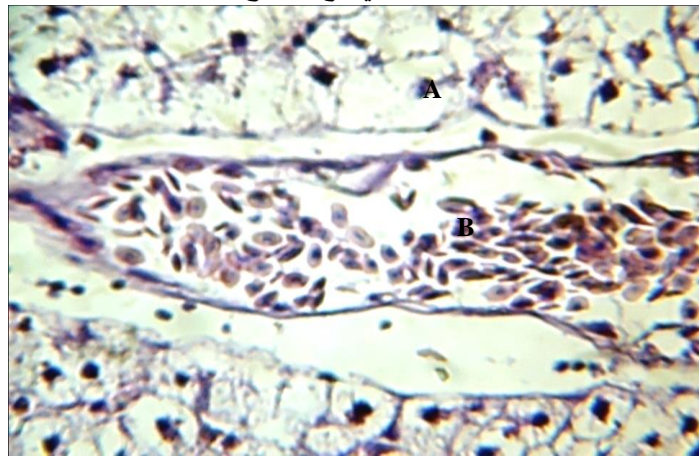
الاختبار	الأيام المجاميع	3day	7day	14day
AST	السيطرة	36.83±1.03 A b	36.13±1.63 A b	36.43±1.83 A b
	المعاملة 3.758ppm	39.86±0.49 B a	42.35±0.86 A a	44.13±0.91 A a
ALT	السيطرة	15.68±0.69 A a	15.28±0.88 A b	16.28±0.38 A b
	المعاملة 3.758 ppm	18.33±1.59 C a	27.01±1.32 B a	36.30±2.46 A a

*الحروف الكبيرة المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية بين الأوقات المختلفة تحت مستوى ($P<0.05$)
*الحروف الصغيرة المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات وسيطرتها تحت مستوى ($P<0.05$)

8=N*

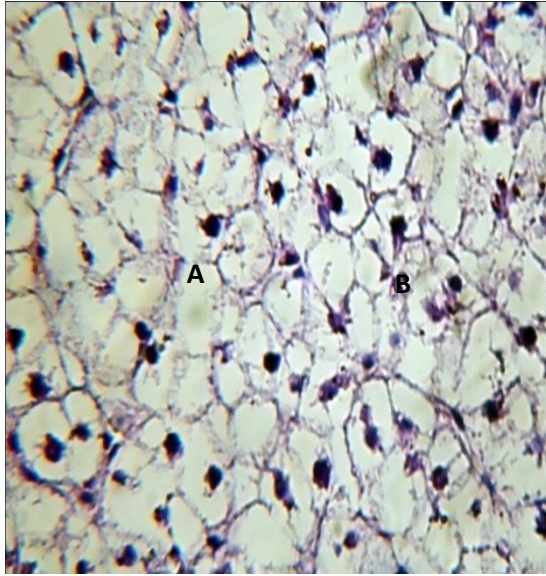
*يدل الاختلاف المعنوي على المعدل ± الخطأ القياسي.

- **الفحص المرضي النسجي:** لم تسجل إي تغيرات مرضية مهمة في مجموعة السيطرة بينما أظهرت مجموعة التركيز الحاد (3، 7، 14) يوم تغيرات مرضية مجهرية في نسيج الكبد ازدادت مع زيادة فترة التعرض ولوحظ في اليوم الثالث من التعرض لرابع كلوريد الكربون التنكس الخلوي الحاد Acute Cellular degeneration متمثلاً بالتنكس أليستسقائي hydropic degeneration مع التغيرات الدهنية واحتقان الأوعية الدموية الكبدية شكل (2)، إضافة إلى ارتشاح منتشر في الخلايا الالتهابية اللمفية مع انتشار النزف خلال النسيج الكبدي شكل (3). إما في اليوم السابع من التجربة ازدادت التغيرات المرضية حيث تمثلت بزيادة النخر ألتجلطي مع نخر شامل للانوية الكبدية وتغيرات دهنية إضافة إلى ارتشاحات بالخلايا اللمفية شكل (4، 5). في اليوم 14 تمثلت التغيرات الكبدية بزيادة انتشار النزف والنخر ألتجلطي مع ارتشاح بالخلايا العدلات واللمفية شكل (6).

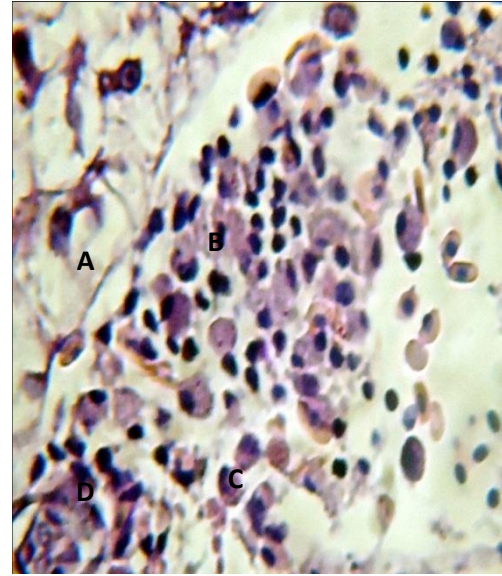


شكل (2) مقطع نسجي لكبد سمكة الكارب الاعتيادي للمدة 3 أيام بتركيز 3.758 ppm ccl₄. لاحظ A

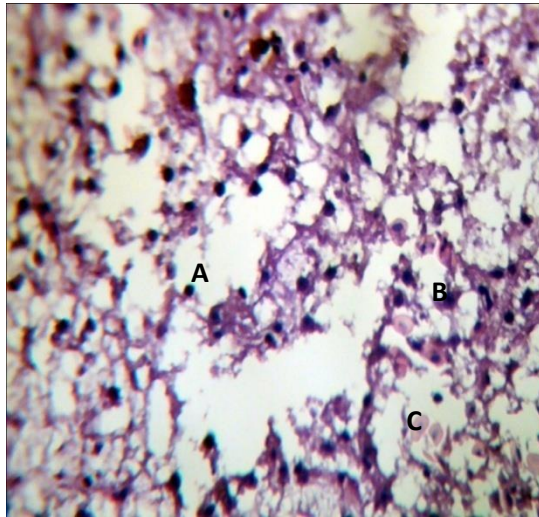
التغيرات الدهنية B: احتقان الأوعية الدموية: صبغة (H&E)، X40



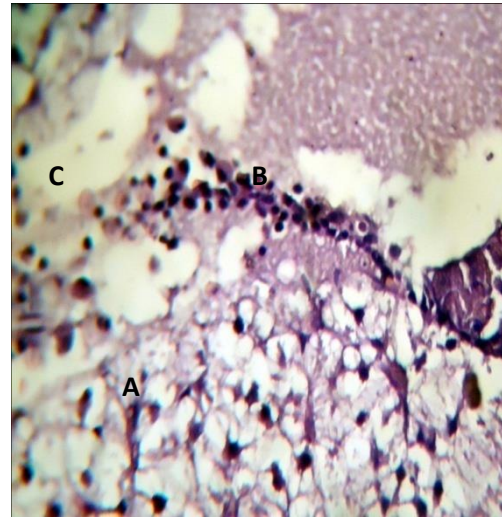
شكل (4) مقطع نسجي لكبد سمكة الكارب الاعتيادي للمدة 7 أيام بتركيز 3.758 ppm ccl_4 . لاحظ A: تنخر الأنوية الكبدية B: تغيرات دهنية: صبغة (H&E)، X40.



شكل (3) مقطع نسجي لكبد سمكة الكارب للمدة 3 أيام بتركيز 3.758 ppm ccl_4 . لاحظ A: التغيرات الدهنية B: الخلايا اللمفية C: خلايا العدلات D: النتروفيل واحتقان ونزف: صبغة (H&E)، X40.



شكل (6) مقطع نسجي لكبد سمكة الكارب الاعتيادي للمدة 14 أيام بتركيز 3.758 ppm ccl_4 . لاحظ A: تنخر الخلايا الكبدية B: ارتشاح بالخلايا العدلات C: نزف دموي: صبغة (H&E)، X40.



شكل (5) مقطع نسجي لكبد سمكة الكارب الاعتيادي للمدة 7 أيام بتركيز 3.758 ppm ccl_4 . لاحظ A: نخر الانوية الكبدية B: ارتشاح الخلايا الالتهابية منها الخلايا اللمفية C: تغيرات دهنية: صبغة (H&E)، X40.

التأثير السمي لرابع كلوريد الكربون على الكبد أدى إلى رفع مستويات إنزيمي الكبد (ALT و AST) في مصلى الدم وهذا يدل على وجود تخريب في أنسجة وخلايا الكبد والمتمثل بـلتنكس أدهني والتخثرات والنزف إن الجذور الحرة ترتبط مع جزيئات الخلية (الحامض النووي، البروتينات، الدهون) تؤدي إلى تحطم نسيج الكبد وموت الخلية الكبدية وخروج الخماثر وارتفاع مستواها في مصلى الدم حيث يعتبر ارتفاعها مؤشر لتلف الكبد hepato Toxic (24). كما وجد إن رابع كلوريد الكربون يؤدي إلى اضطراب في نظام الأوكسدة في الأسماك مسبب حدوث حالة ارتفاع مستوى الإنزيمات في مصلى الدم والتي تعتبر كمؤشر لتلف الكبد (25). وبينت الدراسات حول كبد الإنسان إن إنزيم cytochrome P450 (CYP2 E1) يعتبر الإنزيم الرئيسي المسؤول عن تنشيط مادة رابع

كلوريد الكربون وتعتبر عوامل مساعدة تختزل رابع كلوريد الكربون إلى مواد وان أول تخريب حيوي كيميائي يحدث من خلال السمية الناتجة من رابع كلوريد الكربون هو أكسدة الدهون وانه يتحول في الميكروبيومات إلى مواد عالية السمية هي CCl_3 trichloromethyl الكلوروفورم التي تتفاعل مع الأوكسجين مكونا الجذور ($CCl_3O\cdot$) التي تشرع في عملية أكسدة الدهون كما وان ايض رابع كلوريد الكربون يحدث بصورة رئيسية في الكبد بالرغم من انه يحدث بالأنسجة الأخرى وهذه المواد تسبب إتلاف الخلايا الكبدية في الحيوانات المختبرية كالجردان والفئران كما هو الحال في الإنسان (26، 27، 28). وهذا ينطبق على الفقريات غير اللبونة مثل الطيور والأسماك مثل اسماءك (*Salmo gairdneri Rich*) rainbow trout والبلطي. الكلوروفورم يستطيع إن يتفاعل مع الأوكسجين مكونا مادة ($CCl_3O\cdot$) trichloromethylperoxyl radical وهذه المادة عالية الفعالية من الممكن إن تكون lipid peroxidation الذي يعبر عن الميكانيكية المرضية المهمة في إتلاف الكبد المتسببة بواسطة رابع كلوريد الكربون أو تتفاعل مره أخرى تنتج مادة ($COCl_2$) phosgene (23، 29). رابع كلوريد الكربون يؤيض الى المكونات السامة بواسطة نظام mixed function oxidase system (MFOS) وال glutathione (GSH) peroxidase (GSH) يلعب دورا في إزالة سم ذلك الايض وتتم عملية إنتاج الجذور الحرة أثناء عملية ايض رابع كلوريد الكربون والتي تعتبر وسائط مهمة في عملية الايض (30). إن الاحتقان والنزف في أنسجة الكبد والارتفاع الحاصل في إنزيم (ALT وAST) أثناء الدراسة يتفق مع دراسة أجريت على كبد اسماءك الكارب الاعتيادي حيث وضع في وسط زرعي خلال فترة أربع ساعات معاملة برابع كلوريد الكربون بتركيز 8 mM وبعد إجراء الفحوصات أدى إلى ارتفاع في إنزيمات الكبد (ALT&AST) (11). كما يتفق مع الدراسة التي أجريت على اسماءك (*Puntius conchonus*) Rosy Barb المعاملة برابع كلوريد الكربون لمدة 96 ساعة التي أوجدت تغيرات مرضية نسجية شديدة خاصة في الكبد بعد تعرضها إلى تراكيز مختلفة (5، 7.5، 10) ملغم/ لتر أدت إلى تنخر الخلايا الكبدية مع وجود بؤر نخرية وزيادة في ارتشاح عدد كريات الدم البيض الأحادية (8).

المصادر

1. U.S. Environmental Protection Agency (EPA).(2010). Last updated October 1, 2010. <http://www.epa.gov/rpdweb00/radionuclides/technetium.html> Accessed 4 November, 2010.
2. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2005). Toxicological Profile for Carbon Tetrachloride. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, GA: U.S.
3. WHO. (World Health Organization). (2004). Carbon tetrachloride, (Environmental health criteria; 208) National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, the Netherlands. PP2-3.
4. Parker, T. R.; Howd, R. & Robles, H. (2005). Carbon Tetrachloride. Published by Elsevier Inc., PP. 426-428.
5. Miranda, A. L.; Roche, H. & Randi, M. A. (2008). Bioaccumulation of chlorinated pesticides and PCBs in the tropical freshwater fish *Hoplias malabaricus*: histopathological, physiological, and immunological findings. Environ. Int., 34: 939-949.
6. Rosen, B. P. (2002). Transport and detoxification systems for transition metals, heavy metals and metalloids in eukaryotic and prokaryotic microbes. Comp Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol., 133: 689-693.
7. Canadian Centre for Occupational Health and Safety (CCOHS). (2004). Carbon Tetrachloride Cheminfo Chemical Profile.

8. Bhattacharya, H.; Zhang, S. & Xiao, Q. (2008). Comparison of Histopathological Alterations Due to Sublethal CCl₄ on Rosy Barb (*Puntius conchonius*) and Amphioxus (*Branchiostoma belcheri*) with Implications of Liver Ontogeny. *Toxicol. Mechanisms and Methods*, 10:627-633.
9. Ogeturk, M.; Kus, I.; Colakoglu, N.; Zararsiz, I.; Ilhan, N. & Sarsilmaz, M. (2005). Caffeic acidphenethyl ester protects kidneys against carbontetrachloride in rats. *J. Ethnopharmacol.*, 97: 273-280.
10. WHO. (World Health Organization) .(2011). Carbon tetrachloride health and safety guide world health organization for the International Programme on Chemical Safety, world health organization, GENEVA.
11. Hassan, M.; Arash, A.; Hadi, C.; Saeed, M. & Fereshteh, D. (2010). The Protective Effect of Liquorice Plant Extract on CCl₄-Induced Hepatotoxicity in Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Vet. Res. Forum.*, 1(3): 158-164.
12. Weber, L. W; Boll, M. & Stample, A. (2003). Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev. Toxicol.*, 33: 105-136.
13. Guojun, Y.; Liping, C. & Pac, X. (2010). Hepatoprotective and antioxidant effects of Glycyrrhiza glabra extract against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced hepatocyte damage in common carp (*Cyprinus carpio*) *Fish. Physiol. Biochem.*, 37:209-216.
14. Meng, X. & Ding, Q. (2004). The causes of fish (liver and gall syndrome) and methods for prevention and control. *Reserv. Fish*, 24:65.
15. Reitman, S. & Frankel, S. (1957). *Biochemical analysis: Amer. J. Clin. Path.*, 28: 56.
16. Goldstein, A.; Aronw, L.; Kalman, S. M.; Wiley, J. & Sons, A. (1974). *Principles of drug actions*. 2nd ed. New York, Sydney, Toronto., 2:376-394.
17. Casarett and Doll's. (2003). *Toxicological the basis science of poisons*(3rd ed.) pp: 195- 220 MacMillan(ed.) Publishing Company. New York, USA.
18. Preece, A. (1959). *A manual for histologic technics*.1st Ed. London.
19. Luna, L. G. (1968). *Manual of Histological Staining Methods of Armed Forces Institute of Pathology*, 3rd ed. Mc Graw-Hill Book G. New York, 4:158-169.
20. Snedecor, G. W. & Cochran, W. G. (1989). *Statistical Methods*. 7th ed. The State University Press American, Iowa.
21. Brahmane, R. I.; Pathaki, S. S.; Wanmali, V. V.; Salwe, K. J.; Premendran, S. J. & Shinde, B. B. (2010). Anti and scorpion venom activity of andrographispaniculata. *Asian J. Pharm. and Clin. Res.*, 3 (4): 76- 79.
22. Kotsanis, K. & Metcalfe, C. D. (1991). Enhancement of hepatocarcinogenesis in rainbow trout with carbon tetrachloride. *B. Environ. Contam. Tox.*, 46:879-886.
23. Chen, C. Y.; Wooster, G. A. & Bowser, B. A. (2004). Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrovulnificus Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin or copper sulphate. *Aquaculture*, 239:421-443.
24. Johnson, D. E. & Kroening, C. (1998). Mechanism of early carbon tetra chloride toxicity in cultured rat hepatocytes. *Pharmacol. Toxicol.*, 83: 231-239.
25. Rasool, M. K.; Sabina, E. P. & Ramya, S. R. (2010). Hepatoprotective and antioxidant effects of gallic acid in paracetamol-induced liver damage in mice. *J. Phar. Pharmacol.*, 62: 638-643.

26. Zangar, R. C.; Benson, J. M. & Burnett, V. L. (2000). Cytochrome P450 2E1 is the primary enzyme responsible for low-dose carbon tetrachloride metabolism in human liver microsomes. *Chem. Biol. Interact.*, 125:233-243.
27. Abraham, P.; Wilfred, G. & Cathrine, S. P. (1999). Oxidative damage to the lipids and proteins of lungs, testes and kidney of rats during carbon tetrachloride intoxication. *Clin. Chim. Acta*, 289:177-179.
28. Wong, F. W.; Chan, W. & Lee, S. S. (1998). Resistance to carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice which lack CYP2E1 expression. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 153:109-118.
29. Horn, F.; Lindenmeier, G.; Grillhosl, C.; Moc, I.; Breghold, S.; Schnider, N. & Munster, B. (2003). *Biochimie humaine*. Paris: Médecine- Sciences Flammarion., 512-535.
30. Milane, H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydantou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. UNIVERSITE LOUISPASTEUR STRASBOURG I. P.268.