مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 29 (2)، 24- 49، 2016

دور فيتامين هـ في الوقاية من التأثيرات النسجية المرضية التي تسببها خلات الرصاص في اعضاء سمكة البلطي احمر البطن *Coptodon zillii* (Gervais, 1848)

علي عبد اللطيف العلي

قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة البصرة، البصرة، العراق

المستخلص: تم في الدراسة الحالية تقييم دور جرعة محددة من الفيتامين هـ في الحد من التأثيرات المرضية النسجية التي تحدثها خلات الرصاص في اعضاء (الغلاصم والكبد والكلية والامعاء) سمكة البلطي احمر البطن *Coptodon zillii* ، فقد جلب 90 سمكة منها الى المختبر وقسمت بعد اقلمتها الى ثلاث مجاميع وضمت كل مجموعة مكررين وبواقع ثمانية اسماك لكل مكرر، عرضت المجموعة الاولى والثانية الى تركيز 11 ملغم \ لتر من خلات الرصاص وعدة المجموعة الثالثة كمجموعة السيطرة، وغذيت المجموعة الاولى على عليقة خالية من الفيتامين هـ بينما غذيت المجموعة الثانية على عليقة تحتوي تركيز 300 ملغم \ كلغم عليقة من الفيتامين هـ. وبينت النتائج ان خلات الرصاص ادت الى حدوث تغيرات نسجية مرضية كبيرة ومتنوعة في اعضاء أسماك المجموعة الاولى ، ففي الغلاصم لوحظ تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية والنزف Bleeding وفرط التنسج Hyperplasia وانتفاخ Swelling الخلايا الظهارية وانفصال Detachment النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية، اما في الكبد فظهرت مساحات واسعة تعاني الخلايا فيها من من التنكس البالونيdegeneration Ballooning والتخر Massive hepatic necrosis فضلا عن التغيرات الاخرى كخلل التنسج Dysplasia و انشاح الخلايا الالتهابية، وفي الكلية ظهرت معظم النبيبات الملتوية البعيدة و القريبة متنكسة مع اختفاء الحافة الفرشاتية للأخيرة وتنخر الخلايا الظهارية وانسلاخها Sloughing وضمور Atrophy الكبيبات وتوسع حيز بومان فيها، وفي الامعاء لوحظ تنكس وتنخر النسيج الظهاري وتفكك النسيج الضام للصفيحة الاصيلة وفرط تنسج في الطبقة تحت المخاطية. واخفقت حدة تلك التغيرات بشكل واضح في اعضاء أسماك المجموعة الثانية - رغم وجود التركيز نفسه من خلات الرصاص- عند تغذية الاسماك على عليقة تحتوي على الفيتامين هـ كما لوحظ انحسار انتشار التغيرات النسجية المرضية فضلا عن قلة تنوعها وظهور تغيرات طفيفة في اعضاء السمكة الاربعة، وهذا يؤكد ان التركيز 300 ملغم فيتامين هـ لكل كيلو غرام من العليقة افضل في الحد من التأثيرات النسجية المرضية التي يحدثها الرصاص وله دور وقائي من الامراض والحد من تطور التأثيرات النسجية المرضية.

الكلمة المفتاحية: التغيرات النسجية المرضية، خلات الرصاص، الفيتامين هـ، مضادات الاكسدة، *Coptodon zillii* .

المقدمة

ان تعرض البيئة المائية الى التلوث بالمواد السامة تسبب قلقا متزايدا في جميع أنحاء العالم، وخاصة في البلدان النامية. وعادة لا يكون القلق المباشر على صحة الإنسان ورفاهه فقط اذ ان للتلوث تأثيرات سلبية على الكائنات المائية. وتعد الاسماك واحدة من الكائنات المائية المهمة من عدة جوانب منها الجانب الصحي والاقتصادي وتراكم الملوثات في انسجتها بكميات كبيرة يجعل منها غذاء غير صالح للإنسان فضلا عن الخسائر الاقتصادية التي قد تحدث في الثروة السمكية بسبب الهلاكات وضعف النمو، ومعظم الملوثات تكون محبة للدهون ولا تتأثر سلبا بالماء ولها القابلية ان تتراكم في الانسجة كما ان لها القدرة على الارتباط مع بروتينات الجسم مسببة تغيرات نسجية مرضية (9). وتعد العناصر الثقيلة واحدة من اكثر الملوثات انتشارا لاسيما مع تزايد النشاطات البشرية (41) اذ يسبب التلوث بالعناصر الثقيلة انتاج للجذور الحرة في الانسجة بسبب الجهد التأكسدي الذي تحدثه في الخلايا (20)، وهي بهذا ممكن ان تحطم الخلايا مسببة اضرار في الاعضاء واصابتها بالأمراض كأمراض القلب والسرطان وتتضرر بفعلها ايضا انسجة الكبد والرئة والكلى والجهاز العصبي وغيرها (16، 40) وبالتالي تفشل تلك الاعضاء وظيفيا (24).

يمكن لمكونات الغذاء ان تلعب دورا في تقليل التأثيرات النسجية المرضية التي تحدث في الأنسجة كإضافة مضادات الاكسدة ومنها الفيتامينات وتعمل مضادات التأكسد على وقاية الخلايا من تأثير الجذور الحرة من خلال التداخل معها بصورة مباشرة مسببة استقرارها (21). و الفيتامينات مركبات عضوية ضرورية لإدامة صحة الاحياء ومنها الاسماك وكذلك لضمان نموها الطبيعي، الا ان الاسماك العظمية لا تستطيع تصنع الفيتامين في الجسم و تجهز به عن طريق الغذاء (8 ، 7). الفيتامين هـ احد تلك الفيتامينات وهو من الفيتامينات الذائبة في الدهون ويعد من المكملات الغذائية و معظم فوائده تأتي من خلال تجنب نقصه من الغذاء، ويوجد على ثمانية اشكال كل شكل له فعاليته الوظيفية الخاصة في الجسم (7 ، 39)، و اهم شكل فعال لفيتامين هـ هو α-tocopherol اذ انه يعمل على تعزيز عمل الجهاز المناعي لاسيما الوظيفة المناعية للخلايا اللمفية T، اضافة الى دوره كمضاد تأكسد عالي الفعالية (12، 37).

وجد Mourente *et al*. (26) ان مضادات التأكسد تحمي الاسماك بشكل ملحوظ من سمية المواد المؤكسدة اذ تأثرت انزيمات الكبد المضادة للتأكسد ليافعات سمكة *Sparus aurata* بسبب احتواء غذائها على زيوت تأكسدية لكن لاحظ الباحث ان مضادات التأكسد كفيتامين هـ قلل من تلك التأثيرات بشكل جزئي. كما اثبت Fernanda *et al*. (13) الفعل الـ. وقي لمضادات التأكسد من التغيرات البايوكيميائية في سمكة *Piaractus mesopotamicus* واشار الى دورها في الوقاية من اثر التعرض للنحاس ، وبين El-Shebly (10) ان الجرعة 300 ملغم من فيتامين هـ لكل كيلو غرام من الغذاء لها دور ايجابي في تقليل الاضرار التي يسببها الرصاص في مستوى هرمون النمو في مصل سمكة *Oreochromis niloticus* وتقليل تراكم الرصاص في عضلاتها. وكد Kadry *et al*. (22) الدور الوقائي لفيتامين هـ في الحد من تأثير مبيد atrazine في احداث امراض نسجية في كبد سمكة *Clarias gariepinus* ، و لاحظ Topal *et al*. (36) قلة ظهور التغيرات النسجية المرضية التي يحدثها التركيز تحت القاتل من الكادميوم في

كبد سمكة *Salmo trutta* وكليتها عند معاملتها بمادة Humic acid كمضاد للتأكسد، كما بين Mekkawy *et al*. (25) دور فيتامين هـ في تقليل حدة التأثيرات المرضية النسجية في غلاصم سمكة *Oreochromis niloticus* وكليتها وكبدها التي تحدثها تراكيز تحت قاتلة من الكادميوم. واستعمل كل من Harabawy and Mosleh (17) عدد من مضادات الاكسدة (فيتامين A و C و E و selenium) لمعرفة دورها ضد السمية الوراثية والخلوية على كريات الدم الحمر لسمكة *Oreochromis niloticus* بعد خمسة وسبعة ايام من التعرض لعدد من العناصر الثقيلة (الكادميوم و الكوبر والرصاص والزنك).

لابد من اجراء المزيد من الدراسات حول تقييم جرع الفيتامينات التي يحدث فيها الوقاية من الاصابة بالأمراض في الظروف التأكسدية او منع تطور الامراض و تأخير حدوثها ليتسنى فيما بعد اجراء التطبيق العملي لهذه النتائج في ظل ظروف مزارع الاسماك مع مراعاة تكلفة هذه الفيتامينات وفترة استعمالها، لذا تأتي الدراسة الحالية لأجراء المزيد من التقييم لدور جرعة محددة من فيتامين هـ 300 ملغم \ كغم عليقة في الوقاية من الاثار السمية الناتجة عن التعرض للرصاص خلال فترة محددة لكون هذه الجرعة قد استخدمت في بعض الدراسات لكنها لم تتطرق الى دورها في الحد من التغيرات المرضية النسجية التي يحدثها الرصاص في الانسجة، وسيتم استخدام سمكة البطي احمر البطن *Coptodon zillii* كعينة للدراسة الحالية.

طريقة العمل

جُلبت 90 سمكة نشطة وسليمة من البلطي احمر البطن *Coptodon zillii* من شط العرب بلغ معدل طولها 12.7±0.7سنتمتر ومعدل وزنها 65.14±9.5 غرام، وتم اقلمتها لمدة اسبوعين في احواض سعتها 150 لتر في مختبر تربية الاسماك في البيت الحيواني التابع الى قسم علوم الحياة، غذيت الاسماك بنظام غذائي خالي من الرصاص (عليقة جلبت من قسم الاسماك في كلية الزراعة)، وبعد الاقلمة قسمت 48 سمكة بالتساوي الى ثلاث مجاميع ضمت كل مجموعة مكررين وبواقع ثمانية اسماك لكل مكرر، ووضعت الاسماك في احواض سعة 60 لتر احتوت على ماء حنفية خالي من الكلور، عرضت المجموعة الاولى الى تركيز 11ملغم \ لتر من خلات الرصاص Lead acetate (التركيز نصف القاتلLC50 للرصاص خلال 96 ساعة هو 29.07 ملغم \ لتر واستخرج باستخدام ما تبقى من الاسماك) و غذيت بعليقة اعتيادية، في حين عرضت المجموعة الثانية الى التركيز 11ملغم \ لتر من خلات الرصاص و غذيت بعليقة احتوت على فيتامين هـ بتركيز 300 ملغم \كغم عليقة، وتركت المجموعة الثالثة كمجموعة سيطرة اذ لم تعامل بخلات الرصاص وغذيت بعليقة اعتيادية خالية من الفيتامين للمقارنة.

غذيت الاسماك خلال فترتين يوميا الفترة الاول بين الساعة التاسعة و العاشرة صباحا والفترة الثانية بين الساعة الواحدة و الثانية ظهرا وبمعدل 5% من وزن الجسم وتم ازالة بقايا الغذاء والفضلات بطريقة السيفون وعوض النقص في ماء الاحواض المعاملة بماء يحتوي تركيز من الرصاص حسب تركيزه في الحوض ماعدا حوض مجموعة السيطرة اذ عوض بماء خالي من الرصاص. تركت الاسماك تحت ظروف التغذية اعلاه لمدة 15 يوم وتحت ظروف غرفة التربية من درجة حرارة و ضوء اذ تراوحت درجة حرارة الماء بين 25- 28م وكانت فترة الضوء 13ساعة والظلام 11ساعة ، وزودت الاحواض بمضخات تهوية للمحافظة على

الاوكسجين المذاب بمعدل 8.2±0.3 ملغم \ لتر، وكانت الدالة الحامضية PH للماء بمعدل 7.6 ±0.31.

اخذت خمسة مكررات من اسماك كل مجموعة بعد 15 يوم من المعاملة، وتم تشريح الاسماك لغرض الحصول على عينات من انسجة اعضاء الغلاصم والكبد والكلية والامعاء، واتبعت طريقة Humason (1972) لتحضير المقاطع النسجية بطريقة شمع البارافين من تلك الاعضاء بعد تثبيتها بمثبت بوين Bouin's fixative لمدة 20 ساعة ، واستعمل المشراح الدوار نوع Leica في تقطيع قوالب الشمع . نقلت المقاطع الى حمام ماني درجة حرارته 45 مئوية ثم حملت على شرائح زجاجية نظيفة ومطلية بطبقة خفيفة من زلال ماير ولونت باستعمال ملونة الهيماتوكسلين والايوسين وفحصت المقاطع النسجية وصورت باستعمال مجهر تصويري نوع Zeiss . واعتمدت طريقة Ahmed *et al*. (1) في الاشارة الى ضراوة التغيرات المرضية النسجية في الاعضاء المدروسة اذ تشير العلامة (-) الى عدم وجود التغيير المرضي والعلامة (+) الى انتشار طفيف للتغيير المرضي والعلامة (++) الى انتشار متوسط للتغيير المرضي والعلامة (+++) الى انتشار كبير للتغيير المرضي.

النتائج

1-الغلاصم

1- عليقة خالية من الفيتامين هـ

بين الفحص المجهري لمقاطع غلاصم سمكة البلطي احمر البطن بعد 15 يوم من المعاملة بتركيز 11 ملغم \ لتر خلات الرصاص ظهور عدة تغيرات مرضية نسجية شملت حيزاً واسعا من النسيج جدول (1)، كما تنوعت التغيرات في مناطق مختلفة على طول الخيط الغلصمي وقد شملت تلك التغيرات بتغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية باتخاذها شكل الحرف L والشكل زكزاك وغيرها (الاشكال 1- 3) اذ فقدت شكلها المستقيم المميز لها الذي ظهرت عليه في غلاصم مجموعة السيطرة (شكل 4)، ولوحظ احتقان الاوعية الشعرية الدموية Congestion وتوسعها Aneurysm في الصفائح الغلصمية الثانوية (شكل 1 و2 و5)، وفي بعض الصفائح الغلصمية الثانوية فقدت الاوعية الشعرية الدموية في الاطراف الحرة فقط من الصفائح(شكل6)، ولوحظ وجود نزف Bleeding في بعض مناطق الصفائح الغلصمية الثانوية(شكل5). وبينت نتائج الفحص المجهري لمقاطع غلاصم الاسماك حدوث حالة فرط التنسج Hyperplasia للنسيج الظهاري في الصفائح الغلصمية الثانوية ولوحظ ان هذا التغير المرضي يكون بحالتين في الاسماك المدروسة، الحالة الاولى ظهر فيها فرط التنسج في الجزء القاعدي من الصفائح الغلصمية الثانوية (شكل 2 و3 و6)، اما الحالة الاخرى فظهر فيها فرط التنسج وهو يمتد على طول الصفائح الغلصمية الثانوية عندها تظهر هذه الصفائح ملتصقة مع بعضها ويصعب تمييز الحدود الفاصلة بينها ماعدا الاوعية الشعرية الدموية (شكل 2 و5 و6)، واحيانا توجد الحالتين من فرط التنسج في الخيط الغلصمي الواحد وفي المقطع نفسها (شكل 2 و6)كما شوهد انفصال Detachment النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية ويحدث على طول الصفيحة الغلصمية الواحدة ويكون ذلك في غالبية الصفائح الغلصمية الثانوية للخيط الغلصمي، ويحدث الانفصال احياناً من الجانبين في المقطع النسجي وفي احيانا اخر يحدث من جانب واحد فقط من الصفيحة الغلصمية الوحدة وقد يترافق مع وجود بدايات فرط التنسج في قاعدة الصفائح الغلصمية

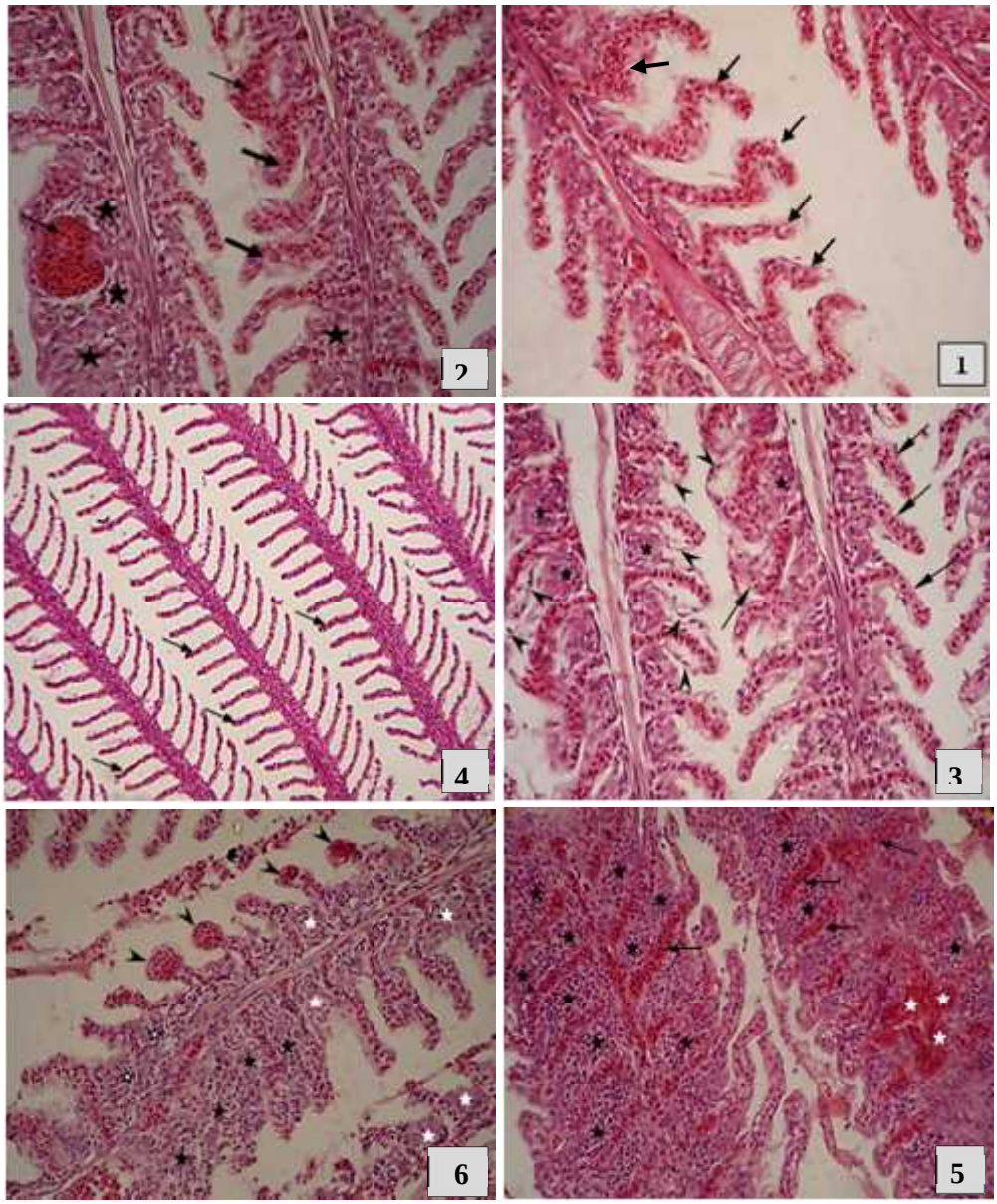
الثانوية (شكل3 و 7). وتجمعت خلايا الكلورايد في مناطق متفرقة من الخيط الغلصمي لاسيما المناطق التي حدث فيها فرط النسج (شكل 8) ولوحظ في بعض المقاطع النسجية لغلاصم الاسماك انتفاخ Swelling الخلايا الظهارية للصفائح الغلصمية الثانوية (شكل 9).

2-عليقة تحتوي على الفيتامين هـ

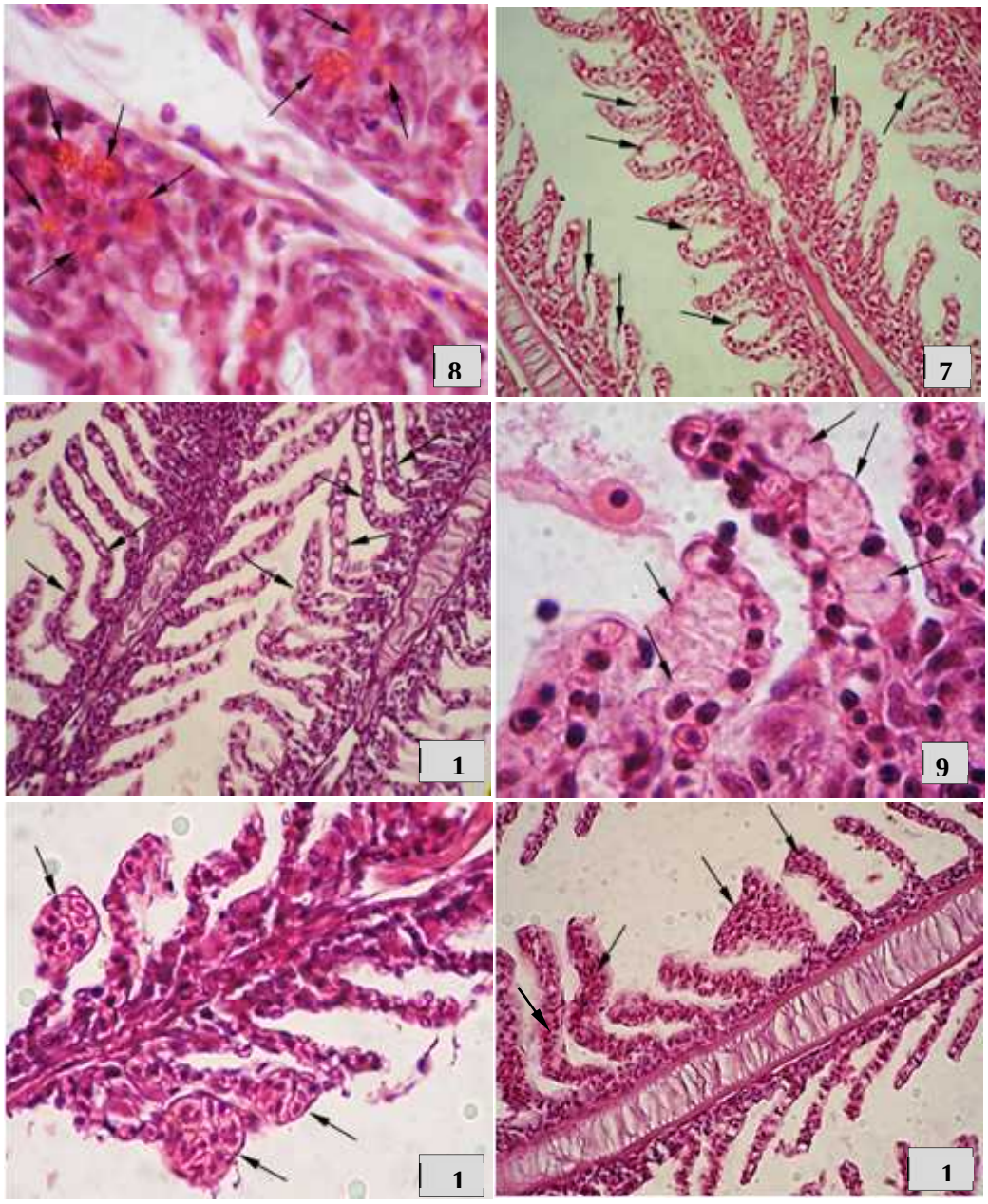
اظهر الفحص المجهري لمقاطع غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين بعد 15 يوم من المعاملة بتركيز 11 ملغم \ لترخلات الرصاص تغيرات نسجية مرضية طفيفة مقارنة مع المجموعة السابقة جدول (1)، اذ اقتصرت تلك التغيرات في بعض الخيوط الغلصمية على تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية (شكل 10) وفي خيوط اخرى ترافق تغير الاشكال مع احتقان الاوعية الشعرية الدموية وتوسعها في عدد قليل من الصفائح الغلصمية (شكل 11)، ولوحظ في صفائح غلصمية اخرى ان الاحتقان للأوعية الشعرية الدموية حدث في الاطراف الحرة لتلك الصفائح (شكل 12). ومن التغيرات الطفيفة التي لوحظت هو فرط تنسج النسيج الظهاري الذي ظهر في مناطق محدودة جدا في الخيوط الغلصمية ولم يشمل الا عدد قليل من الصفائح الغلصمية الثانوية وغالبا ما كان في بدايات ظهوره (شكل 13). بينت نتائج الفحص النسجي ان بعض الخيوط الغلصمية قد اقتصرت فيها التغيرات المرضية النسجية على انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية ولوحظ ان ذلك الانفصال في بعض الخيوط غالبا يكون في النصف القاعدي للصفائح الغلصمية الثانوية وبندر امتداده على طول الصفيحة (الاشكال 14 - 16).

جدول (1): يوضح شدة التغيرات المرضية النسجية في كل من غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين و المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين.

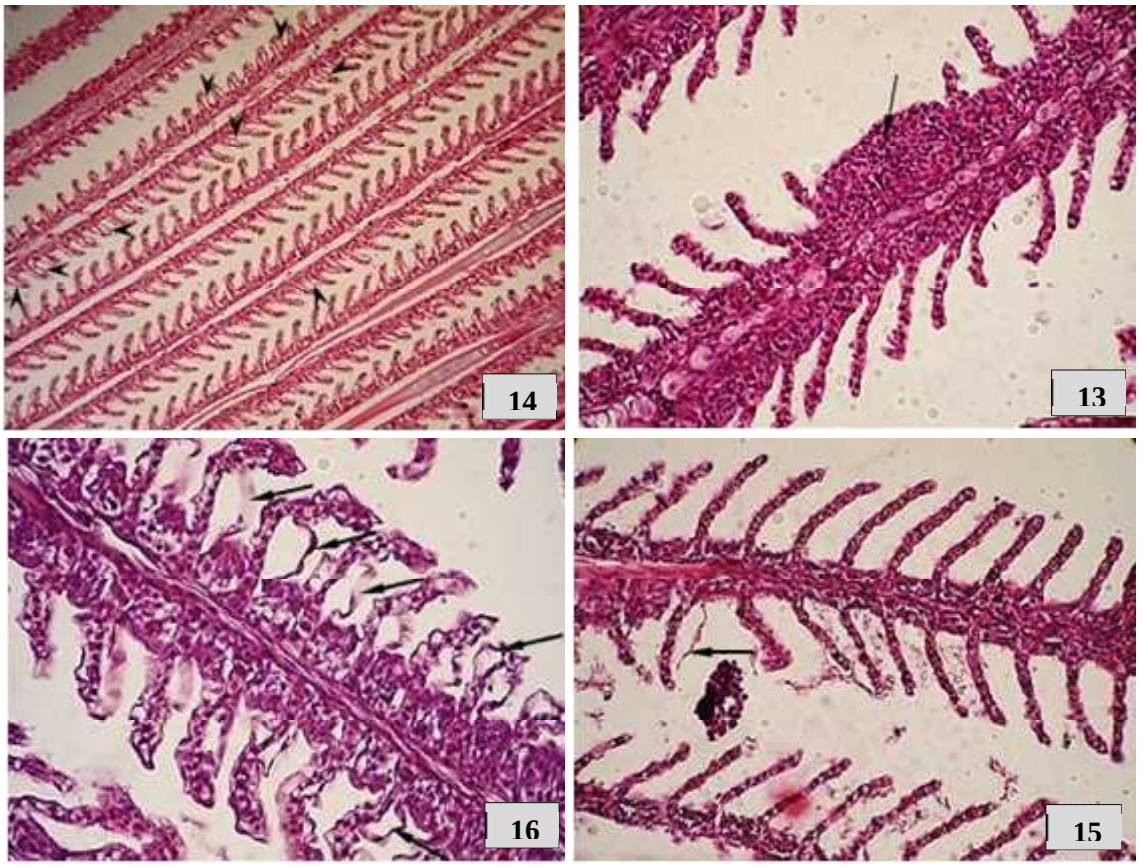
العضو	التغير المرضي	عليقة بدون فيتامين	عليقة مع الفيتامين
الغلاصم	تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية	++	+
	نزف دموي	+	-
	احتقان وتوسع الأوعية الشعرية الدموية	+++	+
	فرط تنسج	+++	+
	انفصال النسيج الظهاري	+++	++
	تجمع خلايا الكلورايد	++	-
	انتفاخ الخلايا الظهارية	+	-



شكل (1): مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يظهر فيه تغير اشكال الصفائح الغلصمية الثانوية واحتقان الاوعية الشعرية الدموية فيها (السهام)،400X, H&E. شكل 2- مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة خالية الفيتامين يوضح تغير اشكال الصفائح الغلصمية الثانوية (السهام الغليظة) واحتقان وتوسع الاوعية الشعرية الدموية(السهام النحيفة) وفرط تنسج (النجوم)،400X, H&E.شكل 3 - مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح تنوع التغيرات المرضية النسجية في الخيط الغلصمي الواحد لاحظ تغير اشكال الصفائح(السهام) و انفصال النسيج الظهاري على طول الصفائح الغلصمية الثانوية (رؤوس السهام) وبدايات فرط التنسج (النجوم) عند قواعد الصفائح الغلصمية الثانوية ،400X, H&E. شكل 4 - مقطع في غلاصم اسماك مجموعة السيطرة يظهر فيه عدد من الخيوط الغلصمية السليمة، السهام تشير الى الصفائح الغلصمية الثانوية،100X, H&E.شكل 5- مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يظهر الاحتقان في الاوعية الشعرية الدموية وتوسعها(السهام) مع النزف (النجوم البيضاء) وفرط تنسج شديد يصل الى الاطراف الحرة للصفائح الغلصمية الثانوية (النجوم السوداء)، 400X H&E.شكل 6- مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يظهر احتقان الاوعية الشعرية الدموية في الاطراف الحرة فقط للصفائح الغلصمية الثانوية(رؤوس السهام) وفرط تنسج في الحالتين عند القاعدة (النجوم البيضاء) وعلى طول الصفائح الغلصمية الثانوية (النجوم السوداء)، 400X, H&E.



شكل (7) : مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يظهر فيه انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (السهام)، 400X, H&E. **شكل 8-** مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة خالية الفيتامين يظهر تجمع خلايا الكلورايد (السهام)، 1000X, H&E. شكل 9- مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يظهر انتفاخ الخلايا الظهارية (السهام) في الصفائح الغلصمية الثانوية، H&E، 1000X, **شكل 10-** مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يظهر اقتصار التغيرات على تغير اشكال الصفائح الغلصمية الثانوية (السهام)، 400X, H&E. **شكل 11** - مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يظهر تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية مع احتقان الاوعية الشعرية الدموية وتوسعها (السهام) في عدد محدود جدا من الصفائح الغلصمية الثانوية، 400X, H&E. **شكل 12-** مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يظهر احتقان الاوعية الشعرية الدموية وتوسعها في **الطرف الحرة** فقط (السهام) لعدد محدود من الصفائح الغلصمية الثانوية، 400X, H&E.



شكل (13): مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يظهر اضرار نسج للنسيج الظهاري (السهم) في مناطق محدودة في الخيط الغلصمي،200X, H&E. **شكل 14** -مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يظهر اقتصار التغيرات على انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية في معظم الخيوط الغلصمية (رؤوس السهام) ،100X, H&E. **شكل 15**-مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يظهر فيه ان معظم الصفائح الغلصمية الثانوية تبدو سليمة ويظهر في احدها انفصال النسيج الظهاري (السهم)،200X, H&E. **شكل 16**- مقطع في غلاصم اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يظهر اقتصار التغيرات على انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية واغلب الانفصال يكون فقط في اجزاء محدودة من الصفيحة الواحدة ولا يمتد على طول الصفيحة (السهام)،400X, H&E.

المفحوصة مقارنة مع مجموعة السيطرة (شكل 17)، فظهرت مساحات واسعة من كبد الاسماك تعاني من التنكس البالوني Ballooning degeneration(شكل 18) وفي اسماك اخرى ترافق ذلك مع ضمور انوية الخلايا الكبدية (شكل 19)، في حين ظهر تنخر شامل الخلايا الكبدية Massive hepatic necrosis وكان اكثر انتشارا في كبد عينات اخرمع وجود مساحات قليلة

2-الكبد

1-عليقة خالية من الفيتامين هـ

بينت نتائج دراسة المقاطع النسجية لكبد سمكة البلطي احمر البطن بعد 15 يوم من المعاملة بتركيز 11 ملغم \ لتر خلات الرصاص ان الكبد قد عانى من تغيرات نسجية مرضية كبيرة جدول (2) اختلفت شدتها بين الاسماك

للعقد مشكلة اسطوانة تحيط ببقية اجزاء العقدة وتعزلها عن برنكيما الكبد ويتجه ذلك التغير تدريجيا باتجاه وسط العقدة فتتكون عدة اسطوانات من خلايا مغزلية الشكل(شكل 26). وبينت المقاطع ان بعض هذه العقد احتوى على كتلة دموية في المركز (شكل 26) واحتوت عقد اخرى على مادة غير حية بلون احمر انتشرت بين خلايا العقدة الواحدة (شكل 25).

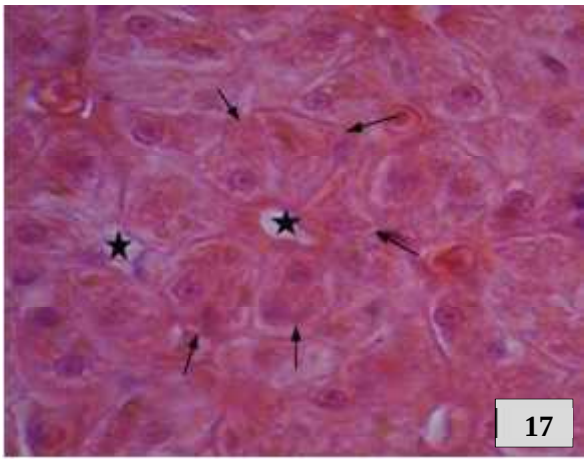
2-عليقة تحتوي على الفيتامين هـ

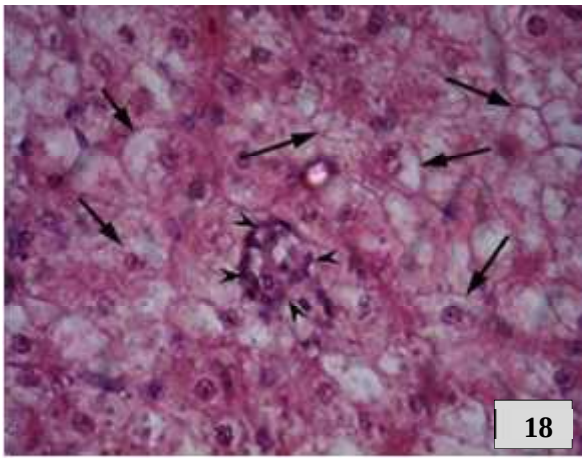
عند تغذية اسماك البلطي المعاملة بتركيز 11 ملغم \ لتر خلات الرصاص على عليقة تحتوي على الفيتامين لمدة 15 يوم لوحظ انخفاض حدة التغيرات النسجية المرضية في الكبد مقارنة مع المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين جدول (2)، فضلا عن انحسار التغيرات التي ظهرت في مساحات صغيرة من الكبد، واقتصرت هذه التغيرات في الخلايا الكبدية على التنكس البالوني ولم تشكل الخلايا المتنكسة هذه تجمعات كبيرة (شكل 27 و28). ولوحظ في معظم الاسماك المفحوصة احتقان طفيف في اشباه الجيوب الكبدية (شكل 27 و29). فضلا عن ارتشاح للخلايا الالتهابية شخص منها بوضوح الخلايا البدينة (شكل 30).

تحتوي خلايا كبدية ذات تنكس بالوني (بالشكل 20 - 22)، وتمر الخلايا المتنخرة بمراحل تدريجية تبدأ بانكماش الخلايا وضمورها يرافقه تحلل لمناطق من السايتوبلازم وبعض مناطق الغشاء البلازمي لتنتهي بتحلل كامل للسايتوبلازم واختفاء النواة والغشاء البلازمي وبقاء اجزاء من الخلايا المتحللة (الاشكال 20 -23). وبين الفحص المجهري ان تلك التغيرات في بعض مساحات الكبد قد ترافق مع حدوث توسع الاوعية الدموية والنزف من جهة (شكل22) وحدوث التوسع في الاوعية الدموية واحتقانها من جهة اخرى (شكل 23). ولوحظ ارتشاح للخلايا الالتهابية في بعض المناطق الكبدية وكان من ضمنها الخلايا البدينة Mast cell (شكل18 و 24). اظهر الفحص النسجي لكبد بعض الاسماك وجود خلل تنسج Dysplasia في البنية التركيبية لبرنكيما الكبد فظهرت تراكيب غير طبيعية كروية الشكل في مناطق متفرقة تبدو وكأنها تراكيب تشبه العقدة Node في شكلها تتميز فيها الخلايا عن الخلايا من حولها بشكلها وحجمها وقطبيتها، ويبدو ان تكون هذه العقد يمر بمراحل تدريجية يبدأ بفقدان الخلايا الكبدية قطبيتها (شكل 25) وخلال ذلك يتغير شكل الخلايا فتتخذ شكلا غير منتظما وتبدو اصغر حجما من الخلايا الكبد الطبيعية بعدها يتحول شكل الخلايا في العقدة الى المغزلي ويبدأ ذلك التغير في صف الخلايا الخارجي

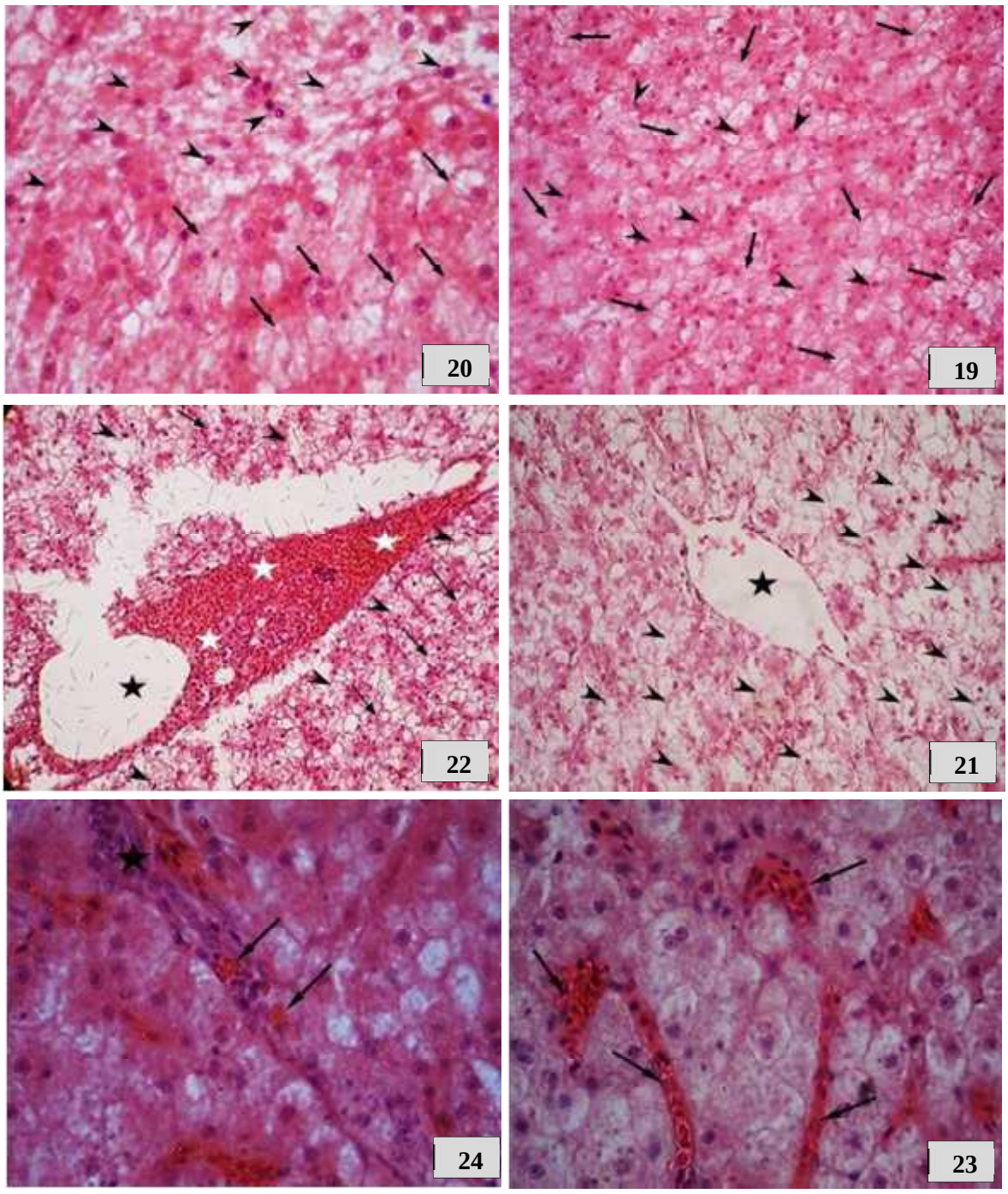
جدول (2): يوضح شدة التغيرات المرضية النسجية في كل من كبد اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين والمجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين.

العضو	نوع التغير المرضي	عليقة بدون الفيتامين	عليقة مع الفيتامين
الكبد	تنكس بالوني	+++	+
	تنخر	+++	-
	ضمور الانوية	++	-
	احتقان اشباه الجيوب الكبدية	+++	++
	ارتشاح الخلايا الالتهابية	++	++
	خلل تنسج	++	-
	توسع الاوعية الدموية الكبيرة	++	-
	نزف	++	-

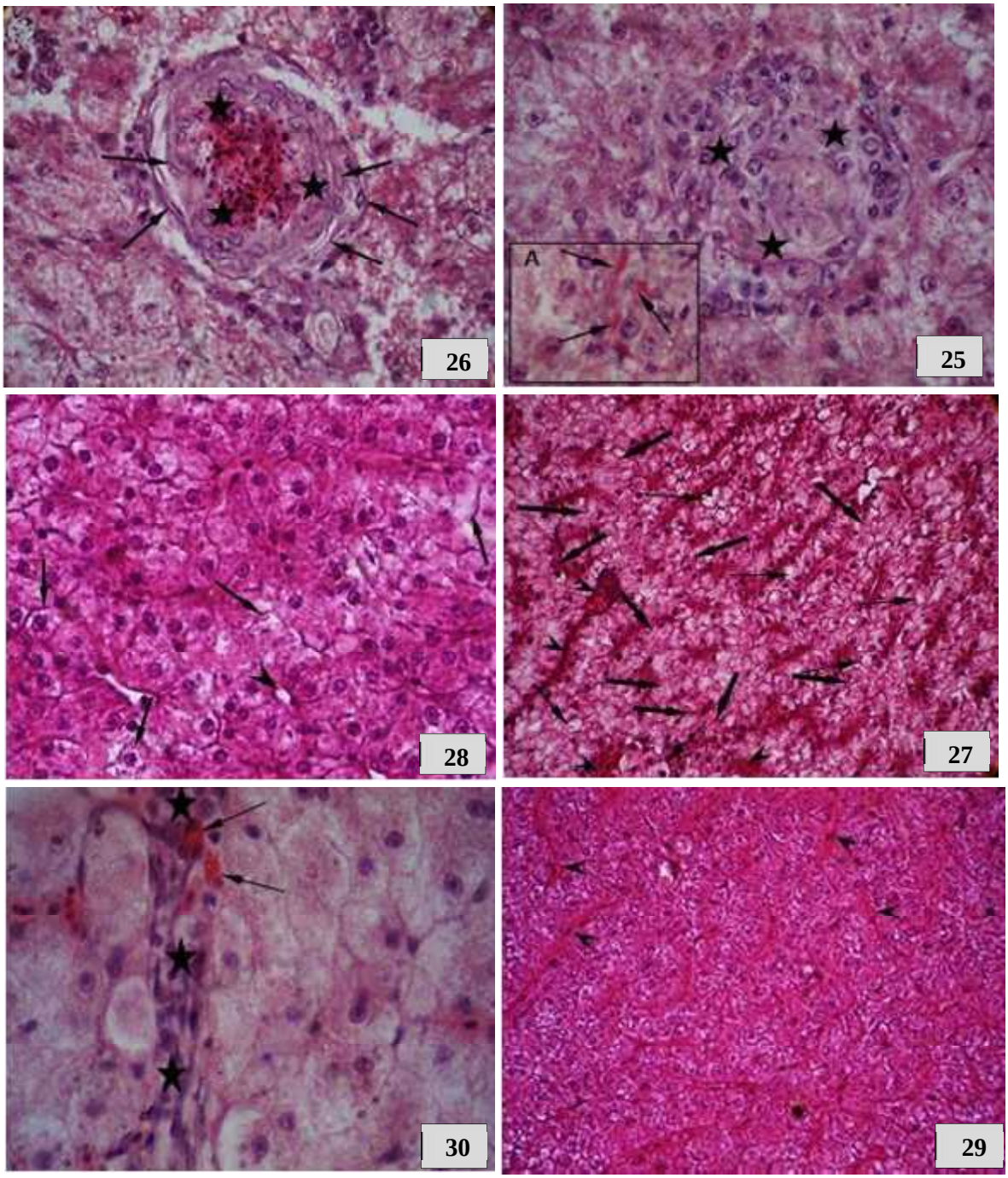




شكل (17): مقطع في كبد اسماك مجموعة السيطرة، لاحظ ترتيب الخلايا الكبدية (السهام) بشكل نبيب حول الوريد المركزي(النجمة)، 1000X, H&E. **شكل 18-** مقطع في كبد اسماك المعذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح تنكس بالوني (السهام) في بعض الخلايا الكبدية وارتشاح الخلايا الالتهابية (رؤوس السهام)، 400X, H&E.



شكل (19): مقطع في كبد اسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح تنكس بالوني (السهام) في مساحات واسعة في الكبد مع ضمور انوية الخلايا الكبدية (رؤوس السهام) ،400X, H&E. **شكل 20-** مقطع في كبد الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح تنكس بالوني (السهام) وتنخر الخلايا الكبدية (رؤوس السهام) ،1000X, H&E. **شكل 21-** مقطع في كبد الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح تنخر الخلايا الكبدية (رؤوس السهام) في مساحات واسعة في الكبد و يظهر فيها بقايا لخلايا متحللة، وتوسع الوريد المركزي(النجمة) ،400X, H&E. شكل 22- مقطع في كبد الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح نزف دموي (النجوم لبيضاء) وتوسع الوريد المركزي (الجبة السوداء)، لاحظ تنخر الخلايا الكبدية (رؤوس السهام) والتنكس (السهام) ،H&E 400X, **شكل 23** - مقطع في كبد الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح احتقان وتوسع اشباه الجيوب الكبدية (السهام) في مساحة كبدية تعاني خلاياها من التنكس ،400X, H&E. **شكل 24-** مقطع في كبد الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح ارتشاح الخلايا الالتهابية (النجمة) من ضمنها الخلايا البدينة (السهم)، 400X, H&E.



شكل (25): مقطع في كبد الاسماك المغذات على علیقة خالیة من الفیتامین یوضح خلل تنسج في الكبد یظهر على شكل تركیب یشبه العقد (النجوم)، لاحظ فقدان الخلایا لقطبیتها ،H&E ،400X لاحظ تجمع موادغیر حیة بین الخلایا بلون احمر في شكل A (السهام)، H&E ,1000X.شكل 26- مقطع في كبد الاسماك المغذات على علیقة خالیة من الفیتامین یوضح خلل تنسج على شكل تركیب یشبه العقد (النجوم) لاحظ تكون اسطوانات من الخلایا (السهام) ،H&E ,400X.شكل 27 - مقطع في كبد الاسماك المغذات على علیقة تحتوي على الفیتامین یوضح بعض الخلایا المتنكسة (السهام النحیفة) بین الخلایا السلیمة (السهام الغلیظة) مع احتقان اشباه الجیوب الكبدیة (رؤوس السهام)،H&E ,400X.شكل 28 - مقطع مكبر في كبد الاسماك المغذات على علیقة تحتوي على الفیتامین یوضح معظم الخلایا الكبدیة تبدو سلیمة ماعدا عدد قلیل منها تبدو متنكسه (السهام) لاحظ تجویف الورید المركزي(رأس السهم) یظهر طبیعي،H&E ,1000X.شكل 29 - مقطع في كبد الاسماك المغذات على علیقة تحتوي على الفیتامین یوضح عینة اخرى من الاسماك تبدو الخلایا الكبدیة سلیمة مع احتقان طفیف في اشباه الجیوب الكبدیة (رؤوس السهام)،H&E ,400X.شكل 30- مقطع في كبد الاسماك المغذات على علیقة تحتوي على الفیتامین یوضح ارتشاح الخلایا الالتهابیة (النجوم) من ضمنها البدینة (السهام) ،H&E ,1000X.

الفحص النسجي ضمور بعض الكبيبات وتوسع حيز بومان (شكل 36) فضلا عن تنخر النسيج الظهاري للكبيبات في كلية اسماك اخر (شكل 34). ولوحظ احتقان الاوعية الشعرية الدموية وتوسع تجويفها في الكبيبات (شكل 36و37). وظهرت خلايا ظهارية منسلخة Sloughing في تجويف القنوات الجامعة (شكل 38).

2 -عليقة تحتوي على الفيتامين هـ

بينت نتائج الفحص النسجي وجود تغيرات نسجية مرضية طفيفة في كلى اسماك المجموعة المغذات على عليقة الفيتامين بعد 15 يوم من المعاملة بتركيز 11 ملغم \ لتر خلات الرصاص مقارنة مع المجموعة النغذات على عليقة خالية من الفيتامين جدول (3)، وكان اكثر التغيرات النسجية انتشارا في كلى الاسماك هو حدوث التنكس البالوني في النسيج الظهاري للنبيبات الكلوية (شكل39و40)، ولوحظ معه فرط تصبغ في بعض خلايا البطانة الظهارية للنبيبات وضمور انويتها (شكل 40)،في حين اقتصرت التغيرات في الكبيبات الكلوية على تغير في حيز بومان (شكل 40) و توسع تجويف الاوعية الشعرية الدموية في الكبيبة (شكل 41).

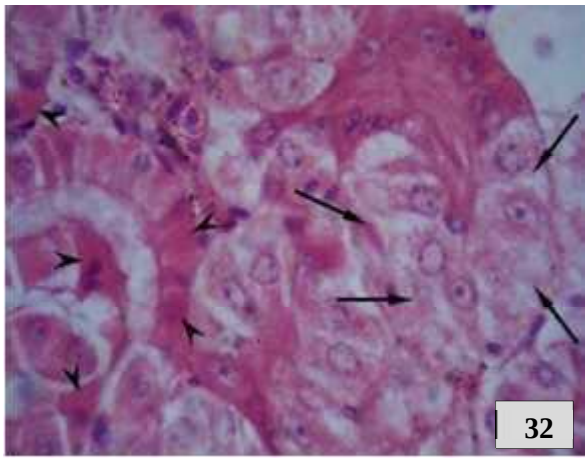
3-الكلية

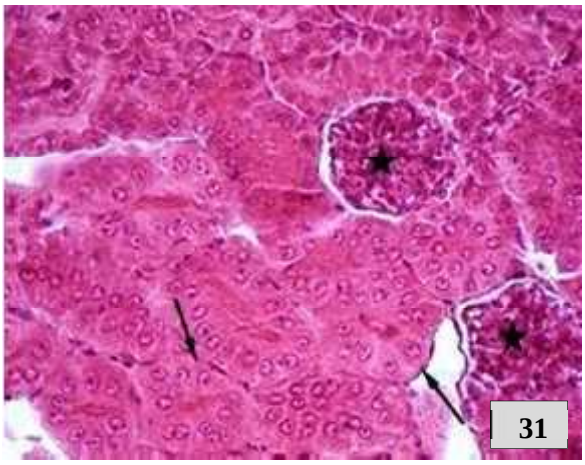
1-عليقة خالية من الفيتامين هـ

اظهر الفحص المجهري لمقاطع نسيج كلية الاسماك المعاملة بتركيز 11ملغم \ لتر خلات رصاص بعد 15 يوم من التغذية على عليقة خالية من الفيتامين وجود تغيرات نسجية مرضية كبيرة جدول (3) مقارنة مع مجموعة السيطرة (شكل 31)، و شملت تلك التغيرات كل من النبيبات الكلوية و الكبيبات, ففي النبيبات الكلوية تمثلت التغيرات بتنكس بالوني في خلايا النبيبات الكلوية القريبة (شكل 32) وفي بعض مناطق قشرة الكلية لعينات اخر ظهرت معظم النبيبات الملتوية البعيدة و القريبة متنكسة مع اختفاء الحافة الفرشاتية للأخيرة ولوحظ فرط تصبغ Hyperchromic سايتوبلازم بعض الخلايا المفردة في البطانة الظهارية للنبيبات (الاشكال 32- 34)، في حين ظهرت معظم صفيحة النسيج الظهاري لبطانة نبيبات اخر تعاني خلاياها من فرط تصبغ السايتوبلازم وضمور Atrophy انويتها (شكل 35). وبين الفحص المجهري تضرر معظم تراكيب الكلية في بعض الاسماك فإضافة الى التنكس لوحظ تنخر البطانة الظهارية في بعض النبيبات (شكل34 و36)، وفي الكبيبات الكلوية بين

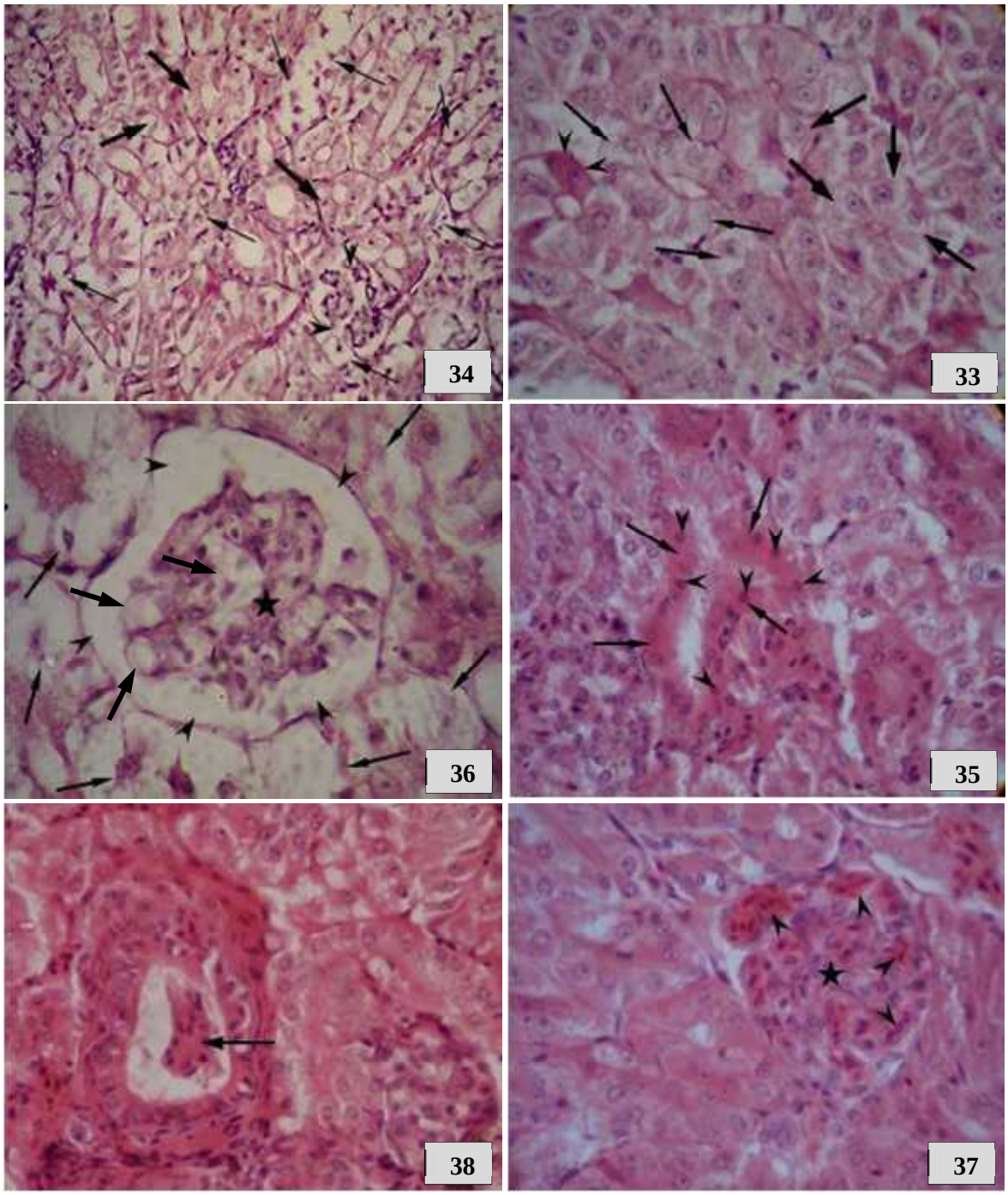
جدول (3): يوضح شدة التغيرات المرضية النسجية في كل من كلية اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين و المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين.

العضو	نوع التغير المرضي	عليقة بدون الفيتامين	عليقة مع الفيتامين
الكليـــة	تنكس بالوني	+++	++
	تنخر	++	-
	فرط تصبغ السايتوبلازم وضمور الانوية	++	+
	احتقان الاوعية الشعرية الدموية في الكبيبة	++	-
	تحلل الكبيبة	++	-
	انسلاخ الخلايا الظهارية	++	-
	توسع الاوعية الشعرية الدموية في الكبيبة	++	+
	ضمور الكبيبة	+	-
	تغير حيز بومان	++	+

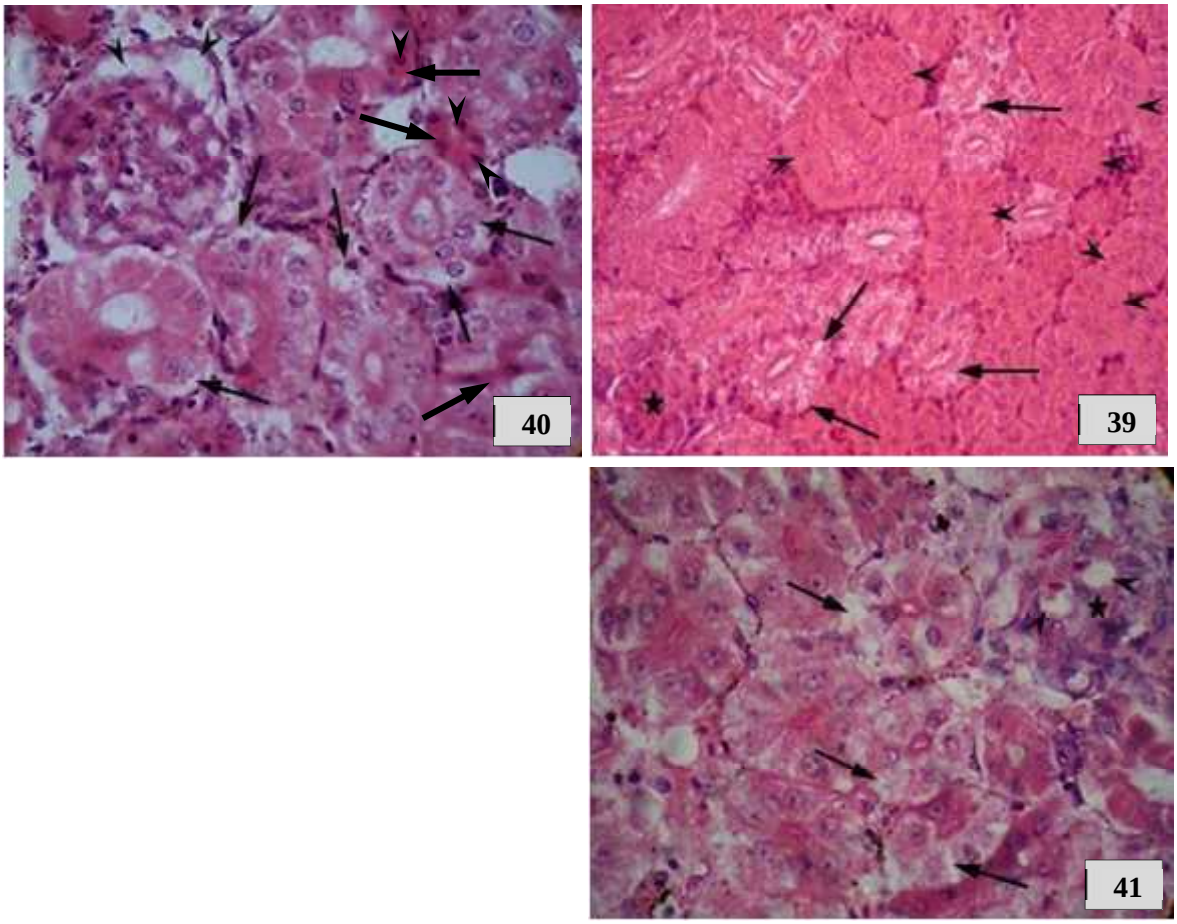




شكل (31): مقطع في كلية اسماك مجموعة السيطرة، تشير النجوم الى الكبيبات و تشير السهام الى النبيبات، H&E, 400X. شكل 32- مقطع في كلية الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح تنكس بالوني في النبيبات الملتوية القريبة (السهام) وفرط تصبغ بعض الخلايا البطانية للنبيبات (رؤوس السهام)، H&E, 1000X.



شكل (33): مقطع في كلية الاسماك المغذات على علیقة خالية من الفيتامين يوضح تنكس خلايا البطانة الظهارية للنبيبات الملتوية البعيدة(السهام النحيفة) و القريبة واختفاء حافتها الفرشاتية (السهام الغليظة)و فرط تصبغ لسايتوبلازم بعض الخلايا المفردة في البطانة الظهارية (رؤوس السهام)،400X, H&E. شكل 34- مقطع في كلية الاسماك المغذات على علیقة خالية من الفيتامين يوضح التنكس في النبيبات القريبة والبعيدة (السهام الغليظة)اضافة الى تنخر في بعض النبيبات(السهام النحيفة) والكبيبات(رؤوس السهام)،200X, H&E. شكل 35- مقطع في كلية الاسماك المغذات على علیقة خالية من الفيتامين يوضح فرط تصبغ السايتوبلازم(السهام) في خلايا صفيحة النسيج الظهاري للنبيبات وضمور انويتها(رؤوس السهام)،400X, H&E. شكل 36- مقطع في كلية الاسماك المغذات على علیقة خالية من الفيتامين يوضح ضمور الكبيبة (النجمة) وتوسع حيز بومان(رؤوس السهام) وتنخر النبيبات من حولها (السهام)، لاحظ توسع تجويف الاوعية الشعرية الدموية في الكبيبة(السهام الغليظة)،1000X H&E. شكل 37- مقطع في كلية الاسماك المغذات على علیقة خالية من الفيتامين يوضح احتقان وتوسع الاوعية الشعرية الدموية (رؤوس السهام) في الكبيبة،400X, H&E. شكل 38 - مقطع في كلية الاسماك المغذات على علیقة خالية من الفيتامين يوضح انسلاخ الخلايا البطانية للنبيبات (السهم) وظهورها في تجويف القناة الجامعة،400X, H&E.



شكل (39) : مقطع في كلية لاسماك المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يوضح معظم تراكيب الكلية تبدو سليمة مع وجود بعض التغيرات النسجية الطفيفة في بعض مناطق القشرة الكلوية تمثلت بوجود تنكس خلايا بطانة بعض النبيبات الكلوية (السهام) لاحظ الكبيبة السليمة (النجمة) و النبيبات السليمة (رؤوس السهام)،400X, H&E. شكل 40- مقطع في كلية اسماك المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يوضح تنكس بطانة النبيبات الكلوية (السهام النحيفة) و فرط تصبغ السايتوبلازم(السهام الغليظة) وضمور الانوية(رؤوس السهام) وتوسع في جزء من حيز بومان(رؤوس السهام)،H&E ,400X. شكل 41- مقطع في كلية اسماك المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يوضح الخلايا السليمة في النبيبات وبينها بعض الخلايا المتنكسة (السهام) و في الكبيبة (النجمة) يظهر توسع تجويف الاوعية الشعرية الدموية (رؤوس السهام) .400X, H&E،

جدول (4)، عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة(شكل 42)، شملت معظم طبقات جدار الامعاء وكانت اكثرها شدة في طبقة الغشاء المخاطي اذ عانت بطانة الامعاء من تغيرات متنوعة لاسيما تلك التي في قمم الزغابات فظهرت معظم خلايا النسيج الظهاري متنخرة وبينت المقاطع وجود نمطين من التنخر الاول غالبا يبدأ في قمم الزغابات

4- الامعـــاء

1-عليقة خالية من الفيتامين هـ

بين الفحص النسجي لمقاطع امعاء سمكة البلطي احمر البطن بعد 15 يوم من المعاملة بتركيز 11 ملغم \ لتر خلات الرصاص ظهور عدة تغيرات نسجية مرضية

الظهاري وتفككه امام المناطق التي يحدث فيها تنخر النسيج الظهاري (شكل 43 و 45) وشخص في هذه الطبقة ايضا حدوث ارتشاح للخلايا الالتهابية والذي حدث ايضا في الطبقة تحت المخاطية ا لجدار لامعاء (شكل 47و48)، وفضلا عن ذلك لوحظ في مناطق من الطبقة تحت المخاطية في جدار الامعاء فرط تنسج للنسيج الضام (شكل 50) واحتقان الاوعية الدموية وتوسعها في هذه الطبقة (شكل 51).

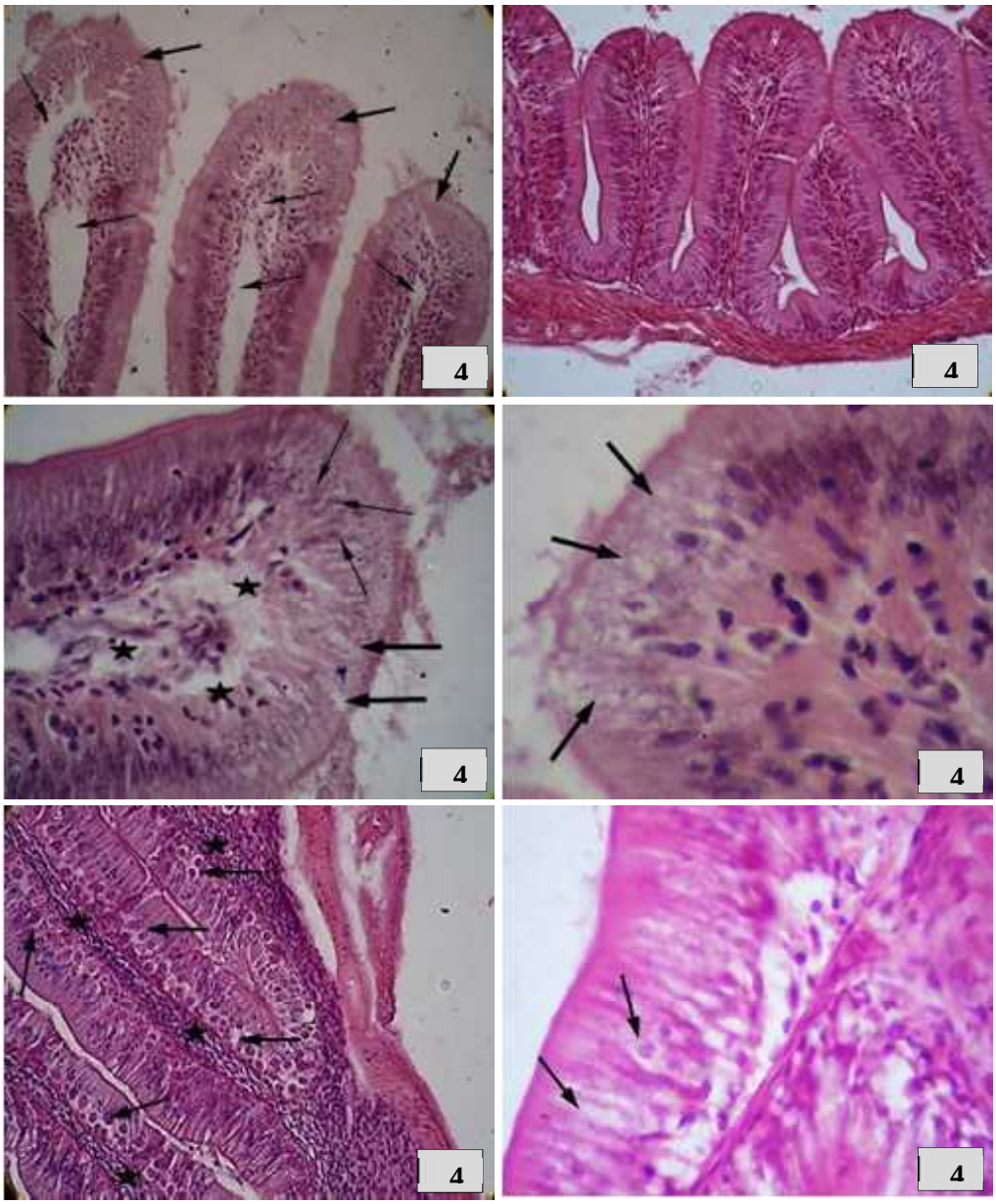
2-عليقة تحتوي على الفيتامين هـ

عند تغذية اسماك البلطي المعاملة بتركيز 11 ملغم \ لتر خلات الرصاص على عليقة تحتوي على الفيتامين لمدة 15 يوم لوحظ انخفاض حدة التغيرات النسجية المرضية في جدار الامعاء مقارنة مع المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين جدول (4). وشملت هذه التغيرات النسيج الظهاري المبطن للأمعاء والنسيج الضام في الصفيحة الاصيلة، ففي النسيج الظهاري بينت نتائج دراسة المقاطع النسجية حدوث تنكس وتنخر اجزاء محدودة في مناطق متفرقة من الزغابة كقممها وقواعدها (الاشكال52-54). ولوحظ تفكك بسيط في النسيج الضام للصفيحة الاصيلة في قمم الزغابات (شكل52) ووذمات بسيطة (شكل55).

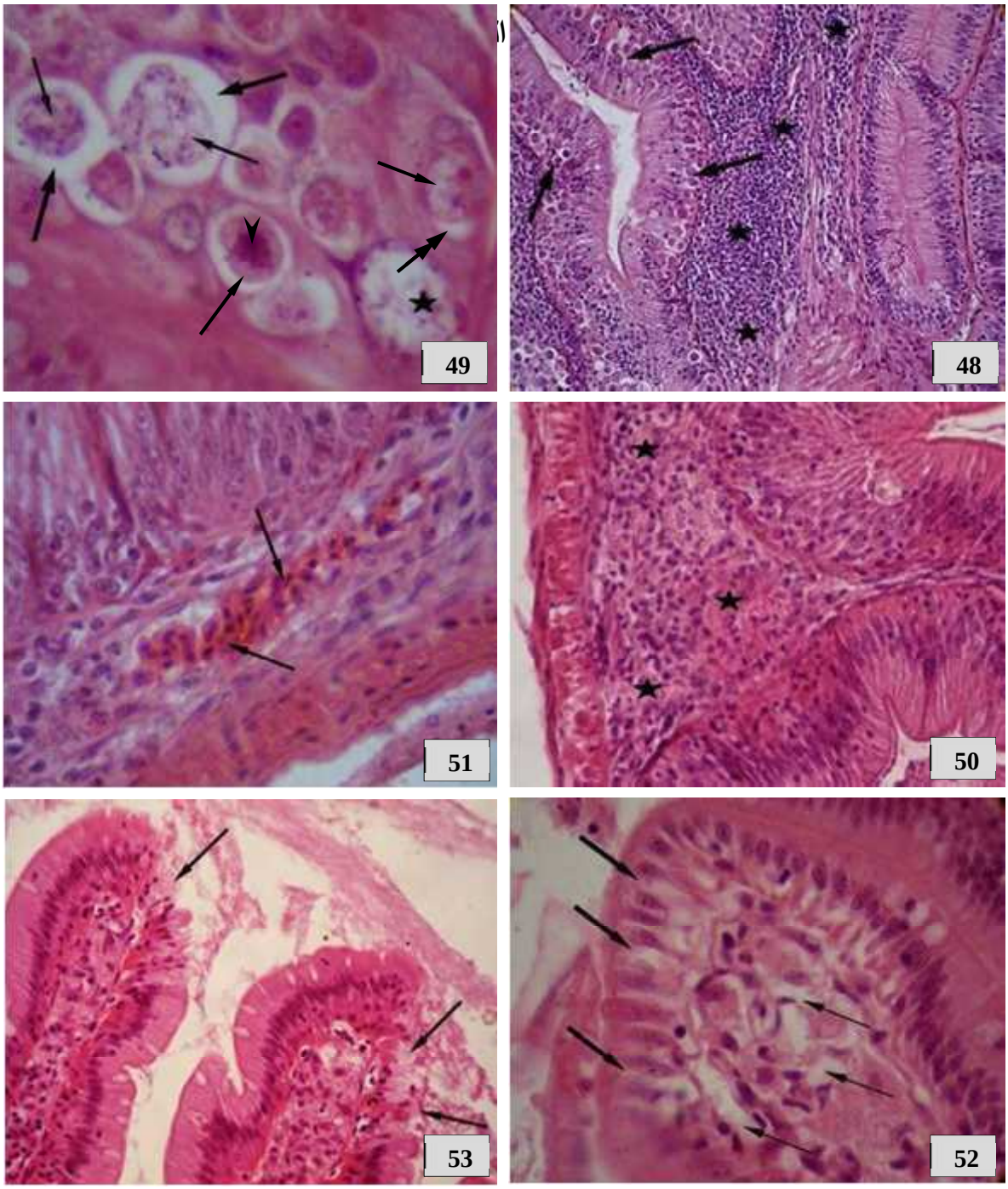
بمساحات قليلة جدا تكبر تدريجيا باتجاه قاعدتها ويبدا هذا التنخر بتغيرات في السايتوبلازم والنواة اذ يعاني السايتوبلازم من التنكس الفجوي وخلال ذلك تضمر الانوية ثم تفقد صبغتها تدريجيا فتبدو باهتة ومع استمرار احداث التنخر تزداد وتيرة التغيرات في الانوية مقارنة مع السايتوبلازم الى ان تختفي من الخلية في الوقت الذي لا زال فيه المقطع النسجي يظهر وجود بقايا للسايتوبلازم لا يلبث حتى يتحلل ثم تختفي الخلية تاركة محلها بقايا منها(الاشكال 43 - 46)، اما النمط الثاني من التنخر وهو الاكثر انتشارا وحدث في مناطق متفرقة من الزغابة ، تبدأ احداث هذا النمط بتغيرات في النواة والمنطقة المحيطة بها اذ يتحلل السايتوبلازم المتاخم للنواة وتنفصل عنه بمساحة واضحة ويترافق ذلك مع تضخم النواة وبروز نويتها بشكل واضح ومع تقدم التنخر تصبح النواة سابحة في فراغ حدوده الغشاء البلازمي للخلية وتتحلل نويتها والمادة الكروماتينية وتبدو النواة باهتة الصبغة بعدها تتحلل اجزاء من الغشاء البلازمي وتنتهي احداث التنخر بتحلل كامل للخلية (الاشكال 47 - 49). وبينت النتائج حدوث التنكس الفجوي كمرحلة من مراحل التنخر من النمط الاول اذ يكون مصير الخلايا المتنكسة هو الموت والتحلل (شكل 44 و 46). وشملت التغيرات النسجية ايضا النسيج الضام في منطقة الصفيحة الاصيلة والطبقة تحت المخاطية، ففي الصفيحة الاصيلة لوحظ انفصال النسيج الضام عن النسيج

جدول (4): يوضح شدة التغيرات المرضية النسجية في امعاء اسماك المجموعة المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين و المجموعة المغذات على عليقة خالية من الفيتامين.

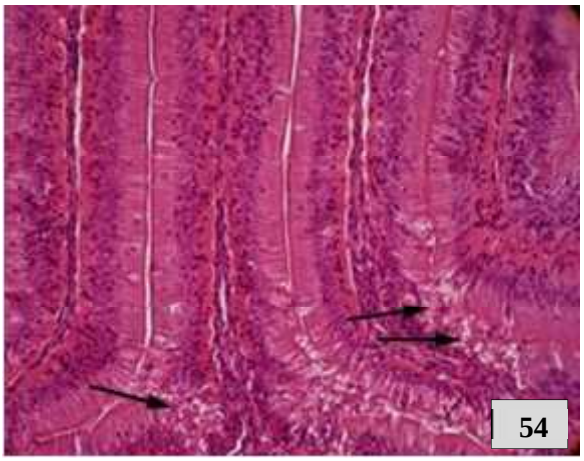
العضو	نوع التغير المرضي	عليقة بدون الفيتامين	عليقة مع الفيتامين
الامعاء	تنكس النسيج الظهاري	+++	++
	تنخر النسيج الظهاري	+++	+
	انفصال النسيج الضام عن الظهاري في الزغابة	+	-
	تحلل وتفكك النسيج الضام في الزغابة	++	+
	ارتشاح الخلايا الالتهابية	++	-
	فرط تنسج في الطبقة تحت المخاطية	+	-
	توسع الاوعية الدموية في الطبقة تحت المخاطية واحتقانها	+	-
	وذمة في النسيج الضام في الزغابة	-	+

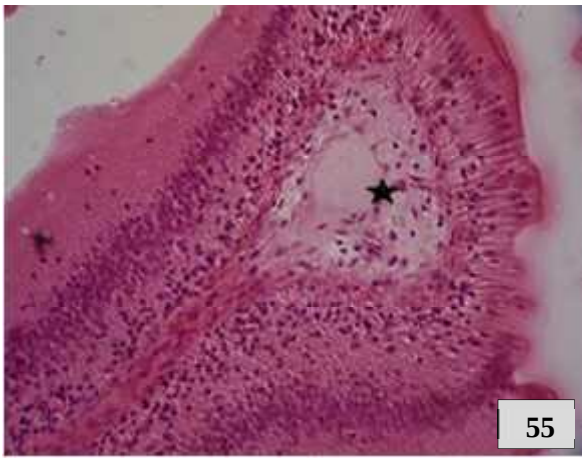


شكل (42): مقطع في امعاء اسماك مجموعة السيطرة ،100X, H&E.**شكل 43 - مقطع في امعاء الاسماك المغذات** على عليقة خالية من الفيتامين يوضح تنخر اجزاء واسعة من بطانة النسيج الظهاري في قمم الزغابات (السهام الغليظة)لاحظ امتداد التنخر باتجاه قاعدة الزغابة وانفصال وتفكك النسيج الضام في الصفيحة الاصيلة(السهام النحيفة)،200X, H&E.**شكل 44** - مقطع في امعاء الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح تنكس فجوي(السهام) في خلايا النسيج الظهاري لقمم الزغابة وهو بداية تنخرها،1000X, H&E.**شكل 45** - مقطع في امعاء الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح تنخر خلايا البطانة الظهارية لقمم الزغابة لاحظ مراحل التنخر بفقدان الانوية لصبغتها(السهام النحيفة) ثم تحللها وتحلل السايتوبلازم (السهام الغليظة) لاحظ تفكك النسيج الضام (النجوم)،400X, H&E. شكل 46 - مقطع في امعاء الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح تنكس ظهاري بطانة الامعاء (السهام) قربة قمة الزغابة وهو بداية لتنخر الخلايا ، 1000X, H&E.**شكل 47 - مقطع في امعاء** الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح النمط الثاني من تنخر النسيج الظهاري لبطانة الامعاء(السهام) وارتشاح الخلايا الالتهابية في الصفيحة الاصيلة (النجوم) ،400X, H&E.



شكل (48): مقطع في امعاء الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح النمط الثاني من تنخر النسيج الظهاري لبطانة الامعاء(السهام) وارتشاح الخلايا الالتهابية(النجوم) في الطبقة تحت المخاطية، H&E ,400X. شكل 49 - مقطع مكبر في امعاء الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح مراحل التنخر من النمط الثاني لاحظ تحلل السايتوبلازم (السهام الغليظة) والتغيرات في النواة (السهام النحيفة) راس السهم يشير الى بداية تحلل النوية والسهم المزدوج يشير الى بداية انفصال السايتوبلازم عن النواة والنجمة تشير الى خلية متحللة، H&E ,1000X. شكل 50- مقطع في امعاء الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح فرط تنسج النسيج الضام في الطبقة تحت المخاطية (النجوم)، H&E ,400X. شكل 51- مقطع في امعاء الاسماك المغذات على عليقة خالية من الفيتامين يوضح احتقان الاوعية الدموية في الطبقة تحت المخاطية وتوسعها(السهام)، H&E ,400X. شكل 52- مقطع في امعاء الاسماك المغذات على عليقة تحتوي الفيتامين يظهر تنكس النسيج الظهاري (السهام الغليظة)وتفكك بسيط في النسيج الضام في الصفيحة الأصيلة للزغابة (السهام النحيفة)، H&E ,1000X. شكل 53- مقطع في امعاء الاسماك المغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يوضح تنخر جزء محدود من النسيج الظهاري في قمم الزغابات(السهام) وعدم امتداده نحو قاعدة الزغابة، H&E ,400X.





شكل 54- مقطع في امعاء سمكة مغذات على عليقة تحتوي **على** الفيتامين يظهر تنخر النسيج الظهاري في قاعدة الزغابات في حين تظهر بقية اجزاء الزغابات سليمة ،200X, H&E. **شكل** 55 - مقطع في امعاء سمكة مغذات على عليقة تحتوي على الفيتامين يظهر وذمة في النسيج الضام للصفيحة الاصيلة في قمة الزغابة،400X, H&E.

المناقشة

ادت معاملة الاسماك بخلات الرصاص الى حدوث عدة تغيرات نسجية مرضية في الاعضاء المدروسة للسمكة وربما كانت تلك التغيرات ذات خطورة على حياة السمكة كونها ممكن ان تؤدي الى الفشل الوظيفي في تلك الاعضاء وهو ما معروف عن تاثير العناصر الثقيلة ومنها الرصاص (18 ، 23). ومن الطبيعي ان يؤدي وصول الرصاص الى تلك الاعضاء الى حدوث التاثيرات المرضية فيها اذ يدخل الرصاص عن طريق الجهاز التنفسي ممثلا في غلاصم السمكة وعن طريق الجهاز الهضمي ويصل الى الكبد ويقترن بنسيجه ثم يمر الى الكلية ويطرح القليل منه مع البول ويخزن الباقي في الانسجة الرخوة مما يؤثر على العديد من الانشطة الحيوية لهذه الانسجة والاعضاء على المستوى الخلوي والجزيئي وتبقى تلك التاثيرات حتى بعد ان ينخفض مستوى الرصاص في اعضاء الجسم (15، 32،23، 34). واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة (10 ، 17 ، 23) حول احداث خلات الرصاص للتغيرات المرضية النسجية المتنوعة في اعضاء الاسماك المختلفة كالتنكس والتنخر و النزف وارتشاح الخلايا الالتهابية وغيرها.

تمتلك الاحياء ومنها الاسماك نظاما حيويا داخليا يحافظ على الجسم من الممرضات والمواد الضارة والملوثة (24) ويعد خطا دفاعيا ضدها (6) وعليه فان بعض التغيرات التي لوحظت في اعضاء السمكة كتغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية وفرط التنسج فيها وتنكس سايتوبلازم خلايا الاعضاء المختلفة وغيرها من التغيرات كارتشاح الخلايا الالتهابية ما هي الا ردود فعل دفاعية لمواجهة الرصاص او استجابة للضرر الحاصل بفعله (6)، و بالتالي فهي تغيرات انعكاسية ممكن ان تزول بزول الرصاص. وربما يكمن السبب الرئيس لتفاقم شدة التغيرات في اعضاء السمكة المدروسة في قدرة الرصاص على تعريض خلايا اعضاء السمكة الى جهود تأكسدية (20) تفوق قدرة نظامها الحيوي على التخلص منه لاسيما مع استمرار وجود الرصاص في بيئة السمكة

وبالتالي تحدث التغيرات غير الانعكاسية كالتنخر وتؤدي الى تحلل الخلايا وموتها، فقد اثبتت بعض الدراسات ان الرصاص يؤدي الى استنزاف مضادات الاكسدة في الجسم ويؤدي الى احداث التغيرات المرضية فيها (31).

ان تواجد الرصاص في انسجة السمكة يسبب زيادة في انتاج الجذور الحرة (20) فضلا عن انتاجها من العمليات الايضية الاعتيادية (2) وبالتالي فان تلك الجذور تمتلك كأي جزيئة تملك واحد او اكثر من الالكترونات المفردة غير المستقرة مما يسبب استنزافا مضاعفا لمضادات الاكسدة (16 ، 40). واثبتت الدراسات السابقة ان الرصاص يؤدي الى اضرار بليغة في خلايا الاحياء بسبب قدرته على انتاج الجذور الحرة واوصت بضرورة وجود المكملات الغذائية للتقليل من تلك الاضرار (31).

عند تغذية اسماك التجربة التي عوملت بخلات الرصاص على عليقة تحتوي على فيتامين هـ بتركيز 300 ملغم \ كغم عليقة لوحظ ان التأثيرات النسجية في الاعضاء المدروسة كانت اقل حدة مما لو عرضت الاسماك لخلات الرصاص دون تغذيتها على عليقة الفيتامين وهذا يشير الى الدور الفعال الذي يؤديه فيتامين هـ في الحد من الضرر الذي يسببه عنصر الرصاص وهذا يتفق مع عدد من الدراسات التي استخدمت الفيتامينات المختلفة في تغذية الاحياء كمكملات غذائية بوجود العناصر الثقيلة والملوثات الاخرى سواء في الاسماك (10، 25 ، 26، 30) وفي الفئران والجرذان(3) .

ان سبب انحسار التغيرات المرضية النسجية في اعضاء السمكة للمجموعة المغذات على العليقة الحاوية على الفيتامين وعدم اختفائها كليا رغم الدور الكبير للفيتامين كمضاد للأكسدة (11 ، 35 ، 37) ربما يعود لعدة اسباب منها بقاء الرصاص في الانسجة الرخوة لفترة طويلة واستمرار وجود التأثيرات النسجية المرضية التي يحدثها في الانسجة حتى بعد انخفاض نسبة تركيزه فيها فضلا عن ان الرصاص يمتص اسرع من الغذاء بنسبة 45%(4)، وبالمقابل فان فيتامين هـ سريع الانتشار في الجسم(28) فهو يعبر الاغشية المعوية ويمتص مذابا في دهون الغذاء وينقل بالدم عن طريق البروتينات الدهنية lipoproteins (38) .

ربما يكمن سبب قدرة فيتامين هـ على تقليل حدة التغيرات المرضية النسجية في اعضاء السمكة لكونه من مضادات التأكسد (11 ، 29 ، 35 ،39) ومن المعروف ان هذه المضادات تعمل على تقليل اثر الجذور الحرة التي تكونت في الخلايا نتيجة التعرض للرصاص (11 ، 35) وهو ما يفسر انحسار مساحات التغيرات النسجية المرضية عند تغذية الاسماك على عليقة الفيتامين هـ (29) .

يعمل فيتامين هـ كمضاد للأكسدة على تقليل اثر الجذور الحرة بعدة اليات منها حماية دهون الغشاء الخلوي من خلال التحلل المائي لأواصر الاستر انزيميا لمنع الاكسدة الفوقية لدهون الغشاء وبالتالي عدم حدوث تغيرات تركيبية ووظيفية في اغشية الخلايا (35)، فضلا عن تقليل او منع توليد الجذور الحرة ويعمل على حجز ايونات المعادن التي تولد الجذور الحرة (11 ، 35) ، كما يؤدي الفيتامين عند تواجده في الغذاء على تثبيط امتصاص الرصاص فضلا عن تثبط فاعليته من خلال قدرة الفيتامينات على الارتباط بالرصاص في موقع الامتصاص (14)، اذ يعزى الفعل الواقي لمضادات الاكسدة الى قدرتها على تكوين معقد مع العناصر الثقيلة وهذا المعقد يصبح من السهل التخلص منه (5) وربما كان ذلك السبب في عدم انحسار التغيرات المرضية النسجية في انسجة اعضاء السمكة وعدم تطور الاضرار التي يحدثها الرصاص فيها، وقد لاحظ El-Shebly (10) انخفاض تراكم الرصاص

في عضلات سمكة *Oreochromis niloticus* عند تغذيتها على عليقة تحتوي على الفيتامين هـ، علما ان فيتامين هـ له ادوار وقائية اخرى منها انه يقوي الخلايا اللمفاوية ويقلل من إنتاج بروستاجلاندين إي2 (Prostaglandin E2) المثبط للمناعة ويقلل من بيروكسيدات لبيدات مصل البلازما المثبطة للمناعة Immunosuppressive serum lipid peroxides (33) وكل ذلك يشير الى اهمية تواجد الفيتامين هـ في العليقة كجزء من المكملات الغذائية للحد من التأثيرات النسجية المرضية .

الاستنتاجات

يبدو ان التركيز 300 **ملغم** فيتامين هـ لكل كيلو غرام من العليقة فعال في الحد من التأثيرات النسجية المرضية **التي** يحدثها الرصاص وله دور وقائي من الامراض والحد من تطور التأثيرات النسجية المرضية، كما ان هذا التركيز من الفيتامين يرفع من مستوى هرمون النمو في اسماك *Oreochromis niloticus* ويخفض من تراكم الرصاص في عضلاتها ، وبالتالي ممكن اضافة هذا التركيز للعليقة دون أي مخاوف من اضراره حتى لو وجدت زيادة في تركيزه في الجسم فممكن التخلص منها عبر وجود اليات خاصة بذلك.

المصادر

1. Ahmed, M. K.; Habibullah-Al-Mamuna, M.; Parvina, E. and Akter, M. S. (2013). Arsenic induced toxicity and histopathological changes in gill and liver tissue of freshwater fish, tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Exp. Toxicol. Path., 65: 903-909.
2. Ahmed, N. (2011). Clinical biochemistry. Oxford university press, 714 pp.
3. Al-Serwia, R. H. and Ghoneimb, F. M. (2015). The impact of vitamin E against acrylamide induced toxicity on skeletal muscles of adult male albino rat tongue: Light and electron microscopic study. Journal of Microscopy and Ultrastructure, 3: 137-147.
4. Amdur, M. O.; Doull, J. and Klaassen, C.D. (1991). Cassarett and Doull's toxicology The Basic Science of Poisons. 4th ed. Toronto. Pergamon Press.1236pp.
5. Bratton, G.; Zmudzki, J.; Bell, M. and Watnock, L. (1981). Thiamine (Vitamin B1) effects on lead intoxication and deposition of lead in tissues: Therapeutic potential. Toxicol. Appl. Pharmacol., 59: 164-172.
6. Conner, E. M. and Grisham, M. B. C. (1996). Inflammation, free radicals and antioxidants. Nutrition, 12(4): 274-277.
7. Craig, S. and Helfrich, L.A. (2002). Understanding fish nutrition, feeds and feeding. Virginia Cooperative Extension, Publication 420 -456.www.ext.vt.edu. .
8. Drouin, G.; Godin, J. and Pagé, B. (2011). The genetics of vitamin C loss in vertebrates. Current Genomics, 12(5): 371-378.

9. El-Ezaby, M. M. (1994). Certain studies on the effect of some pollutants on freshwater fish. Ph.D thesis, Zagazig Univ. Benha branch. 213pp.
10. El-Shebly, A. A. (2009). The role of antioxidant (Vitamin E) in the control of Lead (Pb) pollution and enhancement of growth within Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Intern. J. Appl. Res. Vet. Med., 7 (3): 97-101.
11. Fang, Y.; Yang, S. and Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants and nutrition. Nutrition, 18(10): 872-879.
12. Farrell, P. and Roberts, R. (1994). Vitamin E. Pp: 326 -341.In: Shils, M. E.; Olson J.A.; Shike, M. and Ross, A.C. (Eds.). Modern nutrition in health and disease. 8th ed. Philadelphia, PA: Lea and Febiger.
13. Fernando, G.; Cheila, D.; Eliane, T.; Laila, R.; Ana, L. and Francisco, T. (2008). Antioxidant defenses and biochemical changes in Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) in response to single and combined copper and hypoxia exposure. Comparative Biochemistry and Physiology part C: Toxicology & Pharmacology, 147(1): 43-51.
14. Flora, S.; Singh, S. and Tandon, S. (1984). Prevention of lead intoxication by vitamin B complex. Z. Ges. Ilyg., 30: 409-411.
15. Flora, S. J. S.; Flora, G. J. S. and Saxena, G. (2006). Environmental occurrence, health effects and management of lead poisoning. Pp: 158-228. In: Casas, S. B. and Sordo, J. (Eds.). Lead: Chemistry, analytical aspects, environmental Impact and health effects. Elsevier, The Netherlands.
16. Halliwell, B.; Aeschbach, R.; Loliger, J. and Aruoma, O. I. (1995). The characterization of antioxidants. Food and Chemical Toxicology, 33: 601-617..
17. Harabawy, A. S. and Mosleh, Y.Y. (2014). The role of vitamins A, C, E and selenium as antioxidants against genotoxicity and cytotoxicity of cadmium, copper, lead and zinc on erythrocytes of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Ecotoxicol. Environ. Saf., 104: 28-35.
18. Hiramatsu, N.; Kasai, A.; Du, S.; Takeda, M.; Hayakawa, K.; Okamura, M.; Yao, J.; and Kitamura, M. (2007). Rapid, transient induction of ER stress in the liver and kidney after acute exposure to heavy metal: Evidence from transgenic sensor mice. FEBS Letters, 581(10): 2055-2059.
19. Humason, G. L. (1972). Animal tissue techniques. 3rd ed. W. H. Freeman and company, Son Fran. 614 pp.
20. Iqbal, A.; Miguel, O.; Mario, P. and Mario, A. (2005). *Anguilla anguilla* L. oxidative stress biomarkers responses to copper exposure with or without β- naphthoflavone

26. Mourente, G.; Diaz, E.; Bell, J. and Tocher, D. (2002). Increased activities of hepatic antioxidant defense enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidized oil: attenuation by dietary vitamin E. Aquaculture, 214(1- 4): 343-361.
27. Nollet, L. M. L. and Toldra, F. (2010). Hand book of seafood and seafood products analysis. CRC press, Tylar and Francis group. 119 pp.
28. Rowe, R. C. ; Sheskey, P. J. and Quinn, M. E. (2009). Handbook of pharmaceutical excipients sixth edition, Royal Pharmaceutical Press Society of Great Britain, London. 888pp.
29. Sato, K.; Gosho, M.; Yamamoto, T.; Kobayashi, Y.; Ishii, N.; Ohashi, T.; Nakade, Y.; Ito, K.; Fukuzawa, Y. and Yoneda, M. (2015). Vitamin E has a beneficial effect on nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. Nutrition, 31(7-8): 923-930.
30. Senug, H.; Min-Won, B.; Hui-Young, L.; Dong-Jae, K.; Yi-Rang, N.; Kyoung, N.; Song, Y. ; Hyan, K.; Byoung, H.; Dong, R. and Jae-Hak, P. (2007). Arsenite-induced apoptosis is prevented by antioxidants in zebra fish liver cell line. Toxicology in Vitro, 21(5): 870 -877.

pre-exposure. Chemosphere, 61(2): 267-275.
21. Jones, D. P.; Kagam, V.E.; Aust, S. D.; Reed, D. J. and Omaye, S.T. (1995). Impact of nutrients on cellular lipid peroxidation and antioxidant defense system. Fundam. Appl. Toxicol., 26: 1-7.
22. Kadry, S. M.; Marzouk, M. S.; Amer, A. M.; Hanna, M. I.; Azmy, A.,H. and Hamed, H. S. (2012). Vitamin E as antioxidant in femal African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to chronic toxicity of atrazine, Egypt. J. Aquat. Biol. & Fish., 16(2): 83-98
23. Khan, A. S.; Liu, X. and Shah1, B. R. (2014). Impact of acute toxixcity of lead acetat on the liver of essential trace metals and histopathological changes in crucian carp (*Carassius auratus*). Journal of Animal and Plant Sciences, 24(5): 1405-1414.
24. Kumar, V.; Abbas, A. and Aster, J.C. (2015). Robbin and cotran pathology basis of disease 9th ed. Elsevier Saundaers. 1407pp.
25. Mekkawy, I. A. A.; Mahmoud, U. M.; Wassif, E. K. and Nageib, M. (2013). Effect of cadmium on some histopathological and histochemical characteristics of the kidney and gills tissues of *Oreochromis niloticus* dietary supplement with tomato paste and vitamin E, Egypt. J. Fish.Aqua. Sci., 8(5): 553-580.

on liver and kidney toxicity induced by cadmium in Brown Trout (*Salmo trutta* L.) Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 13: 621-627.

37. Traber, M. G. (1999). Vitamin E. Pp: 347-362. In: Shils M. E.; Olson, J. A.; Shike, M, and Ross A. C. (Eds). Modern nutrition in health and disease. 10th ed. Baltimore: Williams and Wilkins.
38. Traber, M. G. (2013). Mechanisms for the prevention of vitamin E excess. Journal of Lipid Research., 54: 2295- 2306.
39. Traber, M. G. and Packer, L. (1995): Vitamin E: Beyond antioxidant function. Amer. J. Clin. Nutr., 62(6): 15015-15095.
40. Weiss, S. J. (1989). Tissue destruction by neutrophils. New Engl. J. Med., 320: 365-376.
41. Zarei, I.; Pourkhabbaz, A.; Alipour, H. and Khazaei, S. H. (2013). Acute toxicity and the effects of copper sulphate (CuSO4·5H2O) on the behavior of the black fish (*Capoeta fusca*) Iran. J. Toxicol., 6 (19): 771-778.
31. Sharma, R. and Barber, I. (2014). Lead toxicity and postnatal development of gastrointestinal tract. Universal Journal of Environmental Research and Technology, 4 (3): 121-133.
32. Sidhu, P. and Nehru, B. (2004). Lead intoxication: Histological and oxidative damage in rat cerebrum and cerebellum. J. Trace Elem. Exp. Med., 17(1): 45-53.
33. Stickel, F. ; Meydani, M.; Wu, D.; Bronson, R.; Martin, A.; Smith, D.; Meydani S. N. and Russell, R. M. (1997). Effect of vitamin E supplementation on prostaglandin concentrations in aspirin-induced acute gastric injury in aged rats. Am. J. Clin. Nutr., 66(5): 1218-1223.
34. Taib, N. T.; Jarrar, B. M. and Mubarak, M. (2004). Ultrastructural alterations in hepatic tissues of white rats (*Rattus norvegicus*) induced by lead experimental toxicity. Saudi J. Biol. Sci., 11(1): 11-20.
35. Thomas, M. J.(2000). The role of free radicals and antioxidants. Nutrition, 16(7-8): 716-718.
36. Topal, A.; Alak, G.; Atamanlp, M.; Oruc, E. and Ucar, A. (2013). Effects of humic acid

Basrah J. Agric. Sci., 29 (2): 24-49, 2016

The Role of Vitamin E Prevention of Histopathological Effects Caused by Lead Acetate in *Coptodon zillii* (Gervais, 1848) (Pisces: Cichlidae)

Ali A. A. Al-Ali

Department of Biology, College of Education for Pure Sciences-Basrah University, Iraq

e-mail: qalialali_75@yahoo.com

Abstract: The present study evaluates the role of a specific dose of vitamin E for reducing the histopathological effects induced lead acetate in organs of fish *Coptodon zillii* (gills, liver, kidney and intestines). These fish, ninety in number, were brought to the laboratory and divided, after been adapted, into three groups each group consisted of sixteen fish put them into two repeating which contained eight of fish for each. The first and second groups exposed to the concentration of 11 mg \ liter of lead acetate, the third group is control group.The first group and control group fed on a diet free of the vitamin E while the second group fed on diet contains a concentration of 300 mg \ kg diet of vitamin E. The results showed that lead acetate led to large and diverse changes in organs of fish of the first group. The form of gills changes of secondary gill lamellae, with bleeding, hyperplasia, swelling epithelial cells and detachment of epithelium of secondary gill lamellae observed, either in the liver which show large areas of cells suffer from the ballooning degeneration and massive hepatic necrosis.There are other possible changes such as dysplasia and infiltration of inflammatory cells. In kidney there are degeneration of cells of most distal and proximal convoluted tubule with disappearance of brush boarder of the latter, necrosis of epithelial, sloughing cells, atrophy of the glomeruli and expansion of Bowman space.While in the intestines, degeneration and necrosis of the epithelium and the disintegration of the connective tissue of the lamellae propria and hyperplasia in submucosa are observed. When fish of the second group feeding on the diet containing vitamin E, the severity of changes in the organs of fish decreased significantly, despite the presence of lead acetate . As observed decline in the spread of histopathological effects as well as the lack of diversity and the emergence of minor changes in the four fish-organs. This confirms that the concentration of 300 mg vitamin E per kg of diet is effective in reducing the histpathological effects caused by lead and has a protective role of diseases and reduce the development of histpathological effects.

Key word: histopathological changes, lead acetate, vitamin, antioxidant, *Coptodon zillii* .