دراسة تجريبية حول تأثير المبيد الحشري كلوربايروفوس على الجرذان البيضاء
ثانياً – التغيرات النسيجية الكيماوية

إبراهيم سالم حسين الدرسي [1] أفضيل عمر سالم العوامي[2] غيـــاث صالح محمود[3]
فهيم عبد الكريم بن خيال[4]

DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v13i1.669

الملخـــــص

تهدف هذه الدراسة لمعرفة تأثير المبيد الحشري كلوربايروفوس تجريبياً على التغيرات النســـيجية الكيمياوية لبعض الأعضاء الداخلية للجرذان البيضاء وهي الكبد والكلية والأمعاء .

واستخدمت لهذا الغرض 110 من الجرذان الذكور وقسمت إلى أربعـــة مجـــاميع وخصصـــت المجموعة الأولى لتحديد الجرعة النصف المميتة (LD_{50}) حيث تبين أن مقدارها هو 81.2 مغم / كغم من وزن الجسم .

وأعطيت المجموعة الثانية من الجرذان جرع يومية مقدارها $\frac{1}{10}$ مـــن قيمـــة (LD_{50}) . أمـــا المجموعتين الثالثة والرابعة فقد أعطيت جرعة واحدة مقدارها $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{30}$ مـــن قيمـــة (LD_{50}) علـــى التوالي .

لقد تم الكشف عن الجذور النسيجية الكيمياوية ومحتواها من الكربوهيدرات وذلك باســـتعمال الأصباغ والاختبارات النسيجية الخاصة بالخلايا الظهارية (Epithelial cells) للأمعاء والقنوات الصفراوية للكبد والنبيبات الكلوية في الكلى وتبين بأنها تحتوي على مركبات كربوهيدراتية حامضية ومتعادلة وذلك من خلال تفاعلها الموجب مع صبغة (PAS) وصبغة (ABpH2.5) وصبغة (ABpH2.5/PAS) .

[1] قسم علم الحيوان ، كلية العلوم ، جامعة عمر المختار ، البيضاء – ليبيا ، ص.ب. 199 .
[2] قسم وقاية النبات ، كلية الزراعة ، جامعة عمر المختار ، البيضاء – ليبيا ، ص.ب. 199 .
[3] كلية الطب البيطري ، جامعة عمر المختار ، البيضاء – ليبيا ، ص.ب. 199 .
[4] قسم الصناعات الغذائية ، جامعة عمر المختار ، البيضاء – ليبيا ، ص.ب. 199 .

© للمؤلف (المؤلفون)، يخضع هذا المقال لسياسة الوصول المفتوح ويتم توزيعه بموجب شروط ترخيص إسناد المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

وبينت نتائج الدراسة عدم تغيير التركيب النسيجي الكيمياوي للأعضاء المذكورة بعد معاملتـــها بالمبيـــد الحشري كلوربايروفوس عند استخدام الصبغات المذكورة .

المقدمـــــة

إن دراسة التغيرات النسيجية الكيمياوية تعد من الأمور المهمة والأساسية في فهم التغيرات التي تطرأ على الأنسجة في حالة الإصابة بالأمراض المعينة (63,Spicer19) .

فقد قام الباحث Mahmoud (1979) بدراســـة محتـــوى حبيبـــات الخلايـــا البدينـــة (Mast Cells Granules) في الطبقـــة المخاطيـــة للجهاز التنفسي للأغنـــام في الحـــالات الســـليمة وحالات مغايرة من الخمج بديدان الرئة في الأغنام وتبين بأن محتوى حبيبات الخلايا البدينة في الحالات السليمة هي مواد متعدد السكريد المخاطية المتعادلة (Neutral mucopolysaccharides) وسرعان ما تتغير إلى مواد حامضية كبريتية (Sulphated acid mucopolysaccharids) بعـــد تعرضـــها إلى الإصابة الطفيلية .

أما في رئات الجمال المصابة بالأكيـــاس العدرية فقد قام الباحـــث Mahmoud (a1990) بدراسة التغيرات النسيجية المرضية الكيمياوية وتبين بأن هنالك تغير في جذور متعدد السكريد المخاطي واختلافه عن الحالات السوية في الجمال .

لقد حصلت دراســـة مشـــابهة لمعرفـــة التغيرات النسيجية الكيمياوية في أكباد الفئـــران (النعيمـــــــــي ، 1989) والأبقـــــــــار (b Mahmoud1990) والجـــــــــاموس (c Mahmoud1990) المصابة بمختلف الأمـــراض الطفيلية وكانت التغيرات النســـيجية الكيمياويـــة واضحة على الطبقة المخاطية لظهارة الحيوانـــات السليمة .

واستناداً إلى هذه التغيرات النســـيجية الكيمياوية رأينا ضرورة إجراء التجارب لمعرفة تأثير المبيد الحشري (Chlorpyrifos) على بعض أعضاء الجرذان الداخلية وهي الكلية والكبـــد والأمعـــاء ودراسة التغيرات النسيجية الكيمياوية التي تطـــرأ على ظهارة هذه الأعضاء مع مقارنتـــها بظهـــارة نفس الأعضاء للجرذان الســـليمة مـــن الناحيـــة الكيمياوية .

المواد وطرق البحث

1- استخدمت حيوانـــات التجـــارب والمبيـــد الحشري (Chlorpyrifos) وتم تحديد الجرعة نصف المميتة وقمنا بإجراء الفحص النسيجي المرضي كما ورد في بحثنا السابق (الدرســـي 2005) .

2- أما الفحوصات النسيجية الكيمياوية فقـــد أجريت على بعـــض الأعضـــاء الداخليـــة

للجرذان البيضاء وهي الكلية والكبد والأمعاء وذلك لاحتوائها على خلايا ظهارية (في القنوات الصفراوية للكبد وفي نبيبات الكلية) وظهارة مخاطية الأمعاء .

حفظت الأعضاء المذكورة في محلول كارنوي (Carnoys Fluid) لأنه من المثبتات التي تعطي نتائج واضحة مع حالات البحث والدراسة عن الجذور الكربوهيدراتية في الأنسجة (Culling19 85) . وبعد تثبيت الأعضاء قمنا بتمريرها وطمرها وتقطيعها في جهاز التقطيع الشمعي وتم استعمال الأصباغ النسيجية التالية وذلك استناداً إلى (Culling19 85) مقتدين بطريقتهم في دراسة **تصنيف والكشف عن الجذور الكاربوهيدراتية في الأنسجة وكما يلي :**

أ- **صبغة Periodic Acid Schiff (PAS)** : استناداً إلى (Culling19 85) للكشف عن المواد المخاطية حيث تأخذ اللون الأحمر أرجواني .

ب- **صبغة Alcian Blue (AB pH2.5) pH2.5 :** استناداً إلى Spicer (1960) . وذلك للكشف عن المواد المخاطية الحامضية حيث تأخذ اللون الأزرق .

ج- **صبغة (Alcian Blue pH2.5/Periodic Acid Schiff) (AB pH2.5/ PAS) :** وذلك لتمييز المواد المخاطية المتعادلة والحامضية والكبريتية استناداً إلى Spicer (1960) .

النتائج والمناقشة

أجريت الفحوصات النسيجية الكيمياوية للكشف عن التركيب الكيمياوي للخلايا الظهارية لكل من النبيبات الكلوية والقنوات الصفراوية وظهارة الأمعاء في المجاميع المعرضة للمبيد الحشري (Chlorpyrifos) وكذلك لمجموعة الجرذان في مجموعة التحكم . وقد تم التركيز على الخلايا البدينة (Mast Cells) والخلايا الكأسية (Goblet Cells) في ظهارة هذه الأعضاء ، إن الجدول رقم (1) يوضح التفاعلات النسيجية الكيمياوية لهذه المجاميع .

أما الطرق النسيجية الكيمياوية المتبعة لدراسة وتصنيف محتوى هذه الخلايا من الكربوهيدرات فقد أجريت على النماذج المرضية المثبتة في محلول كارنوي (Carnoys) .

إن استخدام صبغة PAS أظهر تفاعلاً موجباً للخلايا المذكورة في الأعضاء الثلاثة بالإضافة إلي الخلايا البدينة والكأسية وقد أخذت اللون الأحمر الأرجواني وهذا يدل على وجود المواد المخاطية المتعادلة فيها كما هو موضح في الأشكال (1-6) .

جدول 1 يبين التفاعلات النسيجية الكيمياوية للخلايا الدينة والكاسية وظهارة كل من النبيبات الكلوية والقنوات الصفراوية والأمعاء في كل من جرذان مجموعة التحكم والمجموعة المعرضة للمبيد الحشري

الصبغة	مجموعة التحكم			مجموعة المعاملة		
	MC	GC	EP.MU	MC	GC	EP.MU
PAS	++	++	++	+++	+++	+++
AB(pH 2.5)	+	+	+	++	++	++
AB(pH 2.5)/PAS	++	++	++	+++	+++	+++

الخلايا البدينة MC= Mast Cells

الخلايا الكأسية GC=Goblet Cells

غشاء الظهارة المخاطية EP.MU= Epithelial Mucosa

تفاعل ضعيف = + تفاعل وسط = ++ تفاعل شديد = +++

كما أظهرت النتائج وجود المواد الكاربوهيدراتيـــة الحامضية في هذه الخلايا عند اســـتخدام صـــبغة (AB pH2.5/ PAS) إذ تـــبين مـــن الاســـتجابة الموجبة للصبغة مع هذه الخلايا بعد أخذها اللونين الأحمر الأرجواني والأزرق في المجموعة المعاملة بمبيد الكلوربايروفوس ومجموعة التحكم وجود كـــلاً من النوعين من الكربوهيدرات الحامضية والمتعادلة لاحظ الأشكال (7-12) .

بينت نتـــائج التفـــاعلات النســـيجية الكيمياوية لغشاء الظهارة في الأمعـــاء والكبـــد والكلية في المجاميع المعاملة بمبيد الكلوربـــايروفوس ومجموعة التحكم التفاعل الموجب مع صبغة PAS حيث يثبت ذلك وجود المـــواد الكربوهيدراتيـــة المتعادلة المحتوية على مجموعة (1, 2 glycol) إذ أن صبغة PAS هي عامل مؤكسد لهذه المجموعـــة في المادة الكربوهيدراتية و الطرق الســـابقة الـــذكر تستخدم للكشف عن المادة المخاطيـــة المتعادلـــة Neutral Mucosubstance وتشابهت هذه النتائج مع ما توصلت إليه (النعيمي ، 1989) في دراســـة التغيرات الكيمياوية النسيجية لجدار الأكيـــاس العدرية في الجرذان .

أن التفاعل الموجب لغشـــاء الظهـــارة المخاطية في الأمعاء وظهارة القناة الصـــفراوية في الكبد وظهارة النبيبـــات الكلويـــة مـــع صـــبغة AB(pH 2.5) يشير إلى ما جاء بهSpicer (1960) و Pears (1968) في دراستهم التي أجروها علـــى الجرذان لمعرفة الخصائص النســـيجية الكيمياويـــة للمادة متعددة السكريدات الحامضية و كذلك لما

وجدته النعيمي (1989) عند دراستها للتغيرات النسيجية الكيمياوية لجدار الأكياس العدرية في الجرذان .

كذلك فإن استجابة الظهارة المخاطية لهذه الأعضاء وتفاعلها مع صبغة AB(pH2.5) تبعتها صبغة PAS يشير إلى أنها تتكون من المواد الكربوهيدراتية المتعادلة والحامضية إذ أن هذه الطرق تستخدم للتمييز بينهما (Spicer 1963) . وتوافقت هذه النتيجة مع ما وجدته النعيمي (1989) عند دراستها للتغيرات النسيجية الكيمياوية لجدار الأكياس العدرية في الجرذان .

يتبين من النتائج المعروضة أعلاه من خلال استخدام الصبغات المختلفة وكما هو موضح في الجدول 1 أن طبقة الظهارة في الأمعاء والكبد والكلية في الحيوانات المعاملة بمبيد الكلوربيرفوس و مجموعة التحكم الغير معاملة بالمبيد أنها كانت عبارة عن مزيج من المادة المخاطية الكربوهيدراتية المتعادلة والحامضية .

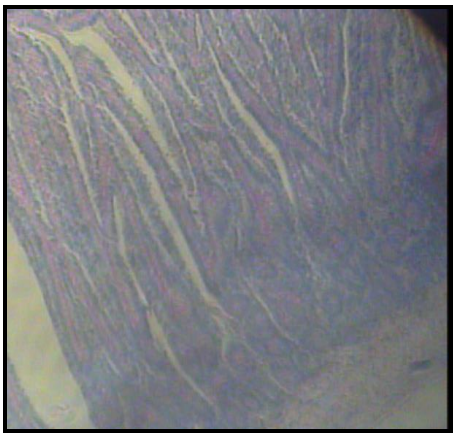
لقد أكد الباحث Mahmoud (1982) في دراسته النسيجية الكيمياوية للطبقة الظهارية للجهاز التنفسي للأغنام الطبيعية و المصابة بديدان الرئة مع التركيز على التغيرات النسيجية الكيمياوية التي تصيب الخلايا البدينة Mast cells في الطبقة المخاطية وما تحت المخاطية وفي باحة النسيج الضام و كذلك في الخلايا الكاسية Goblet cells أثبتت أن محتوى هذه الخلايا هو عبارة عن مواد كربوهيدراتية كبريتية (Sulphomucins) و لم يطرأ عليها وعلى جذورها الكيمياوية أي تغير نتيجة الخمج الطفيلي بديدان الرئة .

لقد تطابقت هذه النتائج مع ما قام به Mahmoud (1989) في دراسته للتغيرات النسيجية الكيمياوية في جدار الأكياس العدرية في الجرذان بعد أصابتها تجريبياً ببرقات المشوكة الحبيبية *Echinococcus granulosus* و التي تم تعريضها إلى جرع مختلفة من أشعة جاما .

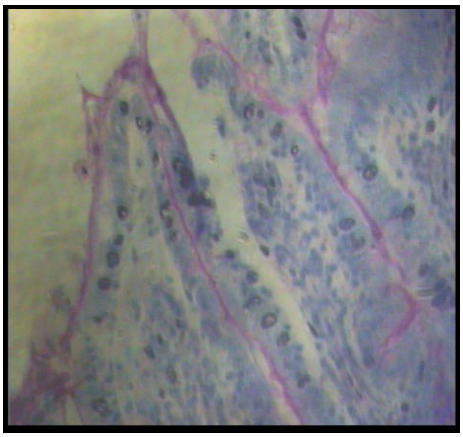
كما كانت النتائج مطابقة لدراسة مشابهة قام بها Mahmoud (b1990) للقناة الصفراوية للأبقار ذات الإصابة الطبيعية بطفيل Gigantocotyle explanatum و في القناة الصفراوية للجاموس ذات الإصابة الطبيعية بالطور المزمن بديدان الكبد (Mahmoud c1990) .

كما لوحظت نفس النتائج الكيمياوية النسيجية للطبقة الظهارية المخاطية من القناة التنفسية للجمال المصابة طبيعياً (Mahmoud a1990) .

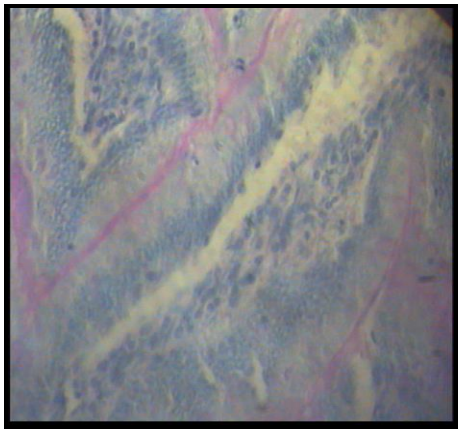
أن ذلك يعزز نتائجنا حيث بينت أن محتوى الخلايا المذكورة أعلاه في كل من جرذان التحكم و المعاملة بالمبيد تحتوي على مواد كربوهيدراتية و هي مزيج من المواد المتعادلة والحامضية Neutral and acid mucopolysaccharides وذلك باستخدام الاختبارات المذكورة .



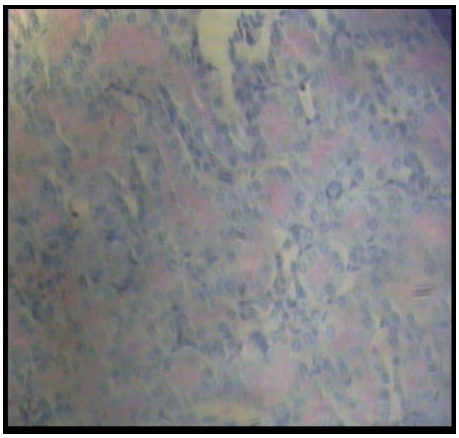
شكل 1 قطاع في أمعاء جرذ قتل بعد 21 يوم أستلم جرع مكررة $1/10\ LD_{50}$ لاحظ التفاعل الموجب مع صبغة (PAS) دليل على وجود الكربوهيدرات المتعادلة . 100 X



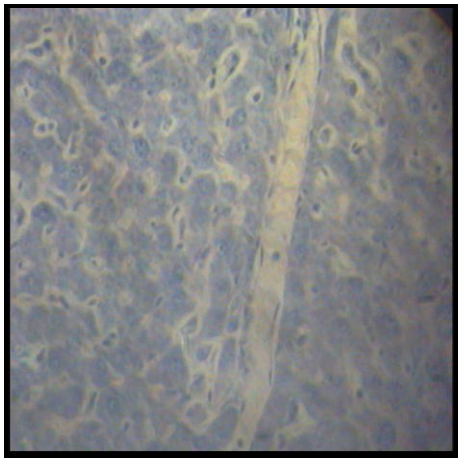
شكل 3 قطاع في أمعاء جرذ قتل بعد 28 يوم أستلم جرع مكررة $1/10\ LD_{50}$ لاحظ التفاعل الموجب لصبغة (PAS) لكل من الخلايا البدينة و الخلايا الكأسية في ظهارة الأمعاء . 400 X



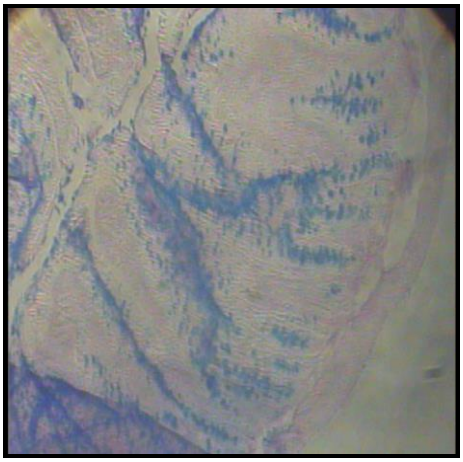
شكل 2 قطاع في أمعاء جرذ قتل بعد 7 أيام أستلم جرع مكررة $1/10\ LD_{50}$ لاحظ التفاعل الموجب لصبغة (PAS) دليل على وجود الكربوهيدرات المتعادلة . 400 X



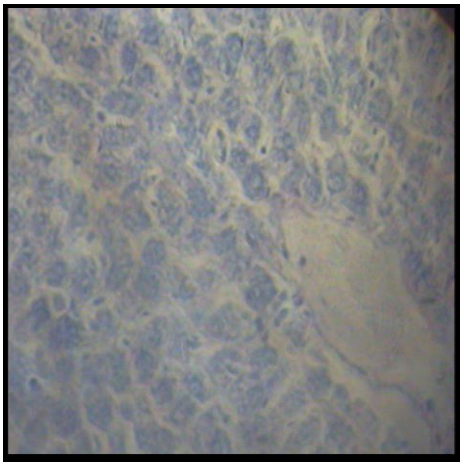
شكل 4 قطاع في كلية جرذ من مجموعة التحكم لاحظ الكربوهيدرات المتعادلة داخل النبيبات الكلوية وتفاعلها الموجب مع صبغة (PAS) . 400 X



شكل 5 قطاع في كبد جرذ قتل بعد 7 أيام أستلم جرع مكررة $1/10\ LD_{50}$ وهي موجبة لصبغة (PAS) دليل على وجود الكربوهيدرات المتعادلة .400 X

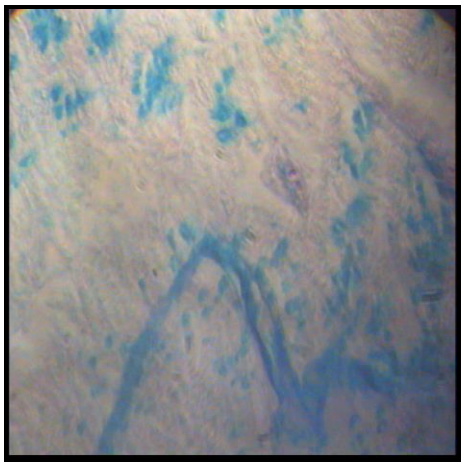


شكل 7 قطاع في أمعاء جرذ من مجموعة التحكم لاحظ التفاعل الموجب لصبغة (AB(pH2.5) / PAS) دليل على وجود مزيج من الكربوهيدرات المتعادلة والحامضية . 100 X

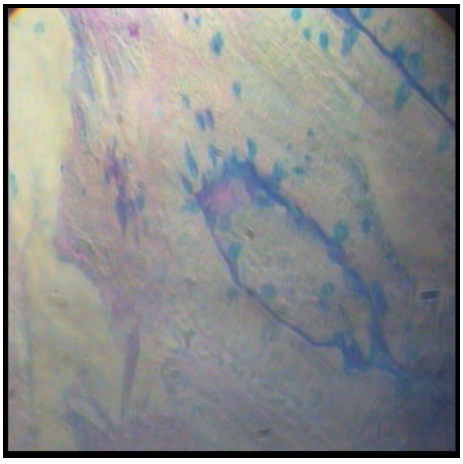


شكل 6 قطاع في كبد جرذ قتل بعد 7 أيام أستلم جرع مكررة $1/10\ LD_{50}$ نفس التفاعل السابق مع صبغة (PAS) . 400 X

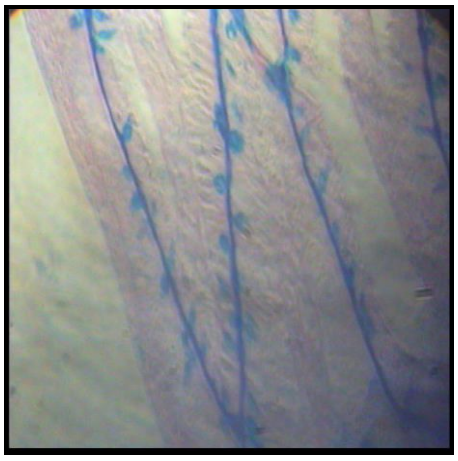
شكل 8 قطاع في أمعاء جرذ قتل بعد 21 يوم أستلم جرع مكررة $1/10\ LD_{50}$ لاحظ وجود الكربوهيدرات وهي مزيج من المتعادلة (اللون الأحمر) و الحامضية (اللون الأزرق) باستعمال صبغة (AB(pH2.5) / PAS) 100 X



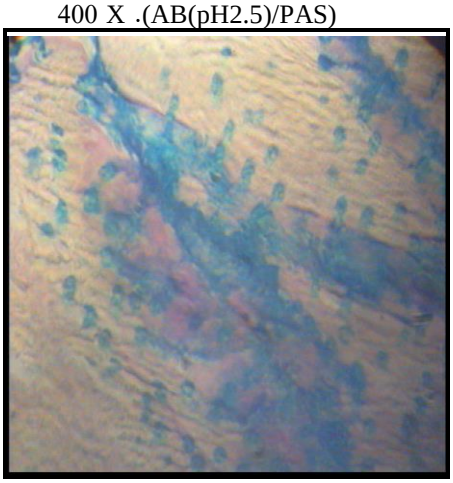
شكل 9 قطاع في أمعاء جرذ قتل بعـد 15 يـوم أستلم جـرع مكـررة LD_{50} 1 / 10 نفـس التفاعـل السـابق لصـبغة (AB(pH2.5)/PAS) . 400 X



شكل 11 قطاع في أمعاء جرذ قتل بعـد 28 يـوم أستلم جـرع مكـررة LD_{50} 1 / 10 نفـس التفاعـل السـابق لصـبغة (AB(pH2.5)/PAS. 400 X



شكل 10 قطاع في أمعاء جرذ من مجموعة التحكم يـبين التفاعـل الموجـب لصـبغة (AB(pH2.5)/PAS) . 400 X



شكل 12 قطاع في أمعاء جرذ قتل بعد 21 يـوم أستلم جرع مكـررة LD_{50} 1 / 10 لاحـظ اللون الأزرق دليل على وجود الكربوهيـدرات الحامضية في حبيبات الخلايا البدينة باسـتعمال صبغة (AB(pH2.5)/PAS) أمـا الطبقـة المخاطية فأخذت اللون الأحمر الأرجواني دليـل على وجود الكربوهيدرات المتعادلة 400 X

Experimental Studies on the effects of chlorpyrifos on Rats
II. Histochemical changes

Ibrahim S. H.. El-durssi[(1)] Ifdial O.S. El-Awami[(2)] Ghyath S. mahmoud[(3)]

Fahim A. Benkhaial[(4)]

Abstract

This Study performed to investigate the effect of Chlorpyrifos (one of the most used insecticides)on certain organs in rats .

The experimental animals were 110 male rats and were divided into four groups: the first group was used to determine the median lethal dose (LD_{50}) which appeared to be equal to (81.2)mg/Kg B.W. While the second group of rats received an oral daily doses of 1/10 LD_{50}. The third and fourth groups of rats were administered single oral dose of 1/10 LD_{50} and 1/30 LD_{50} respectively.

Although histochemical investigation revealed that the epithelial cells of the intestine، liver biliary system and kidney's tubules both in control and experimental rats contained a mixture of acid and neutral mucopolysaccharidse. This reaction matching the histochemistry of both the mast cells and goblet cells in control and experimental rats.

[(1)] Zoology Department / College of science / Omar El-Mukhtar University.

[(2)] Plant Protection Department College of agriculture /Omar El-Mukhtar University.

[(3)] College of veterinary medicine.

[(4)] Food technology department / college of agriculture / Omar El-Mukhtar University.

المراجـــــع

ناثرة محمد علـــي النعيمـــي (1989) ، الـــتغيرات الكيمياوية النسيجية للأكياس العدريـــة في الجرذان المعرضة لجرع مختلفة مـــن أشـــعة كاما . أطروحة ماجستير – كليـــة الطـــب البيطري . جامعة بغداد .

إبراهيم سالم حسين الدرسي (2005) ، الـــتغيرات المرضية والنسيجية الكيمياوية الناتجـــة عـــن تجريع مبيد الكلوربايروفوس (الدورسبان) في الجرذان . أطروحة ماجستير – قسم الحيوان كلية العلوم – جامعة عمر المختار .

El- Culling, C. F. A. (1985). Handbook of Histopathological techniques. 5th. . Ed. *Butterworth.* London.

Mahmoud, G. S. (1979).Ovine Bronchopulmonary Globule Leukocytes. *Ph. D. Thesis. Glsgow Univ. (U K).*

Mahmoud, G. S. (1982). Ovine Bronchopulmonary Globule Leukocytes. I. Morphological and cytochemical studies . Zbl. Vet. Med. C. Anat. Histol. Embryol . 11, 205-212.

Mahmoud, G. S. (1989). Histochemical alterations in the wall of hydated cysts in mice experimentally infected with the larval stage of *Echinococcus granulosus* exposed to various doses of gamma rays. *J. Coll. Vet. Med.* 1. 3.

Mahmoud, G. S. (1990/a). Pathological and Histochemical changes in the respiratory tract of Camel naturally infected with hydated cysts. *Ibn-Al- Haithem. J.*

Mahmoud, G. S. (1990/b). Pathological and Histochemical changes in the biliary system of cattle naturally infected with, *Gigantocotyle explanatum. Iraq. Vet. Med. J.* 14.

Mahmoud, G. S. (1990/c). Pathological and Histochemical changes in the biliary system of buffolloes naturally infected with chconic fascioliasis, *Gigantocotyle explanatum. Iraq. Vet. Med. J.* 14.

Pears, A. G. E. (1968). Histochemistry, Theoretical and Applied. 3rd . Ed. *Churchill Livingstone.* London.

Spicer, S. S. (1960). A correlative study of the Histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.* 8:18-35.

Spicer,S. S. (1963). Histochemical properties of mucopolysaccharides and basic protein in mast cells. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 103: 322-324.