جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

دراسة التأثيرات المرضية لجزيئات أوكسيد الخارصين النانوية والكل في الارانب والدور المحسن لفيتامين هـ

أثير نبيل طه علي الطائي

رسالة ماجستير
الطب البيطري / امراض بيطرية

بإشراف
الأستاذ الدكتورة
هناء خليل اسماعيل

١٤٤٤ هـ ٢٠٢٢ م

الخلاصة

أُجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير حقن جزيئات اوكسيد الخارصين النانوية ومقارنتها مع أوكسيد الخارصين الكل في احداث التأثيرات المرضية على كل من الكبد والكلية والدماغ والخصية وتأثيراتها على وظائف هذه الأعضاء، وكذلك معرفة تأثير إعطاء فيتامين هـ في الحد من التغيرات المرضية.

تم تقسيم 60 ذكر ارنب بالغ عشوائياً الى عشر مجاميع في كل مجموعة ستة ارانب، بالنسبة للتجربة الأولى كانت المجموعة الأولى مجموعة سيطرة تركت من دون معاملة طوال فترة التجربة، المجموعة الثانية تم إعطاؤها فيتامين هـ عن طريق الفم بجرعة 100 ملغم/كغم من وزن الجسم مرتين أسبوعياً لمدة 21 يوماً، المجموعة الثالثة والرابعة والخامسة والسادسة تم حقنها بجزيئات أوكسيد الخارصين النانوية والكل على التوالي وبجرعتين 50 و600 ملغم/كغم من وزن الجسم ولكلا النوعين (النانوي والكل) عن طريق الخلب مرتين اسبوعياً لمدة 21 يوماً، المجموعة السابعة والثامنة والتاسعة والعاشرة تم حقنها بجزيئات أوكسيد الخارصين النانوية والكل على التوالي وبجرعتين 50 و600 ملغم/كغم من وزن الجسم ولكلا النوعين (النانوي والكل) عن طريق الخلب مرتين اسبوعياً لمدة 21 يوماً مع التجريع الفموي للمجاميع السابعة والثامنة والتاسعة والعاشرة بفيتامين هـ بجرعة 100 ملغم/كغم من وزن الجسم مرتين أسبوعياً لمدة 21 يوماً. بعد 21 يوماً من بداية التجربة تم قتل نصف العدد لكل مجموعة (3 لكل مجموعة) وتم اخذ عينات من الدم لإجراء فحوصات الصورة الدموية والفحوصات المصلية وتم اخذ عينات نسجية من الكبد والكلية والدماغ والخصية لإجراء الفحص المجهري النسجي.

بعدها تم البدء بالتجربة الثانية والتي هدفت الى تقييم قابلية الجسم ودور فيتامين هـ في اصلاح الأذى النسجي بعد التوقف عن حقن أوكسيد الخارصين بنوعيه النانوي والكل وقد اعتمد على تصميم التجربة الأولى مع التوقف عن الحقن بأوكسيد الخارصين بنوعيه (النانوي والكل) ولكل المجاميع واستمرار تجريع الحيوانات من المجاميع السابعة والثامنة والتاسعة والعاشرة بفيتامين هـ عن طريق الفم بجرعة 100 ملغم/كغم من وزن الجسم مرتين أسبوعياً لمدة 21 يوماً. وبعد 21 يوماً إضافية عن التجربة الأولى تم قتل جميع الارانب وتم اخذ عينات من الدم لإجراء فحوصات الصورة الدموية والفحوصات المصلية وتم اخذ عينات نسجية من الكبد والكلية والدماغ والخصية لإجراء الفحص المجهري النسجي.

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود ارتفاعاً معنوياً ($P\leq0.05$) في معدل أعداد كريات الدم البيض والخلايا اللمفاوية والصفيحات الدموية ومعدل فعالية كل من ناقلة أمين الالنين وناقلة أمين الاسبارتيت والفوسفاتاز القاعدي والكرياتينين والاسيتايل كولين مع وجود انخفاض معنوي ($P\geq0.05$) في معدل تركيز هرمون التستوستيرون في كل المجاميع التي عوملت بجزيئات أوكسيد الخارصين النانوية وأوكسيد الخارصين الكل ولكلا التجربتين. وعند معاملة المجاميع السابعة والثامنة والتاسعة والعاشرة بفيتامين هـ واستمرار حقن الحيوانات بأوكسيد الخارصين بنوعيه (النانوي والكل) بالنسبة للتجربة الأولى والتوقف عن حقن الحيوانات بأوكسيد الخارصين بنوعيه (النانوي والعادي) بالنسبة للتجربة الثانية فقد لوحظ انخفاض معنوي في معدل اعداد كريات الدم البيض والخلايا اللمفاوية والصفيحات الدموية في المجاميع السابعة والثامنة والتاسعة والعاشرة عن المجاميع الثالثة والرابعة والخامسة والسادسة على التوالي وعدم وجود اختلاف عن مجموعتي السيطرة بالنسبة للتجربة الأولى والثانية وقد انخفض معنوياً معدل الصفيحات الدموية في المجاميع السابعة والثامنة والتاسعة والعاشرة عن نظائرها من المجاميع الثالثة والرابعة والخامسة والسادسة مع التفوق في المجموعتين الثامنة والعاشرة عن مجموعتي السيطرة ولكلا التجربتين ولم يلاحظ وجود اختلاف معنوي في بقية صفات الدم ولكل المجاميع ولكلا التجربتين.

تضمنت التغيرات النسجية عند استخدام جزيئات أوكسيد الخارصين النانوية بجرعة 50 ملغم/كغم من وزن الجسم احتقاناً في الاوردة المركزية وتنكساً فجوياً للخلايا الكبدية ونزفاً بين النبيبات الكلوية وانكماشاً في اللمة الكبيبية وتنكساً ونخراً في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية مع تسجيل ظاهرة التفجي حول الخلايا العصبية واحتقاناً شديداً في الاوعية الدموية ووجود الوذمة حولها مع عدم انتظام اشكال واحجام النبيبات المنوية فضلا عن خلو بعض تجاويف النبيبات المنوية من النطف.

وكانت التغيرات المرضية أكثر شدة في الحيوانات التي تم حقنها ب 600 ملغم/كغم من وزن الجسم اذ لوحظ وجود بؤر التهابية نخرية متعددة في متن الكبد وارتشاح الخلايا الالتهابية وكذلك النزف الحاد وفرط تنسج في ظهارة القناة الصفراوية فضلاً عن التنكس الفجوي والنخر التجلطي للخلايا الكبدية مع تسجيل النزف وظهور تكيسات بين النبيبات الكلوية وتفصصاً في اللمة الكبيبية مع وجود مناطق نخرية عديدة مرتشحة بالخلايا الدباقية وتكفف الخلايا وحيدة النواة حول الاوعية الدموية واحتقاناً شديداً للأوعية الدموية في الاغشية السحائية مع نخر وتنكس للخلايا الهرمية مع تسجيل الخلايا العملاقة في تجاويف بعض النبيبات المنوية فضلا عن النزف وضموراً وقلة في أعداد خلايا ليدك.

اظهرت نتائج الصورة النسجية لمجموعة الحيوانات التي عوملت بجزيئات أوكسيد الخارصين النانوية ومادة أوكسيد الخارصين الكل مع فيتامين هـ تحسناً ملحوظاً في تركيب كل من الكبد، الكلية، الدماغ، والخصية واختلفت شدة التحسن بالاعتماد على تركيز جرعة كل من جزيئات أوكسيد الخارصين النانوية ومادة أوكسيد الخارصين الكل اذ كان التحسن افضل عن استخدام فيتامين هـ مع جرعة 50 ملغم/كغم من جزيئات أوكسيد الخارصين النانوية ومادة أوكسيد الخارصين الكل في حين ان التحسن كان قليلاً عند استخدام فيتامين هـ مع جرعة 600 ملغم/كغم من جزيئات أوكسيد الخارصين النانوية ومادة أوكسيد الخارصين الكل.

نستنتج من الدراسة الحالية أن المعاملة بجزيئات أوكسيد الخارصين النانوية أحدث تغيرات نسجية عديدة في الاعضاء المدروسة مثل الكبد والكلية والدماغ والخصية وقد ازدادت شدة هذه التغيرات بزيادة الجرعة والفترة الزمنية، فضلاً عن أن لجزيئات أوكسيد الخارصين النانوية تأثيراً سلبياً على فعالية انزيمات الكبد (ناقلة أمين الالنين وناقلة أمين الاسبارتيت والفوسفاتاز القاعدي) والكرياتينين ومستوى هرمون التستوستيرون ومستوى الاستايل كولين في مصل الدم بينما أحدث استخدام فيتامين هـ كمضاد للأكسدة تأثيراً ايجابياً على مكونات الدم المدروسة وعلى الصورة النسجية لبعض الاعضاء المدروسة.

University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Study of pathological effects of zinc oxide nanoparticles and bulk in male rabbits and ameliorative role of vitamin E

Atheer Nabeel Taha Al-Ta'ee

MSc/Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary Pathology

Supervised by

Professor

Dr. Hana Khaleel Ismail

2022 AD **1444 AH**

Abstract

This study was conducted to find out the effect of injecting zinc oxide nanoparticles and comparing them with bulk zinc oxide in causing pathological effects on the liver, kidneys, brain and testes and their effects on the functions of these organs, as well as knowing the effect of giving vitamin E in reducing pathological changes.

60 adult male rabbits were randomly divided into ten groups in each group of six rabbits, for the first experiment, the first group was a control group that was left without treatment throughout the experiment period, the second group was given vitamin E orally at a dose of 100 mg / kg of body weight twice weekly for 21 days, the third, fourth, fifth and sixth groups were injected with zinc oxide nanoparticles and bulk, respectively, at two doses of 50 and 600 mg/kg of body weight, and for both types (nano and bulk) intraperitoneally twice weekly for 21 days, the seventh, eighth, ninth and tenth groups were injected with zinc oxide nanoparticles and bulk, respectively, at two doses of 50 and 600 mg/kg of body weight and for both types (nano and bulk) intraperitoneally twice weekly for 21 days with oral administration of vitamin E at a dose of 100 mg/kg of body weight twice weekly for a period of 21 days for seventh, eighth, ninth and tenth groups. After 21 days from the beginning of the experiment, half of the number of each group were killed (3 for each group). Blood samples were taken for blood picture and serological tests. Tissue samples were taken from the liver, kidney, brain and testis for histological microscopy.

Then the second experiment was started, which aimed to assess the body's ability and the role of vitamin E in repairing tissue damage after stopping the injection of zinc oxide with its two types, nano and bulk. And continuous administration of vitamin E orally at a dose of 100 mg/kg of

body weight twice weekly for 21 days for seventh, eighth, ninth and tenth groups.

After an additional 21 days from the end of first experiment, all rabbits were killed and blood samples were taken for blood image and serological tests. Tissue samples were taken from the liver, kidney, brain and testis for histological microscopy.

The results of the statistical analysis showed a significant increase ($P \leq 0.05$) in the average number of white blood cells, lymphocytes, and platelets, and the activity rate of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, creatinine and acetylcholine, with a significant decrease ($P \geq 0.05$) in the mean concentration of testosterone in all groups treated with zinc oxide nanoparticles and bulk zinc oxide and for both experiments. When the seventh, eighth, ninth and tenth groups were treated with vitamin E with continuity of injection with zinc oxide of its two types (nano and bulk) for the first experiment, and stopped injecting the animals with zinc oxide of both types (nano and bulk) for the second experiment, a significant decrease was observed in the rate of numbers of white blood cells, lymphocytes and platelets in the seventh, eighth, ninth and tenth groups than in the third, fourth, fifth and sixth groups, respectively, and there was no difference from the two control groups for the first and second experiment. No significant difference was observed in the rest of the blood characteristics and for all groups and for both experiments.

The histological changes when using ZnO NPs at a dose of 50 mg/kg body weight included congestion of central vein, vacuolar degeneration of hepatocytes, hemorrhage between the renal tubules, atrophy of the glomerular tuft, degeneration and necrosis of the epithelial cells of the renal tubules, vacuolation around neurons and severe congestion in the blood vessels and edema around them, irregular shapes and sizes of the

seminiferous tubules with irregular cell division process of the progenitor cells, as well as the absence of sperms in some cavities of the seminiferous tubules.

While the histological changes when using zinc oxide nanoparticles at a dose of 600 mg/kg of body weight were the presence of multiple inflammatory necrotic and granulomatous foci in the liver parenchyma and infiltration of inflammatory cells as well as severe hemorrhage and hyperplasia in the bile duct epithelium in addition to vacuolar degeneration and coagulative necrosis of hepatocytes, hemorrhage and cystic formation between the renal tubules and lobulation of the glomerular tuft, the presence of several necrotic areas infiltrated by microglial cells, the cuffing of mononuclear cells around the blood vessels, severe congestion of the blood vessels in the meningeal membranes with necrosis and degeneration of the pyramidal cells, the presence of giant cells in the cavities of some seminiferous tubules, as well as hemorrhage, atrophy and decrease in number of Leydig cells.

In the second experiment, the groups of animals treated with ZnO NPs and Bulk ZnO in addition to vit. E showed a significant improvement in the blood picture as a decrease in the numbers of white blood cells, lymphocytes, and platelets, as well as a decrease in the concentration of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and acetylcholine, and an increase in the concentration of testosterone in compared with groups of animals that treated only with ZnO NPs and Bulk ZnO.

The histological picture of the group of animals treated with ZnO NPs and bulk ZnO in addition to vit. E showed a significant improvement in the stucture of the liver, kidney, brain, and testis. This improvement was depended on the dose of ZnO NPs and bulk ZnO. The improving was better when using vitamin E with a dose of 50 mg/kg of ZnO NPs and Bulk ZnO,

while the improvement was little when using vitamin E with a dose of 600 mg/kg of ZnO NPs and Bulk ZnO.

We conclude from the current study that treatment with ZnO NPs induced many histological changes in the studied organs (liver, kidney, brain, and testis), and the severity of these changes depend on the dose and duration of exposure to ZnO NPs. And the ZnO NPs have adverse effects on liver enzymes (ALT, AST, ALP), creatinine, testosterone and acetylcholine levels in the blood serum, while the use of vitamin E as an antioxidant had a positive effect on the studied blood components and the histological picture of some organs.