



جامعة الموصل  
كلية الطب البيطري

# تأثير المرافق الانزيمي Q10 في السمية السلوكية العصبية والنسجية المرضية المحدثة بكبريتات النحاس في نموذج افراخ الدجاج

شهد اسماعيل سعيد النعيمي

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الادوية والسموم البيطرية

باشراف

الأستاذ المساعد الدكتورة

يمامة زهير صالح العبدلي

**تأثير المرافق الانزيمي Q10 في السمية السلوكية  
العصبية والنسجية المرضية المحدثة بكبريتات  
النحاس في نموذج افراخ الدجاج**

رسالة تقدم بها

شهد اسماعيل سعيد النعيمي

الى

مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل

وهي جزء من متطلبات شهادة الماجستير

في اختصاص الطب البيطري / الادوية والسموم البيطرية

باشراف

الأستاذ المساعد الدكتورة

يمامة زهير صالح العبدلي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ ءَامَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا  
الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ ۗ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ﴾

صدق الله العظيم

سورة المجادلة

## اقرار المشرف

اشهد بان اعداد هذه الرسالة قد جرى تحت اشرافي في جامعة الموصل وهي كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص الطب البيطري / الادوية والسموم.

التوقيع :

الاسم: أ.م.د. يمامة زهير صالح العبدلي

التاريخ: 2022 / 7 / 12

## اقرار المقوم اللغوي

اشهد بان هذه الرسالة الموسومة بـ " تاثير المرافق الانزيمي Q10 على السمية العصبية السلوكية المحدثه بكبريتات النحاس في نموذج افراخ الدجاج" تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من اخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك اصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الامر بسلامة الاسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

الاسم: أ.م. د. نذير محمد امين

التاريخ: 2022 / 7 / 12

## اقرار رئيس فرع الفلسفة والكيمياء الحياتية والادوية

بناءً على التوصيتين المقدمتين من قبل المشرف والمقوم اللغوي ارشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع :

الاسم: أ.د. نشأت غالب مصطفى

التاريخ: 2022 / 7 / 12

## اقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات المقدمة من قبل المشرف والمقوم اللغوي ورئيس فرع الفلسفة والكيمياء الحياتية والادوية ارشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع :

الاسم: أ.د. رعد عبد الغني بشير

التاريخ: 2022 / 7 / 13

## اقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن اعضاء لجنة التقويم والمناقشة باننا قد اطلعنا على هذه الرسالة وناقشنا  
الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 2022/9/6 وانها جديرة بالقبول  
لنيل شهادة ماجستير في اختصاص الادوية والسموم .

التوقيع :  
الاستاذ المساعد الدكتور  
سرحان راشد سرحان  
عضو لجنة المناقشة

التوقيع :  
الاستاذ المساعد الدكتور  
احمد صلاح ناصر  
عضو لجنة المناقشة

التوقيع :  
الاستاذ المساعد الدكتورة  
يمامة زهير صالح  
عضو لجنة المناقشة (المشرف)

التوقيع :  
الاستاذ الدكتورة  
غادة عبد المنعم فارس  
رئيس لجنة المناقشة

## قرار مجلس الكلية

اجتمع مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل بجلسته ( ) والمنعقدة بتاريخ  
/ / 2022 وقرر منح الطالبة شهادة ماجستير في اختصاص الادوية والسموم بتقدير .

التوقيع :  
الاسم : أ.د. ظافر محمد عزيز  
عميد كلية الطب البيطري  
التاريخ : / / 2022

التوقيع :  
الاسم : أ.د. رعد عبد الغني بشير  
مقرر مجلس الكلية  
التاريخ : / / 2022

## شكرو وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيدنا محمد وعلى آله وصحبه أجمعين.

أقدم شكري و عرفاني لرئاسة جامعة الموصل وعمادة كلية الطب البيطري وأساتذة كلية الطب البيطري الأفاضل لتقديمهم كل التسهيلات لإكمال هذه الدراسة .

وأيضاً أقدم شكري و عرفاني لأستاذتي الفاضلة المشرفة على رسالتي الأستاذ المساعد الدكتورة (يمامة زهير صالح) لاقتراحها موضوع الدراسة ولمساندتها ودعمها غير المحدود في تزويدي بالمصادر الحديثة ولما أبدته من تعاون كبير وتوجيهات علمية وعملية ومتابعتها الجادة التي كان لها الأثر البالغ في إتمام هذه الدراسة فأحمد الله إذ جعلني أحد تلامذتها وأدعو الله أن يحفظها لعائلتها وطلابها وأن يرفع درجاتها .

وأقدم بوافر الشكر والامتنان لرئاسة فرع الفسلفة والكيمياء الحياتية والأدوية وجميع أساتذتي لما قدموه من دعم وما بذلوه من جهود طيبة لمساعدتي لإكمال هذه الرسالة .

## الباحة

### الخلاصة

الهدف من هذه الدراسة هو التحري عن التأثيرات السمية السلوكية العصبية الحادة لكبريتات النحاس و تأثير اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 باوقات مختلفة في سمية كبريتات النحاس على السلوك العصبي والنشاط الحركي للأفراخ وعلاقة ذلك بنشاط خميرة الكولين استراز وكاسبس-3 (Caspase-3) ومستوى الاجهاد التأكسدي وارتباط ذلك بالتغيرات النسجية المرضية الحاصلة في انسجة الدماغ لافراخ الدجاج. استعمل في الدراسة أفراخ دجاج 144 فرخا. كانت الجرعة المميته الوسطية لكبريتات النحاس في أفراخ الدجاج 772 ملغم/كغم عند اخذ الجرعة عن طريق الفم. تم تحديد الاستجابة للجرع المختلفة من كبريتات النحاس من خلال الاختبارات السلوكية العصبية التي تمثلت بالتأخر في زمن بدء الحركة مع انخفاض معنوي بعدد المربعات المقطوعة وتناسب هذا الانخفاض بشكل طردي مع زيادة الجرعة المعطاة مقارنة مع السيطرة. اما في اختبار تصحيح وضع الجسم فقد سجلت الجرعة المعطاة بنسبة 5% و 10% و 15% زيادة معنوية في زمن تصحيح وضع الجسم مقارنة بالسيطرة وبقية المجاميع. اما في اختبار عدم الحركة الشدي فسجلت المجاميع المعاملة بالتراكيز 5% و 10% و 15% من الجرعة المميته الوسطية وجود زيادة معنوية واضحة في فترة سكون الأفراخ مقارنة مع مجموعة السيطرة. سجلت التغيرات السلوكية العصبية عند إعطاء كل من كبريتات النحاس و المرافق الانزيمي Q-10 معا في الافراخ وجود زيادة معنوية بوقت بدء الحركة كما أن عدد المربعات المقطوعة من قبل الافراخ في المجموعة نفسها سجل انخفاض معنوي مقارنة مع مجموعة السيطرة اما في اختبار عدم الحركة الشدي فقد سجلت المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس زيادة معنوية في مدة سكون الافراخ في هذا الاختبار.

سجلت الافراخ المعاملة بكبريتات النحاس وجود انخفاض معنوي في فترة بدء النوم مع تقليل في فترة التخدير في هذه المجموعة، اما بقية المجاميع فقد سجلت وجود زيادة معنوية في فترة بدء النوم في المجاميع المعاملة بالمرافق الانزيمي وحده او مع كبريتات النحاس مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة كبريتات النحاس، اما طول فترة النوم قد سجلت المجاميع المعاملة بالمرافق الانزيمي وحده او مع كبريتات النحاس وجود انخفاض معنوي في فترة نوم الافراخ مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة كبريتات النحاس، كما ان مجموعة المرافق الانزيمي فقد سجلت انخفاض معنوي في البدء بالنوم مقارنة مع السيطرة وانخفاض في فترة النوم مقارنة مع مجموعة السيطرة وبقية المجاميع. أظهر مستوى القابلية المضادة

للاكسدة الكلية في نسيج الكبد ونسيج الدماغ في المجاميع المعاملة بكبريتات النحاس وبكافة الجرعة وجود انخفاض معنوي عن مجموعة السيطرة . في حين سجلت تراكيز كبريتات النحاس 2.5% و 5% و 10% و 15% من الجرعة المميّنة الوسطية وجود انخفاض معنوي في الكلوتاثيون و زيادة معنوية في المالونديالديهيد مقارنة مع مجموعة السيطرة

بين مستوى تثبيط نشاط خميرة الكولين استراز في التراكيز المختلفة من الجرعة المميّنة الوسطية وجود انخفاض معنوي في نشاط خميرة الكولين استراز مقارنة مع السيطرة مع وجود زيادة بنشاط بخميرة Caspase-3 في نسيج الكبد والدماغ مقارنة مع مجموعة السيطرة. كشف التحدي الدوائي عن اختلافات جوهريّة في بداية النوم وفترة النوم في الافراخ عند إعطاء المرافق الانزيمي Q-10 مع كبريتات النحاس في أوقات مختلفة. تم ربط الإجهاد التأكسدي الكلي، الكلوتاثيون والمالونديالديهيد في المصل وأنسجة الدماغ أيضاً بزيادة نشاط Caspase-3 في أنسجة الدماغ، في حين أن المجاميع التي تلقت المرافق الانزيمي Q-10 مع كبريتات النحاس بشكل متزامن أو قبل الإجهاد التأكسدي كانت أقل إجهاداً تأكسدياً و تغييرات نسيجية مرضية أقل في أنسجة الدماغ

أظهرت نتائج الفحص النسيجي المرضي لانسجة دماغ الافراخ وجود تغييرات مرضية تناسبت شدتها مع زيادة التركيز المعطى للافراخ من كبريتات النحاس. ظهرت نتائج الدراسة النسيجية المرضية نسيج لدماغ الافراخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس ثم المرافق الانزيمي Q10 يوضح قشرة المخ وفيها زيادة وتجمع الخلايا الدبقية و وذمة وعائية منتشرة و وذمة حول المحاور وتفجي Vacuolization الخلايا الدبقية كماظهرت المجموعة المعاملة المرافق الانزيمي Q10 فقط قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية والخلايا الدبقية والأوعية الدموية. ظهرت المجموعة المعاملة بالمرافق الانزيمي Q10 ثم كبريتات النحاس أن قشرة المخ فيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية مع وذمة وعائية حول المحاور.

لخصنا من هذا العمل إلى أن التراكيز العالية من كبريتات النحاس في الدماغ تولد الإجهاد التأكسدي والتغيرات النسيجية المرضية والتي أثرت في السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ في الميدان المفتوح كما أن إعطاء المرافق الانزيمي Q10 في الوقت نفسه أو قبل كبريتات النحاس يقلل من سمية كبريتات النحاس وقد تم استخدام بعض علامات الإجهاد التأكسدي، وكذلك المؤشرات الكيميائية الحيوية والتغيرات النسيجية المرضية والموت المبرمج في خلايا الدماغ لإثبات ذلك.



## تحت المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
أ	الخلاصة
ج	تحت المحتويات
هـ	تحت الأشكال
ح	تحت الجداول
ط	تحت المصطلحات
ط	تحت المختصرات
	الفصل الأول المقدمة Introduction
1	1.1 المقدمة
1	2.1 أهداف البحث والفرضيات المتعلقة به ( Specific Aims and Hypothesis)
	الفصل الثاني استعراض المراجع Review of Literatures
4	1.2 النحاس والبيئة
5	2.2 التأثير الفسلجي للنحاس في الدجاج
5	3.2 أهمية كبريتات النحاس Copper sulfate للدواجن:
6	4.2 النتائج المترتبة على سوء استعمال كبريتات النحاس:
6	5.2 الوقاية من التسمم بكبريتات النحاس:
6	6.2 التسمم بالنحاس في الأغنام
7	7.2 تأثير التسمم بكبريتات النحاس على مكونات الدم
8	8.2 تأثير التسمم بكبريتات النحاس على مستوى السكر في الدم
8	9.2 تأثير التسمم بكبريتات النحاس على وظائف الكلية
9	10.2 تأثير التسمم بكبريتات النحاس على وظائف الكبد
9	11.2 الكبد ودوره في السموم
9	12.2 تأثير التسمم بكبريتات النحاس في الجهاز العصبي
10	13.2 التسمم بالنحاس والاجهاد التأكسدي:
10	14.2 الاجهاد التأكسدي
11	15.2 دور الاجهاد التأكسدي في حدوث أمراض الجهاز العصبي المركزي
12	16.2 العلامات الكيموحيوية الدالة على حدوث الاجهاد التأكسدي
13	17.2 الاجهاد الناجم عن الاكسدة وعلاقته بالنواقل العصبية في الجهاز العصبي المركزي
13	18.2 المرافق الانزيمي Q-10:
14	19.2 الخصائص
14	20.2 الامتصاص
14	21.2 التوزيع والتمثيل الغذائي
15	22.2 الآثار الجانبية والتفاعلات
15	23.2 تأثيرات المرافق الانزيمي Q-10 المختلفة في اجسام الكائنات الحية
	الفصل الثالث المواد وطرائق العمل Materials and Methods
18	1-3: الحيوانات

رقم الصفحة	الموضوع
18	2-3: الأدوية والمواد الكيميائية المستعملة
19	3-3: الأجهزة المستعملة
19	4-3: العدد التشخيصية المستعملة
19	5-3: تحضير الجرعة
19	6-3: جمع عينات الدم
19	7-3: استخراج الأعضاء
20	8-3: التجارب
20	1-8-3: التجربة الأولى
20	2-8-3: التجربة الثانية
21	3-8-3: التجربة الثالثة
23	4-8-3: التجربة الرابعة
23	5-8-3: التجربة الخامسة
26	6-8-3: التجربة السادسة
	<b>الفصل الرابع النتائج Results</b>
27	1.4 التجربة الأولى: إيجاد الجرعة المميتة الوسطية LD <sub>50</sub> (الجم -50)
28	2.4 التجربة الثانية: تجربة تحديد الاستجابة للجرع المختلفة من كبريتات النحاس من خلال الاختبارات السلوكية العصبية.
29	3.4 التجربة الثالثة
32	5.4 التجربة الرابعة
33	6.4 التجربة الخامسة
38	7.4 التجربة السادسة
	<b>الفصل الخامس المناقشة Discussion</b>
52	1.5 المناقشة
	<b>الفصل السادس الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations</b>
60	1.6 الاستنتاجات
61	2.6 التوصيات
62	الملاحق
62	ملحق 1: يبين جدول قياس الجرعة المميتة الوسطية
63	ملحق 2: يبين المنحنى القياسي للكلوتاثيون
65	المصادر
A	<b>Abstract</b>

## تحت الاشكال

رقم الصفحة	العنوان
40	الشكل 1: مقطع نسجي لدماغ فرخ من مجموعة السيطرة يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) والأوعية الدموية. (C) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 x
40	الشكل 2: مقطع نسجي لدماغ فرخ من مجموعة السيطرة يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) والأوعية الدموية. (C) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400 x
41	الشكل 3: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 2.5% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) مع احتقان طفيف بالأوعية الدموية (C) ووذمة حول الأوعية طفيفة perivascular edema (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 x
41	الشكل 4: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 2.5% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) مع وذمة حول الخلايا طفيفة (B) cytogenic edema واحتقان طفيف الأوعية الدموية (C) ووذمة حول الأوعية طفيفة (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400x
42	الشكل 5: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 5% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) مع تجمع الخلايا الدبقية gliosis (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة حول الأوعية (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 x
42	الشكل 6: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 5% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) مع تجمع الخلايا الدبقية gliosis (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة حول الأوعية (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400 x
43	الشكل 7: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 5% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح المخيخ وفيه تنخر خلايا بيركنجي (A) purkinji cell والموت الخلوي المبرمج Apoptosis (B). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 x
43	الشكل 8: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 10% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها تجمع الخلايا العصبية الهرمية (A) pyramidal cells مع تجمع الخلايا الدبقية (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة حول المحاور (D) periaxonal edema ووذمة حول الأوعية (E). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100x
44	الشكل 9: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 10% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها تجمع الخلايا العصبية الهرمية (A) pyramidal cells مع تنخرها (A) مع تجمع الخلايا الدبقية

رقم الصفحة	العنوان
	حول الخلايا العصبية satellitosis (B) والنزف (C) والموت الخلوي المبرمج (D) ووذمة حول المحاور (D) ووذمة حول الأوعية (E). صبغة الهيماتوكسيلين والأيويسين، 400 x
44	الشكل 10: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 10% من الجرعة المميئة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها احتقان الأوعية الدموية (A) ووذمة حولها (B) وحول المحاور (C) وحول الخلايا العصبية (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيويسين، 100 x
45	الشكل 11: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 10% من الجرعة المميئة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها احتقان الأوعية الدموية (A) ووذمة حولها (B) وحول المحاور (C) وتجمع الخلايا الدبقية النجمية حول الخلايا العصبية (D) والابتلاع العصبي (احاطة بقايا الخلايا العصبية بواسطة الخلايا البلعمية) (E) neuronophagia. صبغة الهيماتوكسيلين والأيويسين، 100 x
45	الشكل 12: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 15% من الجرعة المميئة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها تجمع كثيف للخلايا الدبقية (A) ووذمة وعائية شديدة (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة حول المحاور (D) وتجمع الخلايا الدبقية النجمية حول الخلايا العصبية (D) والابتلاع العصبي (احاطة بقايا الخلايا العصبية بواسطة الخلايا البلعمية) (E) neuronophagia. صبغة الهيماتوكسيلين والأيويسين، 100 x
46	الشكل 13: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 15% من الجرعة المميئة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها النخر الاماعي للخلايا العصبية حول الوعاء الدموي (A) وتجمع الخلايا الدبقية (B) والابتلاع العصبي (احاطة بقايا الخلايا العصبية بواسطة الخلايا البلعمية) (C) واحتقان الأوعية الدموية (D) ووذمة وعائية شديدة (E) ووذمة حول المحاور (F). صبغة الهيماتوكسيلين والأيويسين، 100 x
46	الشكل 14: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 15% من الجرعة المميئة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها تجمع للخلايا الدبقية (A) والابتلاع العصبي (احاطة بقايا الخلايا العصبية بواسطة الخلايا البلعمية) (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة وعائية شديدة (D) ووذمة حول المحاور (E) والموت الخلوي المبرمج (F). صبغة الهيماتوكسيلين والأيويسين، 400 x
47	الشكل 15: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 15% من الجرعة المميئة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها تجمع كثيف للخلايا الدبقية (A) وتجمع الخلايا الدبقية النجمية حول الخلايا العصبية (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة وعائية شديدة (D) ووذمة حول المحاور (E) وتنخر (تكسر النواة) (Karyorrhexis) الخلايا العصبية (F) والموت الخلوي المبرمج (G). صبغة الهيماتوكسيلين والأيويسين، 400x
47	الشكل 16: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس مع الإنزيم المساعد Q10 يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) مع وذمة طفيفة وعائية perivascular

رقم الصفحة	العنوان
	edema (C) وحول المحاور (D) Periaxonal edema. صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 x
48	الشكل 17: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس مع الإنزيم المساعد Q10 يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) مع احتقان الوعاء الدموي (C) ووذمة وعائية طفيفة (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400 x
48	الشكل 18: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس ثم الإنزيم المساعد Q10 يوضح قشرة المخ وفيها زيادة وتجمع الخلايا الدبقية (A) Gliosis ووذمة وعائية منتشرة (B) ووذمة حول المحاور (C). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 x
59	الشكل 19: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس ثم لإنزيم المساعد Q10 يوضح قشرة المخ وفيها زيادة وتجمع الخلايا الدبقية (A) Gliosis ووذمة وعائية (B) ووذمة حول المحاور (C) وتفجى Vacuolization الخلايا الدبقية (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400 x
59	الشكل 20: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بالإنزيم المساعد Q10 فقط يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) والأوعية الدموية (C). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 x
50	الشكل 21: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بالإنزيم المساعد Q10 فقط يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) والأوعية الدموية (C). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400 x
50	الشكل 22: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بالإنزيم المساعد Q10 ثم كبريتات النحاس يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) مع وذمة وعائية (C) وحول المحاور (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100x
51	الشكل 23: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بالإنزيم المساعد Q10 ثم كبريتات النحاس يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) مع وذمة وعائية (C) وحول المحاور (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400x

## ثبت الجداول

رقم الصفحة	العنوان
27	الجدول 1: الجرعة المميّنة الوسطية لكبريتات النحاس عبر الفم في افراخ الدجاج.
28	الجدول 2: الاستجابة للجرع المختلفة من كبريتات النحاس من خلال الاختبارات السلوكية العصبية.
29	الجدول 3: الاستجابة السلوكية العصبية لكل من كبريتات النحاس والمرافق الانزيمي Q10 في الوقت نفسه في الافراخ
31	الجدول 4: الاستجابة السلوكية العصبية للمعاملة بكبريتات النحاس قبل اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 في الافراخ
32	الجدول 5: الاستجابة السلوكية العصبية للمعاملة بكبريتات النحاس بعد المرافق الانزيمي Q-10 في الافراخ
33	الجدول 6: تأثير التخدير بالزايلازين والكتامين على المعاملات المختلفة بكبريتات النحاس وQ-10 في افراخ الدجاج
34	الجدول 7: جدول يمثل حالة الاجهاد التأكسدي من خلال قياس كل من TAC و الكلوتاثيون و المالوندايالديهيد في مصل الافراخ المعاملة بالتراكيز المختلفة من LD50.
34	الجدول 8: نشاط خميرة الكولين استراز في بلازما الافراخ المعاملة بالتراكيز المختلفة من LD <sub>50</sub> .
35	الجدول 9: فعالية Caspase-3 في نسيج الكبد والدماغ للافراخ المعاملة بالتراكيز المختلفة من كبريتات النحاس
36	الجدول 10: حالة الاجهاد التأكسدي في المعاملات المختلفة بكبريتات النحاس والمرافق الانزيمي Q10 في افراخ الدجاج
37	الجدول 11: دراسة التأثير في نشاط خميرة الكولين استراز في بلازما دم الافراخ المعاملة بكبريتات النحاس والمرافق الانزيمي Q-10 وبأوقات مختلفة
38	الجدول 12: مستوى Caspase-3 في نسيج دماغ وكبد الافراخ المعاملة بكبريتات النحاس والمرافق الانزيمي Q-10 وبأوقات مختلفة

### ثبت المصطلحات

المصطلح باللغة الإنجليزية	المصطلح باللغة العربية
Oxidativestress	الاجهاد التاكسدي
Median lethal dose	الجرعة المميّة الوسطية
Tonic immobility response	اختبار عدم الحركة الشدي
Righting reflex	تصحيح المنعكس
Open field activity	نشاط حركي داخل الميدان
Karyorrhexis	تكسر النواة

### ثبت المختصرات

الكلمة	المختصر
Ubiquinol	Q10
Copper sulphat	CuSo <sub>4</sub>
Glutathione	GSH
Malondialdehyde	MDA
Electron transport chain	ETC
Oxygen free radicals	OFRs
Thaiobabturic Acid	TBA
Media lethal dose	LD <sub>50</sub>
Total antioxidant capacity	TAC

## الفصل الأول

### المقدمة

## Introduction

### 1.1 المقدمة

ازداد التلوث بالمعادن الثقيلة في السنوات الأخيرة بسبب التعدين والكوارث الطبيعية والأنشطة البشرية والصناعية (Sabullahet al.,2015). تشير المعادن الثقيلة إلى أي عنصر كيميائي فلزي له كثافة عالية نسبيًا و سامًا عند التركيز المنخفض .

( Duruibe et al., 2007 ). التعرض المستمر للعديد من المعادن الثقيلة التي قد تحتوي على النحاس والكاديوم والزنك والنيكل والرصاص والزرنيخ له مجموعة واسعة من الآثار الضارة على الكائنات الحية على الرغم من أن بعض المعادن الثقيلة لها دور في الكيمياء الحيوية ولها تأثير عند التراكيز المنخفضة ، وهي تؤثر سلبا على الوظائف الفسيولوجية بالتراكيز العالية بسبب التراكم الحيوي في الأعضاء الحيوية (Sabullah et al. , 2014) لا يعدّ النحاس في الحالة الطبيعية والتراكيز القليلة عنصرا من العناصر السامة القوية في الكبد إلا في بعض الحالات الوراثية والعيوب التي تؤدي إلى عدم القدرة على طرح النحاس، تناول الأغذية الملوثة بتراكيز عالية من النحاس يمكن أن يؤدي إلى تلف الكبد والكلية والدماغ ولا تعد مادة سامة للكائنات الحية إلا تحت ظروف استثنائية إلى حد ما (Sternleib , 1980).

تحتاج العديد من العمليات الحيوية إلى الإنزيمات والخمائر التي يدخل النحاس في تركيبها. يتم الحصول على النحاس من الطعام ويضمن الكبد النقل الآمن لهذا العنصر (Stren , 2007). على النقيض من ذلك ، يتجاوز النحاس غير عضوي إلى حد كبير الكبد ويدخل الدم مباشرة وهذه الطريقة الأخيرة لامتناس النحاس يحتمل أن تكون سامة ، لأن النحاس يمكن أن يخرق حاجز الدم في الدماغ (Brewer , 2009) ، وعلى الرغم من أن النحاس يرتبط بالبروتين إلا أنه يمكنه فك ارتباطه بالبروتين وإطلاقه ويعمل على تحفيز تكوين الجذور الحرة للهيدروكسيل شديدة التفاعل وأنواع الأكسجين التفاعلية الأخرى (Zhu et al. ,2012).



ويمكن أن تؤدي الاضطرابات في توازن النحاس إلى حدوث خلل في استقلاب النحاس والاضطرابات المصاحبة للتغيرات التنكسية الجديدة (Gaetke and Chow, 2003).

المرافق الأنزيمي Q10 أو (Ubiquinone) هو حامل بروتون وإلكترون متحرك في السلسلة التنفسية في الميتوكوندريا ويمتاز بخصائص مضادة للأكسدة تستخدم على نطاق واسع كمضاد للاكسدة ولتخفيف أعراض العديد من الحالات المرضية المرتبطة بخلل وظائف الميتوكوندريا. يعد المرافق الأنزيمي أحد أشهر مضادات الأكسدة ويعد الشكل المختزل منه (الكينون) كحامل للإلكترون في الميتوكوندريا في سلسلة نقل الإلكترون، وشكله المختزل كليا اليوبيكوينول يعمل أيضًا كمضاد للأكسدة في أغشية الخلايا والعضيات (Lee et al., 2012)

يمنع Ubiquinone العواقب السلبية المحتملة للجذور الحرة الناتجة أثناء الاكسدة الفسفورية في غشاء الميتوكوندريا الداخلي و الإجهاد التأكسدي الذي يؤدي إلى فقدان الكلوتاتيون وتلف الحمض النووي والبروتين المؤكسد، الذي له دور في العديد من الاضطرابات العصبية التنكسية ، بما في ذلك مرض الزهايمر ومرض باركنسون في البشر (Sanoobar et al., 2013).

استعمل المرافق الأنزيمي Q10 على نطاق واسع في المجال الطبي ، بدءًا من تطبيقاته العلاجية في الأمراض التنكسية العصبية مثل الضمور الجهازي المتعدد الحالات مثل متلازمة بارثو فشل القلب ومقاومة الأنسولين (Sanoobar et al., 2013)

## 2.1 أهداف البحث والفرضيات المتعلقة به (Specific Aims and Hypothesis)

### أ- أهداف البحث:

- 1- دراسة التأثيرات السمية السلوكية العصبية الحادة لكبريتات النحاس في افراخ الدجاج في مستوى السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ داخل الميدان المفتوح.
- 2- التحري عن تأثير اعطاء المرافق الأنزيمي Q-10 عند إعطائه قبل او مع او بعد المعاملة بكبريتات النحاس في السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ.
- 3- دراسة تأثير المعاملة السابقة في نشاط خميرة الكولين استراز وخميرة كاسبس-3 (Caspase-3).

4- دراسة تأثير المعاملة السابقة على مستوى الاجهاد التأكسدي من خلال قياس مستوى الكلوتاثيون والمالوندايديهايد في المصل.

5- دراسة نسجية مرضية للتغيرات الحاصلة في انسجة الدماغ لافراخ الدجاج.

**ب- الفرضيات المتعلقة بالبحث:**

لمحدودية التجارب السريرية المنشورة حول امكانية المرافق الانزيمي Q-10 في التخفيف من السمية العصبية الناتجة من كبريتات النحاس في افراخ الدجاج ارتأينا اجراء هذه الدراسة.

## الفصل الثاني

### إستعراض المراجع

#### Review of Literatures

كبريتات النحاس هو ملح لونه أزرق ينتج من تفاعل أكسيد النحاس مع حمض الكبريتيك، وهي (بطيئة) الذوبان في الماء إذ يستغرق وقتاً طويلاً ليذوب تماماً في الماء، فيجب أن يؤخذ ذلك في الاعتبار عند إعطائه في الماء والعليق. وجد كبريتات النحاس في الطبيعة على شكل بلورات زرقاء كبيرة، قابلة للذوبان في الماء، ويحتوي على خمس جزيئات من الماء  $[CuSO_4 \cdot 5H_2O]$ . ومن المعروف عادة باسم "الزاج الأزرق" أو "الحجر الأزرق". تستعمل بشكل أساس للأغراض الزراعية بوصفه مبيداً للآفات وفي صناعة الجلود والطلاء (Blundell et al., 2003). له الطعم المعدني، تعد كبريتات النحاس عامل مؤكسد قوي وتعمل على تآكل الأغشية المخاطية مسبباً تلف الخلايا وقد ينجم الموت عن التراكم المفرط للنحاس التي من خلالها يرتبط النحاس المختزل في الخلية مع مجموعات السلفهيدريل ويثبط نشاط الإنزيمات مثل الجلوكوز 6 - فوسفات ديهيدروجينيز واختزال الكلوتاثيون (Saravu et al., 2003)

#### 1.2 النحاس والبيئة

النحاس هو أحد أخطر المعادن الثقيلة ولا يمكن أن يتحلل وبالتالي، فإنه يميل إلى التراكم الحيوي في الكائنات الحية وتعطيل السلسلة الغذائية وفي النهاية يهدد حياة الإنسان. تلوثات النحاس تأتي من مصادر طبيعية وبشرية المنشأ مثل ترشيح التربة الزراعية وغسل المناجم ومبيدات الطحالب ومبيدات الرخويات في البيئة المائية (Hedayati and al gafary, 2013). الأسماك هي الهدف الأساس للتراكم الحيوي للمعادن الثقيلة وعلى وفق العديد من الدراسات ممكن أن يتسبب النحاس في أضرار جسيمة للكائنات الحية (Sabullah et al., 2014). إن تأثير المواد السامة المتراكمة سوف يسبب ضرراً شديداً لأنظمة الكائنات الحية مما يؤدي إلى التأثير السام الشامل للتفاعلات الأيضية وكذلك الأنشطة البدنية والسلوكية. تعتمد محاكاة المعادن في الكائنات الحية على عدة عوامل مثل المستوى الغذائي و الموقع

و سلوك التغذية والحجم والعمر و مدة التعرض للمعادن وتركيز المعادن. عندما يتراكم مركب سام في جسم الكائن الحي ، قد يؤدي إلى اضطرابات فسيولوجية و مرضية وبيوكيميائية في الأسماك المعرضة (Joshi et al. , 2011).

## 2.2 التأثير الفسلجي للنحاس في الدجاج:

يمتص النحاس عند تناوله الى الدم و يرتبط معظمه بالألبومين. ويشكل هذا النحاس حوالي 5-10% من إجمالي كمية النحاس المتداولة في الإنسان يتم تصفية البلازما على الفور عن طريق الكبد حيث يوجد نظام في الأغشية عالي الكفاءة متحسس للنحاس المرتبط بالألبومين في غضون ساعات ، يترسب 60-90% من النحاس الممتص في الكبد حيث يتم امتصاصه بواسطة بروتين في العصارة الخلوية يتم دمج الباقي في بروتينات نحاسية محددة ، مثل السيتوكروم ج أوكسيداز وسيرولوبلازمين، أو تؤخذ بواسطة الجسيمات الحالة قبل أن يفرز في الصفرَاء (Arias et al. , 2006)

## 3.2 أهمية كبريتات النحاس Copper sulfat للدواجن:

- 1- يستعمل في العلاج والوقاية من الفطريات القوية (مثل الاسبراجلس والكانديدا) والذي يستعمل في ماء الشرب بمعدل من 0.25 الى 0.5 جم لكل لتر من ماء الشرب، كما يستعمل ايضا في القضاء على السموم الفطرية في الدجاج.
- 2- يستعمل في تطهير خزانات المياه وخطوط المياه من اي ميكروبات وفطريات ويستعمل لتجهيز العنابر لاستقبال فوج جديد.
- 3- من المواد التي تعمل بقوه على البكتيريا اللاهوائية داخل جسم الطائر في الامعاء مثل الكلوسترديا في الدواجن.ومن مميزات كبريتات النحاس انه لا يحدث مناعه ضد الميكروب، فيكون استعماله في مياه الشرب جيد خصوصا في المزارع التي تستعمل العديد من المضادات الحيوية وادت الى حدوث مناعة من الميكروب ضدها.
- 4- كبريتات النحاس مهم للعديد من الوظائف داخل جسم الطائر حيث يلعب دورا مهما في الطيور من خلال تكوين هيموكلوبين الدم وبالتالي كرات الدم الحمراء، وهو ضروري لتكوين العديد من الانزيمات داخل الجسم ويساعد في زيادة استفادة الطيور من الفوسفور كما يوتر في تركيز الكلوتاثيون في الخلايا الكبدية للطيور مما يوتر في تصنيع الكوليسترول وبالتالي يعمل على خفض المحتوى الكلي للدهن والكوليسترول في الذبيحة

بمعدل 350 غم لكل طن علف، كما يعد أيضا محفزا لنمو الطائر (scott *et al.*, 2018) و (<https://alzira3a.com>).

#### 4.2 النتائج المترتبة على سوء استعمال كبريتات النحاس:

تؤدي زيادة جرعة النحاس الى حدوث تسمم جزئي وخمول وفقر دم وبعض الاعراض العصبية وبهتان وتغير لون الكبد، ويرجع ذلك الى اكسدة دهون جدار الخلية وخاصة الخلية الكبدية مما يؤدي الى أن فقدان نفاذية الخلية وتدمير تاكسدي للكبد وقلة انزيمات الاكسدة الكبدية المتمثلة في (SOD) superoxide dismutase ، catalase (CAT) و glutathione (GSH) يؤدي التسمم بالنحاس الى فشل في الكبد. أيضا من اخطر مظاهر التسمم بالنحاس هو خلل في DNA الخلية كذلك نقص في اوزان الطيور (Hashem *et al.*, 2021).

#### 5.2 الوقاية من التسمم بكبريتات النحاس:

- اعطاء بعض الادوية مثل: الاسبرين (Mattie , 2001).
- إعطاء البروبيوتك: وهي كائنات دقيقة توجد بصورة منفردة أو في صورة مجاميع لها تأثيرات مفيدة للطائر، إذ تحسن من ميكروفلورا الأمعاء عند استعمالها كإضافات غذائية بأعلاف الدواجن بنسب محددة وتعمل على حفظ التوازن البكتيري وتنشيط البكتيريا النافعة في القناة الهضمية مما يؤثر إيجابياً في صحة الطائر وزيادة معدلات نموه وتحسين الحالة الوظيفية للأمعاء وزيادة معدلات التحويل الغذائي عن طريق زيادة معدلات الهضم والامتصاص في الأمعاء، كما تلعب دوراً هاماً جداً بمنافسة الميكروبات المرضية على مستقبلات الأمعاء مما يقلل من فرصة ظهور الأمراض المعوية. وأيضاً تقوم بسد الأماكن المسئولة عن امتصاص السموم في الأمعاء ولذلك فمن الممكن استخدامها للوقاية من التسمم بكبريتات النحاس في الطيور، البروبيوتك أيضا تفرز بعض الفيتامينات والأحماض الأمينية والخمائر التي تساعد على الهضم وكذلك إفراز حمض اللاكتيك الذي يؤدي إلى تقليل نشاط البكتيريا الضارة التي تنشط في الوسط القلوي (Bi *et al.*, 2021)

#### 6.2 التسمم بالنحاس في الحيوانات

التسمم بالنحاس يسبب أزمة انحلال دموي حادة وتظهر الحيوانات سريريا علامات الضعف وفقدان الشهية واليرقان وضيق التنفس وشحوب الأغشية المخاطية. وقد تكون هناك بيلة هيموكلوبينية والموت شائع بين الحيوانات المصابة بشدة. تشمل نتائج تشريح الجثة

اليرقان وتورم الكبد وتضخم الطحال والكلية تظهر داكنة ، وغالبًا ما يشار إليها باسم الكلى الزرقاء أو السوداء. التعرض الحاد للنحاس الزائد يسبب تهيج الجهاز الهضمي ويمكن أن يسبب تآكل الغشاء المخاطي وكذلك تغير لون المحتويات والجدار باللون الأزرق والأخضر. عادة، يتم الاحتفاظ بتركيز النحاس الحر في الخلايا منخفضًا جدًا عن طريق البروتينات الرابطة للنحاس مثل الميتالوثيونين والكلوتاثيون وبروتينات النحاس (Hashem *et al.*, 2021). الفائض من النحاس يطغى على هذه البروتينات الرابطة ويسمح بدخول أيونات النحاس الحرة الى داخل الخلية مباشرة. فضلا عن ذلك يمكن أن يشكل النحاس أنواعًا تفاعلية من الأوكسجين وجذور الهيدروكسيل ، مما يتسبب في أكسدة الدهون في الأغشية وتلف الأحماض النووية وتسمم البروتينات الخلوية (Zhu *et al.* , 2012). عندما ينتقل النحاس من الكبد يمكن أن يتراكم في الكلى. ويسبب تضررها من تراكم النحاس والتأثيرات السامة المباشرة للهيموكلوبين بعد الانحلال (Gupta , 2019)

## 7.2 تأثير التسمم بكبريتات النحاس على مكونات الدم

أظهرت نتائج فحص الدم في إحدى الدراسات انخفاضًا كبيرًا في عدد كرات الدم الحمراء عند إعطاء كبريتات النحاس في الطيور (Hashem *et al.* , 2021). قد يكون فقر الدم بسبب النحاس الزائد حيث يعمل النحاس كمثبط تنافسي للحديد مما يؤدي إلى فقر الدم الناجم عن نقص الحديد (Chan and Rennert , 1980) يمكن أن يرجع الانخفاض في تركيز الهيموكلوبين إلى تفاعل النحاس المحتوي على إنزيم السيتوكروم أوكسيداز ، والذي يشارك في تخليق الهيم عن طريق تحويل  $Fe + 3$  إلى  $Fe + 2$  حديث إن انحلال الدم داخل الأوعية الدموية هو علامة نموذجية من سمية النحاس مما أدى إلى انخفاض مستوى الهيموكلوبين (Baruah *et al.* , 2018) أظهرت إحدى الدراسات على الطيور المسمم  $CuSO_4$  قلة الكريات البيض و اللمفاويات و عدم انتظام الكريات البيض ، وقلة الكريات البيض وقد عزيت هذه النتائج إلى الإصابة العامة الناتجة عن الجرعة السامة من  $CuSO_4$  على الخلايا الجذعية المكونة للدم وذكرفي تلك الدراسة أن فقر الدم بسبب النحاس الزائد المرتبط بالغشاء المخاطي الفيبريتين يتدخل في إعادة استخدام الحديد من الفيبريتين في الخلايا الشبكية البطانية وهكذا عمل النحاس كمثبط تنافسي للحديد ، مما أدى إلى فقر الدم الناجم عن نقص (Chan and Rennert , 1980)

أفادت دراسة أخرى أنسب قلة كريات الدم البيض هو نتيجة لزيادة تعبئة الكريات البيض لحماية الجسم في الأنسجة المتضررة من النحاس (Mazon *et al.* , 2002).

## 8.2 تأثير التسمم بكبريتات النحاس في مستوى السكر في الدم

يشير نقص السكر في الدم إلى نفاذ موارد الطاقة (الكلايوجين) وبالتالي تدهور حالة الكائن الحي بسبب حدوث الإجهاد التأكسدي والذي يسبب نقصاً كبيراً في السكر في دم الطيور المسممة بكبريتات النحاس وتسبب هذه النتيجة ناقص في تناول العلف (Hashem *et al.* , 2021)

## 9.2 تأثير التسمم بكبريتات النحاس في وظائف الكلية

كشفت اختبارات وظائف الكلى زيادة في حمض اليوريك ومستوى الكرياتينين في دم الطيور المسممة بكبريتات النحاس. تشير هذه الارتفاعات إلى ضعف كلوي (سمية كلوية) نتيجة لذلك تحدث عدد من التغييرات في عتبة إعادة الامتصاص النبيبي ، وتدفق الدم الكلوي ، والكبيبي ومعدل الارتشاح مما يوحي بأن الكلى لا تستطيع إفراز هذه المنتجات بسبب ضعف وظائف الكلى (Hassan *et al.* , 2010). حمض البوليك هو المنتج النهائي الرئيسي لتفويض النيتروجين (Hosseintabar *et al.* , 2015). ترتبط مستويات حمض البوليك في الدم بالتأثيرات السامة للنحاس والفشل الكلوي بسبب تأثير مستقبلات النحاس ، إن ارتفاع تركيز حمض البوليك قد يتم تأكيده من أكسدة الدهون في الدم بسبب سمية النحاس ، مما يسبب اضطراباً في وظيفة إفراز الكلى (Torki *et al.* , 2015). أشارت دراسة أخرى إلى ارتفاع حمض البوليك بشكل ملحوظ في مصل الدجاج اللاحم التي تعطي مستويات عالية من النحاس (Jegade *et al.* , 2011). هذه النتائج تم تأكيدها من خلال النتائج النسيجية المرضية في الكلى ، والتي أظهرت انتشاراً واسعاً للنخر في النسيج الطلائى الأنبوبي الكلوي ، وفرط الخلايا وتسلل الخلايا الليمفاوية الكبيبات ، نزيف واسع النطاق وانحلالاً دمويًا. كشفت التغييرات التنكسية والنخرية في كلى الطيور التي اعطيت كبريتات النحاس أن إضافة الفيتامينات C و E مع النحاس خفض مستويات الكرياتينين في الدم وحمض البوليك مقارنة مع مجموعة النحاس، قد يكون هذا بسبب تأثير هذه الفيتامينات المضادة للأكسدة. كشفت عدة تحقيقات أن الفيتامينات C و E تعمل بشكل تآزري (McDowell , 2008). تم تأكيد هذا بشكل نسجي مرضي ، فقد أظهرت الكلى في الدجاج تغيرات معتدلة بالالتهاب مع آفات كلوية معتدلة في كبريتات النحاس مع مجموعة فيتامين C ، وتغيرات تنكسية خفيفة مع محاولات

تجديد قليلة فيمجموعة كبريتات النحاس مع فيتامين E ، محاولات تجديد كبيرة في النبيب الكلوي، واستعاد النسيج الخلالي صورته النسيجية الطبيعية في  $CuSO_4$  مع فيتامين C مع مجموعة فيتامين E (Hashem *et al.* , 2021).

## 10.2 تأثير التسمم بكبريتات النحاس في وظائف الكبد

أن التراكيز العالية من النحاس سامة للرخويات والدجاج والقوارض والمجترات و يتراكم النحاس أساساً فيالكبد الذي تختلف سعته التخزينية باختلاف أنواع الحيوانات. الفئران مقاومة تماماً للإعطاء المزمن للنحاس، يظهر النخر الكبدي للأغنام ليس فقط مع الإعطاء التجريبي للنحاس ولكن في كثير من الأحيان عندما تم تغذية الحيوانات في المراعي المعاملةبأملاح النحاس (Jaffal , 2015).يؤدي النخر إلى إطلاق النحاس من الكبد إلى الدم ، مما تسبب في انحلال الدم والقصور الكلوي، تسمم النحاس التجريبي في البشر والحيوانات يختلف حسب الأنواع في تراكم النحاس في الكبد ففي الكلاب يتم تمثيله مع 10 أضعاف تركيزه في البشر وبعض البجع الأخرس إذ تكون 50-100 أكثر من الطبيعي ولا تحدث أية إصابة هيكلية في كبد هذه الحيوانات، يبدو أن آلية العزل بواسطة الجسيمات الكبدية تجعل مثل هذه التراكيز الهائلة من النحاس غير ضارة لبعض الحيوانات، اما في البشر وبقية الحيوانات فتسمم النحاس يخضع لتغيرات وظيفية أو هيكلية تؤثر في التوازن أو البقاء على قيد الحياة (Gaetke , 2003). يمكن تغيير غشاء البلازما من خلال إزاحة المكونات بشكل طبيعي وإدخال مكونات أخرى في مواقع أخرى غير مشحونة قد يؤثر ذلك على قدرة الغشاء على تكوين حاجز لانتشار الجزيئات والأيونات الصغيرة.

## 11.2 الكبد ودوره في السموم

يؤدي الكبد دوراً مهماً في التوازن النحاسي وإزالة السموم من المعادن الثقيلة (Das and Gupta , 2013). تراكم النحاس في عدد من آليات التكيف في الكبد مثل زيادة تخليق الكلوتاثيون والميتالوثيونين ، الذي تم الإبلاغ عن مشاركته في إزالة السموم الخلوية من المعادن (López-Alonso *et al.* , 2005).

## 12.2 تأثير التسمم بكبريتات النحاس في الجهاز العصبي

النحاس (Cu) هو عنصر حيوي يعمل كعامل مساعد للبروتينات والخمائر في العديد من المسارات الجزيئية بما في ذلك الجهاز العصبي المركزي. يمكن أن يؤدي تراكم النحاس أو نقصه إلى تغيير وظيفة الخلايا العصبية ويؤدي إلى تنكس الخلايا العصبية وخلل في



وظائف المخ. يمكن أن يؤدي تناول مستويات عالية من النحاس إلى (تسمم النحاس) الذي يؤثر على بنية الدماغ ووظيفته. ، إن تأثير كبريتات النحاس على المخيخ بالطرق المجسمة والسلوكية في الفئران تم قياسها في الجرذان (Sprague-Dawley) فقد اعطيت كبريتات النحاس بالتجريب الفموي المذاب في الماء المقطر يوميًا لمدة 4 أسابيع، أظهرت الجرذان انخفاضًا كبيرًا في الأحجام الإجمالية لهياكل المخيخ كما انخفض العدد الإجمالي للخلايا في القشرة المخيخية ونواة المخيخ العميقة بشكل كبير بطريقة تعتمد على الجرعة. كما انخفض طول الألياف العصبية وعددها لكل خلية عصبية و بشكل ملحوظ في مجاميع النحاس وارتبطت هذه التغييرات بضعف الأداء الحركي للحيوانات في اختبار Rotarod. أشارت النتائج السابقة إلى أن سمية النحاس تسببت في ضعف الأداء الحركي في الجرذان، والذي يمكن أن يعزى إلى آثاره الضارة على بنية المخيخ (Erfanizadeh et al., 2021)

### 13.2 التسمم بالنحاس والاجهاد التأكسدي:

تعد الجذور الحرة والأكسدة الفوقية للدهون والبروتينات والحمض النووي احد مؤشرات السمية الخلوية التي يسببها النحاس Gaetke and (Chow, 2003). وتعزى اليه التسمم الى أيونات النحاس الحرة التي تعمل كمحفزات قوية لتكوين الأوكسجين التفاعلي (ROS) ويمكن أن تؤدي أيونات النحاس دورًا أساسيًا في تفاعلات الأكسدة والاختزال على سبيل المثال ، يمكن اختزال الأيونات النحاسية ( $^{+2}\text{Cu}$ ) إلى النحاس ( $^{+}\text{Cu}$ ) في وجود فوق الأوكسيد ( $\text{O}_2$ ) ، والتي يمكن أن تحفز إنتاج جذور الهيدروكسيل التفاعلية (OH) الناتجة من بيروكسيد الهيدروجين ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) إذ إن جذور الهيدروكسيل هي أقوى الجذور المؤكسدة الموجودة في الأنظمة الحية وقد تحفز بيروكسيد الدهون مما يسبب إصابة الأنسجة (Halliwell and Chirico , 1993).

### 14.2 الاجهاد التاكسدي

يعرّف الإجهاد التأكسدي على أنه زيادة في كمية الجذور الحرة داخل خلايا جسم الكائن الحي التي تنتج عن التعرض للمركبات المؤكسدة وأن حالة الإجهاد التأكسدي تدل على حدوث خلل في الدفاعات الحيوية الخلوية المضادة للأكسدة مثل المألوندايالديهايد داخل خلايا الجسم ويتم الاستدلال على حالة الإجهاد التأكسدي

بقياس تركيز المألوندايالديهيد والكلوتاثيون في بلازما الدم وأنسجة الكائن الحي إذ يرتفع تركيز المألوندايالديهيد في حالة الإجهاد التأكسدي وينخفض تركيز الكلوتاثيون فضلاً عن حدوث خلل في الأنزيمات المضادة للأكسدة والتي تستخدم أيضاً في تشخيص حدوث الإجهاد التأكسدي مثل الكلوتاثيون بيروكسيداز Peroxidase Glutathione والكاتالاز Catalase والسوبر أوكسيد ديسميوتاز Superoxide Dismutase

(Patockova et al. , 2003 ; Dalle-Donne et al., 2006).

وكذلك يعرف الإجهاد التأكسدي على أنه عدم التوازن بين العمليات الكيموحيوية والتي تؤدي إلى إنتاج مركبات تحتوي على الأوكسجين الفاعل Reactive Oxygen Species (ROS) وبين العمليات المسؤولة عن التخلص من هذا الأوكسجين الفاعل والتي يطلق عليها سلسلة مضادات الأكسدة Antioxidant Cascade (Achuba et al., 2005 ; Sayre et al., 2008).

## 15.2 دور الإجهاد التأكسدي في حدوث أمراض الجهاز العصبي المركزي

إن الجهاز العصبي المركزي يختلف عن باقي أجهزة الجسم بكونه أكثر عرضة للإجهاد التأكسدي وذلك بسبب حاجته المستمرة إلى الأوكسجين بشكل كبير واحتوائه على تركيز قليل من مضادات الأكسدة وكذلك إلى احتوائه على كمية عالية من الدهون غير المشبعة ولكون مركباته الخلوية الكبيرة مثل الكربوهيدرات والدهون والبروتينات فهو أكثر عرضة لعمليات الأكسدة

(Patockova et al., 2003 ; Achuba et al., 2005 ; Sayre et al., 2008).

هناك دلائل تشير إلى أن للإجهاد التأكسدي دوراً في حدوث الاستجابة الالتهابية العصبية وفي حدوث الأمراض التي تتسم بتكس Degeneration الخلايا العصبية مثل تصلب الأعصاب اللويحي المتعدد Multiple Sclerosis (Sayre et al., 2008).

للإجهاد التأكسدي دور كبير في أمراض تصلب الأعصاب اللويحي المتعدد الذي يعمل على نقصان في تراكيز مضادات الأكسدة في الدم والسائل الشوكي-المخي Cerebro-Spinal Fluid و تحطم غلاف المايلين والمحور للخلايا العصبية فضلاً عن زيادة الجذور الحرة وزيادة في الناقل العصبي الكلوتاميت Glutamate اثناء حدوث هذا المرض (Sayre et al. , 2008).

## 16.2 العلامات الكيموحيوية الدالة على حدوث الإجهاد التأكسدي

إن حالة الإجهاد التأكسدي يتم الاستدلال عليها باستخدام الاختبارات الكيموحيوية ومن أهمها قياس تركيز المألوندايالديهيد والكلوثاثيون فضلاً عن قياس حالة مضادات الأكسدة الكلي Total Antioxidants Status (TAS) (Dalle-Donne *et al.*, 2006) وهي من العلامات المهمة الدالة على حدوث الإجهاد التأكسدي:

### أ- قياس تركيز الكلوثاثيون GSH

هو مركب منتشر بصورة واسعة في جسم الكائن الحي ويؤدي دوراً مهماً في وظيفة الخلية الأيضية والدفاعية وذلك عن طريق إزالة السمية للجذور الحرة والتي تتكون نتيجة العمليات الأيضية داخل الخلية حيث يتكون الكلوثاثيون من ثلاث سلاسل ببتيدية مرتبطة بمجموعة الكبريت (Pastore *et al.*, 2003).

يتم الاستدلال على حالة الإجهاد التأكسدي بقياس تركيز الكلوثاثيون في بلازما وأنسجة الكائن الحي إذ ينخفض تركيزه في حالة الإجهاد التأكسدي لأنها تؤدي إلى حدوث خلل في الدفاعات الحيوية الخلوية المضادة للأكسدة داخل خلايا جسم الكائن الحي (Pastore *et al.*, 2003 ; Patockova *et al.*, 2003 ; Dalle-Donne *et al.*, 2006).

إن الكلوثاثيون من المركبات المضادة للأكسدة إذ يعمل على وقاية الخلايا من الإجهاد التأكسدي فينخفض تركيزه عند التعرض للمواد الكيميائية والعوامل التي تسبب الإجهاد التأكسدي (Hussain *et al.*, 1995).

### ب- قياس تركيز المألوندايالديهيد MDA

إن قياس تركيز المألوندايالديهيد في بلازما دم الإنسان يعد خطوة مهمة للكشف عن عملية بيروكسدة الدهون الناتجة من حالة الإجهاد التأكسدي (Sim *et al.*, 2003) ، وإن قياس تركيزه في بلازما الدم يستخدم كعلامة دالة على حدوث حالة الإجهاد التأكسدي في الإنسان (Nielson *et al.*, 1997).

يحدث ارتفاع في مستوى تركيز مركب المألوندايالديهيد وذلك نتيجة حدوث حالة الإجهاد التأكسدي التي تؤدي إلى تحطم أغشية خلايا الجسم الحاوية على الدهون غير المشبعة وهو الناتج النهائي لعملية بيروكسدة الدهون Lipid Peroxidation لدهون أغشية خلايا الجسم (بيروكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة ولاسيما الحامض الدهني الأراجيدونيك Arachidonic Acid) ومن خلال قياس تركيز

المالوندايالديهايد يتم الاسـتدلال على حالة الإجهاد التأكسدي (Patockova et al., 2003 ; Achuba et al., 2005) إذ يرتفع تركيز المالوندايالديهايد وهو علامة دالة على حالة الإجهاد التأكسدي. (Achuba et al., 2005; Dalle-Donne et al., 2006).

إن ارتفاع تركيز المالوندايالديهايد مقارنة بمجموعة السيطرة يدل على حدوث الإجهاد التأكسدي إذ انه ينتج طبيعياً داخل الجسم من عملية بيروكسدة الدهون (Marnett , 1999).

## 17.2 الإجهاد الناجم عن الاكسدة وعلاقته بالنواقل العصبية في الجهاز العصبي

### المركزي

إن الإجهاد التأكسدي يؤدي إلى حدوث أمراض عصبية ومنها مرض باركنسون الذي يؤدي الى تحطيم الخلايا العصبية المنتجة للكاتيكولامينات Catecholamines مثل الدوبامين والنورأدرينالين والأدرينالين في الدماغ (Sayre et al., 2008).

كما أن الإجهاد التأكسدي يؤدي إلى حدوث أمراض تنكسية في الخلايا العصبية مما يؤثر في قابليتها على إفراز النواقل العصبية ويحدث هذا بسبب التأثيرات الضارة في أنزيم السوبر أوكسيد ديسميوتاز (Sayre et al., 2008).

## 18.2 المرافق الانزيمي Q-10:

Coenzyme Q10، المعروف أيضاً باسم Ubiquinone أو Ubidecarenone ، هو عنصر غذائي شبيه بالفيتامينات ومركب قابل للذوبان في الدهون. وهو موجود في جميع الخلايا. يقع في المقام الأول في الميتوكوندريا ويوجد أيضاً في أغشية الخلايا والبروتينات الدهنية. تتمثل الوظيفة الأساسية لـ CoQ10 في دوره في إنتاج الطاقة الخلوية ، إذ يستعمل سلسلة نقل الإلكترون ، على طول الغشاء الداخلي للميتوكوندريا ، CoQ10 كمكون في الفسفرة المؤكسدة التي تحول منتجات التمثيل الغذائي (الكربوهيدرات والدهون والبروتينات) إلى طاقة مثل ATP.1 Ubiquinol (CoQH2) ، وهو الشكل المختزل تماماً من CoQ10 ، لديه قدرة فريدة على العمل كمضاد أكسدة قوي قابل للذوبان في الدهون من خلال التأثير على بدء وانتشار أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) ، والتي تسبب الإجهاد التأكسدي يؤدي إلى تأثيرات ضارة في تلف الدهون والبروتينات والحمض النووي والحالة الوظيفية العامة للميتوكوندريا . تنخفض مستويات CoQ10 مع تقدم العمر ، ويمكن أن يؤدي فقدان الطاقة

إلى جانب زيادة إنتاج ROS إلى الإجهاد التأكسدي المرتبط بالعمر و يمكن أن يؤثر في تطور حالات التمثيل الغذائي الأخرى.

## 19.2 الخصائص

CoQ10 له خصائص متنوعة ، هو عامل مساعد لمجمعات إنزيم الميتوكوندريا التي تشارك في الفسفرة المؤكسدة في إنتاج الأدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP). وبالتالي ، فإنه يؤدي دوراً أساسياً في الطاقة الحيوية الخلوية (Bhagavan and Chopra , 2006). مما أدى إلى استخدامه السريري في الحالات التي تشمل الأنسجة ذات المتطلبات الأيضية العالية ، مثل عضلة القلب. فضلا عن دوره في إنتاج ATP ، يعمل CoQ10 كمضاد للأكسدة أو كاسح للجذور الحرة. شكله المختزل ، يوبيكوينول ، هو في حد ذاته أحد مضادات الأكسدة القوية المحبة للدهون ويمكنه إعادة تدوير وتجديد مضادات الأكسدة الأخرى في الجسم. تم وصف العديد من الوظائف الأخرى لـ CoQ10 ، مثل إشارات الخلية والتعبير الجيني وتنشيط الغشاء (Langsjoen and Langsjoen , 1999).

## 20.2 الامتصاص

لأن CoQ10 محب للدهون فإن امتصاصه يشبه امتصاص الدهون في الجهاز الهضمي ويزداد إذا تم تناوله مع وجبة دهنية. يتم امتصاصه في الأمعاء الدقيقة بمساعدة إفرازات البنكرياس والصفراء. بعد الامتصاص يتم تقليل CoQ10 إلى Ubiquinol ونقله إلى الكبد و يتم دمج في جزيئات البروتين الدهني منخفض الكثافة (LDL) / (VLDL) ويتم إطلاقه في الدورة الدموية. بعد تناوله عن طريق الفم يحدث أقصى تركيز في البلازما لـ CoQ10 في غضون 6 إلى 8 ساعات و يبلغ نصف عمر التخلص منه أكثر من 30 ساعة (Langsjoen and Langsjoen , 1999).

## 21.2 التوزيع والتمثيل الغذائي

يوجد CoQ10 في جميع الأنسجة بكميات متفاوتة ، مع أعلى تركيزات تظهر في الأنسجة ذات المتطلبات العالية للطاقة أو النشاط الأيضي ، مثل القلب والكلى والكبد والعضلات. في هذه الأنسجة ، يوجد مركب CoQ10 في المقام الأول على شكل يوبيكوينول ويتركز في الغالب في الميتوكوندريا ، مما يعكس أهميته في وظيفة الميتوكوندريا.

بسبب تصنيع CoQ10 في جميع الأنسجة ، فإن الجسم لا يعتمد عادة على الإمدادات الخارجية من CoQ10. ومع ذلك فإن التخليق الحيوي الداخلي يميل إلى الانخفاض مع تقدم

العمر. فضلا عن ذلك ، قد يتعرض النسيج CoQ10 للخطر في العديد من الحالات الفيزيولوجية المرضية. في ظل هذه الظروف ، قد تكون هناك حاجة إلى CoQ10 الخارجي للحفاظ على مستويات الدم والأنسجة الطبيعية. (Langsjoen and Langsjoen , 1999).

## 22.2 الآثار الجانبية والتفاعلات

على الرغم من وجود مركب CoQ10 بشكل طبيعي في جسم الإنسان وبالتالي يجب تحمله جيداً ، فقد تم تسجيل مجموعة متنوعة من التفاعلات الضارة ، على الرغم من ندرة حدوثها وخفوتها بشكل عام. وتشمل قلة الشهية ، والإسهال ، والدوخة ، وعسر الهضم ، والغثيان / القيء. على الرغم من أن أحد التقارير يشير إلى انخفاض في تأثير الوارفارين مع CoQ10 التكميلي ، إلا أن دراسة خاضعة للرقابة لاحقة أظهرت عدم وجود مثل هذا التفاعل (Engelsen *et al.* , 2002).

لم تتم دراسة استقلاب CoQ10 جيداً في البشر ، ولكن الدراسات من النماذج الحيوانية تظهر أن CoQ10 يتم استقلابه في جميع الأنسجة. الطرائق الرئيسية للتخلص منه هي إفراز القنوات الصفراوية والبراز ، مع إخراج كمية قليلة في البول.

## 23.2 تأثيرات المرافق الانزيمي Q-10 المختلفة في اجسام الكائنات الحية

المرافق الانزيمي Q10 هو جزيء صغير محب للدهون يتكون من نواة بنزوكينون وسلسلة جانبية متساوية. يتم تصنيعه من قبل جميع الخلايا (باستثناء خلايا الدم الحمراء)، المرافق الانزيمي Q10 أساس للإلكترون، ونقل الإلكترونات وبالتالي السماح بمرور مستمر من الإلكترونات داخل السلسلة ، وهو أمر ضروري لعملية الفسفرة المؤكسدة (Gueven *et al.* , 2015). فضلا عن دوره كناقل للإلكترون ، يعمل CoQ10 كمضاد أكسدة قابل للذوبان في الدهون، وحماية الأغشية الخلوية والبروتينات الدهنية ضد الأكسدة التي تسببها الجذور الحرة (Greenberg and Frishman , 1990) تشمل وظائف CoQ10 تثبيت الغشاء وتعديل التعبير الجيني. ويمكن أن يسهم نقص CoQ10 في حدوث فيزيولوجيا المرض عن طريق التسبب في فشل الميتوكوندريا واستقلاب الطاقة، مما يضر بقدرة مضادات الأكسدة الخلوية وكذلك يؤثر سلباً في استقرار الغشاء والتعبير الجيني، يمكن أن ينتج نقص CoQ10 إما من عيب جيني في مسار التخليق الحيوي

CoQ10، يُعرف بالنقص الأساسي، أو نتيجة طفرة معروفة في جين غير مشارك بشكل مباشر في التخليق الحيوي لـ CoQ10 (Cotán et al. , 2011).

تقلل كمالات CoQ10 من مستويات الوسيط الالتهابي للبروتين التفاعلي (CRP) C ، والإنترلوكين 6 (IL-6) ، وعامل النخر ألفا (TNF-) من خلال التأثير التكميلي على عامل النسخ النووي NF kappa beta ، حسب الأبحاث السريرية (Abiri and Vafa , 2021)

يقلل CoQ10 من تطور الأمراض التنكسية من خلال هذه الأساليب ، فضلا عن المشاركة في تكرار إصلاح الحمض النووي (من خلال موقعه كعامل مساعد مهم في تخليق البيريميدين) ، وتنظيم الخصائص الفيزيائية والكيميائية للأغشية الخلوية ، وتنظيم التعبير الجيني ، تم اكتشاف الإنزيم المساعد Q10 الآن في أغشية خلوية أخرى وبلازما الدم ، وقد تم البحث بشكل مكثف عن أهميته كمضاد للأكسدة (Pastor-Maldonado et al. , 2020).

ثبت أن الكمالات الغذائية التي تؤثر في مستويات CoQ10 في الجسم لها تأثير واقل للخلايا ، ويمكن تفسير ذلك من خلال تأثيرها الكبير على التعبير عن الجينات التي تشارك بشكل أساسي في إشارات الخلية ، كوسائط لعملية التمثيل الغذائي ، والنقل ، والتحكم في النسخ ، والالتهاب ، مما يعني أن CoQ10 يؤدي دورًا مهمًا كمنظم جيني قوي (Guescini et al. , 2017)

وجدت بعض الدراسات أن نقص CoQ10 ناتج عن ضعف في تصنيعه نتيجة لنقص التغذية (على سبيل المثال ، نقص فيتامين B6) ، وهو عامل مساعد ضروري لتخليق CoQ10 الحيوي ، أو خلل وراثي أو مكتسب في تخليق CoQ10 ، أو احتياجات الأنسجة الزائدة بوصفها نتيجة مرض معين أو عند تناول دواء معين ، مما قد يفسر التغيرات المرضية في الجسم (Abiri and Vava , 2021).

لأن الكبد هو الموقع الأساس لتخليق CoQ10 ، فقد تأثر ، كما يتضح من إحدى الدراسات التي وجدت انخفاضًا في إنتاج CoQ10 لدى مرضى الكبد. يتوافق هذا مع النتائج السابقة التي توصلنا إليها ، إذ يؤدي تلف أنسجة الكبد إلى انخفاض مستويات CoQ10 ، مما يؤدي إلى تأثيرات مرضية الأنسجة على الكبد والكلية (Abdeen et al. , 2020).

حسب نتائج أحد البحوث ، تسبب الجذور الحرة للأوكسجين أكسدة الغشاء الفسفوليبيد ، مما يسبب السمية الخلوية. هذا يؤدي إلى زيادة سيولة الغشاء ونفاذه ، وكذلك انخفاض في المنتجات النهائية لعملية الأكسدة ، مثل MDA ، شديدة التفاعل وقادرة على التسبب في الضرر. يرتبط بروتينات الغشاء مع المجموعات الأمينية ، مما يتسبب في تدهور غشاء الخلية وفقدان الوظيفة ، CoQ10 له نشاط مضاد للأكسدة يمكن أن ينشط الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل الكاتالاز ، ديسموتاز الفائق والأكسدة الكلوتاثيون بيروكسيداز (Mehrabani et al. , 2019).

ان المرافق الانزيمي Q10 يلعب دورا مهماً في إنتاج ثلاثي فوسفات الأدينوزين (ATP) وان تحسين ATP مرتبط بتحسين الخلل في الوظيفة الإدراكية والأمراض النفسية. أظهرت الدراسات السابقة أن الاكتئاب يترافق مع تحفيز مسارات الإجهاد الالتهابي والتأكسدي (Cotán et al. , 2011).

و في دراسة حديثة ، أجريت للتحقيق في الآثار المفيدة لـ CoQ10 على الخلل الوظيفي السلوكي ومستوى CoQ10 في دماغ الفئران استخدم فيها التسريب داخل البطني (ICV) لجرعة وحيدة من الستربتوزوتوسين ( STZ ، 0.2 ملغم /حيوان) في ذكور الجرذان البالغة للبحث على الاكتئاب كشفت البيانات السلوكية عن اختلاف معنوي بين مجاميع حيوانات الاكتئاب والسيطرة فيما يتعلق باختبار السباحة القسري (FST) ونتائج اختبار الرش خلال 24 ساعة بعد علاج STZ. و أظهرت تقنية كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء (HPLC) التي تم التحقق من صحتها ودقتها انخفاض مستوى CoQ10 في عينات الدماغ من مجموعة STZ ، مقارنة بالسيطرة. كشفت النتائج التي توصلوا إليها أن التشوهات السلوكية الناجمة عن STZ تستهدف الميتوكوندريا وتؤثر على استقلاب الطاقة والإرقاء ، مما يؤدي إلى بدء الضرر التأكسدي في الدماغ. و يمكن أن يؤدي تناول CoQ10 لمدة 4 أسابيع إلى عكس الآثار السلبية مثل السلوك العصبي والتأثيرات الحيوية للـ STZ في المجموعات المعالجة (Andalib et al. , 2019).



## الفصل الثالث

### المواد وطرائق العمل

## Materials and Methods

### 1-3: الحيوانات

استعملت لهذه الدراسة أفراخ دجاج نوع Rose ومن كلا الجنسين بعدد تقريبي يعادل 144 فرخا ربيت في قاعة الدواجن في بيت الحيوان التابع لكلية الطب البيطري جامعة الموصل، جلبت الأفراخ من احد المفاقس المحلية بعمر يوم واحد وربيت لعمر 7 ايام ثم تم البدء بالتجربة وكانت اوزان الأفراخ تتراوح ما بين 80-150غم حيث كانت الأوزان للأفراخ متقاربة ضمن التجربة الواحدة وربيت الفراخ في أقفاص مناسبة وخاصة لهذا الغرض ومزودة بالماء والعلف وبكميات وفيرة مع توفير الظروف من تهوية ودرجة حرارة وإضاءة وفرشة وجهازت بالعلف من المعامل المحلية لإنتاج العلف الحيواني.

### 2-3: الأدوية والمواد الكيماوية المستعملة

1. كبريتات النحاس المائية من شركة Zeppelinstrassa Karlsruhe Germany، الألمانية
2. المرافق الانزيمي Q-10 من إنتاج شركة Scharlau Spain
3. حمض الخليك الثلجي شركة TEDA
4. ثايوباربيتوريك (TBA) شركة Merk
5. حمض الهيدروكلوريك بتركيز 0.25 N شركة EverGrow
6. دارئ سترات ثلاثي الصوديوم بتركيز 10% شركة EverGrow
7. دارئ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> buffer (0,3 مولارتي) شركة Merk
8. 5,5 ثايو بس ( 2- نايترو حمض البنزويك ) DTNB شركة DXN
9. الكلوتاثيون شركة Relumins
10. فورمالين دارئ متعادل 10% شركة DXN
11. ماء مقطر
12. الزايلازين شركة Supplier
13. الكيتامين شركة Eipico
14. يوديد الاستيل كولين شركة Relumins

### 3-3: الأجهزة المستعملة

- الميزان الحساس الإلكتروني شركة Scaltec - Centrifuge كوربا
- الحمام المائي شركة B & T إنكلترا .
- المطياف الضوئي إنتاج شركة Lovibond ألمانيا
- صندوق الميدان المفتوح Open field box
- جهاز الطرد المركزي B & T إنكلترا .
- جهاز قياس الدالة الحامضية إنتاج شركة Ilko كوريا.

### 3-4: العدد التشخيصية المستعملة

- 1- عدة قياس Caspase-3 من إنتاج شركة Biolabo فرنسا
- 2- عدة قياس TAC Total Antioxidant Capacity من إنتاج شركة ELabscinence فرنسا

### 3-5: تحضير الجرع

تم تحضير جرع كبريتات النحاس و Q-10 وذلك بعد حساب الجرعة المحددة لكل مادة على حدة واذيبت كبريتات النحاس بالماء المقطر بينما خفف Q-10 بواسطة زيت الذرة، ثم أعطيت الجرع للافراخ باستعمال محقنة التجريع الفموي وكان حجم الجرعة المعطاة 5-10 مل/كغم من وزن الجسم و حسب وزن الطير.

### 3-6: جمع عينات الدم

قطع الوريد الوداجي للفرخ لغرض جمع الدم في أنابيب بلاستيكية وزجاجية وفصلت إلى مجموعتين: احدهما تحتوي على مضاد التخثر لاستخراج بلازما الدم والأخرى بدون مضادات التخثر لاستخراج مصل الدم. بعد جمع عينات المصل والبلازما لمدة 15 دقيقة وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة ادقيقة لمدة 15 دقيقة، تم حفظ عينات البلازما والمصل عند -20 درجة مئوية حتى إجراء الاختبارات الكيميائية المخبرية.

### 3-7: استخراج الأعضاء

أ- استخراج الدماغ: فتحت جماجم الدجاج بعد الذبح باستخدام عدة التشريح واستخرجت الأدمغة بالكامل ووضع قسم من كل عينة في أكياس مرقمة بـ 20- درجة مئوية ووضع

القسم المتبقي من كل عينة في حاويات خاصة تحتوي على الفورمالين المخفف بتركيز 10% مع مراعاة ترقيم كل مجموعة على حدة لحفظها حتى يتم الفحص النسيجي المرضي.

ب - استخراج الكبد: تم استخراج الكبد وبعد ان تم غسله بالماء وضع في اكياس خاصة مرقمة وحفظ في المجمدة -20 درجة مئوية لحين إجراء الفحص الخاص بها في المختبر.

### 3-8: التجارب

#### 3-8-1: التجربة الأولى

تحديد الجرعة المميتة الوسطية (جم-50) (LD<sub>50</sub>) (Median lethal dose) لكبريتات النحاس في افراخ الدجاج

استعمل في هذه الدراسة كبريتات النحاس المائية وتم الاعتماد على التجارب الأولية في تحديد الجرعة الأولى التي اعطيت للافراخ واستعملت طريقة الصعود والنزول (Dixon , 1980) وجرعت الافراخ بوساطة محقنة التجريع Gavage needle واعتمدت على الجرعة الأولية للمعاملة وكانت قيمة الزيادة والنقصان بالجرعة قيمة ثابتة وبعد إعطاء عدة جرعات مختلفة من كبريتات النحاس للافراخ اوجدت الجرعة المميتة الوسطية.

#### 3-8-2: التجربة الثانية:

تحديد الاستجابة للجرع المختلفة من كبريتات النحاس من خلال الاختبارات السلوكية العصبية.

استخدم في هذه التجربة 30 فرخاً قسمت عشوائياً الى 5 مجاميع كل مجموعة مكونة من 6 افراخ اعطيت الافراخ في هذه التجربة عدة جرعات من كبريتات النحاس بالاعتماد على الجرعة المميتة الوسطية التي تم تحديدها في التجربة السابقة واخذت التراكيز الاتية منها وهي 2.5% وتمثل 19.5 ملغم/كغم و5% وتمثل 38.6 ملغم/كغم و10% وتمثل 77.5 ملغم/كغم و15% وتمثل 115.8 ملغم/كغم واستمرت المعاملة لمدة 3 أيام ثم في اليوم الرابع سجلت التغييرات الحاصلة في السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ داخل الميدان المفتوح وقد تم اختيار افضل جرعة من نتائج هذه التجربة تظهر التأثيرات الكامنة والتي سيتم تطبيقها على بقية التجارب.

### 3-8-3: التجربة الثالثة

تأثير اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 باوقات مختلفة مع كبريتات النحاس على السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ داخل الميدان المفتوح.

A- تأثير اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 مع كبريتات النحاس على السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ داخل الميدان المفتوح.

قسمت الافراخ عشوائيا في هذه التجربة الى 4 مجاميع كل مجموعة من 6 افراخ بعمر 7 ايام (المعاملة بكبريتات النحاس لمدة 3 ايام وبجرعة 2.5% من LD<sub>50</sub>) وعلى النحو الاتي:  
G1: مجموعة السيطرة تعطى الماء المقطر فقط.

G2: مجموعة كبريتات النحاس وحده بجرعة 19.5 ملغم/كغم.

G3: مجموعة معاملة بكل من كبريتات النحاس 3 ايام و Q-10 لمدة 7 ايام.

G4: مجموعة المرافق الانزيمي Q-10 30 ملغم/كغم وحده لمدة 7 ايام.

بعد اكمال مدة المعاملات في التجربة تخضع الافراخ لكل من الاختبارات السلوكية التالية:

#### 1. اختبار عدم الحركة الشدي (Gudev *et al.*, 2011) Tonic immobility response

يجرى اختبار عدم الحركة الشدي وذلك بوضع كل فرخ لوحده على جانبه الأيمن مع محاولة تهدئة وتسكين الفرخ لمدة 15 ثانية ثم تسحب اليد بهدوء ويحسب الزمن الذي استغرقه الفرخ ساكنا لحين بدء المقاومة والتحرك واقصى مدة زمنية هي 300 ثانية والفرخ الذي يفشل في محاولة التسكين تعاد التجربة عليه ثانية وبمعدل 5 محاولات مع ترك مدة زمنية بين محاولة وأخرى بمقدار 30 ثانية.

#### 2. اختبار منعكس تصحيح وضع الجسم Righting reflex

يتم الاختبار بوضع كل فرخ من الافراخ المعاملة في المجاميع السابقة على احد جانبيه ويحسب الوقت الذي يستغرقه الفرخ لتصحيح وضع جسمه او فشله في ذلك. (Correa, 2001).

#### 3. اختبار النشاط الحركي للافراخ داخل الميدان المفتوح Open field activity

استعمل صندوق خشبي مربع معد لهذا الغرض أبعاده 60 × 60 سم قسمت أرضيته الى 24 مربعا" متساوي الطول، ضلع المربع حوالي 15 سم ، في غرفة منعزلة وتم اخضاع كل فرخ وحده لهذا الاختبار ويحسب وقت بدء الحركة وعدد المربعات المقطوعة بعد وضع الحيوان في وسط الصندوق واستغرق الاختبار 3 دقائق لكل

فرخ ويختبر هذا القياس الحركة العامة للأفراخ ونشاطها داخل صندوق الميدان المفتوح ( Jones and Carmichael , 1997 ).

بعد الانتهاء من الاختبارات السلوكية العصبية السابقة تم قتل 6 افراخ من كل مجموعة واخذ الدم منها لغرض جمع عينات المصل والبلازما وعينات الدماغ وكما ذكر سابقا.  
**B- تأثير المعاملة المسبقة بكبريتات النحاس قبل اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 على السلوك العصبي والنشاط الحركي للأفراخ داخل الميدان المفتوح.**

قسمت الافراخ عشوائيا في هذه التجربة الى 4 مجاميع كل مجموعة من 6 افراخ بعمر 7 ايام (المعامل بكبريتات النحاس لمدة 3 أيام وبجرعة 2.5% من LD 50) وعلى النحو الاتي:

- G1: مجموعة السيطرة تعطى الماء المقطر فقط.

- G2: مجموعة كبريتات النحاس وحده بجرعة 19.5 ملغم/كغم.

- G3: مجموعة معاملة سابقا بكبريتات النحاس 3 أيام ثم Q-10 لمدة 7 ايام.

- G4: مجموعة المرافق الانزيمي Q-10 30 ملغم/كغم وحده لمدة 7 ايام.

بعد اكمال مدة المعاملات في التجربة اخضعت الافراخ للاختبارات السلوكية السابقة:

**C- تأثير المعاملة السابقة بالمرافق الانزيمي Q-10 قبل اعطاء كبريتات النحاس على السلوك العصبي والنشاط الحركي للأفراخ داخل الميدان المفتوح.**

قسمت الافراخ عشوائيا في هذه التجربة الى 4 مجاميع كل مجموعة من 6 افراخ

بعمر 7 ايام (المعاملة بكبريتات النحاس لمدة 3 أيام وبجرعة 2.5% من LD 50)

وعلى النحو الاتي:

- G1: مجموعة السيطرة تعطى الماء المقطر فقط.

- G2: مجموعة كبريتات النحاس لوحده بجرعة 19.5 ملغم/كغم.

- G3: مجموعة معاملة سابقا بالمرافق الانزيمي Q-10 وحده لمدة 7 أيام ثم كبريتات النحاس 3 أيام.

- G4: مجموعة المرافق الانزيمي Q-10 30 ملغم/كغم وحده لمدة 7 ايام.

بعد اكمال مدة المعاملات في التجربة اخضعت الافراخ للاختبارات السلوكية السابقة

على السلوك العصبي والنشاط الحركي للأفراخ داخل الميدان المفتوح.

### 3-8-4: التجربة الرابعة

#### تجربة التحدي الدوائي

تقسم الافراخ عشوائيا في هذه التجربة الى 6 مجاميع كل مجموعة من 6 افراخ بعمر 7 ايام (المعاملة بكبريتات النحاس لكافة المجاميع لمدة 3 ايام) وعلى النحو الاتي:

G1: مجموعة السيطرة تعطى الماء المقطر فقط.

G2: مجموعة كبريتات النحاس وحده.

G3: مجموعة معاملة بكل من كبريتات النحاس لمدة 3 ايام والمرافق الانزيمي Q-10 لمدة 7 ايام.

G4: مجموعة معاملة بكبريتات النحاس سابقا ثم المرافق الانزيمي Q-10 لمدة 7 ايام بعد المعاملة بكبريتات النحاس.

G5: مجموعة معاملة بالمرافق الانزيمي Q-10 لمدة 7 ايام ثم بعدها كبريتات النحاس لمدة 3 ايام.

G6: مجموعة المرافق الانزيمي Q-10 وحده لمدة 7 ايام.

بعد انتهاء مدة المعاملات السابقة تركت الافراخ لمدة 7 ايام بعد انتهاء اخر معاملة ثم عرضت لاختبار التحدي الدوائي بالزيتلازين 5 ملغم/كغم حقن تحت الجلد والكتامين 20 ملغم/كغم حقنا بعضلة الصدر (Al-Zubaidy , 2003)

وتم حساب فترة بدء الافراخ بالتخدير وطول فترة التخدير في الافراخ المعاملة في كافة المجاميع.

### 3-8-5: التجربة الخامسة

#### قياس بعض المتغيرات الكيموحيوية

تم قياس بعض المتغيرات الكيموحيوية لبلازما ومصل الدم للافراخ المعاملة في التجربة الثانية والثالثة وشملت هذه القياسات:

A- دراسة حالة الاجهاد التأكسدي من خلال قياس كل من TAC والكلوتاثيون والمالوندايالديهيد في مصل ونسيج الافراخ المعاملة بالتراكيز المختلفة من LD<sub>50</sub>.

قياس قدرة مضادات الاكسدة الكلية:

تم القياس باستخدام عدة قياس خاصة من شركة امريكية Elabscience.

### قياس تركيز الكلوتاثيون في المصل:

اعتمدت طريقة المان المحورة (Jamese *et al.*, 1982) في تحديد تركيز الكلوتاثيون في المصل.

قمنا بتجهيز ما يأتي:

- 1- محول دارى ثلاثي سترات الصوديوم Trisodium-citrate buffer بتركيز 10%
- 2- الكاشف 5.5 ثايوبس (-2 نايتر وحمض البنزويك) DTNB بتركيز 0,04% ويحضر بإذابتها في 100 مل من محلول دارى ثلاثي سترات الصوديوم المحضرفي أعلاه ويتم تحضير الكاشف يوميا وتحفظ هذه المحاليل في الثلاجة عند 4 درجة مئوية
- 3- محلول دارى فوسفات الصوديوم الحامضية  $Na_2HPO_4$  (0.3 مولاري) ويحضر بإذابتها في 42.588 غم من هذه المادة (ذات الوزن الجزيئي 141.96 غم/لتر) في لتر من الماء المقطر
- 4- الكلوتاثيون المختزل L-Glutathione.

### طريقة العمل :

مبدأ التفاعل يعتمد على التفاعل بين الكاشف DTNB وهو (كاشف المان) مع الكلوتاثيون الموجود في العينة مكونا معقدا "لونيا" اصفر ذهبياً تعتمد شدة اللون للمعقد على تركيز الكلوتاثيون في العينة ويقاس هذا اللون باستعمال جهاز المطياف الضوئي .

تم الفحص بإضافة 0.5 مل من مصل كل عينة في انبوبة اختبار نظيفة ويتم وضع 0.5 مل ماء مقطر في انبوبة الكفاء Blank ثم أضيف 2 مل من محلول دارى فوسفات الصوديوم المحضرة في أعلاه الى كل انبوبة ثم رجت الانابيب جيدا بعدها نضيف 0.5 مل من محلول كاشف DTNB الى كل انبوبة ثم نرج الانابيب جيدا ثم تترك لمدة 5 دقائق بعدها تم قياس الامتصاص الضوئي للعينات مقابل عينة الكفاء بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند طول موجي 412 نانوميتر .

يتم قياس التركيز النهائي للكلوتاثيون في العينة عن طريق تسقيطها على منحنى قياسي لهذه التراكيز القياسية باستعمال برنامج Past (الملحق 2)

كما أستعملت معادلة الانحدار الخطي البسيط Simple Linear Regression للتراكيز القياسية لإيجاد تركيز الكلوتاثيون للعينة وتكون النتيجة معبر عنها بالمايكرومول / مل وكما يأتي :

$$Y = a + bX$$

اذ تمثل  $Y$  امتصاصية العينة عند طول موجي 412 نانوميتر و  $a$  نقطة تقاطع المحور الرأسي للتراكيز القياسية Intercept و  $b$  ميل الانحدار للتراكيز القياسية Slope بينما  $x$  تمثل تركيز الكلوتاثيون في العينة.

### قياس تركيز المألوندايالديهيد MDA في المصل:

استعملت طريقة تعتمد على التفاعل بين المألوندايالديهيد و حمض الثايوباربيتوريك لتكونا معقدا MDA – TBA2 الذي يمتص عند الطول الموجي 352 نانوميتر (Buege and Aust , 1978).

### طريقة العمل

نحضر الكاشف بإذابة 0.375 غرام من حمض ثايوباربيتوريك و 15 غم حمض الخليك الثلجي في 100 مل من حمض الهيدروكلوريك بتركيز N0.25 وبعدها مليلتر واحد من الكاشف المحضر أنيا الى 0.5 مليلتر من المصل ، ثم تمزج جيدا وتسخن في حمام مائي بدرجة 70 م° لمدة 15 دقيقة ، ثم تقاس امتصاصية الطبقة العليا الطافية عند طول موجي 532 نانوميتر مقابل الكفاء

### الحسابات

نستعمل المعادلة الآتية لايجاد التركيز النهائي للمألوندايالديهيد :

تركيز MDA مايكرومول /لتر = امتصاصية العينة - امتصاصية الكفاء /  
 $\sum MDA \times 10^6$  ان  $\sum MDA$  هي Molar extinction coefficient  
 وتساوي  $1.56 \text{ cm} \backslash \text{Mmol} \times 10^5$ .

### B- دراسة التأثير في نشاط خميرة الكولين استراز في البلازما.

استعملت الطريقة الكهرومترية المحورة لقياس خميرة الكولين استراز المحورة حسب الخطوات الآتية: (Mohammad et al. , 1997)

يوضع 3مل من الماء المقطر في اناء زجاجي سعته 10 مل ثم يضاف اليها 0.2 مل من البلازما ثم يضاف 3 مل من محلول دارى الفوسفات PH تعادل 8.1 ويمزج جيدا ثم يقاس PH الأولي بواسطة جهاز pH meter ثم يضاف 0.1 مل من محلول ايودييد الاستيل كولين 7.5% كمادة أساس ثم ينقل المزيج الى الحمام المائي المضبوط عند درجة 37 درجة مئوية ويحضن لمدة 30 دقيقة وبعد اخراج العينة من الحاضنة تقاس PH الثانوية ثم يحسب



التغيير في PH ويحسب الفرق بينهما خلال 30 دقيقة وهذه النتيجة تعكس نشاط الخميرة في العينة المستعملة وتحتوي عينة الكفاء كافة المحاليل عدا البلازما.

**التغيير في الدالة الحامضية للعينات\30 دقيقة = PH2-PH1**

**التغيير في الدالة الحامضية للكفاء\30 دقيقة = PH2-PH1**

**التغيير في الدالة الحامضية\30 دقيقة = PH-PH2-PH1 الكفاء**

**C- قياس نشاط خميرة 3-CASPASE في نسيج الكبد والدماغ.**

استعملت عدة قياس خاصة لقياس هذه الخميرة في نسيج الدماغ والكبد وحسب المبدأ الآتي:  
يتم ربط سلسلة بيتيدات Caspase\_3 بمجموعة نايتروالنين الصفراء اللون وعندها يعمل

Caspase\_3 على شطر المادة الأساس فيتكون لون اصفر يتم امتصاصه عند 405nm

### 3-8-6: التجربة السادسة

#### دراسة التغييرات النسجية المرضية للدماغ.

لدعم النتائج السابقة والوقوف على بعض مسببات التغييرات السلوكية العصبية وبعد نهاية المعاملات السابقة وقتل الافراخ تم فتح الجمجمة لغرض جمع الادمغة وكذلك اخذ الكبد وتم غسله جيدا بماء الحنفية ثم وضع في الفورمالين المخفف 10% لحين اجراء التقطيع النسجي عليها لغرض قراءة التغييرات النسجية المرضية الظاهرة تحت المجهر الضوئي.

#### التحليل الاحصائي

تم تحليل البيانات المعلمية إحصائياً باستعمال برنامج spss اختبار one way (analysis of variance test ANOVA) ثم طبق عليها اختبار الفرق المعنوي الأدنى LSD test وكان مستوى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية اقل من  $P < 0.05$

## الفصل الرابع

### النتائج

### Results

#### 1.4 التجربة الاولى: تحديد الجرعة المميتة الوسطية LD<sub>50</sub> (الجم -50) لكبريتات النحاس في افراخ الدجاج

سجلت الجرعة المميتة الوسطية لكبريتات النحاس في الافراخ قيمة 772 ملغم/كغم عند التجريع عبر الفم وكانت قيمة الزيادة والنقصان بالجرعة 200 ملغم/كغم وكانت علامات التسمم بالافراخ وجود نفش الريش والتعب وقلّة الحركة والاكل وضيق التنفس ثم اخيرا الموت (الجدول 1).

الجدول 1: الجرعة المميتة الوسطية لكبريتات النحاس عبر الفمفي افراخ الدجاج.

النتائج	المتغيرات
772 ملغم/كغم	الجرعة المميتة الوسطية LD <sub>50</sub> عبر الفم
600-1200 ملغم/كغم	مدى الجرعة
1200 ملغم/كغم	الجرعة الأولى
600 ملغم/كغم	الجرعة الأخيرة
6(XXOXXO)	عدد الافراخ المستخدمة
200 ملغم/كغم	الزيادة والنقصان في الجرعة
3-10 دقائق	وقت ظهور العلامات
التعب ونفش الريش وقلّة الحركة وضيق التنفس والاسهال الدموي والافرازات الغروية من الفم واخيرا الموت	علامات التسمم

X تعني موت الفرخ و 0 تعني عدم الموت (بقاء الفرخ)

**2.4 التجربة الثانية: تجربة تحديد الاستجابة للجرع المختلفة من كبريتات النحاس من خلال الاختبارات السلوكية العصبية.**

بعد ان تم تحديد الجرعة المميته الوسطية في الافراخ أجريت هذه التجربة باستخدام التراكيز 2.5% و 5% و 10% و 15% من قيمة الجرعة المميته الوسطية تم تسجيل التغييرات السلوكية التي تمثلت بالتأخر في زمن بدء الحركة مع انخفاض معنوي بعدد المربعات المقطوعة وتناسب هذا الانخفاض بشكل طردي مع زيادة الجرعة المعطاة مقارنة مع السيطرة (الجدول 2).

اما في اختبار تصحيح وضع الجسم فقد سجلت الجرعة المعطاة بنسبة 5% و 10% و 15% زيادة معنوية في زمن تصحيح وضع الجسم مقارنة بالسيطرة وبقية المجاميع . اما في اختبار عدم الحركة الشدي فسجلت المجاميع المعاملة بالتراكيز 5% و 10% و 15% من الجرعة المميته الوسطية وجود زيادة معنوية واضحة في مدة سكون الافراخ مقارنة مع مجموعة السيطرة اما مجموعة 2.5% فقد سجلت زيادة أيضا في فترة سكون الافراخ ولكن اقل مما في بقية التراكيز(جدول 2).

**الجدول 2: الاستجابة للجرع المختلفة من كبريتات النحاس من خلال الاختبارات السلوكية العصبية.**

جرعة 115.8 mg/kg	جرعة 77.5 mg/kg	جرعة 38.6 mg/kg	جرعة 19.5 mg/kg	السيطرة	المجاميع
abc* 3 ± 30	ab* 2 ± 17	a* 1 ± 5	*0.1 ± 3	0.1 ± 1	بدء الحركة/ثانية
ab* 1 ± 2	ab* 1 ± 4	a* 1.1 ± 4	* 2 ± 14	2 ± 20	عدد المربعات المقطوعة
* 1.4 ± 3	*0.3 ± 3	* 0.1 ± 3	0.2 ± 2	0.1 ± 1	تصحيح وضع الجسم/ثانية
ab* 66 ± 300	ab* 35 ± 300	a* 23 ± 232	* 5.6 ± 66	5 ± 56	عدم الحركة الشدي/ثانية

كل مجموعة مكونة من 6 حيوانات والبيانات بشكل معدل ± الخطأ القياسي

\*تمثل الفرق المعنوي عن مجموعة السيطرة عند  $P < 0.05$

a تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة 19.5 ملغم/كغم عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

b تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة 38.6 ملغم/كغم عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

c تمثل فرق معنوي عن مجموعة 77.5 ملغم/كغم عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

### 3.4 التجربة الثالثة

تجربة تأثير اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 باوقات مختلفة مع كبريتات النحاس في السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ داخل الميدان المفتوح.

A. تأثير اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 مع كبريتات النحاس على السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ داخل الميدان المفتوح.

سجلت التغييرات السلوكية العصبية عند المعاملة بكل من كبريتات النحاس و Q-10 في الوقت نفسه في الافراخ وتمثلت بوجود زيادة معنوية بوقت بدء الحركة في المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس وحدها مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما أن عدد المربعات المقطوعة من قبل الافراخ في المجموعة نفسها سجل انخفاضاً معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة، اما في اختبار عدم الحركة الشدي فقد سجلت المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس زيادة معنوية في مدة سكون الافراخ في هذا الاختبار، واختلفت المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس و Q-10 عن المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس وحدها في قلة نوم الافراخ في اختبار عدم الحركة الشدي (جدول 3)

جدول 3: الاستجابة السلوكية العصبية لكل من كبريتات النحاس و Q-10 الوقت نفسه في الافراخ

الاختبارات السلوكية العصبية				المجاميع
بدء الحركة/ثانية	عدد المربعات المقطوعة	تصحيح وضع الجسم/ثانية	عدم الحركة الشدي/ثانية	
0.2 ± 1	3 ± 9	0.1 ± 1	5.4 ± 40	السيطرة
* 0.3 ± 3	* 2 ± 6	0.2 ± 2	* 7.6 ± 66	كبريتات النحاس
0.2 ± 1.2	0.4 ± 8	0.1 ± 1	<sup>a</sup> 7.4 ± 35	كبريتات النحاس و Q-10
0.2 ± 1	4 ± 8	0.3 ± 1	5.4 ± 25	Q-10

كل مجموعة مكونة من 6 حيوانات والبيانات بشكل معدل ± الخطأ القياسي

\*تمثل الفرق المعنوي عن مجموعة السيطرة عند P<0.05

a تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة كبريتات النحاس

#### D- تأثير المعاملة بكبريتات النحاس قبل اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 على السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ داخل الميدان المفتوح.

سجلت التغييرات السلوكية العصبية عند المعاملة السابقة بكبريتات النحاس قبل اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 في الافراخ وتمثلت بوجود زيادة معنوية بوقت بدء الحركة في المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس وحدها مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما ان عدد المربعات المقطوعة من قبل الافراخ في المجموعة نفسها سجل انخفاضاً معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة، اما في اختبار عدم الحركة الشدي فقد سجلت المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس زيادة معنوية في مدة سكون الافراخ في هذا الاختبار.

كما سجلت المجموعة المعاملة السابقة بكبريتات النحاس قبل اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 في الافراخ فقد سجلت زيادة معنوية بوقت بدء الحركة مقارنة مع مجموعة السيطرة، بينما سجل عدد المربعات المقطوعة من قبل الافراخ في المجموعة نفسها وجود فرق تمثل بالانخفاض المعنوي مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة كبريتات النحاس، اما في اختبار عدم الحركة الشدي فقد سجلت المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس زيادة معنوية في مدة سكون الافراخ في هذا الاختبار اما المجموعة المعاملة سابقاً بكبريتات النحاس قبل اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 ومجموعة المرافق الانزيمي وحدها فقد سجلت زيادة معنوية في مدة بدء حركة الافراخ مع انخفاض في مدة سكون الافراخ وقلّة بعدد المربعات المقطوعة مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة كبريتات النحاس لوحدها في حين أن مجموعة المرافق الانزيمي وحده سجلت انخفاض بعدد المربعات المقطوعة مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة كبريتات النحاس مع المرافق الانزيمي كما سجل انخفاض بزمن عدم الحركة الشدي مقارنة مع السيطرة ومجموعة كبريتات النحاس مع المرافق الانزيمي (جدول 4).

الجدول 4: الاستجابة السلوكية العصبية للمعاملة بكبريتات النحاس قبل اعطاء المرافق الانزيمي Q-10 في الافراخ

الاختبارات السلوكية العصبية				المجاميع
عدم الحركة الشدي/ثانية	عدد المربعات المقطوعة	تصحيح الجسم/ثانية	بدء الحركة/ثانية	
5.4 ± 40	4 ± 20	1.0 ± 1	0.2 ± 1	السيطرة
* 7.6 ± 66	* 5 ± 15	0.2 ± 2	* 0.3 ± 3	كبريتات النحاس
* 2 ± 70	<sup>a</sup> * 1 ± 10	0.2 ± 1.5	* 0.2 ± 3	Q-10 قبل كبريتات النحاس
<sup>ab</sup> * 6 ± 25	2 ± 17	0.3 ± 1	0.2 ± 1	Q-10

كل مجموعة مكونة من 6 حيوانات والبيانات بشكل معدل ± الخطأ القياسي

\*تمثل الفرق المعنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$

<sup>a</sup>تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة كبريتات النحاس عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

<sup>b</sup>تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة كبريتات النحاس قبل Q-10 عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

#### E- تأثير المعاملة بكبريتات النحاس بعد المرافق الانزيمي Q-10 على السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ داخل الميدان المفتوح.

سجلت التغييرات السلوكية العصبية عند المعاملة بكبريتات النحاس بعد المرافق الانزيمي Q-10 في الافراخ وقد تمثلت بوجود زيادة معنوية بوقت بدء الحركة في المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس وحدها مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما ان عدد المربعات المقطوعة من قبل الافراخ في المجموعة نفسها سجل انخفاضاً معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة، اما في اختبار عدم الحركة الشدي فقد سجلت المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس زيادة معنوية في مدة سكون الافراخ في هذا الاختبار.

كما ان المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس بعد المرافق الانزيمي Q-10 في الافراخ قد سجلت زيادة معنوية بوقت بدء الحركة مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة كبريتات النحاس، كما ان عدد المربعات المقطوعة من قبل الافراخ في المجموعة نفسها سجل انخفاضاً معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة، اما في اختبار عدم الحركة الشدي فقد سجلت المجموعة المعاملة بالمرافق الانزيمي و المعاملة السابقة بالمرافق الانزيمي Q-10 قبل اعطاء كبريتات النحاس عدم وجود فرق معنوي في مدة سكون الافراخ مقارنة مع بقية المجاميع بينما اختلفت المجموعة المعاملة بالمرافق الانزيمي Q-10 معنوياً عن مجموعة كبريتات النحاس ومجموعة السيطرة (الجدول 5).

جدول 5: الاستجابة السلوكية العصبية للمعاملة بكبريتات النحاس بعد المرافق الانزيمي-Q  
10 في الافراخ

الاختبارات السلوكية العصبية				المجاميع
عدم الحركة الشدي/ثانية	عدد المربعات المقطوعة	تصحيح وضع الجسم/ثانية	بدء الحركة/ثانية	
5.4 ± 40	4 ± 16	0.1 ± 1	0.2 ± 1	السيطرة
* 7.6 ± 66	* 3 ± 12	0.2 ± 2	* 0.3 ± 3	كبريتات النحاس
5 ± 50	a* 1 ± 11	0.1 ± 1.5	1 ± 2	كبريتات النحاس بعد Q-10
ab* 6 ± 25	2 ± 17	0.3 ± 1	ab 0.2 ± 1	Q-10

كل مجموعة مكونة من 6 حيوانات والبيانات بشكل معدل  $\pm$  الخطأ القياسي

\*تمثل الفرق المعنوي عن مجموعة السيطرة عند  $P < 0.05$

a تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة كبريتات النحاس عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

b تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة كبريتات النحاس قبل Q-10 عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

#### 5.4 التجربة الرابعة

##### تجربة التحدي الدوائي

سجلت الافراخ المعاملة بكبريتات النحاس لوحده وجود انخفاضاً معنوياً في فترة بدء التخدير مقارنة مع مجموعة السيطرة، أما بقية المجاميع فقد سجلت وجود زيادة معنوية في فترة البدء بالتخدير في المجاميع المعاملة بالمرافق الانزيمي وحده او مع كبريتات النحاس مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة كبريتات النحاس، اما طول فترة التخدير فقد سجلت المجاميع المعاملة بالمرافق الانزيمي وحده او مع كبريتات النحاس وجود انخفاض معنوي في فترة التخدير الافراخ مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة كبريتات النحاس، كما ان مجموعة المرافق الانزيمي قد سجلت انخفاضاً معنوياً في البدء بالنوم مقارنة مع السيطرة وانخفاض معنوي في فترة التخدير مقارنة مع مجموعة السيطرة وبقية المجاميع (الجدول 6).

الجدول 6: تأثير التخدير بالزايلازين والكتامين على المعاملات المختلفة بكبريتات النحاس و Q-10 في افراخ الدجاج

المجاميع	البدء بتخدير/ثانية	طول فترة التخدير/دقيقة
السيطرة	65 ± 180	39 ± 200
كبريتات النحاس وحدها	* 25 ± 80	* 35 ± 170
Q-10 وحدها	a* 45 ± 200	a* 15 ± 90
كبريتات النحاس مع Q-10	a* 35 ± 205	ab* 22 ± 146
كبريتات النحاس قبل Q-10	a* 20 ± 225	ab* 35 ± 130
كبريتات النحاس بعد Q-10	a* 65 ± 200	ab* 46 ± 150

كل مجموعة مكونة من 6 حيوانات والبيانات بشكل معدل ± الخطأ القياسي

\*تمثل الفرق المعنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$

a تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة كبريتات النحاس وحدها عند  $P < 0.05$

b تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة Q-10 وحده عند  $P < 0.05$

#### 6.4 التجربة الخامسة

##### قياس بعض المتغيرات الكيموحيوية

A- دراسة حالة الاجهاد التأكسدي من خلال قياس كل من TAC والكلوتاثيون و المالوندايالديهايد في مصل ونسيج الافراخ المعاملة بالتراكيز المختلفة من LD<sub>50</sub>.

أظهر مستوى القابلية المضادة للاكسدة الكلية في نسيج الكبد ونسيج الدماغ في المجاميع المعاملة بكبريتات النحاس وبكافة الجرعات وجود انخفاض معنوي عن مجموعة السيطرة (الجدول 7). في حين سجلت تراكيز كبريتات النحاس 2.5% و 5% و 10% و 15% من الجرعة المميئة الوسطية وجود انخفاض معنوي في تركيز الكلوتاثيون مقارنة مع مجموعة السيطرة، و انخفضت النسبة اكثر وكانت معنوية عند جرعة 15% مقارنة مع بقية المجاميع (الجدول 7).

اما تراكيز كبريتات النحاس 2.5% و 5% و 10% و 15% من الجرعة المميئة الوسطية فقد اظهرت وجود زيادة معنوية في تركيز المالوندايالديهايد مقارنة مع مجموعة



السيطرة، بينما ارتفعت قيمة المألوندايالديهيد معنويا عند نسبة 15% معنويا مقارنة مع بقية المجاميع (الجدول7).

الجدول7: جدول يمثل حالة الاجهاد التأكسدي من خلال قياس كل من TAC و الكلوتاثيون و المألوندايالديهيد في مصل الافراخ المعاملة بالتراكيز المختلفة من LD<sub>50</sub>.

MDA نانومول /مل	GSH نانومول/مل	TAC نسيج الدماغ مايكرومول/مل	TAC نسيج الكبد مايكرومول/مل	مجاميع كبريتات النحاس
1 ± 2.29	0.01 ± 0.08	0.4 ± 3.1	1 ± 4.1	السيطرة
<sup>d*</sup> 1 ± 3.89	<sup>d*</sup> 0.01 ± 0.02	* 0.03 ± 1.1	* 0.02 ± 1.0	19.5 ملغم/كغم
<sup>d*</sup> 0.5 ± 3	<sup>d*</sup> 0.001 ± 0.021	* 0.05 ± 0.7	* 0.01 ± 0.9	38.6 ملغم/كغم
<sup>d*</sup> 1 ± 3.94	<sup>d*</sup> 0.005 ± 0.01	* 0.04 ± 0.5	* 0.02 ± 0.7	77.5 ملغم/كغم
* 1 ± 5.69	* 0.002 ± 0.008	* 0.02 ± 0.3	* 0.02 ± 0.4	115.8 ملغم/كغم

كل مجموعة من 6 افراخ، وتمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي.

\*تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

d تمثل وجود فرق معنوي عن المجموعة المعاملة بجرعة 5%

### B- قياس مستوى تثبيط خميرة الكولينا استراز

بين مستوى تثبيط نشاط خميرة الكولين استراز في التراكيز 2.5% و 5% و 10% و 15% من الجرعة المميطة الوسطية وجود انخفاض معنوي في نشاط خميرة الكولين استراز مقارنة مع السيطرة، اما تركيز و 10% و 15% من الجرعة المميطة الوسطية فقد احدث انخفاضا "معنويا" في نشاط الخميرة مقارنة مع مجموعتي 2.5% و 5% فضلا عن مجموعة السيطرة (الجدول8).

الجدول 8: نشاط خميرة الكولين استراز في بلازما الافراخ المعاملة بالتراكيز المختلفة من LD<sub>50</sub>.

المعاملات والجرع	مقدار التغيير في PH لخميرة الكولين استراز في البلازما
السيطرة	0.01 ± 2.95
19.5 ملغم/كغم	* 0.007 ± 0.96
38.6 ملغم/كغم	* 0.004 ± 0.90
77.5 ملغم/كغم	ab* 0.002 ± 0.80
115.8 ملغم/كغم	ab* 0.004 ± 0.69

كل مجموعة من 6 افراخ، وتمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي.

\*تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

a تمثل وجود فرق معنوي عن المجموعة المعاملة بجرعة 19.5 ملغم/كغم عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

b تمثل وجود فرق معنوي عن المجموعة المعاملة بجرعة 38.6 ملغم/كغم عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

C- قياس فعالية ونشاط خميرة Caspase-3:

عند قياس فعالية ونشاط خميرة caspase-3 في دماغ الافراخ المعاملة بالتراكيز المختلفة من كبريتات النحاس بينت المعاملات بالتراكيز المختلفة من كبريتات النحاس وجود زيادة معنوية بنشاط بخميرة caspase-3 في نسيج الكبد والدماغ مقارنة مع مجموعة السيطرة (الجدول 9).

الجدول 9: فعالية caspase-3 في نسيج الكبد والدماغ للافراخ المعاملة بالتراكيز المختلفة من كبريتات النحاس

المجاميع	caspase-3 نسيج الكبد وحدة/مايكروغرام	caspase-3 نسيج الدماغ وحدة/مايكروغرام
السيطرة	0.002 ± 0.056	0.003 ± 0.054
19.5 ملغم/كغم	0.005 ± 0.049	*0.005 ± 0.163
38.6 ملغم/كغم	*0.001 ± 0.184	*0.004 ± 0.147
77.5 ملغم/كغم	*0.004 ± 0.148	*0.003 ± 0.128
115.8 ملغم/كغم	*0.002 ± 0.197	*0.001 ± 0.172

كل مجموعة من 6 افراخ، وتمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي.

\*تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

سجلت المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس وحدها انخفاضا معنويا في قابلية مضادات الاكسدة الكلية في نسيج الدماغ مقارنة مع مجموعة Q-10 وحدها و مجموعة كبريتات النحاس مع Q-10 وسجلت مجموعة Q-10 وحدها ارتفاعا معنويا عن مجموعة السيطرة اما المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس قبل Q-10 فقد سجلت انخفاضا معنويا عن مجموعة Q-10 وحدها و مجموعة كبريتات النحاس مع Q-10 اما مجموعة كبريتات النحاس بعد Q-10 فقد فلم تسجل فرقا معنويا مقارنة مع مجموعة السيطرة وبقية المجاميع (الجدول 10).

عند قياس قابلية مضادات الاكسدة الكلية في البلازما فقد كانت النتيجة وجود انخفاض معنوي في المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس وحدها مقارنة مع مجموعة Q-10 وحدها و مجموعة كبريتات النحاس مع Q-10 اما المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس قبل Q-10 فقد سجلت انخفاضا معنويا عن مجموعة السيطرة ومجموعة Q-10 لوحدها و مجموعة كبريتات النحاس مع Q-10 (الجدول 10).

سجلت المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس وحدها انخفاضا معنويا في مستوى الكلوتاثيون في المصل مقارنة مع السيطرة.

اما مجموعة Q-10 لوحدها فقد سجلت ارتفاعا معنويا مقارنة مع السيطرة و مجموعة كبريتات النحاس اما المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس قبل Q-10 فسجلت انخفاضا معنويا مقارنة مع السيطرة و مجموعة Q-10 اما مجموعة كبريتات النحاس بعد Q-10 فقد سجلت انخفاضا معنويا عن مجموعة Q-10 وحدها ولم تسجل فرقا معنويا عن مجموعة السيطرة (جدول 10).

وعند دراسة حالة الاجهاد التأكسدي وقياس مستوى المألوندايلديهايد سجلت المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس وحدها ارتفاع المعنوي عن مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة كبريتات النحاس مع Q-10 المعطاة في الوقت نفسه وكذلك المجموعة المعطاة Q-10 قبل كبريتات النحاس ومجموعة Q10 وحدها. اما في المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس وحدها او قبل Q-10 فقد سجلت وجود فرق معنوي تمثل بالارتفاع عن مجموعة السيطرة وبقية المجاميع (الجدول 10).

الجدول 10: حالة الاجهاد التأكسدي في المعاملات المختلفة بكبريتات النحاس و Q-10 في افراخ الدجاج

تركيز المألوندايلديهايد في المصل نانومول/مل	تركيز الكلوتاثيون في المصل نانومول/مل	القدرة الكلية المضادة للأكسدة في نسيج الدماغ U/ml	القدرة الكلية المضادة للأكسدة في البلازما U/ml	المجاميع
1±2.29	0.05±0.04	1±4.1	3±36.5	السيطرة
*1±4.29	*0.01±0.02	bc*0.1±1.0	bc*2±23.7	كبريتات النحاس لوحدها
a*0.5±1	a*0.01±0.06	*0.1±5.9	2±37.8	Q-10 لوحدها
a1±2.13	0.01±0.03	1±3.2	3±33.9	كبريتات النحاس مع Q-10
a0.06±2.81	b0.008±0.035	a0.1±3.0	4±32.2	كبريتات النحاس بعد Q-10
b*0.01±3	b*0.009±0.01	bc*0.01±0.9	bc*3±23.7	كبريتات النحاس قبل Q-10

كل مجموعة من 6 افراخ، وتمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي.

\*تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة السيطرة.

a تمثل وجود فرق معنوي عن المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس وحدها عند مستوى احتمالية  $P<0.05$ .

b تمثل وجود فرق معنوي عن المجموعة المعاملة Q-10 وحدها عند مستوى احتمالية  $P<0.05$ .

c تمثل وجود فرق معنوي عن المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس مع Q-10 عند مستوى احتمالية  $P<0.05$ .

عند قياس مستوى تثبيط خميرة الكوليناستراز فقد سجلت كافة المجاميع المعاملة بكبريتات النحاس و Q-10 بكافة المعاملات مقارنة مع مجموعة السيطرة أما مجموعة Q-10 مع وقبل كبريتات النحاس فقد سجلت وجود انخفاض معنوي في نشاط الخميرة مقارنة مع مجموعة كبريتات النحاس لوحدها والمرافق الانزيمي لوحده (الجدول 11).

الجدول 11: دراسة التأثير في نشاط خميرة الكولين استراز في بلازما دم الافراخ المعاملة بكبريتات النحاس و Q-10 وباوقات مختلفة

المجاميع	مستوى تثبيط خميرة الكولين استراز في البلازما بلا اعتماد على مقدار تغير PH
السيطرة	0.01±2.95
كبريتات النحاس وحدها	* 0.007±0.96
Q-10 وحدها	* 0.004±0.90
كبريتات النحاس مع Q-10	*ab 0.002 ± 0.80
كبريتات النحاس قبل Q-10	ab* 0.004±0.69
كبريتات النحاس بعد Q-10	*0.01±0.95

كل مجموعة من 6 افراخ، وتمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي.

\*تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة السيطرة.

a تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة كبريتات النحاس وحدها عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

b تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة Q10 وحدها عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

بينت النتائج أن مستوى Caspase-3 في نسيج دماغ وكبد الافراخ المعاملة بكبريتات النحاس و Q-10 وباوقات مختلفة وجود ارتفاع معنوي في تركيز الخميرة في المجاميع المعاملة بكبريتات النحاس لوحدها او قبل او بعد المعاملة بالمرافق الانزيمي Q-10 بينما لم يسجل فرق معنوي في نشاط الخميرة في المجموعة المعاملة بالمرافق الانزيمي Q-10 وحدها او مع كبريتات النحاس في الوقت نفسه (الجدول 12).

الجدول 12: مستوى caspase-3 في نسيج دماغ وكبد الافراخ المعاملة بكبريتات النحاس و Q-10 وباوقات مختلفة

المجاميع	Caspase-3 نسيج الكبد/ ng	Caspase-3 نسيج الدماغ/ ng
السيطرة	0.001±0.036	0.001±0.044
كبريتات النحاس وحدها	*0.002±0.189	*0.001±0.173
Q-10 وحدها	0.001±0.098	0.0001±0.053
كبريتات النحاس مع Q-10	0.002±0.191	0.002±0.166
كبريتات النحاس قبل Q-10	*0.005±0.191	*0.003±0.172
كبريتات النحاس بعد Q-10	*0.001±0.133	*0.020±0.136

كل مجموعة من 6 افراخ، وتمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي.

\*تمثل وجود فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية  $P < 0.05$ .

#### 7.4 التجربة السادسة

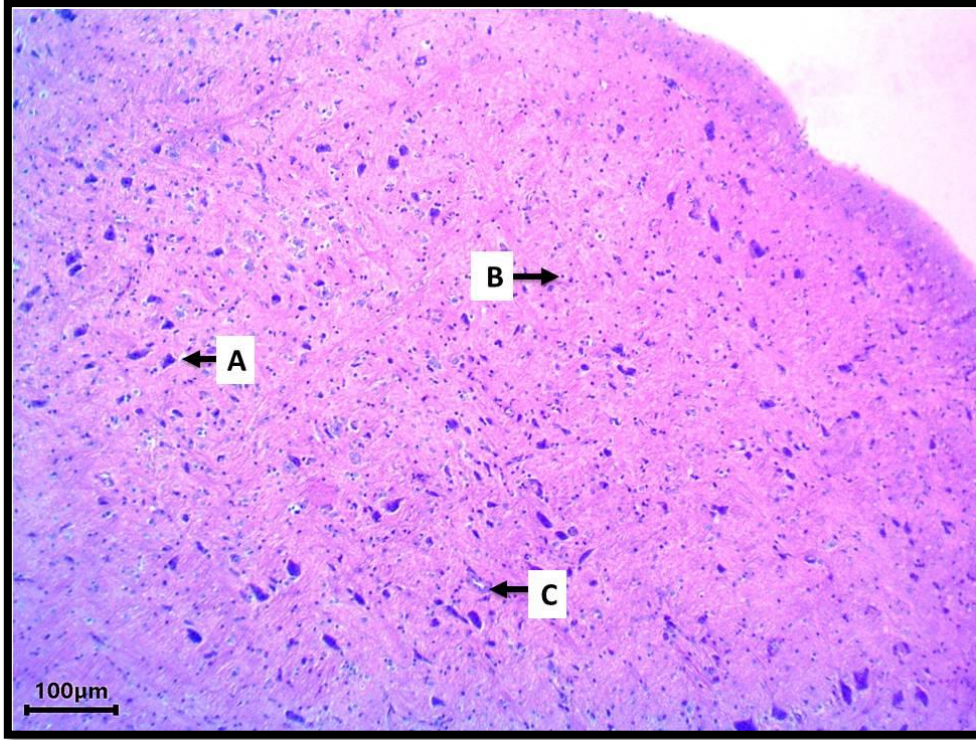
##### دراسة التغيرات النسجية المرضية للدماغ.

أظهرت نتائج الفحص النسجي المرضي لانسجة دماغ الافراخ في مجموعة السيطرة قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية والخلايا الدبقية (الشكل 1 و2). بينما ظهر نسيج الدماغ في المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 2.5% من الجرعة المميته الوسطية وجود تغييرات مرضية طفيفة مع احتقان طفيف في الاوعية الدموية ووذمة طفيفة حول الاوعية الدموية (الشكل 3 و4). بينما اظهر تركيز 5% من الجرعة المميته الوسطية وجود تجمع الخلايا العصبية الدبقية واحتقان الاوعية الدموية ووذمة حول الاوعية الدموية (5 و6) واظهر الشكل 7 للمجموعة نفسها تنخر في بعض الخلايا العصبية وخلايا بيركنجي والموت المبرمج في البعض الاخر منها، في الشكل 8 يظهر مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 10% من الجرعة المميته الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها تجمع الخلايا العصبية الهرمية Pyramidal cells مع تجمع الخلايا الدبقية واحتقان الأوعية الدموية ووذمة حول المحاور Periaxonal edema ووذمة حول الأوعية الدموية. أظهرت الصور 9 و10 و11 للمجموعة نفسها أن قشرة المخ فيها تجمع الخلايا العصبية الهرمية Pyramidal cell مع تنخرها مع تجمع الخلايا الدبقية حول الخلايا العصبية Satellitosis والنزف والموت الخلوي المبرمج ووذمة حول المحاور ووذمة حول

الأوعية فضلا عن وجود الابتلاع العصبي (احاطة بقايا الخلايا العصبية بواسطة الخلايا البلعمية neuronophagia). الشكل 12 و 13 و 14 و 15 لمقاطع نسجية لادمغة فراخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 15% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها تجمع كثيف للخلايا الدبقية ووذمة وعائية شديدة واحتقان الأوعية الدموية ووذمة حول المحاور وتجمع الخلايا الدبقية النجمية حول الخلايا العصبية والابتلاع العصبي (احاطة بقايا الخلايا العصبية بواسطة الخلايا البلعمية neuronophagia) وتتخر (تكسر النواة Karyorrhexis) الخلايا العصبية والموت الخلوي المبرمج.

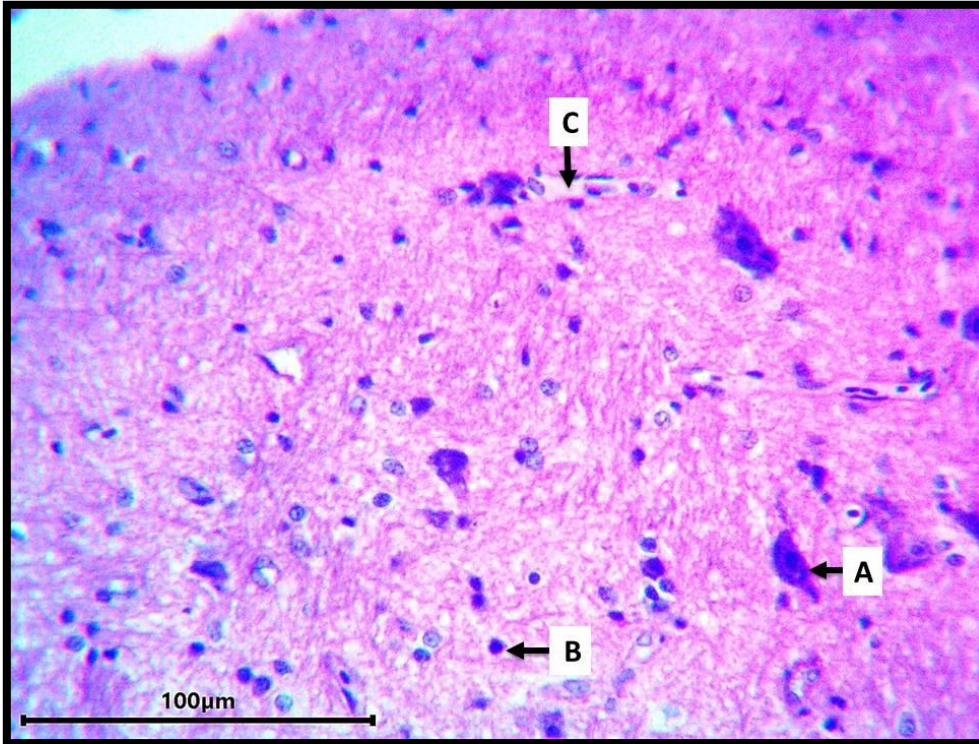
### التغيرات النسجية المرضية للمعاملات باوقات مختلفة لكبريتات النحاس والمرافق الانزيمي Q-10

ظهرت نتائج الدراسة النسجية المرضية في الصورتين 16 و 17 نسيجا" لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس مع الإنزيم المساعد Q10 يبين قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية والخلايا الدبقية مع وذمة طفيفة وعائية Perivascular edema وحول المحاور Periaxonal edema وكانت الصورتان 18 و 19 لمقطعين نسيجين لدماغين من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس ثم الإنزيم المساعد Q10 يوضح قشرة المخ وفيها زيادة وتجمع الخلايا الدبقية Gliosis ووذمة وعائية منتشرة ووذمة حول المحاور وتفجي Vacuolization الخلايا الدبقية كما ظهرت المجموعة المعاملة بمرافق الانزيمي Q10 فقط قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية والخلايا الدبقية والأوعية الدموية (الشكل 20 و 21). أظهرت المجموعة المعاملة بمرافق الانزيمي Q10 ثم كبريتات النحاس أن قشرة المخ فيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية مع وذمة وعائية حول المحاور (الشكل 22 و 23).



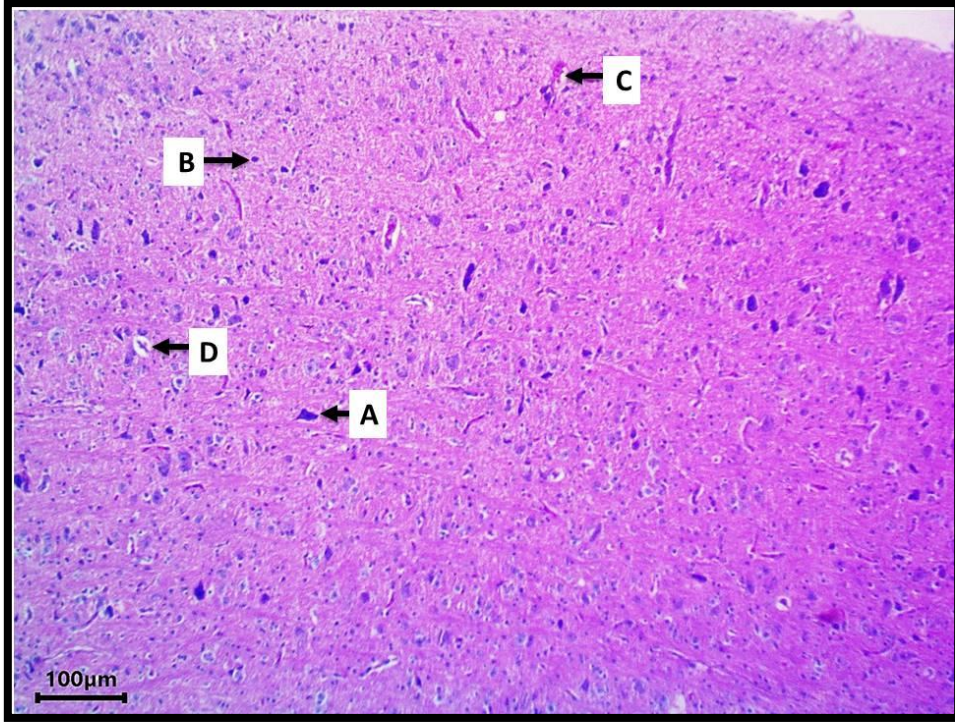
الشكل 1: مقطع نسيجي لدماع فرخ من مجموعة السيطرة يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) والأوعية الدموية (C). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين

100 X

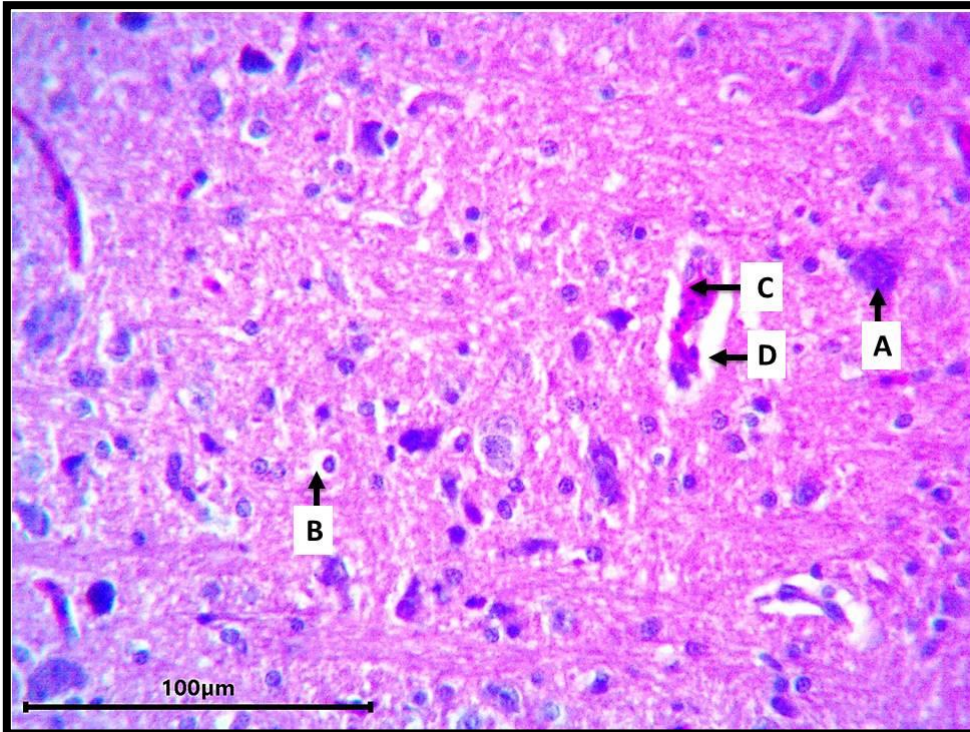


الشكل 2: مقطع نسيجي لدماع فرخ من مجموعة السيطرة يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) والأوعية الدموية (C). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين

400X

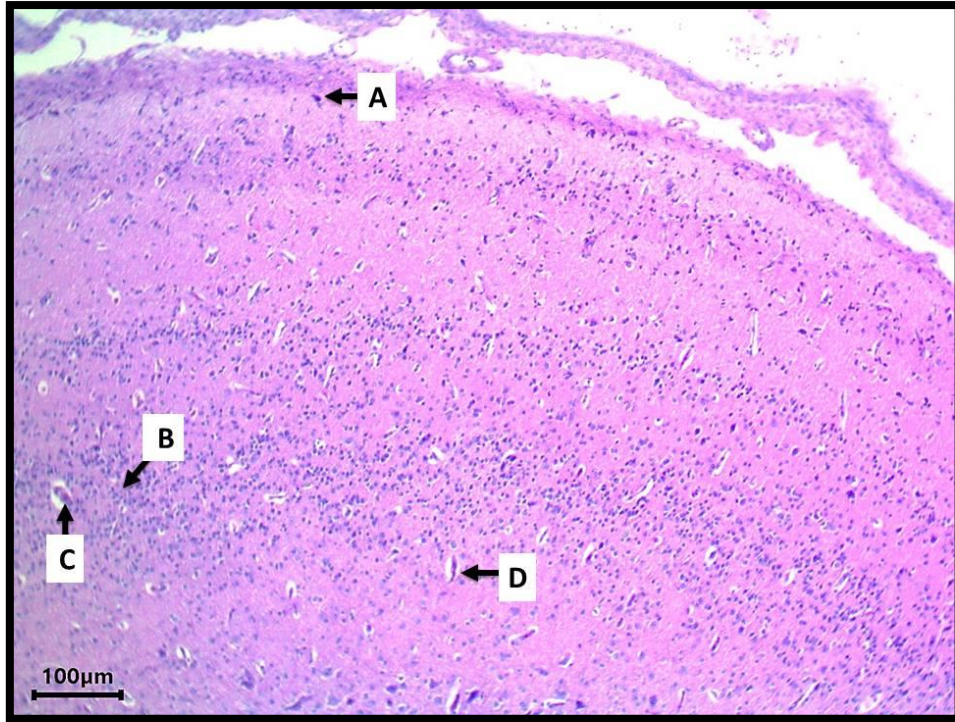


الشكل 3: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 2.5% من الجرعة المميتة الوسطية يوضحقشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) مع احتقان طفيف بالأوعية الدموية (C) ووذمة حول الأوعية طفيفة (D) perivascular edema. صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 X

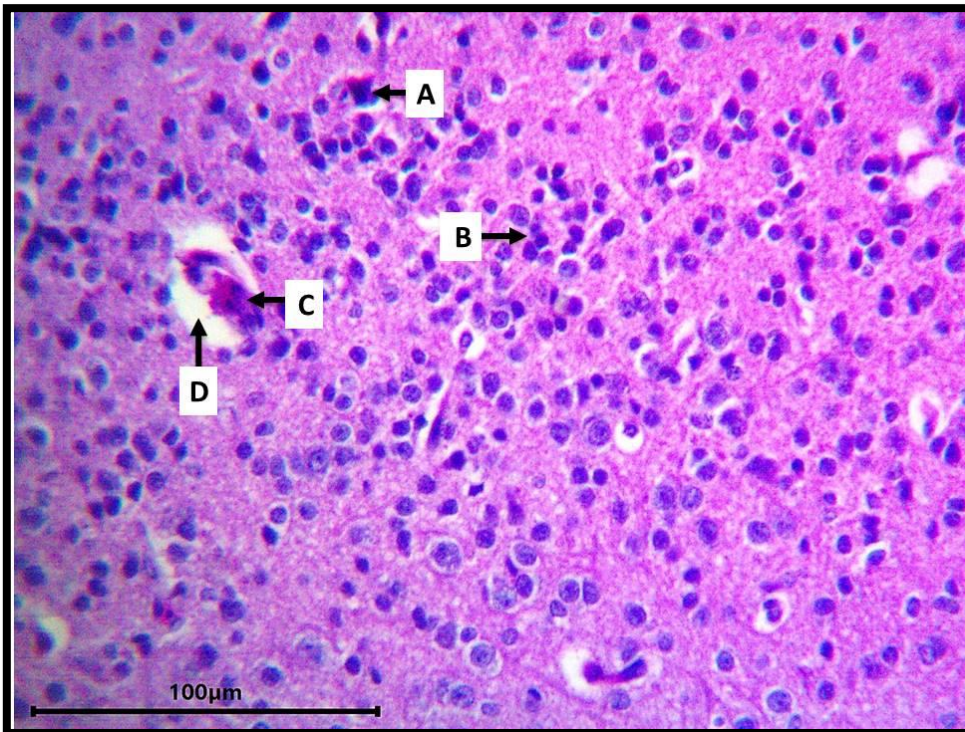


الشكل 4: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 2.5% من الجرعة المميتة الوسطية يوضحقشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) مع وذمة حول الخلايا طفيفة cytogenic edema (B) واحتقان طفيف الأوعية الدموية (C) ووذمة حول الأوعية طفيفة (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400 X

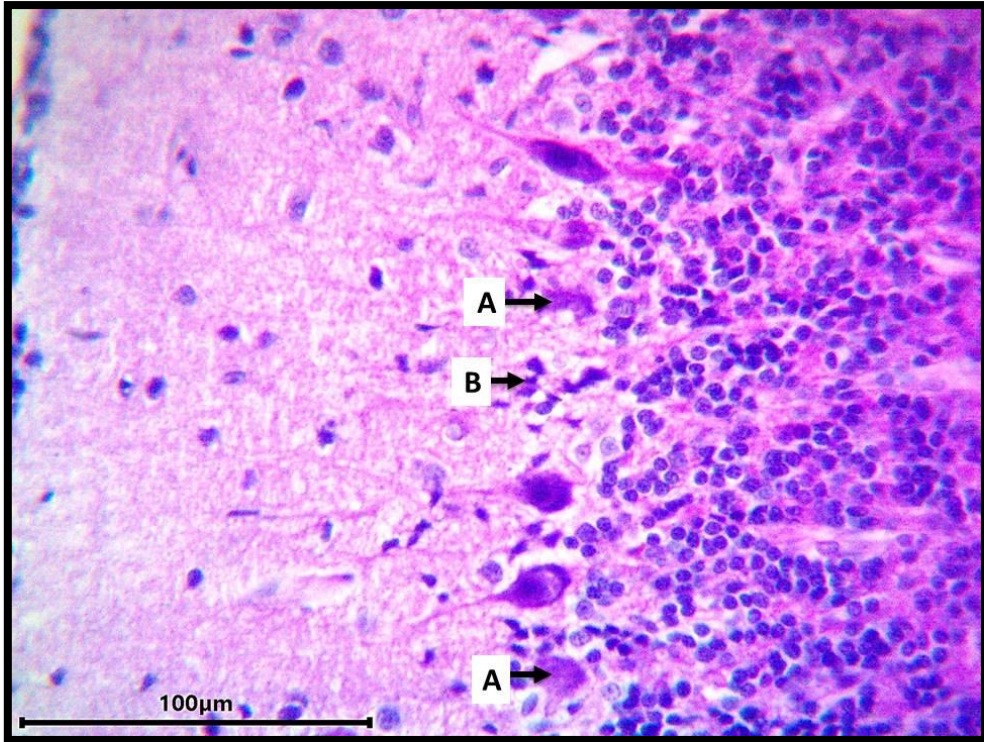




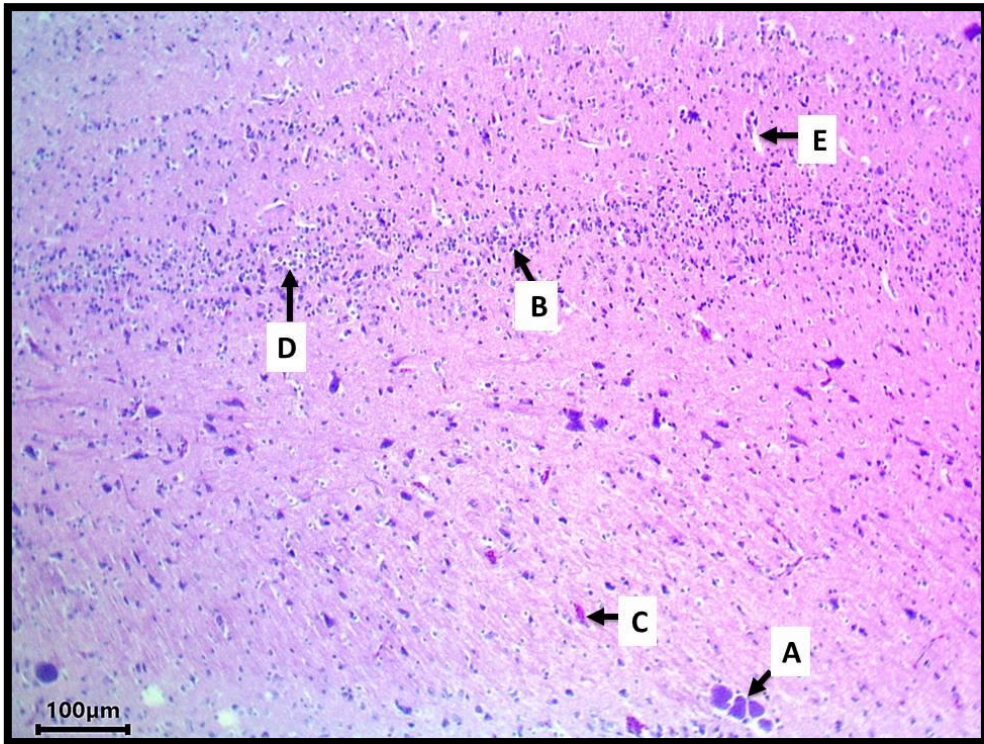
الشكل 5: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 5% من الجرعة المميطة الوسطية يوضحقشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) مع تجمع الخلايا الدبقية gliosis (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة حول الأوعية (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 X



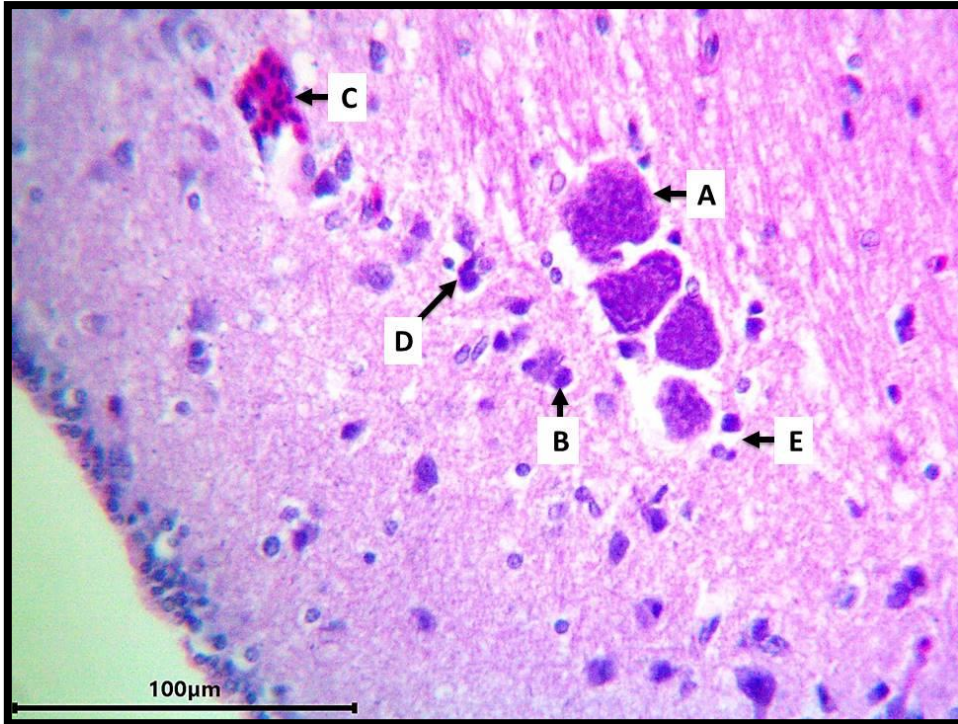
الشكل 6: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 5% من الجرعة المميطة الوسطية يوضحقشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) مع تجمع الخلايا الدبقية gliosis (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة حول الأوعية (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400 X



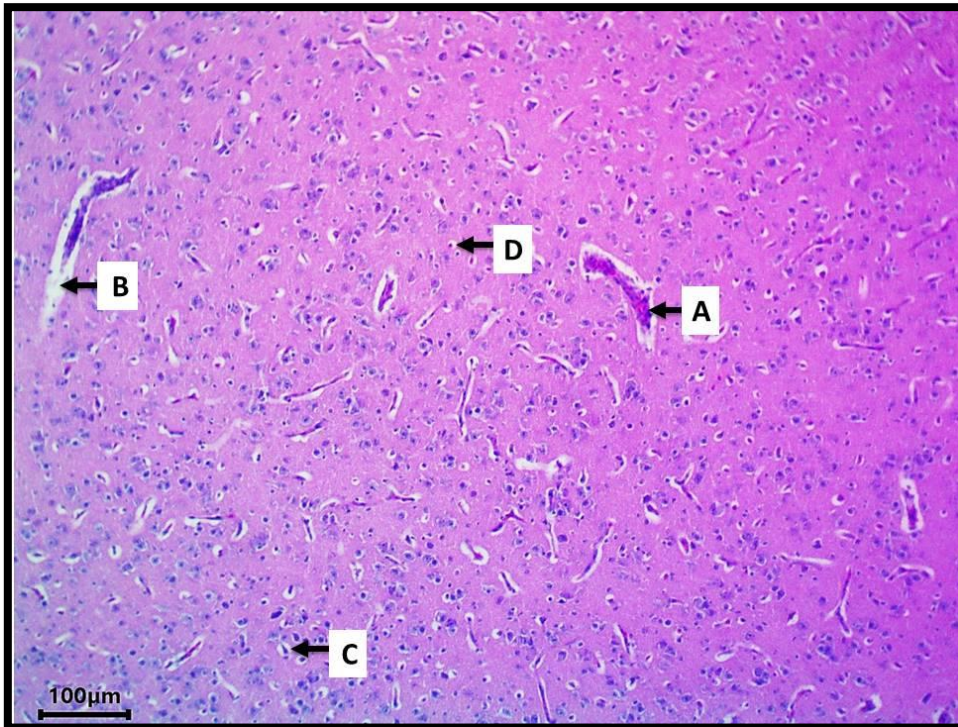
الشكل 7: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 5% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح المخيخ وفيه تنخر خلايا بيركنجي (A) و purkinji cell الموت الخلوي المبرمج (B) .Apoptosis. صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين 100X



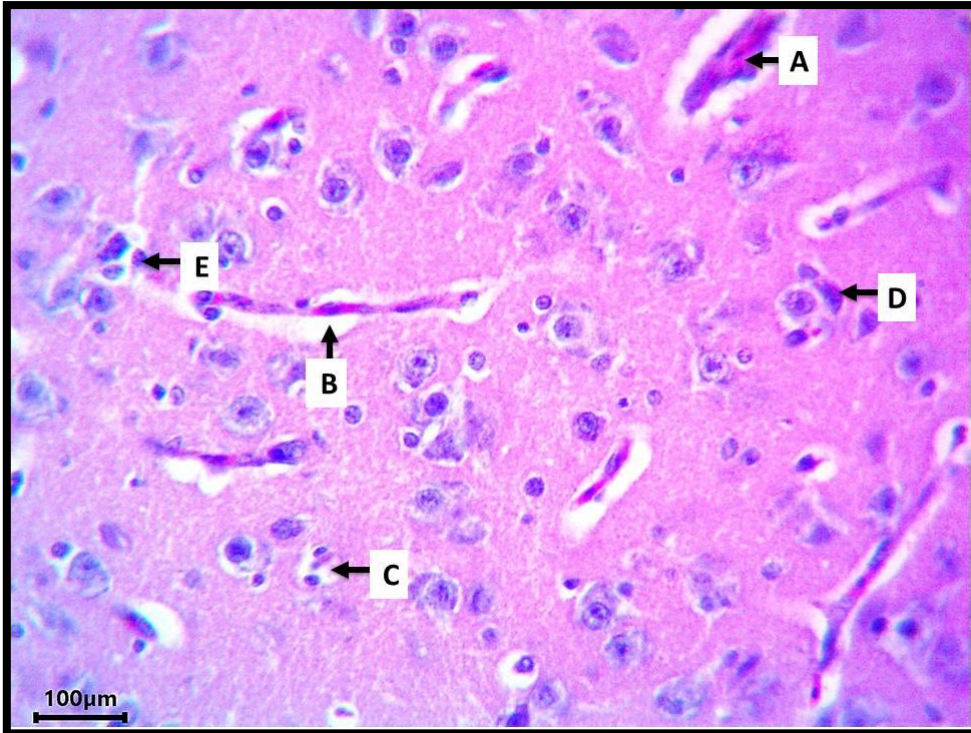
الشكل 8: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 10% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها تجمع الخلايا العصبية الهرمية (A) pyramidal cells مع تجمع الخلايا الدبقية (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة حول المحاور (D) periaxonal edema ووذمة حول الأوعية (E) . صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 X



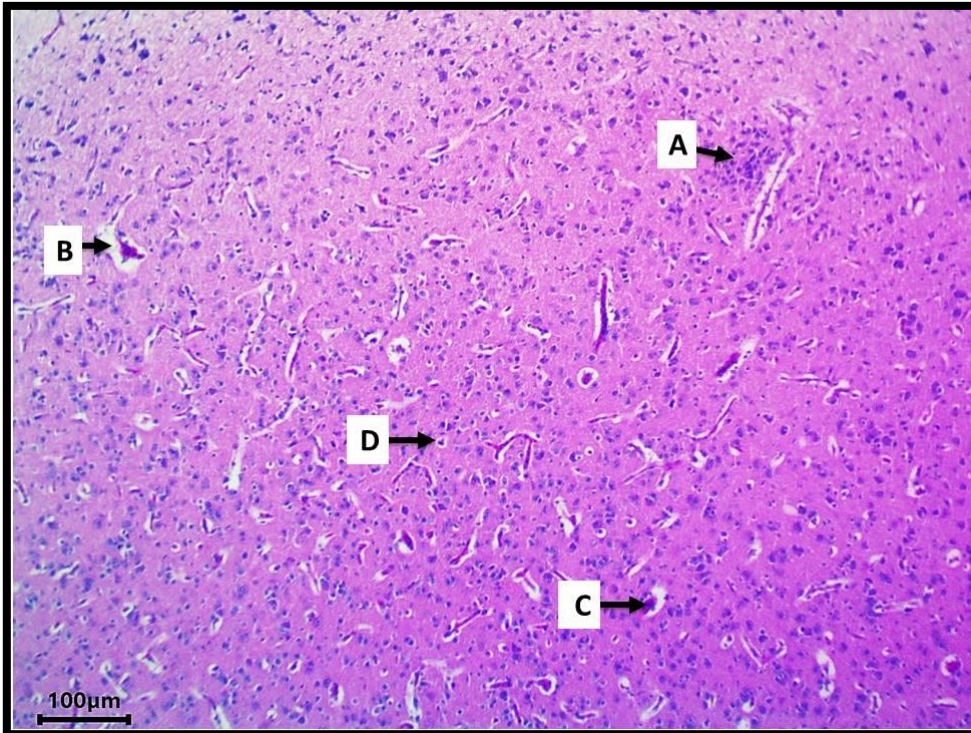
الشكل 9: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 10% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها تجمع الخلايا العصبية الهرمية pyramidal cells مع تنخرها (A) مع تجمع الخلايا الدبقية حول الخلايا العصبية satellitosis (B) والنزف (C) والموت الخلوي المبرمج (D) ووذمة حول المحاور (D) ووذمة حول الأوعية (E). صبغة الهيماتوكسيلين والأيو سين، 400 X



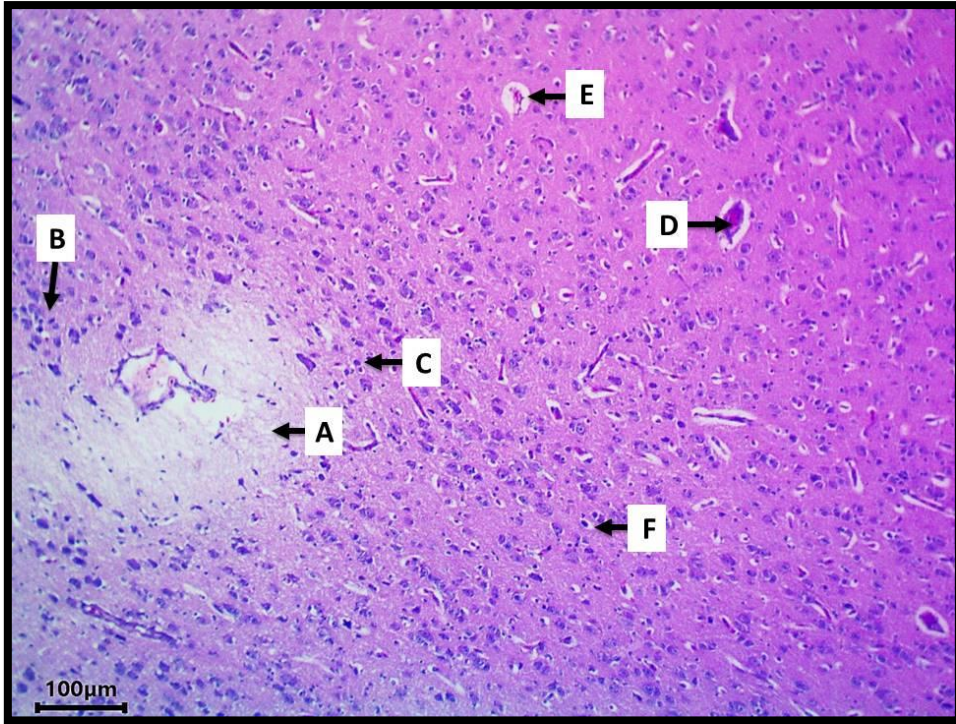
الشكل 10: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 10% من الجرعة المميتة الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها احتقان الأوعية الدموية (A) ووذمة حولها (B) وحول المحاور (C) وحول الخلايا العصبية (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيو سين، 100 X



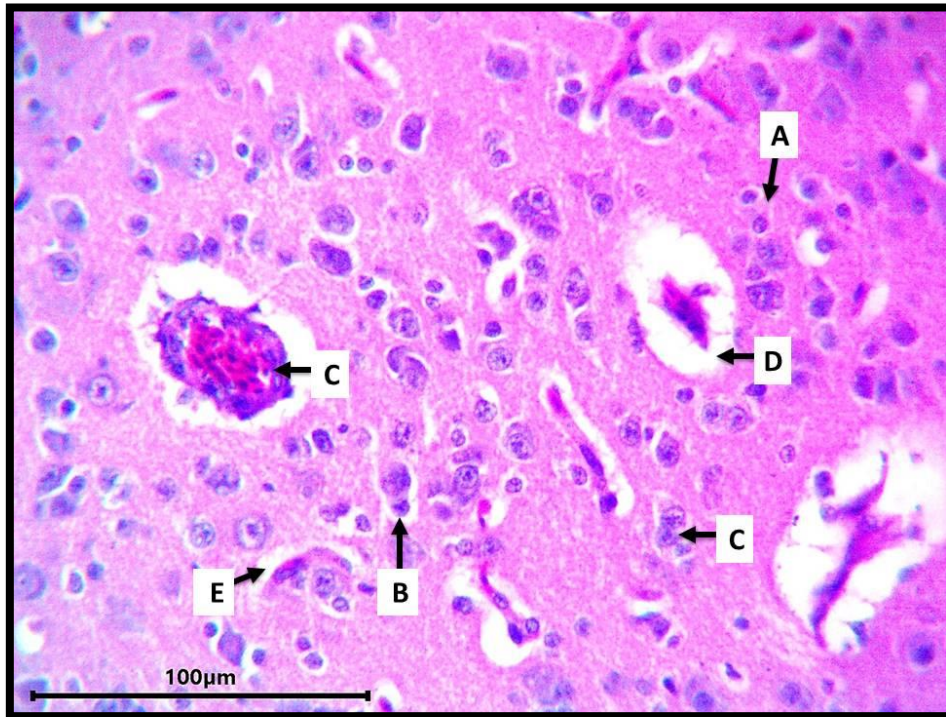
الشكل 11: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 10% من الجرعة المميته الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها احتقان الأوعية الدموية (A) ووذمة حولها (B) وحول المحاور (C) وتجمع الخلايا الدبقية النجمية حول الخلايا العصبية (D) والابتلاع العصبي (احاطة بقايا الخلايا العصبية بواسطة الخلايا البلعية) (E) neuronophagia. صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400 X



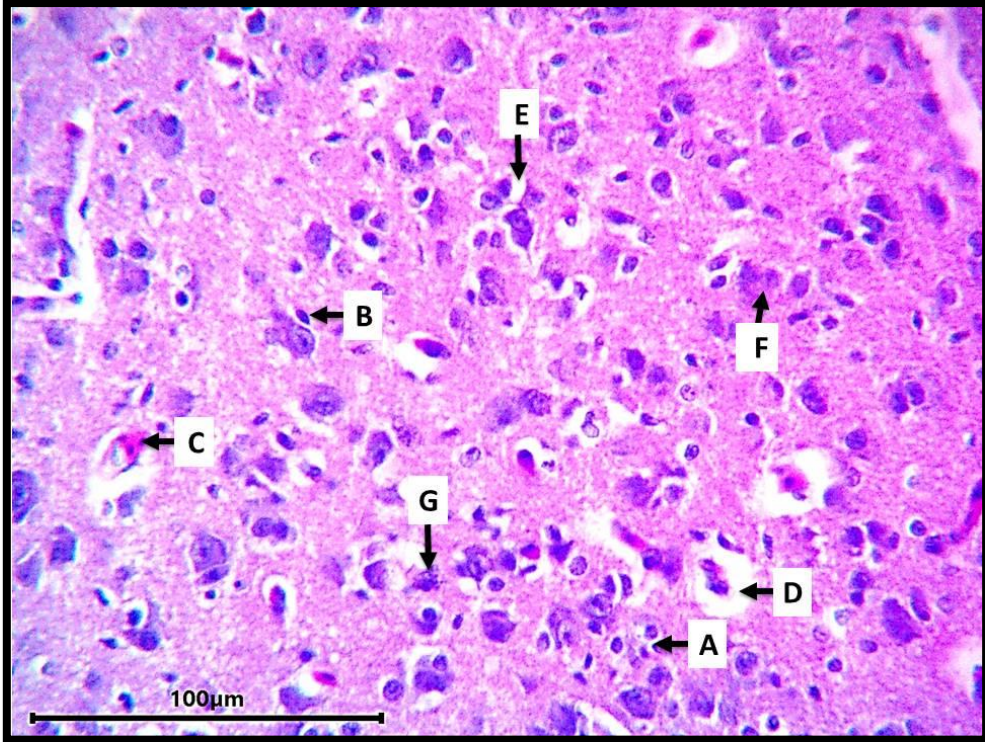
الشكل 12: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 15% من الجرعة المميته الوسطية يوضح قشرة المخ وفيها تجمع كثيف للخلايا الدبقية (A) ووذمة وعائية شديدة (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة حول المحاور (D) وتجمع الخلايا الدبقية النجمية حول الخلايا العصبية (D) والابتلاع العصبي (احاطة بقايا الخلايا العصبية بواسطة الخلايا البلعية) (E) neuronophagia. صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 X



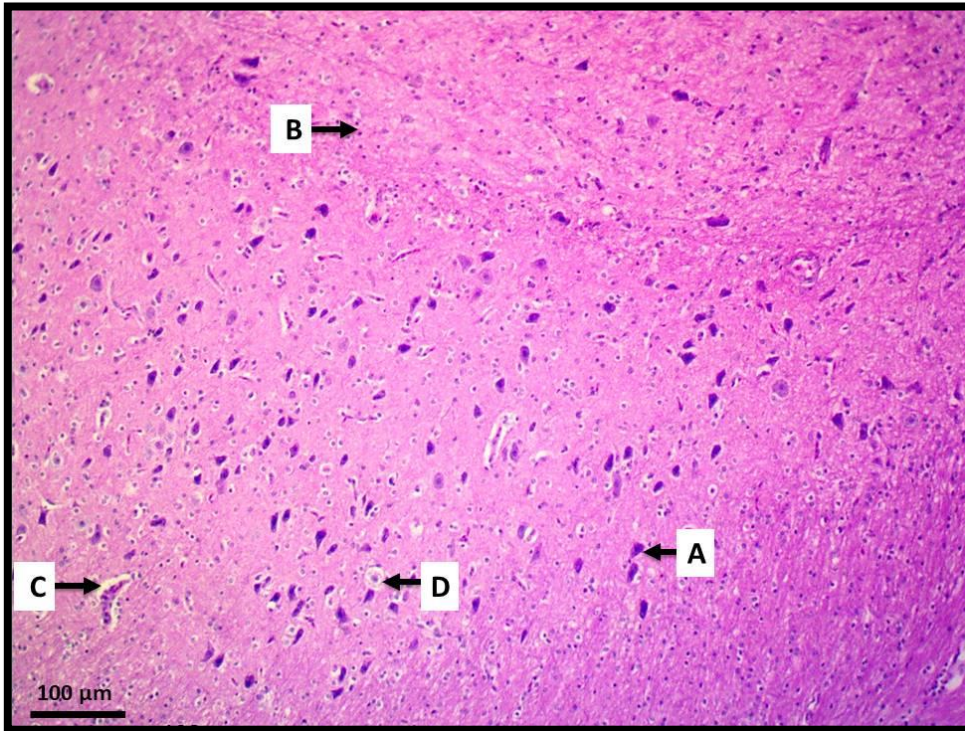
الشكل 13: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 15% من الجرعة المميطة الوسطية يوضحقشرة المخ وفيها النخر الاماعي للخلايا العصبية حول الوعاء الدموي (A) وتجمع الخلايا الدبقية (B) والابتلاع العصبي (احاطة بقايا الخلايا العصبية بواسطة الخلايا البلعمية) (C) واحتقان الأوعية الدموية (D) ووذمة وعائية شديدة (E) ووذمة حول المحاور (F). صبغة الهيماتوكسيلين والايوسين، 100 X



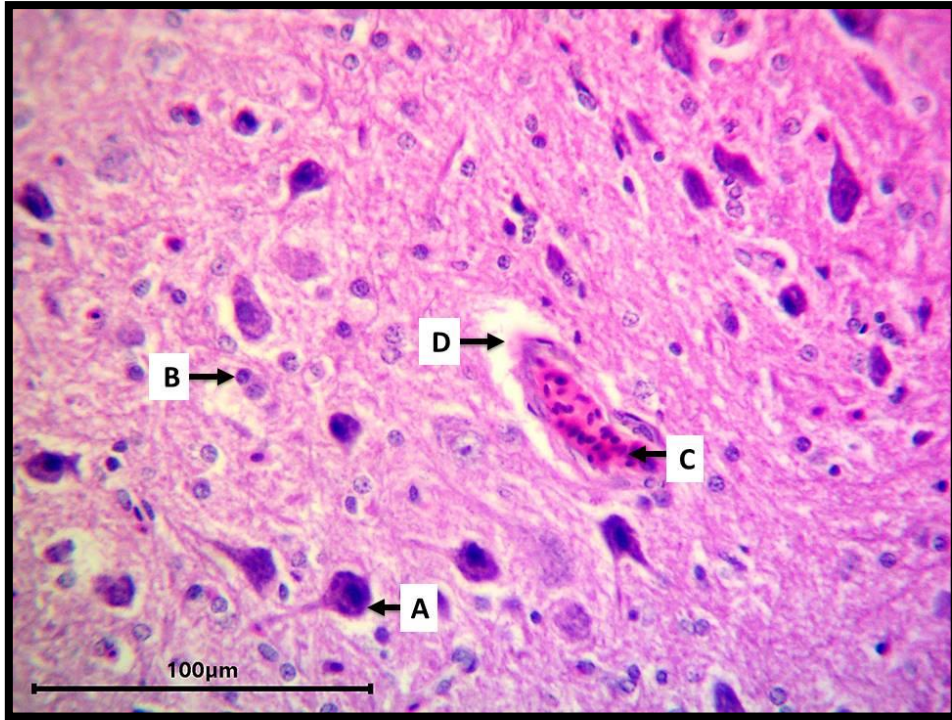
الشكل 14: مقطع نسجي لدماغ فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 15% من الجرعة المميطة الوسطية يوضحقشرة المخ وفيها تجمع الخلايا الدبقية (A) والابتلاع العصبي (احاطة بقايا الخلايا العصبية بواسطة الخلايا البلعمية) (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة وعائية شديدة (D) ووذمة حول المحاور (E) والموت الخلوي المبرمج (F). صبغة الهيماتوكسيلين والايوسين، 400 X



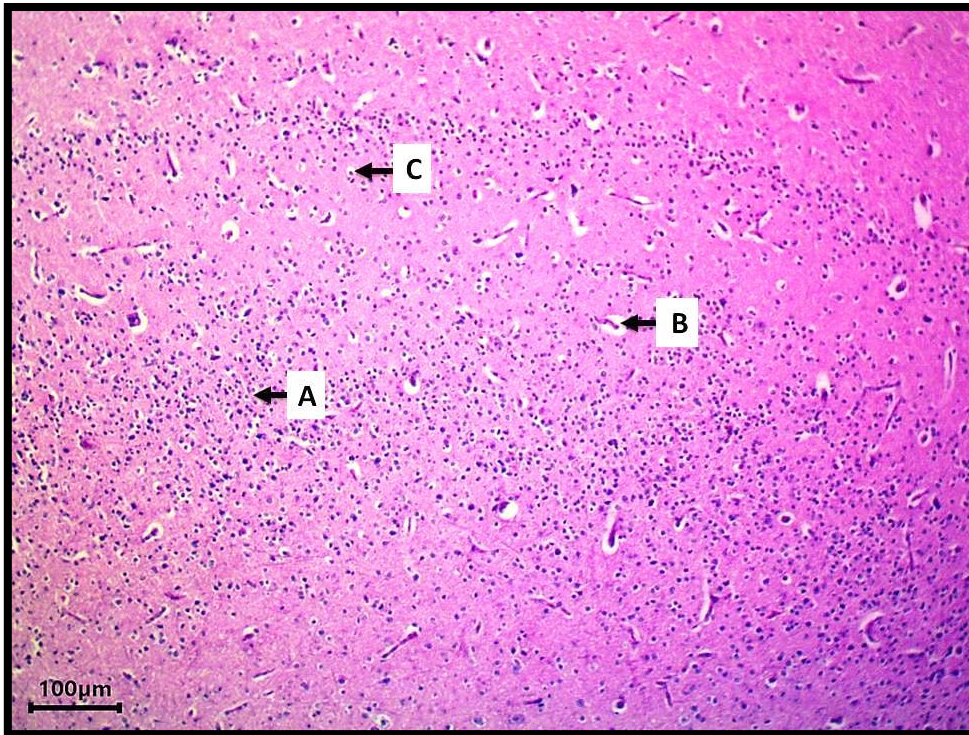
الشكل 15: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس 15% من الجرعة المميتة الوسطية يوضحقشرة المخ وفيها تجمع كثيف للخلايا الدبقية (A) وتجمع الخلايا الدبقية النجمية حول الخلايا العصبية (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) ووذمة وعائية شديدة (D) ووذمة حول المحاور (E) وتنخر (تكسر النواة Karyorrhexis) الخلايا العصبية (F) والموت الخلوي المبرمج (G). صبغة الهيماتوكسيلين والأيويسين، 400 X



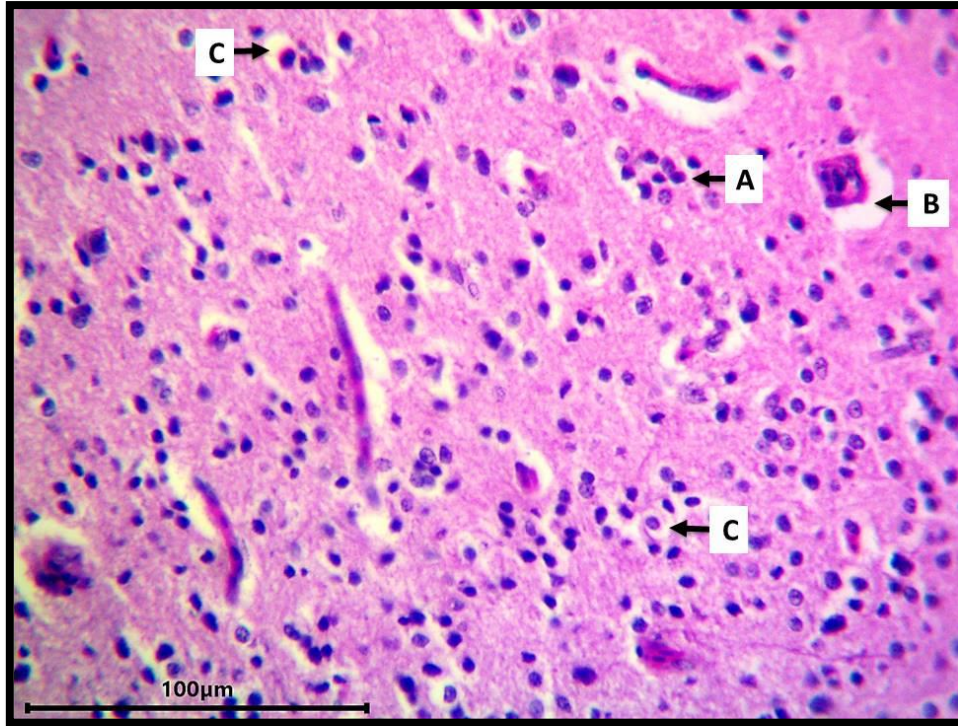
الشكل 16: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس مع الإنزيم المساعد Q10 يوضحقشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) مع وذمة طفيفة وعائية (C) perivascular edema وحول المحاور (D) Periaxonal edema. صبغة الهيماتوكسيلين والأيويسين، 100 X



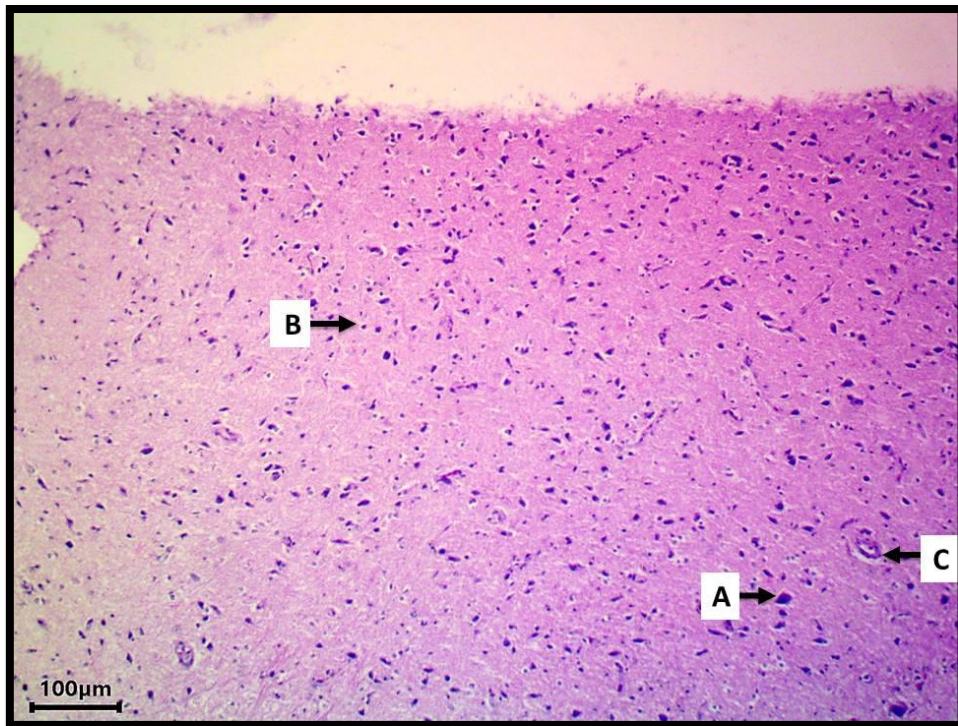
الشكل 17: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس مع الإنزيم المساعد Q10 يوضحشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) مع احتقان الوعاء الدموي (C) ووذمة وعانية طفيفة (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400 X



الشكل 18: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بكبريتات النحاس ثم الإنزيم المساعد Q10 يوضحشرة المخ وفيها زيادة وتجمع الخلايا الدبقية (A) Gliosis ووذمة وعانية منتشرة (B) ووذمة حول المحاور (C). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 X

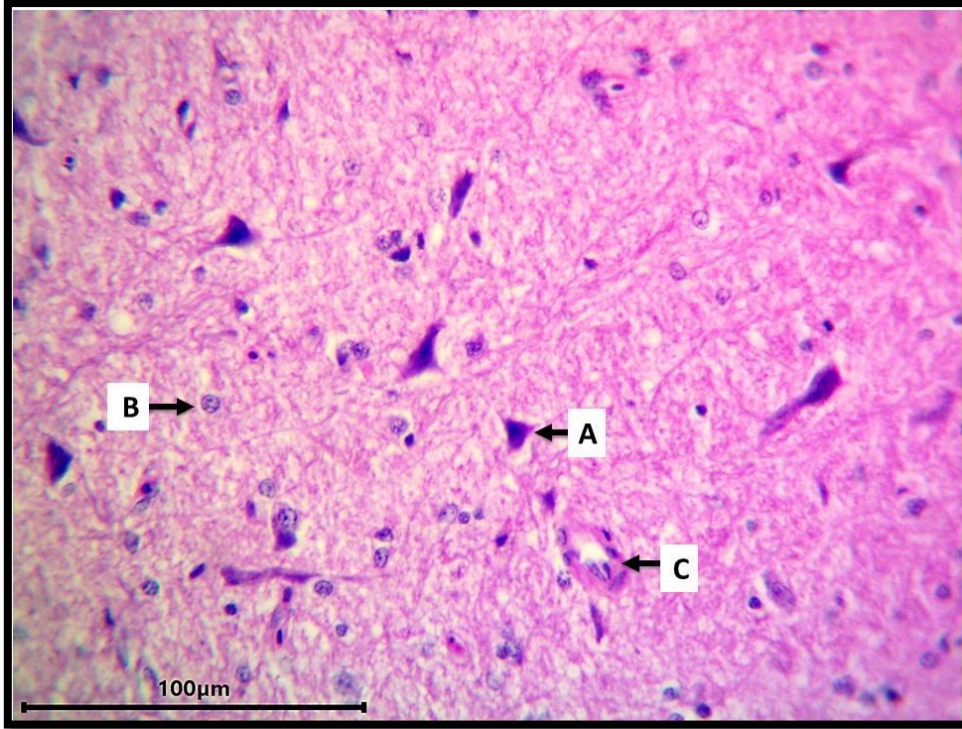


الشكل 19: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بالإنزيم المساعد Q10 يوضح قشرة المخ وفيها زيادة وتجمع الخلايا الدبقية (A) Gliosis ووذمة وعانية (B) ووذمة حول المحاور (C) وتفجى الخلايا الدبقية (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 400 X

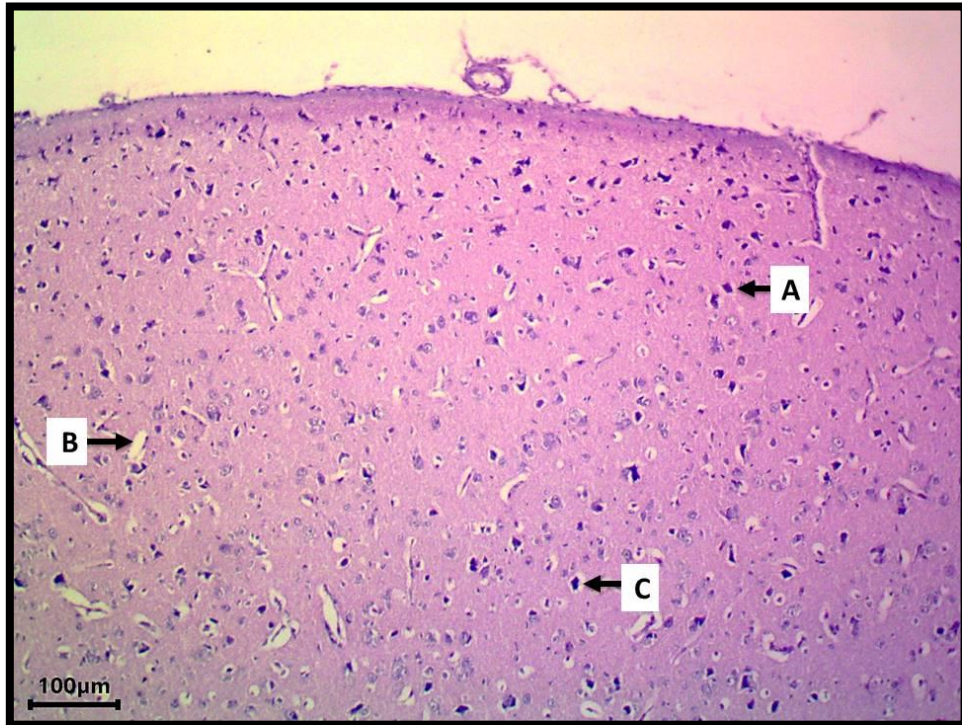


الشكل 20: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بالإنزيم المساعد Q10 فقط يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) والأوعية الدموية (C). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، 100 X

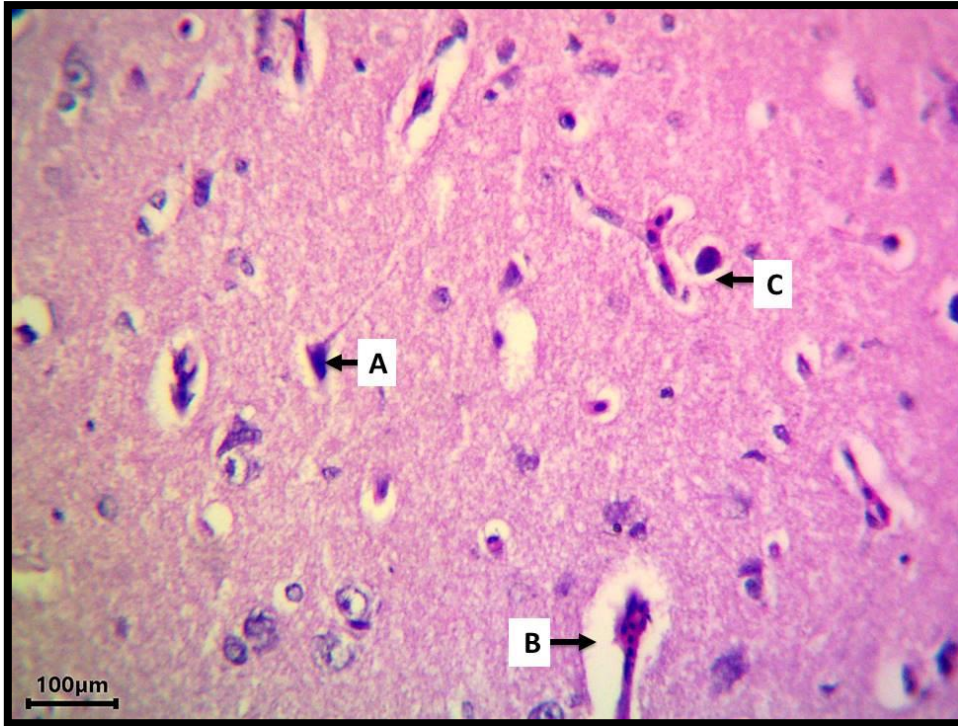




الشكل 21: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بالإنزيم المساعد Q10 فقط يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) والخلايا الدبقية (B) والأوعية الدموية (C). صبغة الهيماتوكسيلين والأيو سين، 400 X



الشكل 22: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بالإنزيم المساعد Q10 ثم كبريتات النحاس يوضح قشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) مع وذمة وعائية (C) وحول المحاور (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيو سين، 100 X



الشكل 23: مقطع نسجي لدماع فرخ من المجموعة المعاملة بالإنزيم المساعد Q10 ثم كبريتات النحاس يوضحشرة المخ وفيها التركيب النسيجي السوي للخلايا العصبية (A) مع وذمة وعانية (C) وحول المحاور (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيو سين، 400 X

## الفصل الخامس

### المناقشة

## Discussion

### 1.5 المناقشة

أظهرت دراستنا الحالية ان الجرعة المميتة الوسطية لكبريتات النحاس في الافراخ كانت 772 ملغم/كغم وسجلت على الافراخ المعاملة علامات تسمم تمثلت بالتعب ونفوش الريش وقلة الحركة وضيق التنفس والاسهال الدموي والافرازات الغروية من الفم واخيرا الموت.

وتوافقت نتائجنا مع دراسات أخرى حول سمية كبريتات النحاس في الافراخ ومنها دراسة أجريت على الجرذان بينت ان قيمة LD<sub>50</sub> كانت 809 ملغم / كغم وكانت العلامات السمية الحادة للجرع المفردة العالية من كبريتات النحاس مختلفة وتشمل الاسهال الدموي و القيء الدموي أو القئ بلون أزرق مخضر و التنفس السريع و الاختناق و نزيف في الاذن والشلل و التشنج وجحوظ العيون وأخيرا الموت (Peterson *et al.* , 2011)، اما في السمية المزمنة في نفس الدراسة فإظهرت علامات سريرية تمثلت بالاكنتاب وبطء النشاط ، شحوب الأغشية المخاطية للعينين والأطراف الخارجية و الهيموكلوبين يوريا و ضيق التنفس والجلد الجاف مع الفراء المنفوش وسقوط الشعر خاصة في منطقة البطن (Al-Naimi *et al.* , 2010).

وكان متوسط الجرعة المميتة (LD 50) خلال 48 ساعة في الديك الرومي و بجرعة واحدة عن طريق الفم 1000 ملغم/كغم (Giergiel *et al.* , 2019).

كانت الجرعات البالغة 250 ملغم / كغم مميتة لكل من الأغنام والماشية، بينما سمية النحاس الحادة في الأبقار كانت عند 200-800 ملغم /كغم (Gupta and Crissman , 2013).

لقد الغرض من استخدام نسب مختلفة (2.5% و 5% و 10% و 15%) من قيمة الجرعة المميتة الوسطية لكبريتات النحاس في الافراخ هو إيجاد اقل جرعة سمية ممكن ان تظهر التأثيرات الكامنة على الجهاز العصبي بدون ان تظهر

تأثيرات سمية واضحة على الافراخ. وقد تبين وجود انخفاض معنوي واضح في نشاط وحركة الافراخ داخل الميدان المفتوح وكذلك إطالة بمدة سكون الافراخ في اختبار عدم الحركة الشدي حيث ان جرعة 2.5% كانت الأفضل نسبيا من حيث ظهور العلامات السمية بين بقية الجرع بينما كانت التأثيرات السمية واضحة جدا في بقية الجرع وهذه النتائج تتوافق مع العديد من الدراسات التي بينت ان كبريتات النحاس لها تأثيرات سمية على الجهاز العصبي المركزي نظرا لقدرته على العبور من الدم إلى الحاجز الدماغي الدموي حيث أظهر النحاس تأثير على الخلايا النجمية البشرية المعرضة للنحاس (Brewer , 2009)

كما ان وجود النحاس في مناطق مختلفة من الدماغ يؤدي الى حدوث تغييرات في توازن النحاس في الجهاز العصبي المركزي (CNS) ، مما قد يؤدي إلى ظهور الاضطرابات العصبية (Desai and Kaler , 2008). لقد وجد أن السمية المزمنة للنحاس تسببت في تراكم النحاس في مناطق القشرة والمخيخ في ذكور جرذان ويستار ، والتي ارتبطت بالاختلالات المعرفية في الاختبارات السلوكية (Pal and Prasad , 2016). أن الاعطاء الزائد للنحاس من خلال تناوله عن طريق الفم زاد من كميات النحاس غير المرتبط بالسيرولوبلازمين في البلازما والقشرة والحصين ، مما احدث ضرر مؤكسد من خلال الإنتاج المفرط لأنواع الأوكسجين التفاعلية (Arnalet *al.*, 2013)، يبدو أن الإجهاد التأكسدي هو السبب الرئيسي للعجز العصبي بعد تراكم النحاس ويشارك المخيخ بشكل حاسم في التوازن والتحكم في الحركة ووظائف الدماغ المختلفة بما في ذلك التنظيم العاطفي والإدراك (Montes *et al.* , 2014).

أثبتت الدراسات السابقة ان زيادة مستويات النحاس في الدماغ قد يرفع أيضا مستويات النحاس في العصب المحيطي ، مما قد يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي وأكسدة الدهون واشات هذه الدراسة ان إمكانات تراكم النحاس وبيروكسيد الدهون في العصب المحيطي كما وان التلويين الآلي للعصب المحيطي متسقًا مع زيادة المحتوى المعدني على طول غمد المايلين ، ولكن في الدماغ ، لوحظت كثافات بؤرية للنحاس، اما في الكبد فكان التوزيع محيطي (Özçelik and Uzun , 2009). تتوافق هذه البيانات مع كون الجهاز العصبي المحيطي أكثر حساسية لإزالة الميالين بواسطة النحاس و رفع مستوياته في العصب المحيطي. بالإضافة إلى ذلك ، يبدو أن بيروكسيد الدهون هو حدث مساهم في تطوير إزالة الميالين ، ربما من خلال زيادة النحاس لفعالية أنشطة الأكسدة والاختزال ، أو نتيجة لإصابة المايلين،

ويمثل تراكم النحاس في الجهاز العصبي آلية محتملة لهذه السمية العصبية ، لأن النحاس يحتمل أن يكون سامًا للخلايا من خلال قدرته على تكوين أنواع الأوكسجين النفاعلية (Bremner , 1998)

ان المرضى الذين يعانون من اضطراب وراثي جسمي متتحي مرض ويلسون ، يرتبط تراكم النحاس عندهم في الدماغ والكبد بأفات عصبية بما في ذلك التغيرات الكيسية في نواة جذع الدماغ ، وفقدان المايلين ، وتضخم الخلايا النجمية ، والتسمم الكبدي مما يؤدي إلى فشل الكبد التدريجي . (Strausak *et al.* , 2001) .

وبالمثل ، فقد ثبت أن نقل النحاس داخل الخلايا في الزجاج يزيد من السمية الخلوية في الخلايا النجمية الأولية للجرذان والخلايا الزعرية للجرذان (Chen *et al.* , 2000) . ان جرعة كبريتات النحاس المرتفعة اظهرت تأثيرات سمية سلوكية عصبية وربما يفسر ذلك من خلال احد الدراسات التي بينت ان ترسب النحاس في مواقع تخزين خاصة ، فمثلا ترسب النحاس في العصب الوركي للفئران المعرضة للنحاس ارتبط بأفات إزالة المايلين على طول المحور العصبي (Elizabeth *et al.* , 2004) .

ان تثبيط الكولين استراز في الافراخ المعاملة بكبريتات النحاس يتوافق مع نتائج باحثين اخرين اظهروا ان أيونات المعادن بتركيزات عالية (خاصة النحاس) قادرة على تثبيط نشاط الكولين استراز من خلال الارتباط بمجموعات إيميدازولوالسلفيدريل والكاربوكسيل ، مما يؤدي إلى تغيير تركيبه في الموقع النشط . ان أيونات المعادن تتفاعل ايضا مع الأحماض الأمينية الأخرى مثل التربتوفان ، ميثيو - 9 ، السيستينوالفينيلألانين في البروتين النشط (Sabullah *et al.* , 2015) . علاوة على ذلك ، فإن النحاس هو أحد المعادن الثقيلة التي لها سلوك تثبيطي غير تنافسي تجاه نشاط الكوليناستراز (Sabullah *et al.* , 2014) .

تم قياس Caspase-3 ، الذي يتغير عادةً في بداية موت الخلايا المبرمج ، من أجل البحث عن دور النحاس في التسبب في تلف الميتوكوندريا والتسبب في موت مبرمج ، وقد اثبتت دراستنا ان النحاس في الجرعة العالية تسبب في زيادة نشاط Caspase-3 وظهر ذلك أيضا من خلال الفحص النسجي المرضي وتتوافق هذه النتائج مع دراسة أخرى وجدت أن استخدام كبريتات النحاس مع الزرنيخ في الدجاج أدى إلى خلل في آلية عمل الميتوكوندريا وكذلك تسبب في بنية غير طبيعية تدعم خلل الميتوكوندريا . كما سجلت هذه الدراسة تأثير على الجينات المؤيدة للاستماتة والالتهام الذاتي مفردة التعبير (Liu *et al.* , 2019) .

وكان الغرض من إعطاء المرافق الانزيمي Q-10 للافراخ المعاملة بكبريتات النحاس باوقات مختلفة هو التحري عن قدرة المرافق الانزيمي المضاد للأكسدة لحماية غشاء الفوسفوليبيدات وغشاء الميتوكوندريا من التلف التأكسدي الناجم عن كبريتات النحاس حيث ان زيادة تركيز النحاس أكثر من متطلبات الخلية، يحفز عملية خلق الجذور الحرة والأكسدة الفوقية للدهون والبروتينات والحمض النووي (Özçelik and Uzun , 2009).

واظهرت النتائج التي حصلنا عليها عند المعاملة بكبريتات النحاس قبل المرافق الانزيمي Q-10 لم يجدي نفعا في تقليل التأثيرات السمية العصبية و قد يكون سبب ذلك ان أيونات النحاس الحرة تتصرف كمحفزات قوية لتكوين الأوكسجين التفاعلي (ROS) يمكن أن تؤدي أيونات النحاس دوراً أساسياً في تفاعلات الأكسدة والاختزال ،حيث يمكن اختزال الأيونات النحاسية ( $+Cu^2$ ) إلى النحاس ( $+Cu$ ) في وجود فوق أوكسيد ( $-O_2$ ) ، والتي يمكن أن تحفز إنتاج جذور الهيدروكسيل التفاعلية (OH) من تفكك بيروكسيد الهيدروجين ( $H_2O_2$ ) جذور الهيدروكسيل هي أقوى الجذور المؤكسدة الموجودة في الأنظمة الحية وقد تحفز بيروكسيده الدهون مما يسبب إصابة الأنسجة (Persia et al. , 2004).

يبدو من نتائجنا ان المعالجة المتأخرة بالمرافق الانزيمي لم تتمكن من مواجهة التلف النسيجي الحاصل وقد انعكس ذلك على السلوك العصبي والنشاط الحركي للافراخ داخل الميدان المفتوح في هذه المجاميع بينما أظهرت المعاملة السابقة والمتزامنة إمكانية مواجهة الضرر التأكسدي الحاصل بكبريتات النحاس عند تزامن اعطائه مع المرافق الانزيمي وبشكل اني وقد توافقت هذه النتيجة مع دراسات أخرى اظهرت ان عمليات الاجهاد التأكسدي يمكن ان تقمع بواسطة أنظمة الحماية المضادة للأكسدة مثل الكاتالاز ، الجلوتاثيون بيروكسيديز ،ديسموتاز الفائق والفيتامينات C و E (Tisato et al. , 2010).

أن تأثير الحماية العصبية لـ CoQ10 يمكن أن يكون بسبب آلية تثبيط الخلايا الدبقية الصغيرة جنباً إلى جنب مع استعادة دورالميتوكوندريا فضلا عن خصائصه المضادة للأكسدة. ان الخلايا الدبقية الصغيرة هي نوع من الخلايا الدبقية الضامة الموجودة في الدماغ والحبل الشوكي (Persia et al. , 2004)، وبالتالي فهي بمثابة الشكل الأول والرئيسي للدفاع المناعي النشط في الجهاز العصبي المركزي. تتمثل إحدى طرق السيطرة على الالتهاب العصبي في تثبيط تنشيط الخلايا الدبقية الصغيرة (Mischley et al. , 2012).

وتتوافق هذه النتائج مع دراسة اثبتت أن علاج CoQ10 يترافق مع انخفاض بيروكسيده الدهون في الدماغ وتحسين في مستوى ATP (Jin *et al.*, 2014).

وقد اكدت نتائج فحوصات الاجهاد التأكسدي هذه النتائج حيث ان إعطاء التراكيذ المختلفة من كبريتات النحاس سببت ارتفاعا معنويا في مستوى المالوندايالديهايد حين ان مستويات الكلوتاثيون وتركيز مضادات الاكسدة الكلية قد انخفض معنويا في هذه المجاميع مقارنة مع السيطرة وبقية المجاميع.

وتتوافق هذه النتائج مع دراسات أخرى أظهرت ان كبريتات النحاس يمكن ان تسبب بالجرع العالية زيادة في تكوين الجذور الحرة ويقابلها انخفاضاً في مضادات الاكسدة مثل الكلوتاثيون (Jomova *et al.*, 2010) وهذا ماسجلته دراستنا الحالية وقد تعززت النتائج بقياس قابلية مضادات الاكسدة الكلية في نسيج الدماغ والكبد حيث اكدت وجود الانخفاض في حالة مضادات الاكسدة وهذا يشير لتأهب اجسام الافراخ لمواجهة حالة الاجهاد التأكسدي التي تعرضت لها.

وربما ان إعطاء المرافق الانزيمي بعد المعاملة بكبريتات النحاس لم يحدث حماية كافية ضد الأذى المحدث بكبريتات النحاس التي أدت الى تلف غير قابل للإصلاح خلال فترة المعاملة بالمرافق الانزيمي فضلا عن ان كبريتات النحاس أدت الى توليد الجذور الحرة وأنواع الأوكسجين التفاعلية التي تهاجم الدهون والبروتينات الموجودة في الخلية، كما ان الأحماض النووية أيضاً قد تتأثر بالإجهاد التأكسدي حيث ان الحمض النووي للميتوكوندريا هو أكثر عرضة للتلف اللاحق وان أي خلل في الميتوكوندريا يمكن أن يؤدي إلى احداث طفرات في الجينات لا رجعة فيها وبالتالي ، فإن الضرر التأكسدي لديه القدرة على إحداث تغييرات دائمة في كيفية إنتاج الطاقة ، والتي يمكن أن تؤدي إلى موت الخلايا المبرمج وهذا ماتبين من خلال نتائجنا (Mischley *et al.*, 2012).

ربما ان تلف الاغشية الحيوية المحدث بكبريتات النحاس ولكونه معدن نشط في الأكسدة والاختزال يمكنه أن يشكل معقدات مع البروتينات وترتبط هذه العملية بالإجهاد التأكسدي بشكل رئيسي بالأمراض العصبية التنكسي (Wang *et al.*, 2010). ان زيادة إنتاج ROS وأضرار الأكسدة التي يمكن أن تنجم عن التغييرات في تركيز النحاس تشارك في عمليات التنكس العصبي وتحدث خاصة في الجهاز العصبي المركزي (Jomova *et al.*, 2010).

يعد التحدي الدوائي أو السمي أحد الوسائل المتبعة في البحث عن التأثيرات الكامنة أو المخفية للمواد الكيميائية أو السموم على وظيفة الجهاز العصبي المركزي وقد تكون هذه التغييرات عبارة عن تغييرات في الوظائف الفسلجية والكيموحيوية للجهاز العصبي المركزي أو قد تظهر في الفرخ على شكل اختلاف في المظاهر السلوكية ويظهر التحدي الدوائي الخلل الحاصل في توازن الجهاز العصبي الذي تم تغطيته باليات الدماغ التكيفية Adaptive Mechanism (Tilson , 1987).

يعتقد أن سبب النتائج التي حصلنا عليها هو أن كبريتات النحاس قد عمل على تحويل الاستجابة للتخدير العام للأفراخ وقلل من ارتباط الكتامين بمستقبلات N-Methyl-D-asparartate, كما أن المرافق الأنزيمي Q-10 يبدو أن تأثيره كان طاعياً على كل المعاملات المشتركة مع كبريتات النحاس حيث استمر وجود التأخر في البدء بالتخدير مع انخفاض وقت التخدير في هذه المجموع وتحتاج مثل هذه النتائج لدراسة دقيقة لحركية هذه العقاقير عند إعطاء المرافق الأنزيمي مع كبريتات النحاس للأفراخ، لهذا فإننا نعزو نتائجنا التي حصلنا عليها لتأثير كبريتات النحاس والمرافق الأنزيمي على الحركية الدوائية للزايلازين والكتامين والتي تُرجمت إلى أقصر وأقل فعالية في التخدير في الأفراخ المعاملة فضلاً عنه قد يكون للمرافق الأنزيمي تأثير على أيض الأدوية واستهلاك الطاقة في هذه الأفراخ.

بينت نتائجنا أن كبريتات النحاس أدت إلى تنشيط caspase-3 هو بروتين يتفاعل مع caspase-8 و caspase-9 ويتم ترميزه بواسطة جين CASP3. يلعب التنشيط المتسلسل للكاسباز دوراً رئيسياً في مرحلة تنفيذ موت الخلايا المبرمج. وهي إنزيمات أولية غير نشطة تخضع للمعالجة المحللة للبروتين يتم تنشيط caspase-3 بواسطة caspase 6 و 7 ؛ ويتم معالجة البروتين نفسه وتنشيطه بواسطة caspase 8 و 9 و 10. وهو caspase السائد الذي يشارك في انقسام بروتين أميلويد بيتا، والذي يرتبط بموت الخلايا العصبية في مرض الزهايمر (Peng et al. , 2021).

وتؤكد نتائجنا على تأثير كبريتات النحاس في زيادة نشاط caspase-3 والذي سيؤدي إلى قتل الخلايا بشكل عشوائي ويتسبب في زيادة الإجهاد التأكسدي والاستماتة المتتالية ، والالتهام الذاتي ، واضطراب الميتوكوندريا و يساهم في زيادة الأذى الخلوي كما أظهرت نتائجنا أن إعطاء المرافق الأنزيمي Q-10 قلل من أحداث الموت المبرمج تم كشفه من خلال تقليله لنشاط caspase-3 وقد توافقت هذه النتائج مع دراسات أخرى أظهرت أن



اعطاء CoQ10 يؤدي الى قمع مختلف الجينات الحساسة للأكسدة والاختزال المشاركة في موت الخلايا المبرمج التأكسدي العصبي حيث ان CoQ10 له دور في الحماية العصبية وله تاثير مضاد للالتهابات لأنه يثبط التعبير عن IL-6 و TNF المتسبب في موت الخلايا المبرمج والتأكسدي العصبي (Kooncumchoo *et al.*, 2006).

يمكن أن يكون تأثير الحماية العصبية لـ CoQ10 بسبب آلية تثبيط الخلايا الدبقية الصغيرة.

هناك أدلة كثيرة تظهر أن الخلل الوظيفي في الميتوكوندريا والأضرار التأكسدية تلعب دوراً رئيسياً في تطور مرض التوحد العصبي ، بما في ذلك مرض الزهايمر ومرض باركنسون هذه العلاقة معروفة منذ سنوات عديدة (Ebadi *et al.*, 2005)

ولتأكيد النتائج أظهر الفحص النسيجي المرضي وجود تغيرات مرضية واضحة على الخلايا العصبية التي كانت شدتها مصحوبة بالجرعة المعطاة ، وكانت التأثيرات أكثر شدة بتركيز 15% من متوسط الجرعة المميّنة. تؤكد هذه النتائج أن الإجهاد التأكسدي والجذور الحرة الناتجة عن الجرعات العالية من النحاس لها دور في التسبب في تلف الخلايا وانحطاط الخلايا العصبية وكذلك التغيرات المرضية الأخرى وحتى الموت المبرمج.

حيث ان النخر هو الشكل السلبي لموت الخلايا الناجم عن التلف العرضي للأنسجة ويتضمن تنشيط احد البرامج الخلوية المحددة. ويبدو ان الجذور الحرة المتولدة عن النحاس تسببت الفقد المبكر لسلامة غشاء البلازما وتورم جسم الخلية متبوعاً بانفجار الخلية وعند انفجار الخلية تتحرر مواد ضارة من المايكوكوندريا تسبب اذى للخلايا المحيطة بها (Peng *et al.*, 2021)

وعند حدوث الموت المبرمج فان الخلايا المحتضرة التي تتقلص وتتكثف ثم تنفتت ، وتطلق أجسام موت الخلايا المبرمجة الصغيرة المرتبطة بالغشاء ، والتي يتم ملؤها بواسطة الخلايا المناعية (الضامة) (Wu *et al.*, 2020).

كما بينت نتائج الفحص النسيجي المرضي ان المعاملة بكبريتات النحاس قبل المرافق الانزيمي تسببت بظهور علامات نسجية مرضية في نسيج الدماغ وهذه النتائج أكدت ما حصلنا عليه من النتائج السابقة من التأثيرات السلوكية العصبية ونتائج فحص مؤشرات الاجهاد التأكسدي حيث ان الاجهاد التأكسدي والجذور الحرة هي المتسببة في احداث التغييرات النسجية المرضية حسب ما اظهرته نتائجنا ونتائج البحوث السابقة.

نستنتج من هذه الدراسة ان لكبريتات النحاس تأثيرات سمية عصبية تم كشفها من خلال اجراء بعض القياسات السلوكية العصبية والحركية وبعض مؤشرات الاجهاد التأكسدي فضلا عن المتغيرات الكيموحيوية والتغيرات النسجية المرضية والموت المبرمج في خلايا الدماغ وان هذه التأثيرات السمية قد تم تقليلها نسبيا بتزامن اعطائه مع المرافق الانزيمي Q-10 اوقبله كما تم توضيحه في متن هذه الدراسة.

## الفصل السادس

### الاستنتاجات

### والتوصيات

## Conclusions and Recommendations

### 1.6 الاستنتاجات

- 1- إن التراكيز العالية من كبريتات النحاس تسبب تغييرات سمية تثبيطية للسلوك العصبي للافراخ.
- 2- إن التراكيز العالية من كبريتات النحاس في الدماغ تولد الإجهاد التأكسدي بزيادة المالوندايالديهيد وانخفاض الكلوتاثيون.
- 3- إن التراكيز العالية من كبريتات النحاس تؤثر في زيادة احداث الموت المبرمج في خلايا الدماغ والكبد وكذلك تسبب تغييرات نسجية مرضية في الدماغ.
- 4- إن إعطاء المرافق الانزيمي Q-10 له تأثيرات مضادة للاكسدة مفيدة في مواجهة التسمم بكبريتات النحاس.
- 5- إن إعطاء المرافق الانزيمي Q-10 في الوقت نفسه أو قبل كبريتات النحاس يقلل من سمية كبريتات النحاس وقد تم استخدام بعض مؤشرات الإجهاد التأكسدي، وكذلك المؤشرات الكيميائية الحيوية، والتغييرات النسيجية المرضية، والموت المبرمج في خلايا الدماغ، لإثبات ذلك.

## 2.6 التوصيات

- 1- يجب الاهتمام بحساب نسبة كبريتات النحاس المضافة للعلائق او لمعالجة الحيوانات بشكل علمي دقيق لكون كبريتات النحاس لها تأثيرات سمية في الدجاج.
- 2- يمكن الاستفادة من خصائص المرافق الانزيمي Q-10 المضادة للاكسدة لتقليل الآثار السمية لكبريتات النحاس في الدجاج
- 3- إعطاء المرافق الانزيمي Q-10 بالوقت نفسه مع كبريتات النحاس له تأثيرات مفيدة في حالة التسمم بكبريتات النحاس.
- 4- استخدام أساليب وقائية ضد التسمم بكبريتات النحاس احداها هي إعطاء مضادات اكسدة مثل المرافق الانزيمي Q-10 لتهيئة اجسام الدجاج لمواجهة الحالات السمية مثل كبريتات النحاس.
- 5- اجراء المزيد من الدراسات السريرية حول تأثير المرافق الانزيمي Q-10 و كبريتات النحاس على التخدير بالزايلازين والكتامين.

## الملاحق

ملحق 1: يبين جدول قياس الجرعة المميّنة الوسطية

( جدول قياس الجرعة المميّنة الوسطية )

الجزء الثاني من السلسلة	K تمثل سلسلة الاختيارات التي تبدأ كما يأتي					الخطأ القياسي
	O	OO	OOO	OOOO		
XOOO	0.157-	0.154-	0.154-	0.154-	OXXX	0.61
XOOX	0.878-	0.860-	0.860-	0.860-	OXXO	
XOXO	0.701	0.737	0.741	0.741	OXOX	
XOXX	0.084	0.169	0.181	0.182	OXOO	
XXOO	0.305	0.372	0.380	0.381	OOXX	
XXOX	0.305-	0.169-	0.144-	0.142-	OOXO	
XXXO	1.288	1.500	1.544	1.549	OOOX	
XXXX	0.555	0.897	0.985	1.000	OOOO	
	X	XX	XXX	XXXX	الجزء الثاني	
	K- تمثل سلسلة الاختبارات التي تبدأ كما يأتي					

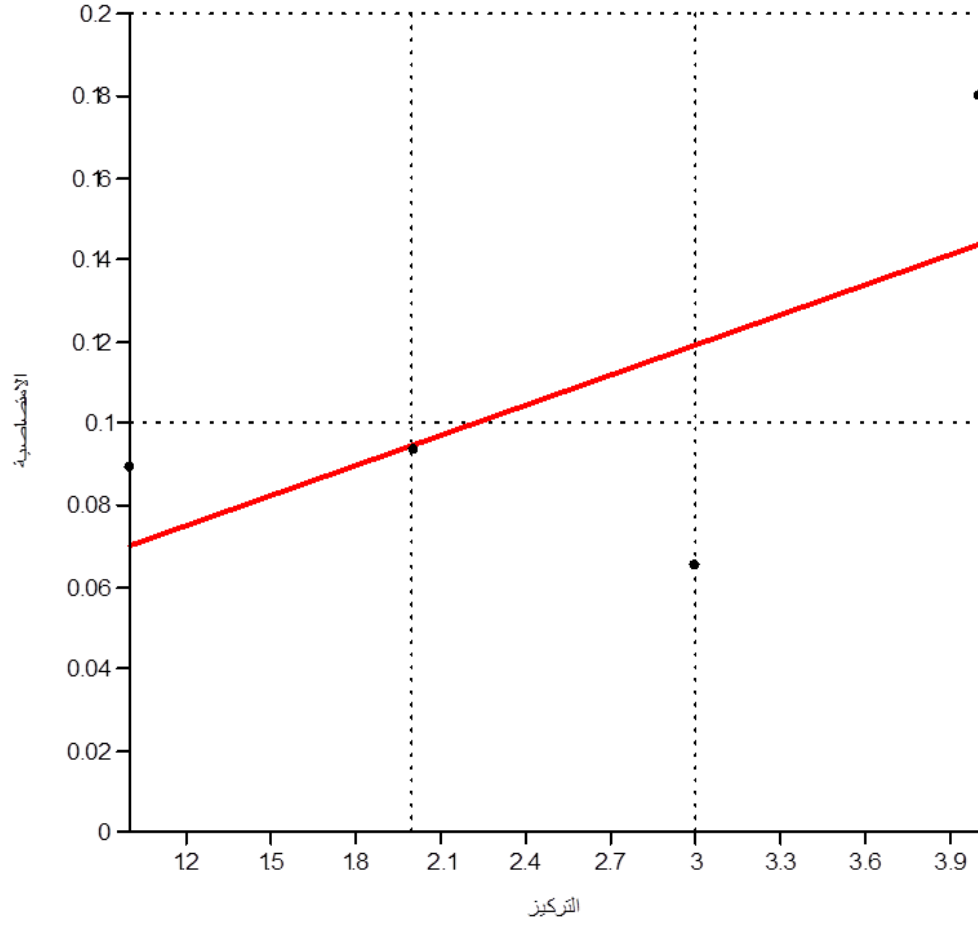
$$LD_{50} (50 - \text{الجم}) = Xf + Kd$$

Xf: تمثل آخر جرعة مستخدمة

K: قيمة جدولية

d: مقدار النقصان الثابت أو الزيادة الثابتة ف الجرعة المعطاة

## ملحق 2: يبين المنحني القياسي للكلوتاثيون



$$Y = 0.02 + 0.050 \times X$$

$$Y = a + bX$$

## المصادر

### References

- Abdeen, A., Abdelkader, A., Elgazzar, D., Aboubakr, M., Abdulah, O.A., Shoghy, K., Abdel-Daim, M., El-Serehy, H.A., Najda, A. and El-Mleeh, A., 2020. Coenzyme Q10 supplementation mitigates piroxicam-induced oxidative injury and apoptotic pathways in the stomach, liver, and kidney. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, p.110627.
- Abiri, B. and Vafa, M., 2021. Vitamin C and cancer: the role of vitamin C in disease progression and quality of life in cancer patients. *Nutrition and Cancer*, 73(8), pp.1282-1292.
- Achuba, F.I., Peretiemo-Clarke, B.O. and Okolie, T.C. 2005. Oxidative stress in the brain of rabbits with petroleum-induced hypoglycaemia. *Biol. Lett.*, 42 (1): 33-39.
- Alahmar, A.T., Calogero, A.E., Singh, R., Cannarella, R., Sengupta, P. and Dutta, S., 2021. Coenzyme Q10, oxidative stress, and male infertility: A review. *Clinical and experimental reproductive medicine*, 48(2), p.97.
- Al-Naimi, R.A., Al-Tayar, N.H. and Abdul-Hadi, D., 2010. Toxicopathological study due to effect of different doses of Copper Sulfate ingested in rat. *Al-Anbar J Vet Sci*, 3, pp.1-16.
- Arias, V.J. and Koutsos, E.A., 2006. Effects of copper source and level on intestinal physiology and growth of broiler chickens. *Poultry Science*, 85(6), pp.999-1007.
- Arnal N, Morel GR, de Alaniz MJ, Castillo O, Marra CA. 2013. Role of copper and cholesterol association in the neurodegenerative process. *International journal of Alzheimer's disease*. Jan 1;20-13.

- Andalib, S., Mashhadi-Mousapour, M., Bijani, S. and Hosseini, M.J., 2019. Coenzyme Q10 alleviated behavioral dysfunction and bioenergetic function in an animal model of depression. *Neurochemical research*, 44(5), pp.1182-1191.
- Al-Zubaidy, M.H. and Mohammad, F.K., 2013. Effects of acute manganese neurotoxicity in young chicks. *Arhiv za higijenu radaitoksikologiju*, 64(1), pp.69-75.
- Baruah, S., Goswami, S., & Kalita, D. (2018). Haematobiochemical and pathological alterations of chronic copper toxicity in ducks. *Journal of Animal Research*, 8(2), 283-287.
- Bhagavan HN, Chopra RK. Coenzyme Q10: absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radic Res*. 2006. May;40(5):445–53.
- Bi, S.S., Jin, H.T., Talukder, M., Ge, J., Zhang, C., Lv, M.W., Ismail, M.A.Y. and Li, J.L., 2021. The protective effect of nano-selenium against cadmium-induced cerebellar injury via the heat shock protein pathway in chicken. *Food and Chemical Toxicology*, 154, p.112332.
- Blundell S, Curtin J, Fitzgerald D. Blue lips, coma and haemolysis. *J Paediatr Child Health* 2003;39:67-8.
- Bremner, I. (1998). Manifestations of copper excess. *Am. J. Clin. Nutr.* 67(S), 1069S–1073S
- Brewer GJ 2009. The risks of copper toxicity contributing to cognitive decline in the aging population and to Alzheimer ' s disease . *J. Am. Coll. Nutr.* 28 : 238 – 242 .
- Buege, J.A. and Aust, S.D., 1978. [30] Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in enzymology* (Vol. 52, pp. 302-310). Academic press.



- Chan, W. Y., & Rennert, O. M. (1980). The role of copper in iron metabolism. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 10(4), 338-344.
- Chen, S. H., Liu, S. H., Liang, Y. C., Lin, J. K., and Lin-Shiau, S. Y. (2000). Death signaling pathway induced by pyrrolidine dithiocarbamate-Cu(2+) complex in the cultured rat cortical astrocytes. *Glia* 31, 249–261.
- Correa, M., Sanchis-Segura, C. and Aragon, C.M.G., 2001. Influence of brain catalase on ethanol-induced loss of righting reflex in mice. *Drug and alcohol dependence*, 65(1), pp.9-15.
- Cotán, D., Cordero, M.D., Garrido-Maraver, J., Oropesa-Avila, M., Rodríguez-Hernández, Á., Izquierdo, L.G., Mata, M.D.L., Miguel, M.D., Lorite, J.B., Infante, E.R. and Jackson, S., 2011. Secondary coenzyme Q10 deficiency triggers mitochondria degradation by mitophagy in MELAS fibroblasts. *The FASEB Journal*, 25(8), pp.2669-2687..
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D. and Milzani, A. 2006. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin. Chem.*, 52 (4): 601–623.
- Das, S. and Gupta, A., 2013. Accumulation of copper in different tissues and changes in oxygen consumption rate in Indian flying barb, *Esomusdanricus* (Hamilton-Buchanan) exposed to sub-lethal concentrations of copper. *Jordan Journal of Biological*
- Desai V, Kaler SG. 2008. Role of copper in human neurological disorders. *The American journal of clinical nutrition*. Sep 1;88(3):855S-8S.

- Dixon, W.J., 1980. Efficient analysis of experimental observations. Annual review of pharmacology and toxicology, 20(1), pp.441-462.
- Duruibe, J.O., Ogwuegbu, M.O.C. and Egwurugwu, J.N. 2007. Heavy Metal Pollution and Human Biotoxic Effects. International Journal of Physical Science, 2, 112-118.
- Ebadi, M., Sharma, S.K., Ghafourifar, P., Brown-Borg, H. and El Refaey, H., 2005. Peroxynitrite in the pathogenesis of Parkinson's disease and the neuroprotective role of metallothioneins. *Methods in enzymology*, 396, pp.276-298.
- Elizabeth G. Tonkin, Holly L. Valentine, Dejan M. Milatovic, William M. Valentine, *N,N*-Diethyldithiocarbamate Produces Copper Accumulation, Lipid Peroxidation, and Myelin Injury in Rat Peripheral Nerve, *Toxicological Sciences*, Volume 81, Issue 1, September 2004, Pages 160–171, <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh190>
- Engelsen J, Nielsen JD, Wither K. 2002 . Effect of coenzyme Q10 and Ginkgo biloba on warfarin dosage in stable, long-term warfarin treated outpatients. *ThrombHaemost.* Jun;87(6):1075–6.
- Erfanizadeh, M., Noorafshan, A., Naseh, M. and Karbalay-Doust, S., 2021. The effects of copper sulfate on the structure and function of the rat cerebellum: A stereological and behavioral study. *IBRO Neuroscience Reports*, 11, pp.119-127.
- Gaetke, L.M.; Chow, C.K. 2003. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189, 147–163. [CrossRef].
- Giergiel, M., Durkalec, M.M., Nawrocka, A., Sell, B., Stolarska, I. and Posyniak, A., 2019. Ingestion of bedding material as a cause of

- acute copper sulfate poisoning in turkey poults. *Poultry science*, 98(2), pp.707-711.
- Giroux MC, Santamaria R, Hélie P, Burns P, Beaudry F, Vachon P. 2016. Physiological, pharmacokinetic and liver metabolism comparisons between 3-, 6-, 12-and 18-month-old male Sprague Dawley rats under ketamine-xylazine anesthesia. *Experimental animals*.;65(1):63-75
- Greenberg, S. and Frishman, W.H. 1990. Co-enzyme Q10: A new drug for cardiovascular disease. *J. Clin. Pharm.*, 30(7): 596-608.
- Gudev, D., Moneva, P., Popova-Ralcheva, S. and Sredkova, V., 2011. Tonic immobility and adrenal response in chickens fed supplemental tryptophan. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17(4), pp.560-566.
- Guescini, M., Tiano, L., Genova, M.L., Polidori, E., Silvestri, S., Orlando, P., Fimognari, C., Calcabrini, C., Stocchi, V. and Sestili, P., 2017. The combination of physical exercise with muscle-directed antioxidants to counteract sarcopenia: a biomedical rationale for pleiotropic treatment with creatine and coenzyme Q10. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Gueven, N., Woolley, K. and Smith, J. 2015. Border between natural product and drug: Comparison of the related benzoquinones idebenone and coenzyme Q10. *Redox. Biol.*, 4(1): 289-295.
- Gupta, D., Kerai, S., & Budoo, M. S. (2018). A fatal and deceiving case of copper sulphate poisoning. *Indian journal of anaesthesia*, 62(10), 819.
- Gupta, P., 2019. Concepts and applications in veterinary toxicology. *Cham (Switzerland): Springer International Publishing*, pp.242-244.

- Gupta, R.C. and Crissman, J.W., 2013. Agricultural chemicals. In *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology* (pp. 1349-1372). Academic Press.
- Hashem, M. A., Abd El Hamied, S. S., Ahmed, E. M., Amer, S. A., & El-Sharnouby, M. E. (2021). Mitigating the growth, biochemical changes, genotoxic and pathological effects of copper toxicity in broiler chickens by supplementing vitamins C and E. *Animals*, *11*(6), 1811.
- Hassan, S., Shaikh, M. U., Ali, N., & Riaz, M. (2010). Copper sulphate toxicity in a young male complicated by methemoglobinemia, rhabdomyolysis and renal failure. *J Coll Physicians Surg Pak*, *20*(7), 490-491.
- Halliwell, B.; Chirico, S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr.* 1993, *57*, 715S–725S. [CrossRef] 24. Cinar, M.; Yigit, A.; Eraslan, G. Effects of vitamin C or vitamin E supplementation on cadmium induced oxidative stress and anaemia in broilers. *Rev. Méd. Vétér.* 2010, *161*, 449–454. 2.
- Hashem, M.A., Abd El Hamied, S.S., Ahmed, E., Amer, S.A. and Hassan, A.M., 2021. Alleviating Effects of Vitamins C and E Supplementation on Oxidative Stress, Hematobiochemical, and Histopathological Alterations Caused by Copper Toxicity in Broiler Chickens. *Animals*, *11*(6), p.1739.
- Hashem, M. A., Abd El Hamied, S. S., Ahmed, E. M., Amer, S. A., & El-Sharnouby, M. E. (2021). Mitigating the growth, biochemical changes, genotoxic and pathological effects of copper toxicity in broiler chickens by supplementing vitamins C and E. *Animals*, *11*(6), 1811.

- Hedayati, A. and Ghaffari, Z., 2013. Effect of mercuric chloride on some hematological, biochemical parameters in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *International Journal of Veterinary Medicine: Research & Reports*, 2013, pp.1-11.
- Hedayati, N., Naeini, M.B., Nezami, A., Hosseinzadeh, H., Wallace Hayes, A., Hosseini, S., Imenshahidi, M. and Karimi, G., 2019. Protective effect of lycopene against chemical and natural toxins: A review. *BioFactors*, 45(1), pp.5-23.
- Hosseintabar, B., Dadashbeiki, M., Bouyeh, M., Seidavi, A., van den Hoven, R., & Gamboa, S. (2015). Effect of different levels of L-carnitine and lysine-methionine on broiler blood parameters. *Revista MVZ Córdoba*, 20(3), 4698-4708. <https://alзира3a.com/%D8%A7%D9%84%D8%AF%D9%83%D8%>.
- Hussain, S., Slikker, W.JR. and Ali, S.F. 1995. Age-related changes in antioxidant enzymes, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione in differe
- Jaffal A, Betoulle S, Biagianti-Risbourg S, Terreau A, Sanchez W, ParisPalacios S 2015. Heavy metal contamination and hepatic toxicological responses in brown trout (*Salmo trutta*) from the Kerguelen Islands. *Polar Res* 34:22784. doi:10.3402/polar.v34.22784
- Jamese, R.C., Goodman, D.R. and Harbison, R.D. (1982). Hepatic glutathione and hepatotoxicity: changes induced by selected narcotics. *J. Pharmacol. Experim. Therap.*, 221:708-714.
- Jegade, A. V., Oduguwa, O. O., Bamgbose, A. M., Fanimu, A. O., & Nollet, L. (2011). Growth response, blood characteristics and copper accumulation in organs of broilers fed on diets

- supplemented with organic and inorganic dietary copper sources. *British poultry science*, 52(1), 133-139.
- Jin, H., Kanthasamy, A., Ghosh, A., Anantharam, V., Kalyanaraman, B., & Kanthasamy, A. G. 2014. Mitochondria-targeted antioxidants for treatment of Parkinson's disease: preclinical and clinical outcomes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1842(8), 1282-1294.
- Jomova K, Vondrakova D, Lawson M, Valko M. 2010. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Mol. Cell. Biochem.* 345 : 91 – 104
- Jones, R.B. and Carmichael, N.L., 1997. Open-field behavior in domestic chicks tested individually or in pairs: differential effects of painted lines delineating subdivisions of the floor. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, 29(3), pp.396-400.
- Joshi, P.K., Swarup, A., Maheshwari, S., Kumar, R. and Singh, N., 2011. Bioremediation of heavy metals in liquid media through fungi isolated from contaminated sources. *Indian journal of microbiology*, 51(4), pp.482-487.
- Kooncumchoo, P., Sharma, S., Porter, J., Govitrapong, P. and Ebadi, M., 2006. Coenzyme Q10 provides neuroprotection in iron-induced apoptosis in dopaminergic neurons. *Journal of molecular neuroscience*, 28(2), pp.125-141.
- Langsjoen PH, Langsjoen AM. 1999. Overview of the use of CoQ10 in cardiovascular disease. *Biofactors.* ;9(2-4):273-84.
- Lee BJ, Lin YC, Huang YC, Ko YW, Hsia S, Lin PT. 2012 .The relationship between coenzyme Q10, oxidative stress, and antioxidant enzymes activities and coronary artery

- disease. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:792756. doi: 10.1100/2012/792756. Epub May 3. PMID: 22645453
- Liu, J., Zhao, H., Wang, Y., Shao, Y., Zong, H., Zeng, X. and Xing, M., 2019. Arsenic trioxide and/or copper sulfate induced apoptosis and autophagy associated with oxidative stress and perturbation of mitochondrial dynamics in the thymus of *Gallus gallus*. *Chemosphere*, 219, pp.227-235.
- López-Alonso, M., 2012. Animal feed contamination by toxic metals. In *Animal Feed Contamination* (pp. 183-204). Woodhead Publishing.
- Marnett, L.J. 1999. Lipid peroxidation–DNA damage by malondialdehyde. *Mutat. Res.*, 424 (1–2): 83–95.
- Mazon, A. F., Monteiro, E. A. S., Pinheiro, G. H. D., & Fernandez, M. N. (2002). Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. *Brazilian Journal of Biology*, 62, 621-631.
- McDowell, L.R. *Vitamins in Animal and Human Nutrition*; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2008.
- Mehrabani, S., Askari, G., Miraghajani, M., Tavakoly, R. and Arab, A., 2019. Effect of coenzyme Q10 supplementation on fatigue: A systematic review of interventional studies. *Complementary therapies in medicine*, 43, pp.181-187.
- Mischley, L. K., Allen, J., & Bradley, R. (2012). Coenzyme Q10 deficiency in patients with Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*, 318(1-2), 72-75.
- Mohammad FK, Faris GA-M and Al-Kassim NA. 1997. A modified electrometric method for measurement of erythrocyte acetylcholinesterase activity in sheep. *Vet Hum Toxicol* 39: 337–339.

- Montes, S., Rivera-Mancia, S., Diaz-Ruiz, A., Tristan-Lopez, L. and Rios, C., 2014. Copper and copper proteins in Parkinson's disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.
- Mattie, M. D., & Freedman, J. H. (2001). Protective effects of aspirin and vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) against copper-and cadmium-induced toxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 285(4), 921-925.
- Nielsen, F., Mikkelsen, B.B., Nielsen, J.B., Andersen, H.R. and Grandjean, P. 1997. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin. Chem.*, 43 (7): 1209–1214  
nt regions of mouse brain. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 13 (8): 811–817.
- Ö z ç elikD ,Uzun H. 2009. Copper intoxication; antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain . *Biol .Trace Elem. Res.* 127 : 45 – 52 .  
Persia ME , Baker DH , Parsons CM (2004) Tolerance forexcess basic zinc chloride and basic copper chloride inchicks . *Br. Poult. Sci.* 45 : 672 – 676
- Pastore, A., Federici, G., Bertini, E. and Piemonte, F. 2003. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *ClinicaChimica Acta*, 333: 19–39.
- Pastor-Maldonado, C.J., Suárez-Rivero, J.M., Povea-Cabello, S., Álvarez-Córdoba, M., Villalón-García, I., Munuera-Cabeza, M., Suárez-Carrillo, A., Talaverón-Rey, M. and Sánchez-Alcázar, J.A., 2020. Coenzyme q10: Novel formulations and medical trends. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), p.8432.



- Patockova, J., Marhol, P., Tumova, E., Krsiak, M., Rokyta, R., Stipek, S., Crkovska, J. and Andel, M. 2003. Oxidative stress in the brain tissue of laboratory mice with acute post insulin hypoglycemia. *Physiol. Res.*, 52: 131–135.
- Persia, M. E., Baker, D. H., & Parsons, C. M. (2004). Tolerance for excess basic zinc chloride and basic copper chloride in chicks. *British poultry science*, 45(5), 672-676.
- Peterson, A.T., Soberón, J., Pearson, R.G., Anderson, R.P., Martínez-Meyer, E., Nakamura, M. and Araújo, M.B., 2011. *Ecological niches and geographic distributions (MPB-49)*. Princeton University Press.
- Sabullah MK, Sulaiman MR, Shukor MYA, Shamaan NA, Khalid A, Ahmad SA 2015. In vitro and in vivo effects of Puntius javanicus cholinesterase by copper. *Fresenius Environ Bull* 24:4615–4621
- Sabullah MK, Sulaiman MR, Shukor MYA, Syed MA, Shamaan NA, Khalid A, Ahmad SA 2014. The assessment of cholinesterase from the liver of Puntius javanicus as detection of metal ions. *Sci World J*. doi:10.1155/2014/571094
- Sabullah, M.K., Ahmad, S.A., Shukor, M.Y., Gansau, A.J., Syed, M.A., Sulaiman, M.R. and Shamaan, N.A., 2015. Heavy metal biomarker: Fish behavior, cellular alteration, enzymatic reaction and proteomics approaches. *International Food Research Journal*.
- Sanoobar M, Eghtesadi S, Azimi A, Khalili M, Jazayeri S, Reza Gohari M. 2013 .Coenzyme Q10 supplementation reduces oxidative stress and increases antioxidant enzyme activity in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Int J Neurosci*. Nov;123(11):776-82. doi: 10.3109/00207454.2013.801844. Epub 2013 Jun 17

- Sayre, L.M., Perry, G. and Smith, M.A. 2008. Oxidative stress and neurotoxicity. *Chem. Res. Toxicol.*, 21: 172–188.
- Saravu K, Jose J, Bhat MN, Jimmy B, Shastry BA. 2007. Acute ingestion of copper sulphate: A review on its clinical manifestations and management. *Indian J Crit Care Med*;11:74-80.
- Scott, A., Vadalasetty, K.P., Chwalibog, A. and Sawosz, E., 2018. Copper nanoparticles as an alternative feed additive in poultry diet: a review. *Nanotechnology Reviews*, 7(1), pp.69-93
- Sim, A.H., Salonikas, C., Naidoo, D. and Wilcken, D.E.L. 2003. Improved method for plasma malondialdehyde measurement by high-performance liquid chromatography using methyl malondialdehyde as an internal standard. *J. Chromatography B*, 785: 337–344.
- Strausak, D., Mercer, J. F., Dieter, H. H., Stremmel, W., and Multhaup, G. (2001). Copper in disorders with neurological symptoms: Alzheimer's, Menkes, and Wilson diseases. *Brain Res. Bull.*55,175–185.
- Stern, B. R., Solioz, M., Krewski, D., Aggett, P., Aw, T. C., Baker, S., ... & Starr, T. (2007). Copper and human health: biochemistry, genetics, and strategies for modeling dose-response relationships. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10(3), 157-222.
- Sternlieb, Irmin. 1980 . "Copper and the liver." *Gastroenterology* 78.6: 1615-1628.
- Tilson, H. A., Kodavanti, P. R., Mundy, W. R., & Bushnell, P. J. (1998). Neurotoxicity of environmental chemicals and their mechanism of action. *Toxicology letters*, 102, 631-635

- Tisato F , Marzano C , Porchia M , Pellei M , Santini C 2010.Copper in diseases and treatments, and copperbased anticancer strategies . Med. Res. Rev. 30 : 708 – 749 .
- Torki, M., Habibian, M., Rostami, T., & Moradi, A. (2015). Effects of high dietary levels of selenium and copper on growth performance, selected blood biochemical parameters and antibody production against Newcastle disease vaccine virus in broiler chickens.
- Wang C , Liu L , Zhang L , Peng Y , Zhou F 2010.Redox reactions of the  $\mu$  -synuclein – Cu 2 complex andtheir effects on neuronal cell viability . Biochemistry 49- 8142 – 8134
- Wang, Y., Zhao, H., Shao, Y., Liu, J., Li, J., Luo, L., & Xing, M. 2018. Copper (II) and/or arsenite-induced oxidative stress cascades apoptosis and autophagy in the skeletal muscles of chicken. Chemosphere, 206, 597-605.
- Wu, H., Guo, H., Liu, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X. and Zhao, L., 2020. Copper sulfate-induced endoplasmic reticulum stress promotes hepatic apoptosis by activating CHOP, JNK and caspase-12 signaling pathways. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 191, p.110236.
- Zhu, Runzhi, et al. "Oxidative stress and liver disease." *Hepatology Research* 42.8 (2012): 741-749.

## Abstract

The aim of this study is to investigate the acute neurotoxic effects of copper sulphate and the effect of coenzyme Q-10 administration at different times on the copper sulphate toxicity on the neurological behavior and motor activity of chicks, as well as their relationship to the activity of cholinesterase and caspase-3, the level of oxidative stress, and the histopathological changes in the brain tissue of chicks .144 chicks were used in this study.

When copper sulphate was given orally to chicks, the LD<sub>50</sub> was 772 mg/kg. the response to different doses of copper sulphate was determined through neurobehavioral tests, which represented a delay in the start of movement and a significant decrease in the number of squares cut, and this decrease was directly proportional to the increase in the administered dose compared to the control. As for the posture correction test, the administered dose recorded a significant increase of 5%, 10%, and 15% in posture correction time compared to the control and the other groups.

As for the tensile immobility test, the groups treated with doses of 5%, 10%, and 15% of the median lethal dose recorded a significant and clear increase in the dormancy period of chicks compared to the control group. The neurobehavioral changes when giving both copper sulphate and Q-10 together in the chicks recorded a significant increase in the start time of movement, the number of squares cut by the chicks in the same group recorded a significant decrease compared to the control group, while in the tensile immobility test, the group treated with copper sulfate recorded a significant increase in dormancy period of chicks in this test.

When compared to the control group and copper sulphate group, Chicks treated with copper sulphate recorded a significant decrease in the period of onset of sleep with a decrease in the period of anaesthesia in this group, while the rest of the groups recorded a significant increase in period of onset of sleep in groups treated with coenzyme Q-10 alone or with copper sulphate compared to the control group. As for the length of sleep duration, the groups treated with the coenzyme Q-10 alone or with copper sulphate recorded a significant decrease in sleep duration of the chicks compared to the control group and copper sulphate group.

In comparison to the control group, the coenzyme Q-10 group had a significantly lower onset of sleep and a shorter sleep duration. In comparison between the control group and the other groups, The level of total antioxidant capacity in liver tissue and brain tissue in groups treated with copper sulphate at all doses showed a significant decrease compared to the control group. In comparison to the control group, copper sulphate concentrations of 2.5 percent, 5%, 10%, and 15% of the median lethal dose resulted in a significant drop in glutathione and a significant increase in malondialdehyde.

At varying concentrations of the lethal dose, the level of inhibition of cholinesterase activity demonstrated a significant drop in cholinesterase activity compared to the control group, with an increase in caspase-3 activity in the liver and brain tissue compared to the control group. When coenzyme Q-10 was given with copper sulphate at different times, the pharmacological challenge revealed substantial changes in sleep onset and sleep duration length in chicks. Higher Caspase-3 activity in brain tissue was connected to increased oxidative stress in total, glutathione, and malondialdehyde in serum and brain tissue, while groups that received given coenzyme Q-10 with copper

---

sulphate concurrently or before oxidative stress had less oxidative stress and histological alterations, less pathology in brain tissue.

The severity of degenerative alterations in chick brain tissue was related to the increase in copper sulphate concentration administered to chicks, according to the results of histological investigation. The cerebral cortex of the chicks treated with copper sulphate and later coenzyme Q10 revealed a rise and accumulation of glial cells, diffuse angioedema, edoema surrounding the axons, and vacuolization of glial cells, according to the results of the histological investigation. Glial cells, neurons, and blood vessels The cerebral cortex of the group given coenzyme Q10 and then copper sulphate had normal histological structure of neurons with angioedema surrounding the axons.

We concluded from this research that high concentrations of copper sulphate in the brain cause oxidative stress and histopathological alterations in the chicks in the open field, affecting their neurological behavior and motor activities. In addition, taking CoQ-10 at the same time as or before taking copper sulphate decreases copper sulphate toxicity. This has been demonstrated using oxidative stress markers, biochemical markers, histopathological alterations, and programmed death of brain cells.

**The effect of coenzyme Q10 on the  
neurobehavioral and histopathological  
toxicity induced by copper sulfate in a chick's  
model**

**Shahad Ismael Saeed Al-Nuaimy**

**Master Thesis**

in

Veterinary Medicine /veterinary pharmacology and toxicology

Supervised by

**Assist Prof.**

**Dr. Yamama Zuher Saleh Al-Abdaly**

---

**2022 A.D.**

**1444 A.H.**

University of Mosul  
College of Veterinary Medicine



**The effect of coenzyme Q10 on the  
neurobehavioral and  
histopathological toxicity induced by copper  
sulfate in a chick's model**

A Thesis submitted

By

**Shahad Ismael Saeed Al-Nuaimy**

To

The Council of the College of Veterinary Medicine  
University of Mosul

In

Partial Fulfillment of the Requirements

For the Degree of Master

In

Veterinary medicine \ Veterinary pharmacology and toxicology

Supervised by

**Assist Prof.**

**Dr. Yamama Zuher Saleh Al-Abdaly**

---

**2022 A.D.**

**1444 A.H.**



