



جامعة بغداد

كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم

قسم علوم الحياة

دراسة التغيرات النسجية والوظيفية لتأثير جسيمات أوكسيد الزنك النانوي في كلى ذكور الفئران البيض

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة-ابن الهيثم/ جامعة بغداد

كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في علوم الحياة /علم الحيوان/علم النسيج

من قبل

باسم سلطان عبيد ونين الزيرجاوي

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية

للعلوم الصرفة-ابن الهيثم/جامعة بغداد(2013)

باشراف

أ. م. د. جنان عدنان عبد اللطيف البيروتي

2019م

1441هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ

وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ

وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة الآية (11)

بسم الله الرحمن الرحيم

اقرار المشرف

أشهد ان اعداد هذه الرسالة الموسومة بـ

(دراسة التغيرات النسجية والوظيفية لتأثير جسيمات أكسيد الزنك النانوي في كلى ذكور الفئران البيض) المقدمة من قبل الطالب (باسم سلطان عبيد الزيرجاوي) قد تمت تحت اشرافي في كلية التربية للعلوم الصرفة / ابن الهيثم/ قسم علوم الحياة ، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان / علم النسج.

التوقيع : 

اسم المشرف : د. جنان عدنان عبد اللطيف البيروتي

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : قسم الاحياء المجهرية / كلية العلوم/ جامعة الكرخ

التاريخ : 2019 / 10 / 27

توصية رئيس قسم علوم الحياة

استناداً على التوصيات المتوافرة اشرح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع : 

الاسم : د. ثامر عبد الشهيد محسن الابراهيمى

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم/ قسم علوم الحياة

التاريخ : 2019 / 10 / 30

أقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعون ادناه ، نشهد اننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة بـ (دراسة التغيرات النسجية والوظيفية لتأثير جسيمات أكسيد الزنك النانوي في كلى ذكور الفئران البيض) المقدمة من قبل الطالب (باسم سلطان عبيد الزيرجاوي) في قسم علوم الحياة، وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها ونقدر انها جديرة بقبول نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/علم الحيوان/علم النسيج. وبتقدير () .

التوقيع : 
الاسم : د. سحر عبد الهادي محمد
اللقب العلمي : استاذ مساعد
التاريخ : 27 / 10 / 2019
عضواً

التوقيع : 
الاسم : د. محمد عودة سلمان
اللقب العلمي : استاذ
التاريخ : 27 / 10 / 2019
رئيس اللجنة

التوقيع : 
الاسم : د. جنان عدنان عبد اللطيف
اللقب العلمي : استاذ مساعد
التاريخ : 27 / 10 / 2019
عضواً ومشرفاً

التوقيع : 
الاسم : د. بيداء حسين مطلق
اللقب العلمي : استاذ مساعد
التاريخ : 27 / 10 / 2019
عضواً

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة / ابن الهيثم

التوقيع : 

الاسم : د. حسن أحمد حسن

اللقب العلمي : استاذ

التاريخ : 20 / 10 / 2019

الاهداء

اهدي ثمرة جهدي وعملي لله سبحانه وتعالى والى
نبي الرحمة الرسول الأكرم محمد صلى الله عليه
واله وسلم والى اهل بيته الطيبين الاطهار والى
روح الذي رباني وعلمني والذي العزيز والى من
وقفني الله بها والدتي الحبيبة والى احبابي زوجتي
واولادي وبناتي والى اخوتي واخواتي الاعزاء.

باسم سلطان عبيد الزيرجاوي

شكر وتقدير

الشكر اولاً واخراً لله سبحانه وتعالى الذي وفقني والهمني الطموح
وسدد خطاي وكل الشكر والتقدير الى من رافقني في أعداد هذه الرسالة
الى الاستاذة الفاضلة الدكتورة جنان عدنان عبد اللطيف البيروتي (كلية
العلوم/جامعة الكرخ للعلوم) لتفضلها باقتراح موضوع الرسالة وتحمل
مشاق الاشراف على اعدادها والمتابعة المستمرة طوال مدة الدراسة
والبحث.

وأود ان اقدم شكري وتقديري الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة-
ابن الهيثم ورئاسة قسم علوم الحياة لإتاحتها الفرصة لي للدراسة
وتسهيلها مهمة البحث.

كما اقدم خالص شكري وامتناني الى جميع الأساتذة الذين ساهموا
بمساعدي خلال مدة الدراسة والبحث.

واخير اقدم عميق شكري وامتناني الى كل من وقف بجانبني من زملائي
طلاب الدراسات العليا لما قدموه من مساعدة ودعم مستمر طوال مدة
الدراسة والبحث متمنيا لهم دوام التوفيق والنجاح.

والله ولي التوفيق

الباحث

باسم سلطان عبيد الزيرجاوي

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية للتعرف على تأثير دقائق أوكسيد الزنك النانوي Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) في إحداث التغيرات السلوكية والوزنية لذكور الفئران البيض *Mus musculus* فضلا عن احداث التغيرات المظهرية والوزنية والبايومترية والوظيفية النسجية لكلى الفئران البيض.

استعمل في التجربة 24 ذكراً من الفئران البيض قسمت على أربع مجاميع في كل مجموعة ستة حيوانات، حقنت المجموعة الاولى والثانية داخل تجويف البريتون بمقدار 0.1 مل بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي (بحجم 25-45 نانومتر) و لمدة سبعة و 14 يوماً على التوالي، اما المجموعة الثالثة والرابعة فهي مجموعتي سيطرة حقنت بمقدار 0.1 مل من محلول كلوريد الصوديوم بتركيز 0.9 في المائة داخل تجويف البريتون ولمدة سبعة و14 يوماً على التوالي.

سحب الدم من المجاميع المحقونة في اليوم التالي من انتهاء مدتي الحقن سبعة و 14 يوماً لغرض قياس التغيرات الوظيفية في الكلى وهي الكرياتينين والبولينا وحامض البوليك، فضلاً عن جمع عينات الكلى اليمنى لغرض الدراسة النسجية بعد ان تم التضحية بالحيوانات.

بينت النتائج المظهرية انخفاض كمية المادة الدهنية المحيطة بالكلى مع شحوب لون الكلى في الحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة ايام وازدادت الاعراض شدة مع زيادة مدة الحقن لمدة 14 يوماً مقارنة مع مجاميع السيطرة، وسجلت النتائج ايضاً انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في معدل أوزان الحيوانات المحقونة لمدة 14 يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة للمدة نفسها.

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية للكلى وجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في معدل تركيز الكرياتينين والبولينا في مصل الدم في الحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و14 يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة للمدة نفسها، بينما لم يحدث فرق معنوي

ب

($P>0.05$) في معدل مستوى حامض البوليك في مصل الدم في الحيوانات المحقونة بدقائق اوكسيد الزنك النانوي بتركيز 150 ملغم/كغم للمدتين سبعة و 14 يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة للمدة نفسها.

أظهرت نتائج الدراسة البايومترية وجود زيادة معنوية ($P\leq 0.05$) في معدل اقطار النبيبات الكلوية الدانية والقاصية في الحيوانات المحقونة بدقائق اوكسيد الزنك النانوي للمدتين سبعة و 14 يوماً مقارنة بمجموعات السيطرة لمدة التعرض نفسها، اما معدل فسح محفظة بومان فقد أظهرت زيادة معنوية ($P\leq 0.05$) في الحيوانات المحقونة بدقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة ايام وقد ازداد الاتساع بازدياد مدة الحقن (14 يوماً) مقارنة مع مجموعة السيطرة لمدة التعرض نفسها، بينت النتائج أيضاً حصول انخفاض معنوي ($P\leq 0.05$) في متوسط أقطار الكبيبات في الحيوانات المحقونة بدقائق اوكسيد الزنك النانوي لمدة 14 يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة المحقونة بالمحلول الملحي للمدة نفسها.

بينت النتائج حصول تغيرات نسجية عديدة في كلى الحيوانات المحقونة بدقائق اوكسيد الزنك النانوي لمدة سبعة ايام منها الاحتقان الدموي في معظم نسج الكلى لاسيما في الأوعية الدموية بين النبيبات الكلوية وتراكم الخلايا الالتهابية بين الجسيمات الكلوية والنبيبات وتنخر الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات وفقدان بعض الكبيبات الكلوية بالكامل وانفصال الخلايا الظهارية عن الغشاء القاعدي وتوسع فسح محفظة بومان وتضخم انوية بعض الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات، وازدادت شدة الاضرار في الحيوانات المحقونة لمدة 14 يوماً اذ ظهرت اعراض اخرى منها انكماش الكبيبات الكلوية وتحطم بعض الكبيبات وتكون قوالب الكالسيوم داخل النبيبات.

استنتج من هذه الدراسة أن التعرض لدقائق اوكسيد الزنك النانوي بتركيز 150 ملغم/كغم للمدتين

سبعة و 14 يوماً له تأثير سلبي كبير في التركيب النسجي والوظيفي لكلى الفئران البيض.

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع
أ - ب	الخلاصة
ج - و	قائمة المحتويات
ز	قائمة الجداول
ح - ي	قائمة الاشكال
ك - ع	قائمة المصطلحات
ف - ص	قائمة المختصرات
	الفصل الاول: المقدمة
1	1. المقدمة
2	الهدف من الدراسة
	الفصل الثاني: استعراض المراجع
3	2- استعراض المراجع
3	2-1 الدقائق النانوية
3	2-1-1 تعريف الدقائق النانوية ودقائق أكسيد الزنك النانوي
3	2-1-2 النانو والنانومتر
4	2-1-3 علم التقانة النانوية
4	2-1-4 تطبيقات التقانة النانوية
6	2-2 تصنيف الدقائق النانوية
6	2-2-1 التصنيف حسب الابعاد
8	2-2-2 التصنيف حسب التركيب الكيميائي للمواد النانوية
8	2-2-3 التصنيف حسب الخصائص المظهرية
9	2-3 مسارات تحضير الدقائق النانوية
9	2-3-1 المسار الاول . (الاعلى - الادنى)
10	2-3-2 المسار الثاني . (الادنى - الاعلى)

11	4-2 خصائص الدقائق النانوية
12	1-4-2 الجرعة والتركيز
12	2-4-2 الحجم
13	3-4-2 شحنة السطح
13	4-4-2 الشكل
14	5-4-2 النقاوة
14	6-4-2 الخصائص المغناطيسية
15	5-2 مصادر الدقائق النانوية
15	6-2 مسالك التعرض للدقائق النانوية
16	1-6-2 المسلك التنفسي
16	2-6-2 المسلك الفموي
17	3-6-2 المسلك الجلدي
17	4-6-2 مسلك الحقن
18	7-2 تراكم الدقائق النانوية في أعضاء الجسم
18	8-2 آلية التأثيرات السامة للدقائق النانوية في الخلايا
19	9-2 تأثير الدقائق النانوية في خلايا ونسج أجهزة الاعضاء المختلفة
21	10-2 تأثير الدقائق النانوية في وظائف الاعضاء المختلفة
24	11-2 تأثير الدقائق النانوية في نسج الكلى ووظائفها
	فصل الثالث: المواد وطرائق العمل
26	3 - المواد وطرائق العمل
26	1- 3 الاجهزة والمواد المستعملة
26	3 - 1 - 1 الاجهزة المختبرية
27	3 - 1 - 2 الادوات المستعملة
28	3-1-3 المواد الكيميائية والملونات
29	3-2 طرائق العمل
29	3-2-1 تهيئة حيوانات التجربة

29	2-2-3 المادة النانوية و مواصفاتها
31	3-2-3 تحضير التركيز المطلوب من المادة النانوية وتصميم التجربة
32	4-2-3 المجاميع التجريبية
32	3-3 التغيرات السلوكية والمظهرية
32	4-3 جمع عينات الدم
33	5-3 التضحية بالحيوانات
33	6-3 الدراسة الوظيفية
34	1-6-3 قياس مستوى البولينا
34	2-6-3 قياس مستوى الكرياتنين
35	3-6-3 قياس مستوى حامض البوليك
35	7-3 الدراسات النسجية
36	1-7-3 الانكاز
36	2-7-3 الترويق
36	3-7-3 الارتشاح
36	4-7-3 الطمر
36	5-7-3 التشذيب و التقطيع
37	6-7-3 التلوين
38	7-7-3 التحميل
38	8-3 فحص وتصوير المقاطع النسجية
38	9-3 القياسات البايومترية
39	10-3 التحليل الاحصائي
	الفصل الرابع: النتائج
40	4- النتائج
40	1-4 التغيرات في مظهر وسلوك الفئران
40	2-4 تغيرات المظهر الخارجي للكلى
42	3-4 التغيرات الوزنية

42	1-3-4 أوزان اجسام الحيوانات
43	4-3-2 أوزان وابعاد الكلى
44	4-4 الدراسة الوظيفية
44	1-4-4 تركيز البولينا
45	2-4-4 تركيز الكرياتين
46	3-4-4 تركيز حامض البوليك
46	5-4 التغيرات البايومترية النسجية
46	1-5-4 أقطار الكبيبات
47	2-5-4 اقطار الجسيمات الكلوية ومسافة فسحة محفظة بومان
48	3-5-4 أقطار النبيبات الملفوفة الدانية والقاصية
49	6-4 التغيرات النسجية
49	1-6-4 تركيب الكلى النسجي في مجموعة السيطرة
53	2-6-4 مجموعة الحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من ZnO NPs
الفصل الخامس	
64	5- المناقشة
64	5-1 التغيرات في مظهر وسلوك واوزان الفئران
65	5-2 التغيرات الوظيفية في الكلى
66	5-3 التغيرات البايومترية النسجية
66	5-3-1 اقطار الكبيبات والجسيمات الكلوية
67	5-3-2 اقطار النبيبات الملفوفة الدانية والقاصية الكلوية
68	5-3-3 فسحة محفظة بومان
68	5-4 التغيرات النسجية في الكلى
73	الاستنتاجات والتوصيات
75	المصادر
A-C	Summary

قائمة الجداول

رقم الصفحة	العنوان	رقم الجدول
26	أنواع الاجهزة المستعملة في الدراسة الحالية والشركة المصنعة لها ومنشأها	(1-3)
27	الادوات المستعملة والشركة المجهزة لها ومنشأها	(2-3)
28	اسماء المواد الكيميائية والملونات المستعملة خلال هذه الدراسة	(3-3)
43	يوضح التغيرات في اوزان اجسام جميع حيوانات التجربة قبل وبعد الحقن	(1-4)
43	يوضح اوزان كلى حيوانات السيطرة والحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من ZnO NPs وللمدتين سبعة و 14 يوماً.	(2-4)
44	يوضح ابعاد الكلى (الطول-العرض-الارتفاع) في جميع حيوانات التجربة	(3-4)
45	يوضح التغيرات في نسبة تركيز البولينا بين حيوانات السيطرة وبين الحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من ZnO NPs وللمدتين سبعة و 14 يوماً.	(4-4)
45	يوضح التغيرات في نسبة تركيز الكرياتينين بين حيوانات السيطرة وبين الحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من ZnO NPs وللمدتين سبعة و 14 يوماً .	(5-4)
46	يوضح نسبة تركيز حامض البوليك في حيوانات السيطرة والحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من ZnO NPs وللمدتين سبعة و 14 يوماً.	(6-4)
47	يوضح معدل أقطار الكبيبات في كلى حيوانات السيطرة وكلى الفئران المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من مادة ZnO NPs وللمدتين سبعة و 14 يوماً	(7-4)
48	يوضح اقطار الجسيمات الكلوية ومسافات فسح محفظة بومان لجميع حيوانات التجربة	(8-4)
49	يوضح اقطار النبيبات الدانية والقاصية للفئران المحقونة بـ 150 ملغم/كغم من مادة ZnO NPs ومجاميع السيطرة وللمدتين 7 و 14 يوماً.	(9-4)

قائمة الاشكال

رقم الصفحة	العنوان	رقم الشكل
7	تصنيف المواد النانوية حسب الابعاد	(1-2)
9	تصنيف الدقائق النانوية حسب الارتفاع	(2-2)
10	يوضح مسارات تحضير الدقائق النانوية	(2-2)
30	النقاوة والشوائب في ZnO NPs باستعمال جهاز EDS	(1-3)
31	اشكال واحجام ZnO NPs باستعمال جهاز TEM	(2-3)
41	المظهر الخارجي لكلى الفئران البيض في حيوانات السيطرة	(1-4)
41	المظهر الخارجي لكلى الفئران البيض في الحيوانات المحقونة بـ 150ملغم/كغم من مادة ZnO NPs ولمدة سبعة أيام .	(2-4)
42	المظهر الخارجي لكلى الفئران في الحيوانات المحقونة بـ 150ملغم/كغم من مادة ZnO NPs ولمدة 14 يوماً .	(3-4)
51	مقطع مستعرض من كلى حيوانات السيطرة يوضح التركيب النسيجي الطبيعي لكلى والمتمثل بالمحفظة والقشرة واللبن	(4-4)
51	مقطع مستعرض في كلى حيوانات السيطرة يوضح مكونات الجسيمة الكلوية .	(5-4)
52	مقطع مستعرض في كلى حيوانات السيطرة يوضح الشكل الطبيعي للكبيبة والنبيبات الملفوفة الدانية والقاصية .	(6-4)
52	مقطع مستعرض في كلى حيوانات السيطرة يوضح فيه منطقة اللب ووجود عروة هنلي والنبيبات الجامعة .	(7-4)
54	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة سبعة أيام تظهر فيه الاحتقان الدموي للأوعية الدموية في منطقة القشرة.	(8-4)
54	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة سبعة أيام تظهر فيه احتقان الاوعية الدموية بين النبيبات الكلوية وارتشاح الخلايا الالتهابية في منطقة القشرة .	(9-4)

55	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة سبعة أيام تظهر فيه منطقة القشرة وفيها الاحتقان الدموي داخل الكبيبة وتورم الخلايا وتغلظ انوية بعض خلايا النبيبات .	(10-4)
55	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة سبعة أيام تظهر فيه ضمور وتنخر بعض انوية الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية	(11-4)
56	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة سبعة أيام تظهر فيه انفصال الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات عن الغشاء القاعدي وتكون قوالب الكالسيوم داخل النبيبات الكلوية.	(12-4)
56	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة سبعة أيام تظهر فيه وتوسع فسحة محافظة بومان في منطقة القشرة.	(13-4)
57	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم /كغم من ZnO NPs ولمدة سبعة أيام تظهر فيه انكماش الكبيبة الكلوية في منطقة القشرة .	(14-4)
57	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة سبعة أيام تظهر فيه تحطم الكبيبة الكلوية في منطقة القشرة .	(15-4)
58	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة سبعة أيام تظهر فيه فقدان كامل للكبيبة الكلوية في منطقة القشرة .	(16-4)
58	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة سبعة أيام تظهر فيه الاحتقان الدموي في منطقة اللب .	(17-4)
59	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة الاحتقان الدموي بين النبيبات الكلوية وتورم الخلايا في منطقة القشرة .	(18-4)

59	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة تكون قطع الكالسيوم داخل النبيبات في منطقة القشرة.	(19-4)
60	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة 14 يوماً تظهر فيه تنكس الكبيبة الكلوية وتضرر محفظة بومان وتورم الخلايا في منطقة القشرة .	(20-4)
60	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة اعداد انكماش الكبيبات الكلوية في منطقة القشرة .	(21-4)
61	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150 ملغم /كغم من ZnO NPs ولمدة 14 يوماً وجود زيادة ارتشاح الخلايا الالتهابية في منطقة القشرة.	(22-4)
61	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة 14 يوماً تظهر فيه شكل قوالب الكالسيوم داخل النبيبات في منطقة القشرة .	(23-4)
62	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة تغلظ انوية بعض الخلايا وتفجى سايتوبلازم الخلايا في منطقة القشرة .	(24-4)
62	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة 14 يوماً تظهر فيه تحطم وتضرر الكبيبة الكلوية ومحفظة بومان في منطقة القشرة .	(25-4)
63	مقطع مستعرض في كلى الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من ZnO NPs ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة تكون قوالب الكالسيوم داخل النبيبات في منطقة اللب.	(26-4)

قائمة المصطلحات

المصطلح باللغة الانكليزية	الكلمة بالعربي
Acidophilic materials	مواد ذات الة حامضية
Acute hepatotoxicity	تسمم كبدي حاد
Aggregation	تجمع
Anemia	فقر الدم
Antigen	مستضد
Apoptosis	موت خلوي مبرمج (الذوي)
Argyria	تفضض
Aspect ratio	نسبة ارتفاع المظهر
Atrophy	ضمور
Basement membrane	غشاء قاعدي
Bowman's capsule	محفظة بومان
Bowman's space	فسحة بومان
Brush border	حافة فرشائية
Calcium casts	قوالب الكالسيوم
Capillaries necrosis	تنخر الشعيرات الدموية
Capsule	محفظة
Cell swelling	تورم الخلية
Cervical Dislocation	خلع عنقي
Chaperon	مسح البروتينات
Chemical bath deposition method	طريقة الترسيب بالحمام الكيميائي
Chips	رقائق

Cluster forms	أشكال عنقودية
Collecting duct	قناة جامعة
Collecting tubule	نبيب جامع
Complete loss of glomeruli	فقدان تام للكبيبات
Complete sloughing	انفصال تام
Concentration	تركيز
Congestion	احتقان
Convexity back	تحدب الظهر
Corpus luteum	جسم اصفر
Cortex	قشرة
Creatinine	كرياتنين
Damage	تضرر
Degeneration	تنكس
Dehydration	انكاز
Diffusion	انتشار
Distal convoluted tubule	نبيب ملتوي قاصي
Electricity deposition method	طريقة الترسيب الكهربائي
Embedding	طمر
Expansion	توسع
Fat	دهن
Fatigue	تعب
Fibrin deposition	ترسب الليفين
Fibrosis	تليف

Flattens	مسطحة
Follicle Stimulating Hormone	هرمون محفز للجريبات
Fullerenes	دقائق نانوية عضوية
Glomeruli	كبيبة
Glucose	كلوكوز
Glutathione	انزيم الكلوتاثيون
Gout	داء النقرس
Graafian follicles	حويصلات كراف
Hemorrhage	نزف دموي
High Density Lipoprotein	مستوى البروتين الدهني عالي الكثافة
Hippocampal cells	خلايا قرن أمون
Hydropic degeneration	تنكس استسقائي
Hyperpigmentation	فرط التصبغ
Hyperuricemia	زيادة حامض البوليك بالدم
Infiltration	ارتشاح
Injection route	مسلك الحقن
Intraperitoneal	داخل تجويف البريتون
Introversion	انطواء (انقلاب داخلي)
Keratinocytes	خلايا قرنية
Kupffer cells	خلايا كوبفر
Lethargy	خمول
Lipid peroxidation	بيروكسدة الدهون
Loss of appetite	فقدان الشهية

Low Density Lipoprotein	بروتين دهني واطئ الكثافة
Luteinizing Hormone	هرمون لوتيني
Medulla	لب
Method of gas condensation	طريقة التكثيف الغازي
Mitochondria	مقدرات
Multi walled carbon nanotubes	انابيب كربونية متعددة الجدار
Nano	صغير جدا
Nano layers	طبقات نانوية
Nano nets	شبهكات نانوية
Nano structures	التركيب النانوية
Nanocubes	المكعبات النانوي
Nanofilaments	الخيوط النانوية
Nanometer	نانومتر
Nanoparticles	الدقائق النانوية
Organic Nanoparticles	الدقائق النانوية العضوية
Inorganic Nanoparticles	الدقائق النانوية غير العضوية
Nanopyramids	الاهرامات النانوي
Nanorods	القضبان النانوية
Nanosciences	العلوم النانوية
Nanospherical	الكروي النانوي
Nanotechnology	التقنية النانوية
Nanotoxicity	السمية النانوية
Nanotubes	الانابيب النانوية

Nanowires	الاسلاك النانوية
Necrosis	التنخر
Tumor Necrosis Factor	عامل التنخر الورمي
One Dimension Materials	مواد أحادية الأبعاد
Oral route	المسلك الفموي
Oxidative stress	الاجهاد التأكسدي
Zinc oxide nanoparticle	دقائق أكسيد الزنك النانوي
Parietal Layer	الطبقة الجدارية
Proximal convoluted tubule	نبيب كلوي داني
Purity	النقاوة
Pyknotic	تغاظ
Quantities points	النقاط الكمية
Reactive oxygen species	انواع الأوكسجين التفاعلي
Renal corpuscle	الجسيمة الكلوية
Respiratory route	المسلك التنفسي
Sectioning	تقطيع
Seminiferous tubular degeneration	تنكس النبيبات المنوية
Shrinkage	انكماش
Simple squamous epithelial cell	خلايا ظهارية حشفية بسيطة
Single walled carbon nanotube	الانابيب الكربونية أحادية الجدار
Skinny route	المسلك الجلدي
Sloughing	انفصال
Sodium chloride	ملح كلوريد الصوديوم

Sol - gel method	طريقة (المحلول- الهلام)
Solar cells	خلايا الطاقة الشمسية
Solution jellification	المحلول الهلامي
Spherical	كروية
Sphericity	المتكورة
Surface Charge	شحنة السطح
Testosterone	هرمون الشحمون الخصوي
Thin films	الافلام الرقيقة
Three Dimension Materials	المواد ثلاثية الأبعاد
Total Cholesterol	مستوى الكولسترول الكلي
Transistor	الترانزستور
Triglycerides	الدهون الثلاثية
Trimming	تشذيب
Two Dimensions Materials	المواد ثنائية الأبعاد
Urea	بولينا
Uric acid	حامض البوليك
Vacuolation	تفجي
Very Low Density Lipoprotein	البروتين الدهني واطئ الكثافة جدا
Visceral layer	الطبقة الاحشائية
Zero Dimensions Materials	مواد صفرية الأبعاد

قائمة المختصرات

المختصر	الكلمة
Ag NPs	Silver nanoparticles
ALP	Alkaline phosphatase
ALT	Alanine Transaminase
AST	Aspartate Transaminase
CAT	Catalase
CuO NPs	Copper Oxide Nanoparticles
DNA	Deoxyribonucleic acid
EDS	Energy Dispersive X-ray Spectroscopy
FSH	Follicle Stimulating Hormone
G NPs	Gold nanoparticle
GPX	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione
HDL	High Density Lipoprotein
IFN- γ	Interferon- γ
IL-6	Interleukin-6
IP	Intraperitoneal
LC ₅₀	Lethal Concentration 50
LD ₅₀	Lethal Dose 50
LDH	Lactate dehydrogenase
LDL	Low Density Lipoprotein
LH	Luteinizing Hormone

nm	Nanometer
ROS	Reactive oxygen species
SOD	Superoxide dismutase
TEM	Transmission Electron Microscopy
TNF	Tumor Necrosis Factor
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
ZnO NPs	Zinc oxide Nanoparticles

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1 - المقدمة Introduction

تعرف الدقائق النانوية (NP) Nanoparticles بأنها دقائق منفردة صغيرة جدا من بعض المواد التي يمكن انتاجها صناعيا بحيث تكون ابعادها بين 1-100 نانومتر، ولصغر حجمها بالمقارنة مع بعض المواد التي تزيد أبعادها عن 100 نانومتر ومع مساحة سطحها الكبيرة بالنسبة الى حجمها تظهر درجات مختلفة من التأثيرات الحيوية والتفاعلات الكيميائية وصفات شديدة التمييز لا تتواجد مجتمعة في المواد الاخرى، وبسبب صغر حجمها يمكن ان تدخل بسهولة الى داخل خلايا الكائنات الحية (Chen *et al.*, 2006; Silva, 2003) ، ونظراً لخصائصها الفريدة تستخدم بشكل متزايد في تطبيقات مختلفة مثل الادوية و الهندسة الحيوية والصناعات المختلفة (Abhilash,2010) .

تعد السمية النانوية Nanotoxicity مفهوم جديد نسبيا للعلم وأن المعرفة الحالية لسمية الدقائق النانوية قد لا تكون كافية لمعرفة تأثيراتها في الكائنات الحية، فإن الدراسة المستمرة والموسعة للسمية النانوية ستكون ضرورية بالنسبة لعلم التقانة النانوية Nanotechnology ذات المخاطر الصحية ، ويمكن الحد من التعرض البشري للدقائق النانوية السامة من خلال تحديد مسارات التعرض للسموم النانوية (Buzea *et al.*, 2007).

نظرا للاستعمالات الواسعة لدقائق اوكسيد الزنك النانوي في مختلف المجالات الطبية والصناعية والهندسية والغذائية و مع التطور الكبير في استعمالات التكنولوجيا والمواد الصناعية وعند إجراء الدراسات أثبتت وجود تأثيرات سامة للدقائق النانوية في مختلف الكائنات الحية .

تعرف دقائق اوكسيد الزنك النانوي بانها مركبات لا عضوية وهي على شكل مسحوق أبيض تقريبا غير ذائب في الماء، وان هذه الدقائق لها أهمية كبيرة في تطبيقات مختلفة منها ما يستعمل في الطب كمضاد بكتيري ومضاد للفطريات ومستحضرات التجميل والتشخيص الطبي وفي

اعداد المستحضرات المضادة لأشعة الشمس وتوصيل الدواء الى الاعضاء المستهدفة (Mirzaeia and Darroudic, 2017; Smijs and Pavel , 2011).

تعد الكلى احد أعضاء الاخراج في الجسم فضلا عن تنظيم التوازن المائي وان بعض النواتج الايضية التي تنتج خارج الكلى تزودنا بمعلومات عن صحة الكلى، وان البولينا Urea والكرياتين Creatinine هما نواتج الفضلات الايضية التي تفرز خارج الكلى والعلامات التي تشير الى وجود او عدم وجود أضرار في الكلى (Ene-Ojo *et al.*, 2013)، وان حامض البوليك Uric acid هو المنتج النهائي لعملية الايض في الانسان، وهو حامض عضوي ضعيف وزيادته في مصل الدم Hyperuricemia يسبب بعض الامراض من خلال تشكيل بلورات بولية تسبب داء النقرس Gout ويزداد حامض البوليك في العديد من الامراض مثل الفشل الكلوي وتصلب الشرايين وفرط الصوديوم ومرض السكري (So and Thorens, 2010).

الهدف من الدراسة

ان الهدف من هذه الدراسة هو معرفة تأثيرات دقائق اوكسيد الزنك النانوي في التركيب المظهري والنسجي والوظيفي لكلى ذكور الفئران البيض ، وذلك لأهمية هذا العضو في قيامه بوظائف عديدة منها تنقية الدم والتخلص المواد السامة والمحافظة على التوازن الداخلي وغيرها من الوظائف.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature

review

2- استعراض المراجع Literature Review

2 - 1 الدقائق النانوية Nanoparticles

2-1-1 تعريف الدقائق النانوية ودقائق اوكسيد الزنك النانوي

Definition of Nanoparticles and ZnO NPs

عرفت الدقائق النانوية بأنها دقائق منفردة صغيرة من بعض المواد والتي يمكن انتاجها صناعيا بحيث تتراوح مقاييس أحد أبعادها في نطاق واحد من المليار من المتر (10^{-9}), وتتراوح ابعادها بين 1-100 نانومتر، ولصغر حجمها بالمقارنة مع بعض المواد التي تزيد أبعادها عن 100 نانومتر ومع مساحة سطحها الكبيرة بالنسبة الى حجمها تظهر درجات مختلفة من التأثيرات الحيوية والتفاعلات الكيميائية وصفات شديدة التمييز لا تتواجد مجتمعة في المواد الاخرى، والدقائق النانوية لها خواص ميكانيكية وكيميائية ومادية وكهربائية ومغناطيسية بسبب صغر حجمها اذ تستطيع ان تدخل بسهولة الى داخل الخلية (Chen et al., 2006; Silva, 2003).

تعرف دقائق اوكسيد الزنك النانوي بانها مركبات لا عضوية تظهر بشكل مسحوق أبيض اللون، غير ذائبة في الماء تقريبا، وهي تصنف من ضمن المواد شبه الموصلة، وان هذه الدقائق لها أهمية كبيرة في التطبيقات المختلفة منها ما يستعمل في الطب كمضاد بكتيري ومضاد للفطريات وتستعمل في التطبيقات الكيميائية كمحفز وفي الخلايا الشمسية، وقد وجد أن دقائق اوكسيد الزنك النانوي له خصائص واقية من الأشعة فوق البنفسجية، وهذا يمثل أحد الأسباب في استعمالها لأعداد المستحضرات المضادة لأشعة الشمس (Mirzaeia and Darroudic, 2017; Smijs and Pavel, 2011).

2-1-2 النانو والنانومتر Nano and nanometer

تعني كلمة نانو Nano قزم في اللغة الاغريقية أو الشيء الصغير جداً، وعلميا النانومتر Nanometer هي وحدة قياس تساوي جزء واحد من المليار من المتر (10^{-9}) ويرمز له بـ (nm) ،

والنانومتر يستعمل كوحدة لقياس أطوال العديد من الكائنات والأشياء الصغيرة جدا التي لا ترى أبعادها بالعين المجردة الا تحت المجهر الالكتروني، وتستعمل هذه الوحدة لقياس أبعاد أقطار دقائق المواد المختلفة والمتمثلة بالكائنات المجهرية مثل الفيروسات والبكتريا ولقياس ذرات وجزيئات المواد المختلفة، على سبيل المثال ان قياس طول بكتريا الكوليرا يبلغ واحد مايكرومتر وهو ما يعادل 1000 نانومتر، انتشرت كلمة النانو في العديد من المصطلحات مثل العلوم النانوية Nanosciences والتقنية النانوية Nanotechnology والتراكيب النانوية Nanostructures والانابيب النانوية Nanotubes (Buzea et al., 2007 ; أحميدة وآخرون، 2017).

2-1-3 علم التقانة النانوية Nanotechnology

تقنية النانو هي مجال متطور وواسع قائم على دراسة علم النانو والعلوم الأساسية المرتبطة بهذا العلم وتتطوي هذه التقنية على تصنيع العديد من التركيبات والانظمة والاجهزة المتكونة من وحدات متناهية الصغر مع توفر القدرات التكنولوجية في انتاج الدقائق النانوية والتحكم في البنية الداخلية لها بواسطة اعادة ترتيب الجزيئات والذرات المكونة للدقائق لغرض الحصول على منتجات خاصة ومفيدة توظف في التطبيقات العلمية المختلفة، ان تطبيقات المواد النانوية وخصائصها التي تعمل لحل مشكلة ما أو تقدم خدمة لغرض ما تسمى بعلم التقانة النانوية Nanotechnology، بمعنى آخر إن تقنية النانو تعني الفهم والتحكم في المواد التي تتراوح أبعادها من 1-100 نانومتر اذ يمكن الاستفادة من الخواص الهامة التي تكتسبها المادة عندما تصل إلى هذا البعد النانوي في فتح الأبواب لتطبيقات عديدة لاستعمال هذه المواد النانوية (Pokropivny et al., 2007 ; Ansari et al., 2014 ; أحميدة وآخرون، 2017).

2-1-4 تطبيقات الدقائق النانوية Nanoparticles Applications

اصبح علم النانو وعلم التقانة النانوية Nanotechnology مفتاح التكنولوجيا بعد اكتشاف الفلورينات Fullerenes (دقائق نانوية عضوية) والانابيب النانوية الكربونية Nanotubes التي تطبق

في المواد متناهية الصغر و في تقنية النانو الحيوية والادوية النانوية والهندسة الكهربائية وعلوم المواد والكيمياء والفيزياء وتصوير الخلايا السرطانية وتوصيل الدواء ومستحضرات التجميل و تستعمل في صناعة بعض الاجهزة الحيوية والطبية لتشخيص بعض الامراض وعلاجها وطرائق الوقاية منها (Ansari *et al.*, 2014 ; Pokropivny *et al.*, 2007) .

يعدّ الطب النانوي من الاساليب العلاجية الحديثة، من خلال استعمال الأجهزة النانوية، وقد وفرت التطورات الاخيرة في تقنية النانو في مجال تجديد الانسجة حلاً مبتكرة لعلاج أمراض الكلى (Kamaly *et al.*, 2016) ، واستعملت المواد النانوية لتوصيل الدواء الى الاعضاء المستهدفة لاسيما الاعضاء العصبية بشكل خاص للتفاعل مع الخلايا وانسجتها على المستوى الجزيئي (Silva, 2003)، ومن التطبيقات الطبية الاخرى استعمال ذرات الذهب في اكتشاف وقتل الخلايا السرطانية التي تبقى عادةً بعد العملية الجراحية لاستئصال الورم (Abhilash, 2010).

أما دقائق اوكسيد الزنك النانوي فتستعمل في العديد من المنتجات التجارية مثل المطاط والدهانات والمعادن وتغليف المواد الغذائية والتصوير ومرشحات الامواج وأجهزة الكشف عن الاشعة فوق البنفسجية والخلايا الشمسية وواقيات الشمس ومضافات الطعام وفي الطب والمواد الالكترونية وأجهزة الاستشعار وتوصيل الادوية الى الاعضاء المستهدفة ومستحضرات التجميل والتدمير الانتقائي للخلايا السرطانية والورمية (Sharma *et al.*, 2012 ; Rasmussen *et al.*, 2010).

تعد دقائق اوكسيد الزنك النانوي من الدقائق النانوية ذات اهتمام خاص في الطب النانوي Nanomedicine وقد ذكرت دراسات مختلفة ان هذه الدقائق تستعمل في علاج السرطان بسبب سمومها الانتقائية والسمية الناتجة من تحريض هذه الدقائق النانوية لموت الخلايا المبرمج Apoptosis وانواع الاوكسجين التفاعلية (Premanathan *et al.*, 2011 ; Hanley *et al.*, 2008) ، في حين اشار الباحث Yu *et al.* (2017) الى ان دقائق اوكسيد الزنك النانوي تعمل على حث انتقائية موت الخلايا

المبرمج للخلايا الورمية في الزجاج *In vitro* فضلاً عن قدرتها في منع تقدم سرطان الجلد اذ تمنع نمو الورم السرطاني من خلال استهداف الميتوكوندريا Mitochondria مع قلة سمية هذه الدقائق في كبد وكلى الفئران. في المقابل ان دقائق اوكسيد الزنك النانوي لديها القدرة في الحد من قابلية بعض الخلايا المناعية في الفئران، بما في ذلك البلاعم وحث سريع للتكاثر النوي وتجزئة الحامض النووي وتنخر وموت الخلايا المبرمج (Wilhelmi *et al.*, 2013)، تستعمل دقائق اوكسيد الزنك النانوي في اغلب التطبيقات الطبية والحيوية مثل مضادات الفطريات والميكروبات والسرطان وغيرها (Mirzaeia and Darroudic, 2017). وأكد الباحث (Yang *et al.* (2012) قدرة دقائق اوكسيد الزنك النانوي على الكشف عن الخلايا السرطانية من خلال انبعاث اللون البنفسجي من الخلايا السرطانية.

2-2 تصنيف الدقائق النانوية Classification of Nanoparticles

توجد تصنيفات متعددة للدقائق النانوية منها:

1-2-2 التصنيف حسب الأبعاد Classification According to Dimensions

تم تصنيف الدقائق النانوية تبعاً لعدد أبعادها على أربعة أقسام (شكل 1-2)

(Alagarasi, 2011; Pokropivny *et al.*, 2007;Hett, 2004) وهي كالآتي:

أ- مواد صفرية الأبعاد Zero Dimensions Materials

هي المواد التي لا تمتلك أبعاد في اتجاهاتها الثلاث في المقاييس النانوية وهي ذات أشكال عنقودية Cluster forms او كروية Spherical مثل النقاط الكمية Quantities points التي دخلت مؤخراً في صناعة الترانزستور Transistor وخلايا الطاقة الشمسية Solar cells.

ب- المواد أحادية الأبعاد One Dimensions Materials

هي المواد التي تحتوي على بعد نانوي واحد فقط وتكون أقل من 100 نانومتر من أمثلتها الأسلاك النانوية Nanowires والقضبان النانوية Nanorods التي تستعمل في تغليف المنتجات الغذائية لغرض

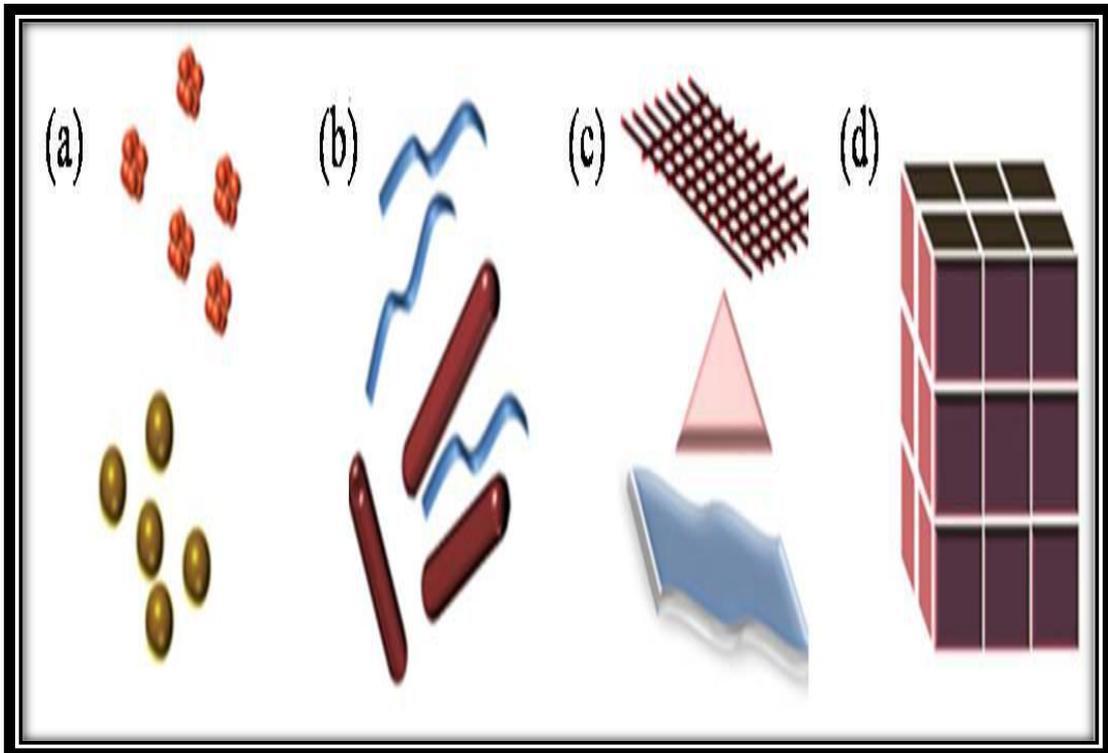
وقايتها من التلف والتلوث والخيوط النانوية Nanofilaments والرقائق Chips التي تستعمل في اعمال طلاء اسطح بعض المواد Surface Nano coating، وتدخل بعض هذه المواد في صناعة الإلكترونيات وصناعة الخلايا الشمسية.

ج- المواد ثنائية الأبعاد Two Dimensions Materials

هي المواد التي يكون فيها بُعدين من أبعادها ضمن المجال النانوي الاقل من 100 نانومتر مثل الطبقات النانوية Nanolayers التي تدخل في صناعة الحاويات النانوية والمستشعرات، ومن النماذج المهمة لهذه المواد هي الشبكات النانوية Nanonets والانايبب النانوية Nanotubes ومنها انايبب الكربون النانوية التي تمتلك قدرة فائقة على التوصيل الكهربائي والحراري فضلا عن الخواص الكيميائية .

هـ - المواد ثلاثية الأبعاد Three Dimensions Materials

هي المواد التي تكون ثلاثة من أبعادها أقل من 100 نانومتر وتستعمل في الالكترونيات وهذه المواد لديها إما تركيب نانوي بلوري أو غرواني أو أشكال أخرى من الدقائق النانوية، ومن الامثلة لهذه المواد الحبيبات النانوية ومواد السيراميك فائقة النعومة و مساحيق أكاسيد الفلزات .



شكل (2-1): تصنيف المواد النانوية حسب الابعاد (a) صفرية الابعاد (b) احادية الابعاد (c) ثنائية الابعاد (d) ثلاثية الابعاد (Alagarasi , 2011) .

2-2-2 التصنيف حسب التركيب الكيميائي للمواد النانوية**Classification According to Chemical Composition of Nanomaterial**

صنفت المواد النانوية حسب التركيب الكيميائي للمواد الداخلة بتركيبها من قبل (Buzea *et al.*, 2007) وهي كالاتي:

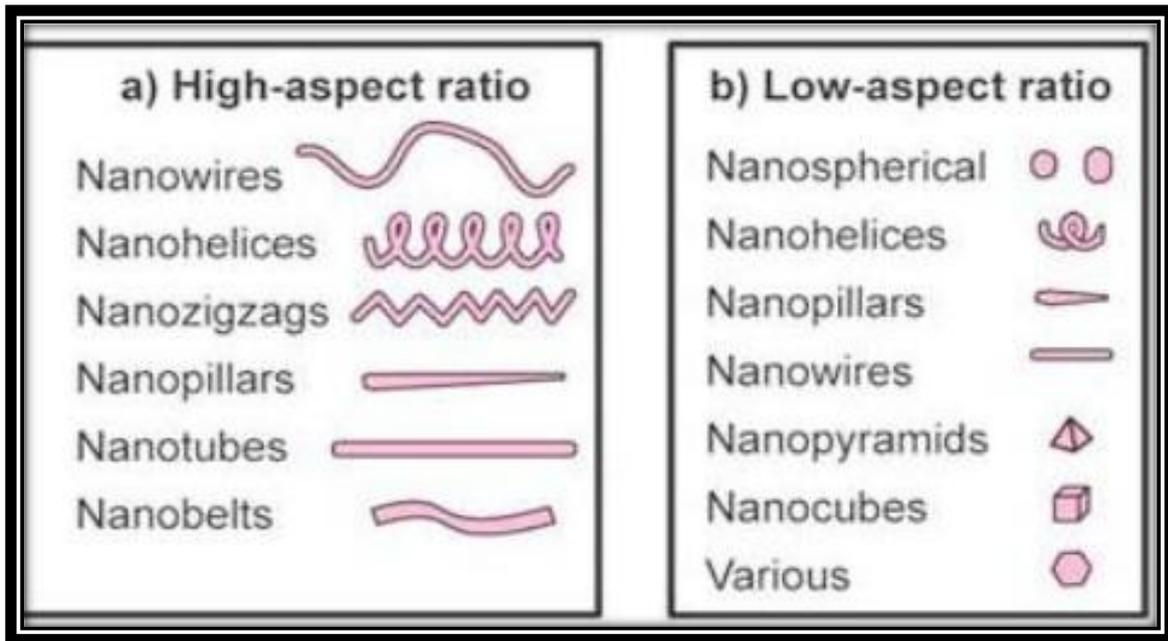
أ-المواد المتكونة من الكربون وتسمى بالدقائق النانوية العضوية Organic nanoparticles مثل الانابيب الكربونية أحادية الجدار Single walled carbon nanotube، الانابيب الكربونية متعددة الجدار Multi walled carbon nanotube والفلورينات Fullerenes .

ب- المواد التي اساسها المعدن وتسمى بالدقائق النانوية غير العضوية Nonorganic nanoparticles مثل المعادن (Cu, Zn, Ag, Ti) واكاسيدها مثل (TiO₂, ZnO, CuO)

ج-النقاط الكمية Quantum dots وهي بلورات نانوية غروية شبه موصلة تحتوي على اكثر من ماده كيميائية واحده.

2-2-3 التصنيف حسب الخصائص المظهرية**Classification According To Morphological properties**

صنفت الدقائق النانوية على اساس الخصائص المظهرية الى المسطحة Flattens والكروية Spherical او على اساس نسبة الارتفاع Aspect ratio والتي شملت عالية الارتفاع High-aspect ratio والمتمثلة بالانابيب النانوية Nanotubes والاسلاك النانوية Nanowires والمتعرجة Nanozigzags وما بين منخفضة الارتفاع Low-aspect ratio والمتمثلة بالشكل المكعبي Nanocubes والكروي Nanospherical والهرمي Nanopyramids وغيرها وكما موضح في (الشكل 2-2) (Buzea *et al.*, 2007).



شكل (2-2): يمثل تصنيف الدقائق النانوية حسب الارتفاع a- الدقائق عالية الارتفاع، b- الدقائق منخفضة الارتفاع (Buzea et al., 2007).

3-2 مسارات تحضير الدقائق النانوية

Preparation of Nanoparticles Pathways

بصورة عامة يمكن تحضير المواد النانوية من خلال احد المسارين الآتيين (شكل 2-3)

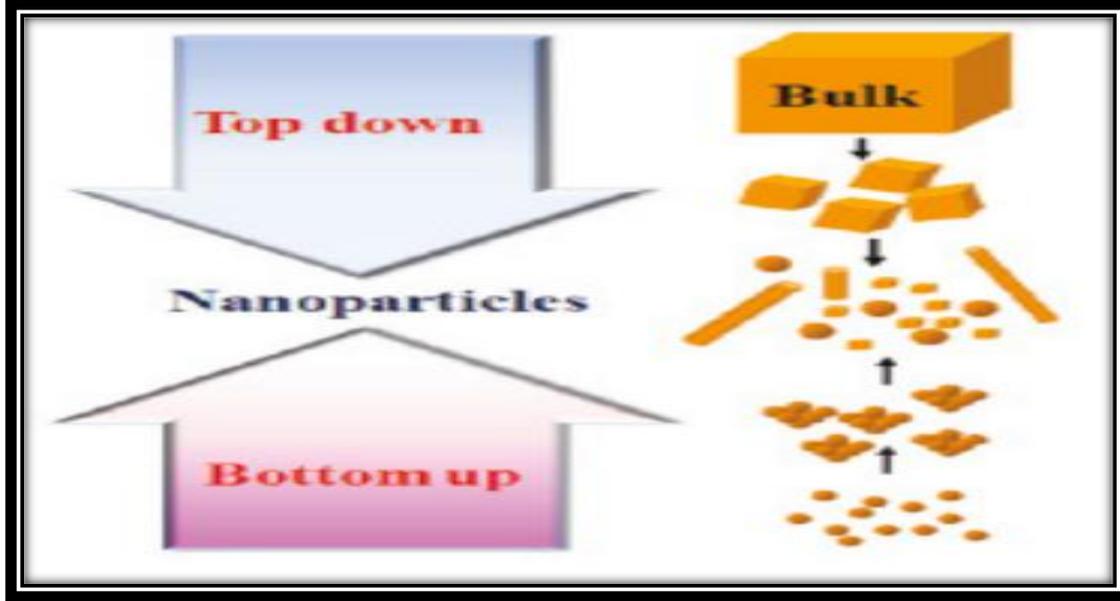
:(Alagarasi , 2011)

3-2-1 المسار الاول . (الاعلى - الادنى):

يكون هذا المسار من الاعلى الى الاسفل اذ ان المادة تصغر شيئاً فشيئاً حتى تصل الى حجم المقياس النانوي اذ يتم تكسير المواد ذات الجزيئات الكبيرة وتحويلها الى جزيئات ببعده نانوي وتشبه هذه الطريقة عملية النحت اذ تبدأ بمادة كبيرة حتى تصل الى الحجم المطلوب ويتم استعمال عمليات فيزيائية في هذه الطريقة مثل الطحن والبرد او باستعمال وسائل كيميائية مختلفة .

2-3-2 المسار الثاني . (الادنى - الاعلى):

يكون مساره من الادنى الى الاعلى أي تبدأ من مستوى الذرات اذ يمكن الحصول على حجم واحد نانومتر ويتم بناء المواد النانوية انطلاقاً من ذرات وجزيئات اذ تترتب مع بعضها البعض حتى تصل الى الحجم والشكل النانوي المطلوب .



شكل (2-3): يوضح مسارات تحضير الدقائق النانوية (Alagarasi , 2011).

وهناك طرائق اخرى تحضر فيها الدقائق النانوية ومنها دقائق اوكسيد الزنك النانوي وهي كالاتي:

أ - طريقة المحلول - الهلام Sol - Gel Method

ان طريقة المحلول الهلام Solution jellification هي طريقة لإنتاج مواد صلبة من جزيئات صغيرة ، وتستعمل هذه الطريقة لتصنيع أكاسيد المعادن، وتتميز هذه الطريقة بكونها تحتاج الى درجات حرارة واطئة وتكون سريعة وسهلة من حيث الاجهزة وتتكون من تفكيك وتكثيف للطبقات النانوية (Zargar and Arora, 2017).

ب - طريقة التكثيف الغازي Method of Gas Condensation

يتم في هذه التقنية تبخير المواد المعدنية أو غير العضوية المراد تحضيرها نانويًا تحت الفراغ وادخال غاز حامل باستعمال مصادر التبخر الحراري مثل البودقة الحرارية الساخنة، وأجهزة التبخر

الاشعاعي، وان هذه الطريقة هي الشائعة لتكوين الدقائق النانوية في أشباه الموصلات مثل أكسيد الزنك (Fan and Lu (2005).

ج - طريقة الترسيب بالحمام الكيميائي Chemical Bath Deposition Method

يتم في هذه الطريقة تحضير مواد كيميائية على شكل محاليل بتركيز معينة وظروف حرارية محددة اذ تخلط هذه المواد وتوضع في وعاء زجاجي داخل حمام مائي الى درجة التفكك الحراري وبعد مرور مدة زمنية معينة تترسب الدقائق النانوية عند قعر الوعاء (منيف واخرون، 2013).

د - طريقة الترسيب الكهربائي Electricity Deposition Method

يتم تصنيع أسلاك الزنك ثم اكسدتها في 300 م° لمدة ساعتين وذلك للحصول على مجموعة أسلاك متناهية الصغر، ويمكن تحسين عملية المحلول- الهلام بوساطة طريقة التحضير الكهروكيميائية من أجل الحصول على انابيب نانوية مع قطر أصغر من 50 نانومتر (Li et al., 2000).

هـ - الطريقة البيولوجية Biological Method

وهي من الطرق الحديثة لتحضير دقائق اوكسيد الزنك النانوي كطرق خضراء من مختلف المصادر على سبيل المثال الكائنات الحية الدقيقة والإنزيمات والبكتيريا والمستخلصات النباتية (Mirzaeia and Darroudic, 2017).

2-4 خصائص الدقائق النانوية Nanoparticles properties

يتأثر الكائن الحي بالدقائق النانوية من خلال الخصائص الكيميائية والفيزيائية التي تمتلكها هذه الجزيئات فقد أوضح Handy et al., (2008) ان فعالية الدقائق النانوية تتأثر بحجم الجسيم والشحنة السطحية والشكل ووجود مواد اخرى في البيئة مثل الملوحة والرقم الهيدروجيني ووجود المادة العضوية بحيث تميل الدقائق النانوية الى التجميع في الماء العسر ومياه البحر وتتأثر ببعض المواد العضوية الموجودة في المياه العذبة ، ومن اهم هذه الخصائص ما يأتي :

2-4-1 الجرعة والتركيز Concentration and Dose

تُعرف الجرعة بأنها المقدار الذي سيصل الى الاجزاء الحيوية في الكائن الحي وتكون مرتبطة بتركيز المادة وطريقة ومدة التعرض (Oberdorster *et al.*, 2005). اظهرت دراسة الباحث Ben-Slama *et al.*, (2015) عند تجريع الجرذ بـ 10 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة خمسة أيام لم تحدث اختلافات كبيرة في الوظائف لكن وجد تغيرات طفيفة في تركيب نسيج الكبد والكلية وزيادة قليلة في انزيمات الكبد (AST) Alanine و Aspartate Aminotransferase و Creatinine (ALT) Aminotransferase، ولم تتأثر نسبة حامض البوليك Uric Acid والكرياتينين Creatinine والكلوكوز Glucose بهذه الجرعة، في حين اظهرت دراسة (Sharma *et al.* (2012) ان تجريع الفئران عن طريق الفم بتركيز 300 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً ادت الى حدوث تراكم كبير لهذه الدقائق في الكبد التي ادت الى ارتفاع مستوى انزيمات ALT و Alkaline Phosphatase (ALP) في مصل الدم وحث الاجهاد التأكسدي oxidative stress من خلال زيادة بيروكسدة الدهون lipid peroxidation وتضرر Deoxyribonucleic acid (DNA) في خلايا الكبد والكلية.

2-4-2 الحجم The Size

إن المفتاح لفهم سمية الدقائق النانوية هو حجمها الدقيق فهي أصغر من الخلايا والعضيات الخلوية ، والذي يسمح لها باختراق هذه التراكيب الحيوية والتأثير فيها، فعند استنشاق الدقائق النانوية فإنها تنتشر في جميع مناطق الجهاز التنفسي مسببة التهابات شديدة وبسبب حجمها الصغير جدا تدخل بسهولة الى الخلايا وتنتقل عبر الخلايا الظهارية والبطنانية للدم والدورة اللمفاوية للوصول الى مواقع مستهدفة مثل نخاع العظم والعقد اللمفاوية والطحال والكبد والكلية والقلب والاعصاب (Oberdorster *et al.*, 2005)، واثبتت دراسة (Khare *et al.* (2011) ان سمية الدقائق النانوية تزداد كلما صغر حجمها، وان حجم الدقائق النانوية له تأثير كبير في استهداف نوعية اعضاء الجسم وذلك حسب دراسة Ibrahim *et al.*

(2018) اذ بينت عند معاملة الجرد بدقائق الذهب النانوية بحجم خمسة نانومتر تستهدف الكبد اما الاحجام الاكبر 20 و 50 نانومتر فقد استهدفت الطحال، اما دراسة (Chithrani *et al.*, 2006) فقد بينت ان سرعة دخول الدقائق النانوية الى الخلايا تعتمد على الحجم بشكل كبير وان معدل سرعة دخول الدقائق النانوية للذهب الى الخلية وذات الاحجام 74,50,14 نانومتر هو 1.90 و 2.10 و 2.24 ساعة على التوالي.

3-4-2 شحنة السطح Surface Charge

يعود القلق الموجود من استعمال تقنية النانو لبعض خصائص الدقائق النانوية مثل السطح الفعال وكثافة الالكترن عليه والقابلية في عبور الغشاء الخلوي، وان هذه الدقائق تحتوي على نسبة عالية من الذرات على سطحها والتي تقود الى زيادة التفاعلات السطحية، على سبيل المثال تحتوي دقيقة بحجم 30 نانومتر على خمسة في المائة من ذراته على سطحه مقارنة بـ 50 في المائة من الذرات على سطح دقيقة بحجم ثلاثة نانومتر (Kafayati *et al.*, 2013; Shakibaie and Harati, 2004)، وان الدقائق النانوية ذات الشحنة الموجبة يكون امتصاصها بصورة اكبر من الدقائق النانوية ذات الشحنات السالبة او المتعادلة لكون الغشاء الخلوي سالب الشحنة فتكون النواة هي الهدف فيحدث التسمم للخلايا (Georgieva *et al.*, 2011).

4-4-2 الشكل Shape

يعد شكل الدقائق النانوية من الخصائص الفيزيائية والذي له دور مهم في تأثيرات هذه الدقائق في الخلايا في الكائنات الحية فقد اوضح (Chithrani *et al.*, 2006) ان الدقائق الكروية لها احتمال اكبر للدخول الى الخلية بالمقارنة مع الاشكال القضيبية الشكل.

Purity 5-4-2 نقاوة

تلعب نقاوة الدقائق النانوية دور كبيراً في التأثير على الكائنات الحية، وإن أغلب الدقائق النانوية تحتوي على بعض الشوائب التي قد تؤثر في نسبة نقاوة المادة، فعلى سبيل المثال عند معاملة بعض الخلايا العظمية للفئران وخلايا الغدة الكظرية للجرذ في الزجاج (*in vitro*) بمادة دقائق الفضة النانوية بنقاوة 99.5 في المائة وذات أحجام مختلفة 10 و 50 و 100 نانومتر وبتراكيز مختلفة 10 و 20 و 40 و 80 و 160 ملغم/مل وللمدد يوم ويومين وثلاثة أيام فإن هذه الدقائق قد وجدت في أنوية وهيولي خلايا الجرذ إذ أدت إلى توليد أنواع الأوكسجين التفاعلي (ROS) *Reactive oxygen species* وزيادة في مستوى انزيم Lactate dehydrogenase (LDH) وحدوث التنخر necrosis والموت الخلوي المبرمج Apoptosis (Kim *et al.*, 2012)، كما أشار Lee *et al.* (2013) أن معاملة الجرذ فمويًا بدقائق الفضة النانوية ذات النقاوة 99.98 في المائة وبحجم 10 و 25 نانومتر ولمدة 28 يوماً وبتراكيز 100 و 500 ملغم/كغم أدت إلى ارتشاح الخلايا الالتهابية ووجود قطيرات دهنية في أنسجة الكبد.

Magnetic Properties 6-4-2 الخصائص المغناطيسية

تعتمد الخصائص المغناطيسية للدقائق النانوية على الشكل والحجم إذ كلما صغر حجم الدقيقة النانوية ازداد وجود الذرات على السطح الخارجي وازدادت القوة والفعالية المغناطيسية لها وهذا ما ساعد في استعمال هذه الدقائق في التصوير بأجهزة الرنين المغناطيسي ومحركات السفن وصناعة أجهزة التحليل فائقة الدقة، وقد وجد بأنه يمكن التحكم بخصائص المواد النانوية و زيادة الكفاءة من خلال التحكم بالشحنة التي تؤثر على الاستقرار أو الشكل السطحي أو توزيع الدقائق النانوية الحيوي أو معدل قطر الجزيئة (Bhatia , 2016).

5-2 مصادر الدقائق النانوية Nanoparticles Sources

هناك مصادر عديدة للدقائق النانوية منها الطبيعية اذ تتواجد في الهواء والتربة والرسوبيات مثل المواد العضوية واكاسيد الحديد وغيرها من المعادن وهي تمثل دوراً مهماً في العمليات الكيميائية الحياتية (Klain *et al.*, 2008) اذ تتعرض الكائنات الحية الى الدقائق النانوية عن طريق العواصف الترابية والرماد البركاني والدخان الناتج من الاحتراق والعمليات الطبيعية الأخرى (Buzea *et al.*, 2007)، اما المصادر الصناعية فيتم تصنيع الدقائق النانوية واستعمالها في العديد من المنتجات وتنتشر في الهواء وفي السلسلة الغذائية وإمدادات المياه والتطبيقات الطبية (Handy and Shaw, 2007)، وان المواد النانوية المصنعة تدخل الى البيئة من خلال الانبعاثات الى الغلاف الجوي وتدفق النفايات الصلبة او السائلة او المرافق الانتاجية، فضلا عن دخول المواد النانوية في صناعة الأقمشة ومستحضرات التجميل وواقبات الشمس (Biswas and Wu, 2005)، ان التطور الأخير للصناعات المختلفة ووجود المحركات القائمة على الاحتراق وانبعاث الدخان قد زاد بشكل كبير من التلوث البيئي النانوي المنشأ (Buzea *et al.*, 2007).

2- 6 مسالك التعرض للدقائق النانوية Exposure Ways to Nanoparticles

تتعرض اجسام الكائنات الحية الى الدقائق النانوية بطرائق مختلفة منها الطعام والشراب أو الحقن أو الاستنشاق أو الجلد ، ثم تنتقل بعدها الى جهاز الدوران لتصل الى الأعضاء الهدف، وان لطريقة التعرض تأثيراً كبيراً في الكائنات الحية. ففي دراسة (Choi *et al.* (2015) وجد ان حقن الجرذ من خلال الوريد بتركيز 30 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي لمدة سبعة أيام ادت الى تراكم المادة في الكبد والكلى والرئة والطحال بعد اليوم الاول من الحقن وانخفض مستوى التراكم ليصل الى المستوى الطبيعي بعد اليوم السابع من الحقن فضلا عن زيادة الاشكال الانقسامية لخلايا الكبد مع ظهور صبغات بنية غامقة في رئات الحيوانات المحقونة ، اما عند اعطاء المادة عن طريق الفم بالتركيز نفسه والمدة

نفسها فلم تظهر تغيرات في تراكم دقائق الزنك في نسج الاعضاء ولم يسبب اضراراً نسجية في الاعضاء لعدم امتصاصه بسهولة من قبل المجرى المعدي المعوي بعد اخذه عن طريق الفم وطرحه مع البراز .

1-6-2 المسلك التنفسي Respiratory Route

يتعرض الكائن الحي الى الدقائق النانوية من خلال الاستنشاق مثال ذلك ان دقائق الفضة النانوية عند استنشاقها فأنها تترسب في القناة التنفسية وان ترسب هذه الدقائق في الأعضاء يعتمد على بعض العوامل مثل حجم وشكل الدقائق أو قوة الاستنشاق (Gavanji *et al.*, 2014 ; Revell , 2006). وان الدقائق النانوية متناهية الصغر قد تصل الى الجهاز العصبي الشمي من خلال الغشاء المخاطي الشمي وصولاً الى الجهاز العصبي المركزي بوساطة العصب الشمي وتتراكم في الدماغ (Oberdorster *et al.*, 2004). في حين اظهرت بعض الدراسات أن الدقائق النانوية المستنشقة أكثر تأثيراً في الخلايا من الدقائق الأكبر حجماً مما يتسبب في تلف الخلايا الرئوية ، وأن الدقائق النانوية يمكن أن تنتقل عبر جهاز الدوران والجهاز اللمفاوي والجهاز العصبي الى العديد من الأنسجة والأعضاء بما في ذلك الدماغ (Buzea *et al.*,2007).

2-6-2 المسلك الفموي Oral Route

ان المسلك الفموي من اكثر الطرائق التي يتعرض فيها الانسان الى الدقائق النانوية ، فقد بين Chen *et al.*, (2006) أن تعريض الفئران الى دقائق النحاس النانوية عن طريق الفم وبتركيز 413 ملغم/كغم ادت الى حدوث تأثيرات سمية خطيرة واصابات شديدة في الكلى والكبد والطحال مثل التهاب الكبيبات وتخر النبيبات الكلوية وضمور الطحال وتليف الكبد، اما عند اخذ دقائق الفضة النانوية عن طريق القناة الهضمية فأنها تتواجد في البلازما وتكون حالة النقضض *Argyria* وهي تلون الجلد باللون الفضي (White *et al.*, 2003).

3-6-2 المسلك الجلدي Skin Route

يمثل الجلد منفذاً اخر من منافذ دخول الدقائق النانوية الى الجسم اذ تتراكم هذه الدقائق في الجلد مسببة فرط التخبض (التصبغ) Hyperpigmentation ، ففي دراسة اجريت على اشخاص مصابين بحروق طفيفة كانت هذه الحروق تضمد بضمادات تحوي على الياف حاوية على دقائق الفضة النانوية اذ وجد ان هذه الدقائق كانت متواجدة في البلازما لهؤلاء الاشخاص (Trop *et al.*, 2006) ، في حين اشار (Samberg *et al.*, 2009) ان معاملة طبقة البشرة في جلد الانسان بدقائق الفضة النانوية ذات الاحجام المختلفة 20 و 50 و 80 نانومتر وبتركيز 0.34-1.7 مايكروغرام /مل ولمدة يوم كامل ادى الى حدوث انخفاض في وفرة الخلايا القرنية Keratinocytes وايضاً قلة حيوية البشرة.

4-6-2 مسلك الحقن Injection Route

يعرف الحقن بانه ادخال السوائل في الجسم من خلال الأنسجة العضلية أو الأوعية الدموية أو تجاوبف الجسم أو الجلد. وقد درست الدقائق النانوية في توصيل الانوية بطريقة الحقن وان حقن هذه الدقائق في الوريد تنتشر بسرعة في جميع أنحاء الجسم من خلال جهاز الدوران، بعدها تنتقل الدقائق إلى الأعضاء الهدف، وان حقن الدقائق داخل الجلد يؤدي إلى امتصاصها من خلال العقد اللمفاوية، في حين أن الحقن في النسيج العضلي يمتص من قبل الانسجة العصبية واللمفاوية، وان طريقة الحقن الوريدي للدقائق النانوية يتم الاحتفاظ بها في الجسم لمدة اطول مقارنة بطريقة اخذها عن طريق الفم (Oberdorster *et al.*, 2005). بينت دراسة (Lasagna- Reeves *et al.*, 2010) ان حقن تراكيز مختلفة من جزيئات الذهب النانوية داخل البريتون IP في ذكور الفئران البيض ولمدة ثمانية أيام أدت الى حدوث زيادة نسبية في تراكم جزيئات الذهب النانوية في الكلى والكبد والطحال والرئة والدماغ. بينت دراسة (Noori *et al.*, 2014) ان حقن الفئران بـ 300 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي داخل تجويف البريتون IP ادى الى حدوث زيادة في مستوى البولينا والكرياتين بشكل ملحوظ خلال ثمانية ايام

من الحقن وانخفاض في تركيز حامض البوليك في مصل الدم فضلا عن حدوث الاجهاد التأكسدي الذي ادى الى تضرر الكلى فضلاً عن تراكم الخلايا العذلة والحمضة في الشعيرات الدموية للكبيبة وتحطم في النبيبات الدانية والقاصية، كما وجد تغيرات نسيجية في كلى الفئران تمثلت بتليف الكبيبات وتضخم الخلايا المبطنة للنبيبات، وفي دراسة (Watson *et al.*, 2015) وجد ان الكبد كان الموقع الرئيس للامتصاص الاولي عند حقن دقائق اوكسيد الزنك النانوي عن طريق الوريد في الجرذ وقد ادت المعاملة الى تليف خلايا الكبد وزيادة ارتشاح الخلايا الالتهابية.

2-7 تراكم الدقائق النانوية في أعضاء الجسم

Accumulation of Nanoparticles in The Body

تتراكم دقائق اوكسيد الزنك النانوي بشكل رئيس في الكبد والدم والكلية والرئة والبنكرياس والطحال والعظم عند الحقن عن طريق الوريد (Watson *et al.*, 2015). أما عند حقن دقائق الذهب النانوية Gold nanoparticles (G NPs) داخل تجويف البريتون في الفئران لتقييم التأثيرات السامة للجرعات المختلفة (40, 200, 400 ملغم/كغم) ولمدة ثمانية أيام، لم ترتفع مستويات الدقائق النانوية في الدم مع التركيز المذكور ، بينما تراكمت الدقائق النانوية في جميع الأعضاء التي تم فحصها وهي الكبد والكلية والطحال، في حين أن الدماغ تراكمت فيه أقل كمية من المادة المحقونة ، اذ اشارت البيانات إلى أن G NPs قادرة على عبور حاجز الدم - الدماغ وبالتالي يتراكم في الأنسجة العصبية (Lasagna-Reeves *et al.*, 2010).

2-8 آلية التأثيرات السامة للدقائق النانوية في الخلايا

Mechanism of Toxic Effects of Nanoparticles on Cells

أشارت دراسة (Lewinski *et al.* 2008) ان السمية الخلوية للدقائق النانوية تعتمد على التركيز ومدة التعرض، اذ اشار الباحث ان الخلايا الحية يمكنها البقاء على قيد الحياة عند التعرض الى تراكيز اقل من 10 ملغم/كغم ولمدة قصيرة ، في حين ظهرت تأثيرات سامة ومميتة عند التعرض الى تراكيز

عالية ولمدة طويلة، وان هذه التأثيرات حدثت نتيجة لتولد انواع الاوكسجين التفاعلي ROS. أشارت دراسة (Shrivastava et al., 2016) ان التأثيرات السمية الخلوية للدقائق النانوية سببها الزيادة الكبيرة في أنواع الاوكسجين التفاعلي ROS ونفاذ الأنزيمات المضادة للأكسدة، اذ أكد الباحث من خلال دراسته ان معاملة الفئران فمويا وبتراكيز مختلفة من دقائق الفضة والذهب النانوية أدت الى ظهور علامات التهابية في الكبد والكلى وتلف الحامض النووي وقد اثبت الباحث ان الاجهاد التأكسدي هو الالية المسؤولة عن المظاهر السامة في الخلايا، وان الاسباب الاخرى للتأثير السمي هو الخواص الفيزيائية والكيميائية للدقائق النانوية مثل الشحنة السطحية وطبيعة سطح الدقائق النانوية وقابلية الذوبان في الماء. في حين اشارت دراسة اخرى أن الدقائق النانوية قد تنتج آثاراً ضارة في الخلايا العصبية البشرية بسبب قدرتها في المرور عبر الأغشية الحيوية مثل خلايا قرن أمون Hippocampal cells في الجهاز العصبي المركزي وهي الخلايا الأكثر حساسية وحيوية في الكائنات الحية، وهي المسؤولة عن وظائف الدماغ فهذه الخلايا عرضة لنقص الأوكسجين والعوامل الخارجية (Yang et al., 2010).

2-9 تأثير الدقائق النانوية في خلايا ونسج اجهزة الاعضاء المختلفة

Effect of Nanoparticles in Cells and Tissues of different body organs

يتعرض الانسان لمجموعة من الدقائق النانوية الطبيعية والصناعية في الهواء او الغذاء او الماء او المواد الطبية والصناعية وان هذا التعرض قد يتسبب في حدوث تأثيرات في نسج ووظائف الاعضاء المختلفة في الجسم (Handy and Shaw, 2007).

أشار الباحث (Doudi and Setorki, 2014 a) عند معاملة الجرذ بالدقائق النانوية عن طريق حقن خمسة و10 و100 ملغم/كغم من Copper Oxide Nanoparticles (CuO NPs) لمدة يومين وسبعة و14 يوماً أدت الى حدوث تغيرات مرضية نسجية في نسج الكبد والرئة فضلاً عن ظهور نتخن في جدار الاسناخ الهوائية في انسجة الرئة. وفي دراسة أخرى عند تجريع الفئران بدقائق الفضة النانوية وبتراكيز مختلفة 1-2 ملغم/كغم لمدة 30 يوماً أدت الى حدوث أضرار في نسج الكلى والكبد والطحال

تمثلت بالتنخر الخلوي وموت الخلايا المبرمج والنزف الدموي Hemorrhage (Sardari *et al.*, 2012)، فضلاً عن حصول احتقان في الأوعية الدموية Congestion مع ارتشاح الخلايا الالتهابية Infiltration وازدياد أعداد خلايا كوبفر Kupffer cells فضلاً عن تفجّي هيلي خلايا الكبدية Vacuolation، وعند استنشاق حجم 20 نانومتر من TiO_2 NPs داخل القصبات الهوائية للفئران أدت الى حصول استجابة التهابية رئوية كبيرة (Oberdorster *et al.*, 2000).

بينت دراسة (Ibrahim *et al.*, 2018) ان الحقن داخل تجويف البريتون بتركيز 170 ملغم/كغم وبأحجام مختلفة من دقائق الذهب النانوي في الفئران وبجرعتين خلال اسبوع أدت الى حدوث تغيرات مرضية كبيرة في الكبد والكلى والطحال تمثلت بظهور نزيف وارتشاح الخلايا الالتهابية في الكبد وتشوه وانكماش الكبيبات في الكلى وتغيرات مرضية في بنية الطحال. أما دقائق الفضة النانوية (Ag NPs) Silver nanoparticles فقد أثرت سلباً في الجهاز التكاثري الذكري في الفئران عند تجريعها بتركيز 200 ملغم/كغم وللمدد خمسة و 10 و 15 يوماً إذ بينت نتائج دراسة (Taha and Ali, 2015) حصول انخفاض في معدل أوزان البرابخ والغلالة البيضاء والخصى فضلاً عن حصول انخفاض في النسب المئوية لحيوية النطف وتركيزها في ذبول البرابخ وازدياد النسب المئوية للنطف المشوهة، اما عند حقن الفئران بتركيز 25 و 50 و 100 ppm من دقائق التيتانيوم النانوية ولمدة عشرة ايام أدت الى حدوث تغيرات كبيرة في حويصلات كراف Graafian follicles والجسم الاصفر Corpus luteum (Mahdieh *et al.*, 2016).

اما تأثيرات دقائق اوكسيد الزنك النانوي في خلايا ونسج الاعضاء فقد أظهرت الدراسات أن هذه الدقائق تنتج تأثيرات سمية انتقائية في العديد من أنواع خلايا الكائنات الحية بما في ذلك الخلايا السرطانية في العظام (Nair *et al.*, 2009)، وأظهرت دراسة قام بها (Akhtar *et al.*, 2012) ان استعمال دقائق اوكسيد الزنك النانوي تؤدي بشكل انتقائي إلى موت الخلايا المبرمج في الخلايا السرطانية

، والتي من المحتمل أن تتوسط فيها أنواع الأوكسجين التفاعلية ROS. أما عند تجريع الفئران بتركيز 100 و 200 و 400 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً ادت الى حدوث موت الخلايا المبرمج والتهاب الكبد البابي واحتقان الأوعية الدموية في انسجة القلب والكبد وتخر الخلايا الكبدية وشذوذ في توزيع الدهون وارتفاع مستوى انزيمات الكبد (Ghorbani *et al.*, 2013). اما على المستوى الجيني فقد أشارت دراسة الباحث (Moos *et al.* (2011) ان معاملة الخلايا الجلدية في الانسان بدقائق اوكسيد الزنك النانوي لها تأثيرات في المستوى الجيني اذ تعمل على مسخ البروتينات Chaperon وتغيرات في استقلاب المعادن وان الجينات المشاركة بإعادة البروتين لم تتأثر بالدقائق النانوية. بينما تمت دراسة سمية دقائق اوكسيد الزنك النانوي على الخلايا الرئوية البشرية من قبل (Lin *et al.* (2009) من خلال تأثير الحجم و التركيز المستعمل والمدة الزمنية للتعرض باستعمال حجم 70 و 420 نانومتر وبتركيز 8-18 ملغم/مل ولمدة 24 ساعة اذ اظهرت النتائج سمية خلوية والكشف عن تحفيز الاجهاد التأكسدي داخل الخلايا بزيادة مستوى بيروكسدة الدهون وتلف الغشاء الخلوي و تضرر الحامض النووي المؤكسد الناجم عن تعريض الخلايا للدقائق النانوية وزيادة مستوى الكالسيوم داخل الخلايا ومستويات مرتفعة من انواع الاوكسجين التفاعلي.

اما دراسة السراجي (2018) حول تأثير دقائق اوكسيد الزنك النانوي في اعضاء الجهاز التنكاري الذكري لدى الفئران البيض واستعمال تركيز 100 و 200 ملغم/كغم وللمدد سبعة و 14 يوماً اذ اظهرت النتائج تشوهات نطفية في ذبول البرابخ واضرار نسجية في الخصى مثل انخفاض مستوى الغشاء القاعدي وتخر بعض الخلايا النسيجية المنوية وتحطم الخلايا الظهارية وضمور أنويتها واحتقان الاوعية الدموية.

2-10 تأثير الدقائق النانوية في وظائف الاعضاء المختلفة

Effect of Nanoparticles in the Function of Different Organs

أن الكبد من الاعضاء الرئيسية التي تتأثر بالدقائق النانوية فقد اشار (Anreddy (2018 ان تجريع الجرذ فمويًا بجزيئات النحاس النانوية بتركيز 5 و 50 ملغم/كغم ولمدة 14 يوماً ادت الى حدوث

انخفاض في مستوى انزيم الكلوتاثايون (GSH) وزيادة في مستوى Catalase (CAT) فضلا عن زيادة مستوى بيروكسدة الدهون lipid peroxidation الذي يشير الى حدوث الاجهاد التأكسدي Oxidative stress. وعند تجريع الفئران بخمسة غم/كغم من دقائق ثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO₂ NPs بحجمين 25 و 80 نانومتر ادى الى حدوث تغيرات في مستوى انزيمات الكبد AST و ALT فضلاً عن حدوث تغيرات نسيجية في الكبد (التنكس الاستسقاءى Hydropic degeneration حول الوريد المركزي وتخر الخلايا الكبدية) وتغيرات في الكلى (تراكم السوائل البروتينية وانتفاخ الكبيبة الكلوية) (Wang *et al.*, 2007).

اما عند حقن ذكور الجرذ بـ 0.5 مل من تركيز 20 و 40 ملغم/كغم من دقائق النحاس النانوي داخل تجويف البريتون للمدد ثلاثة وستة وتسعة ايام أدت الى حصول انخفاض في اعداد الخلايا الحمر وكمية الهيموغلوبين وحجم الخلايا المرصوصة فضلاً عن حدوث زيادة في عدد الخلايا البيض كما ادت المعاملة ايضاً الى حدوث زيادة في مستويات انزيمات وظائف الكبد ALP و AST و ALT ومستوى الكولسترول الكلي Total Cholesterol والدهون الثلاثية Triglyceride والبروتين الدهني واطى الكثافة Low Density Lipoprotein (LDL) والبروتين الدهني واطى الكثافة جدا (Very Low Density Lipoprotein (VLDL) وانخفاض في مستوى البروتين الدهني عالي الكثافة (HDL) High Density Lipoprotein في مصل الدم (عبد الكريم، 2017)، اما تأثيرات دقائق اوكسيد الزنك النانوي في الكبد فقد أظهرت دراسة (Mansouri *et al.* (2015) عند تجريع الفئران بدقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة أربعة عشر يوماً وبتراكيز مختلفة 5 و 50 و 300 ملغم/كغم فأنها ادت الى تراكم هذه الدقائق في نسيج الكبد مما ادى الى الاصابة الخلوية وحدثت اضرار تمثلت بزيادة تركيز الزنك في البلازما وزيادة كبيرة في الاجهاد التأكسدي فضلاً عن انخفاض نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة Glutathione peroxidase (GPX) و SOD وارتفاع في مستوى ALP و ALT و AST وتورم

Tang *et al.* وأشار أن خلايا الكبد مصحوبة بكثرة أعداد كريات الدم الحمر وتراكم الخلايا الالتهابية. وأشار (2016) ، وان تجريع الجرذ فمويًا بتركيز 300 و 600 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ادت الى ظهور اثار ضارة في التركيب النسجي للكبد والمعلقات الدموية و الساييتوكاينات و الاجهاد التأكسدي و انزيمات الساييتوكروم و انزيمات الكبد.

في حين بين (2013) Rani *et al.* ان الاستنشاق داخل الرغامي بجرعة 1-5 ملغم/كغم من وزن الجسم من دقائق اوكسيد النحاس النانوي CuO NPs في الجرذ أدى الى حدوث انخفاض في مستوى أنزيمات (SOD) Superoxide dismutase و Catalase (يحفز على تحلل بيروكسدة الهيدروجين) وتكوين الاورام الحبيبية بعد اسبوع واحد من التعرض وان هذه التأثيرات قد ازدادت بزيادة الجرعة .

ان الجهاز التكاثري الذكري والانثوي هو الآخر قد تأثر بالدقائق النانوية فعند حقن الجرذ داخل تجويف البريتون وبتراكيز مختلفة من دقائق الذهب النانوية ولمدة عشرة أيام أدت الى حدوث تغير كبير في مستوى هرمون تحفيز الجريبات (FSH) Follicle Stimulating Hormone وهرمون التستوستيرون testosterone فضلاً عن تنكس النبيبات المنوية Seminiferous tubular degeneration في الخصى (Behnammorshedi *et al.*, 2013) .

في حين أشار (2013) De Angelis *et al.* ان الجرعات المخفضة من دقائق اوكسيد الزنك النانوي لم تنتج تأثيرات سامة في جسم الكائن الحي، أما التراكيز العالية فيمكن أن تسبب الموت المفاجئ للخلايا . فقد سببت دقائق اوكسيد الزنك النانوي سمية خلوية كبيرة في الامعاء وازدياد كمية الاوكسجين التفاعلي ROS بعد 6 و 24 ساعة من المعاملة والتحريض على الاجهاد التأكسدي واطلاق IL-8، وان للخواص الكيميائية للدقائق النانوية مثل التركيب وقابلية الذوبان وشحنة السطح دوراً رئيساً لموت الخلايا المبرمج. أما دراسة (2008) Wang *et al.* فتوصلت ان التجريع الفموي من دقائق اوكسيد الزنك

النانوي في الفئران وبتركيز خمسة غم/كغم ولمدة اسبوعين يمكن أن يسبب الخمول و الاسهال والقيء وتضرر وتراكم في العظام و الكبد والكلى والبنكرياس والقلب والطحال وفقر الدم وارتفاع تركيز انزيمات الكبد والتهاب في الكبد والكلى والقلب والمعدة والامعاء فضلا عن تسجيل وفاة اثنين من الحيوانات بعد اسبوع من المعاملة بسبب انسداد الامعاء بهذه الدقائق.

2-11 تأثير الدقائق النانوية في نسيج الكلى ووظائفها

Effect of Nanopartical On Kidney tissues and functions

تعدّ الكلى احد أعضاء الاخراج في الجسم فضلا عن تنظيم التوازن المائي اذ ان النواتج الايضية التي تنتج خارج الكلى تزودنا بمعلومات عن صحة الكلى، وان البولينا والكرياتينين هما نواتج الفضلات الايضية التي تفرز خارج الكلى والعلامات التي تشير الى وجود أضرار في الكلى (Ene-ojo et 2013). ان حامض البوليك Uric acid هو المنتج النهائي لعملية الايض في الانسان، وهو حامض عضوي ضعيف وزيادته في مصل الدم Hyperuricemia يسبب بعض الامراض من خلال تشكيل بلورات بولية تسبب داء النقرس Gout ويزداد حامض البوليك Uric acid في العديد من الامراض مثل الفشل الكلوي وتصلب الشرايين وفرط الصوديوم ومرض السكري (So and Thorens, 2010).

بينت دراسة (Fartkhooni et al. (2016 ان حقن الجرذ بتراكيز 30 و 50 و 70 ملغم/كغم من جزيئات ثنائي اوكسيد التيتانيوم النانوية TiO_2 ولمدة واحد وعشرون يوماً أدت الى حدوث تراكم هذه المادة في الكلى وتوسع وتحطم محفظة بومان، ولم تؤثر هذه المعاملة في مستوى الكرياتينين ولكن ادت الى حدوث تغيرات قليلة في تركيز البولينا وحامض البوليك. ان حقن الفئران داخل البريتون بتراكيز 5 و 10 و 100 ppm من دقائق الذهب النانوية ولمدة أربعة عشر يوماً ادت الى حدوث تحطم في النبيبات البولية الدانية والقاصية في كلى الحيوانات المحقونة ومن ثم حدوث اضطرابات في وظائف الكلى (Doudi and Setorki , 2014b). يؤدي التعرض لدقائق اوكسيد الزنك النانوي الى حدوث تغيرات في

نسيج ووظائف الكلى، وقد اهتمت العديد من الدراسات بهذا الجانب فقد اشارت دراسة (Salman 2018) ان التجريع الفموي لـ 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً ادت الى حصول تغيرات مرضية في نسيج الكلى وزيادة في معدل اقطار النبيبات الجامعة في منطقة اللب وعند تجريعها بتركيز 350 ملغم/كغم ولمدة التعرض نفسها ادت الى ظهور علامات التهابية حول الاوعية الدموية وبين النبيبات الكلوية.

بينت دراسة (Esmaeillou *et al.* (2013) أن تجريع 333.33 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة خمسة ايام ادت الى حصول تجزئة الكبيبات الكلوية والتحلل الاستسقائي Hydropic degeneration وتخر الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية الدانية في حين لم تسجل اية فروق معنوية في معدل الكرياتنين والبولينا وحامض البوليك. وفي دراسة (Amara *et al.* (2014) وضح ان الحقن داخل البريتون بتركيز 25 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي في الجرذ ولمدة عشرة ايام لم تسبب اي سمية في الكلى عدا حصول زيادة في حامض البوليك وانخفاض في مستوى الكرياتنين، بينما اظهرت دراسة (Guan *et al.* (2012) الى ان استعمال دقائق اوكسيد الزنك النانوي للإنسان في خلايا الكبد البشرية وخلايا الكلى الجنينية بتركيز 10 و 25 و 50 و 100 ملغم/مل وخلال 24 ساعة أظهرت النتائج حدوث تحويرات مظهرية في الخلايا وحدث الموت المبرمج واختلال وظيفي في الميتوكوندريا Mitochondria وتلف الحامض النووي المؤكسد وتقليل من انزيم SOD ونضوب الكلوتاثيون وارتفاع نسبة بيروكسدة الدهون والاجهاد التاكسدي.

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials & Methods

3 - المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3 - 1 الاجهزة والمواد المستعملة Apparatus and Materials used

3 - 1 - 1 الاجهزة المختبرية Laboratory Apparatuses

استعملت في هذه الدراسة عدد من الاجهزة كما في الجدول (1-3) .

الجدول (1-3): يوضح أنواع الاجهزة المستعملة في الدراسة الحالية والشركة المصنعة لها ومنشأها :

الشركة المصنعة ومنشأها	الجهاز المختبري	
Nikai, Japan	Refrigerator	ثلاجة
Oxford instruments X-MAX, England	Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS)	جهاز أشعة تشتت الطاقة
Norin Optech, France	Sonicator ultrasonic liquid processor	جهاز الامواج فوق الصوتية
Hettich, Germany	Centrifuge	جهاز الطرد المركزي
SLEE, Germany	Rotary microtome	جهاز المشراح الدوار
G.F.L., Germany	Distillation device	جهاز تقطير
WB2800, Germany	Water Bath	حمام مائي
Photax, England	Hot plate	صفيحة ساخنة
Binder, Germany	Electric oven	فرن كهربائي
China, Huawei	Mobile Honor 6X Camera	كاميرا تصوير نقال
Sony, Japan	Digital camera	كاميرا رقمية
CM10 Philips, Germany	Transmission Electron microscope	مجهر الكتروني نافذ
Meiji Techno, Japan	Light Microscope	مجهر ضوئي
Fisher, Germany	Thermometer	محرار
Kern, Germany	Sensitive Balance	ميزان حساس
Kerm, Germany	Electrical Balance	ميزان كهربائي
Daihan. Lab .tech, Korea	Magnetic Stirrer	هزاز المغناطيسي

Instruments Used 2- 1- 3 الأدوات المستعملة

تم استعمال عدد من الأدوات المختبرية حسب الجدول (2-3) .

الجدول (2-3): يوضح الأدوات المستعملة والشركة المجهزة لها ومنشأها:

الشركة المجهزة ومنشأها	الأدوات	
Gico, India	Dissecting set	أدوات تشريح
plastic north, London	Plastic cage	أقفاص بلاستيكية
China	Test tube	أنبوب اختبار
China	Gel tube	أنبوب جيلاتين (هلام)
China	Slide boxe	حافظة سلايدات
Medeco, UAE	Insulin Syringe	حقنة انسولين
AFCO, China	Slide	شرائح مجهرية
China	Anatomy dish	صحن تشريح
Local made	Petri dish	طبق بتري
AFCO, China	Cover slide	غطاء سلايد
Local made	Histology cassette	قالب صب بلاستيكي
Local made	Metal embedding template	قالب صب حديد
Broche, China	Glove	قفاز
Germany	Micropipette	ماصة دقيقة
Local made	Bunsen burner	مصباح بنزن
Whatman, China	Filter paper	ورق ترشيح

3-1-3 Chemicals Materials and Stains المواد الكيميائية والملونات

تم استعمال المواد الكيميائية والملونات المدرجة في الجدول (3-3) .

الجدول (3-3): يوضح اسماء المواد الكيميائية والملونات المستعملة خلال هذه الدراسة :

الشركة المجهزة ومنشأها	أسم المادة الكيميائية	
Sky Spi Nanomaterials ,Inc. USA	ZnO NPs	دقائق أكسيد الزنك النانوي
SCR. China	Xylene	زايلين
Histo- Line L., Italy	Paraffin Wax	شمع البارافين
Human, Germany	Urea Kit	عدة فحص البولينا
Human, Germany	Creatinine Kit	عدة فحص الكرياتينين
Human, Germany	Uric Acid Kit	عدة فحص حامض البوليك
SCR.China	Formaldehyde	فورمالدهايد (37-40%)
Abu Teba -Iraq	Ethanol alcohol	كحول الايثانول 99 %
SDFCL, India	Chloroform	كلوروفورم
Marienfeld , Germany	Distyrene Plasticizer Xylene	مثبت المقاطع النسجية
Ahlcon Parenterals, India	Sodium Chloride (0.9 %)	محلول كلوريد الصوديوم
Sir-bio company, Syria	Eosin	ملون الايوسين
Sir-bio company, Syria	Hematoxylin Harris	ملون الهيماتوكسلين هارس

3-2 طرائق العمل Methods

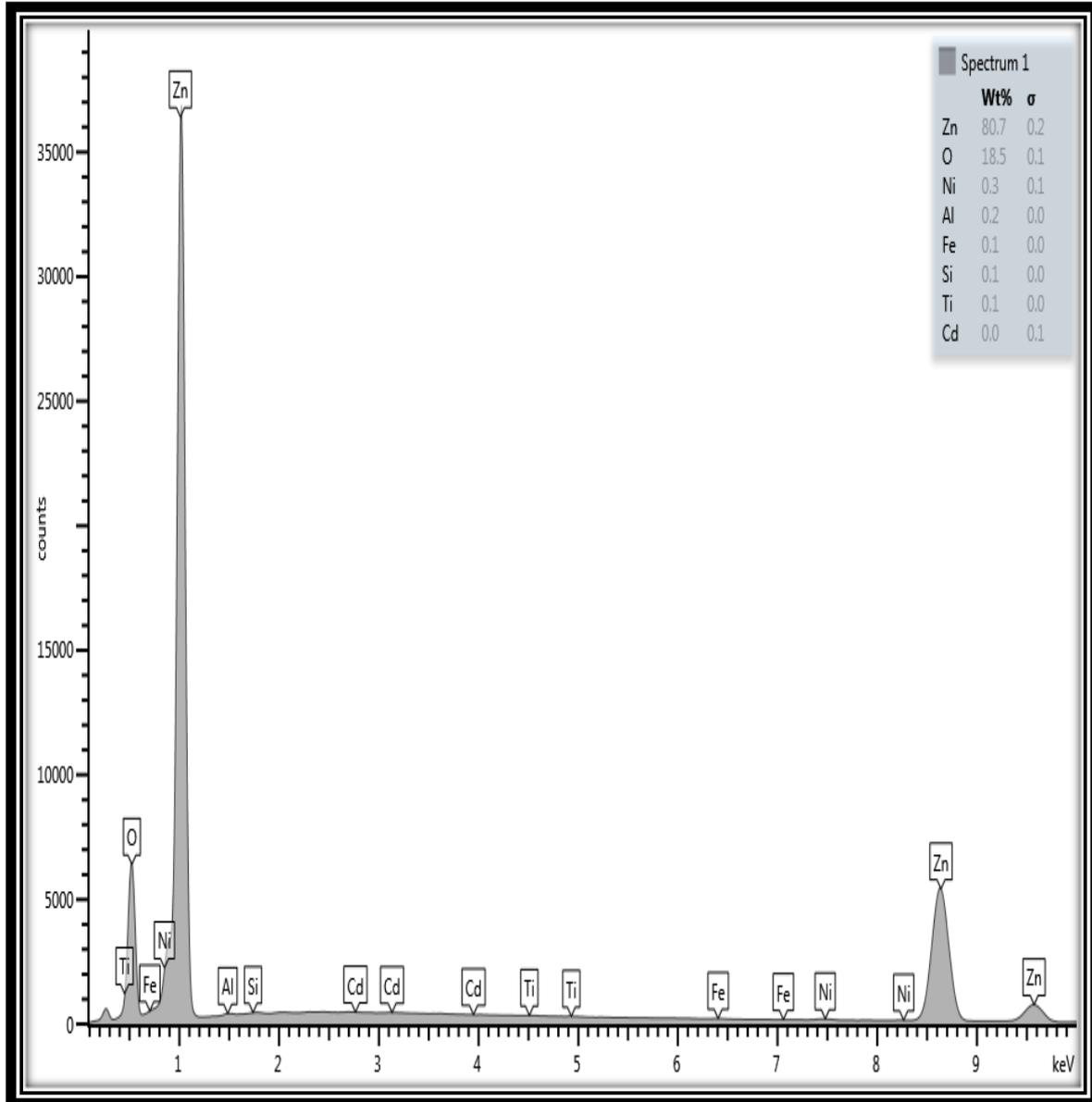
3-2-1 تهيئة حيوانات التجربة Experimental Animals Prepare

أجريت الدراسة على 24 فأراً ذكراً ابيضاً سويسرياً *Mus musculus* تم الحصول عليها من المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/الجامعة المستنصرية وتراوحت أعمارها ما بين ثمانية و 12 اسبوعاً وتراوحت أوزانها بين 24-34 غم. تم نقل حيوانات التجربة الى البيت الحيواني الموجود في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / ابن الهيثم، اذ وضعت في اقفاص بلاستيكية مغطاة بأغطية معدنية مشبكة ابعادها 48 x 15 x 7 سم³، فرشت اقفاص الحيوانات بنشارة الخشب والقطن وتم استبدال النشارة مرتين اسبوعياً، مع استمرار التنظيف والتعقيم للأقفاص . تركت الحيوانات لمدة اسبوعين لغرض التكيف في البيت الحيواني قبل عملية الحقن ، ووضعت الحيوانات خلال جميع مراحل التجربة تحت ظروف مختبرية متشابهة من تهوية وضاءة وحرارة واعطيت ماء الحنفية والعليقة الخاصة بالحيوانات.

3-2-2 المادة النانوية و مواصفاتها Nanomaterial and Characterization

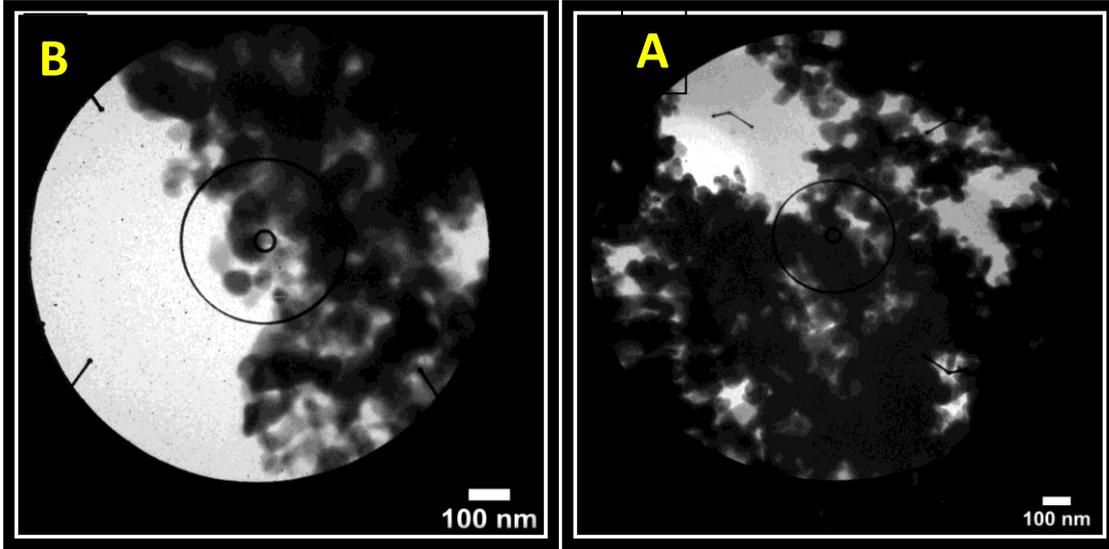
استعمل مسحوق دقائق أكسيد الزنك النانوي المنتجة من شركة Sky Spring Nanomaterials, Inc. USA التي كانت مواصفاتها كالاتي: نقاوة الدقائق 99.8 في المائة ومعدل حجمها 10-30 نانومتر وكان المسحوق لونه ابيض الى اصفر فاتح .

تم التأكد من مواصفات مسحوق دقائق اوكسيد الزنك النانوي من خلال فحص دقائق اوكسيد الزنك النانوي بجهاز أشعة تشتت الطاقة (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS المتوفر في وزارة العلوم والتكنولوجيا قسم بحوث المواد ، لمعرفة درجة نقاوة هذه المادة اذ تبين ان نقاوة هذه الدقائق كانت 99.2 في المائة مع وجود عدد من الشوائب وحسب الشكل (3-1).



الشكل (3-1): يوضح نسبة نقاوة دقائق اوكسيد الزنك النانوي وانواع الشوائب الموجودة فيه باستعمال جهاز EDS .

استعمل المجهر الالكتروني النافذ (TEM) Transmission Electron Microscopy المتوفر في جامعة النهريين / كلية الطب ، لمعرفة شكل وحجم دقائق اوكسيد الزنك النانوي اذ اتخذت الدقائق اشكالاً سداسية قضيبية او مضلعة وتواجدت بشكل منفرد Single او بشكل تجمعات Aggregation (شكل 3-2) اما حجمها فقد تراوح ما بين 25-45 نانومتر .



شكل (3-2): يبين اشكال واحجام دقائق اوكسيد الزنك النانوي باستعمال TEM (A) تمثل قوة التكبير $130000\times$ و (B) تمثل قوة التكبير $180000\times$. تظهر الدقائق بشكل سداسي قضيبي او مضلع وقد تتواجد بشكل منفرد او بشكل تجمعات اما حجمها فقد تراوح ما بين 25-45 نانومتر .

3-2-3 تحضير التركيز المطلوب من المادة النانوية وتصميم التجربة

Preparation of Nanomaterial and Experimental Design

تم تحضير تركيز 150 ملغم/كغم من مسحوق دقائق اوكسيد الزنك النانوي من خلال اذابة 750 ملغم من هذا المسحوق في 20 مل من المحلول الملحي Sodium Chloride 0.9 في المائة لاعداد محلول جاهز للحقن في انبوبة محكمة الغلق وتم بعدها وضع الانبوبة في جهاز رجاج مغناطيسي Magnetic stirrer لمدة 30 دقيقة لغرض مزج المادة بشكل جيد بعد ذلك تم وضع الانبوبة في جهاز الامواج فوق الصوتية Sonicator Ultrasonic Liquid Processor لمدة 15 دقيقة لتجانس المحلول جيدا ولمنع حصول التكتلات، وقبل كل عملية حقن تم وضع انبوبة المحلول في جهاز الرجاج المغناطيسي لمدة 15 دقيقة لغرض مزج المادة ومنع تكتلها، بعدها تم حقن الحيوانات داخل تجويف البريتون بوساطة المحقنة الخاصة لزرع الانسولين وبواقع 0.1 مل من محلول هذه المادة ولمرة واحدة في اليوم وخلال مدتين زمنيتين هي سبعة و 14 يوماً .

Experimental Groups 4-2-3 المجاميع التجريبية

أجريت الدراسة على 24 فاراً ابيض سويسرياً تم تقسيمها على أربع مجاميع في كل مجموعة ستة حيوانات وتوزعت بالشكل الاتي :

- **المجموعة الاولى** : تضمنت ستة حيوانات حقنت في التجويف الخلي IP بحجم 0.1 مل وبتركيز 150 ملغم/كغم من محلول دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام.

- **المجموعة الثانية** : تضمنت ستة حيوانات حقنت في تجويف البريتون بحجم 0.1 مل وبتركيز 150 ملغم/كغم من محلول دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً.

- **المجموعة الثالثة** : تضمنت ستة حيوانات وكانت تمثل مجموعة السيطرة التي حقنت في التجويف الخلي IP بالمحلول الفسلجي الملحي 0.9 Sodium Chloride في المائة ولمدة سبعة أيام.

- **المجموعة الرابعة** : تضمنت ستة حيوانات وهي مجموعة السيطرة التي حقنت داخل تجويف البريتون (الخب) IP بالمحلول الفسلجي الملحي 0.9 Sodium Chloride في المائة ولمدة 14 يوماً.

3-3 التغيرات السلوكية والمظهرية Behavioral and Morphological Changes

تم مراقبة الفئران طيلة مدة الدراسة وتأشير الملاحظات السلوكية والمظهرية التي ظهرت في الحيوانات بفعل حقن المادة لها.

4-3 جمع عينات الدم Collecting of Blood Sample

تم سحب عينات الدم في اليوم التالي من انتهاء مدة الحقن من جميع حيوانات الدراسة من خلال طعنة القلب Heart Puncture بعد تخدير الحيوانات جزئياً بمادة الكلوروفورم ، ثم وضعت عينات الدم في انابيب تحتوي على هلام Gel tube ثم وضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي (5000 Centrifuge دورة/دقيقة) لمدة عشر دقائق لغرض فصل مصل الدم Serum عن مكونات الدم

33 Materials and Methods الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل

الآخري، بعدها تم نقل المصل في انابيب بلاستيكية اخرى وحفظت في الثلجة لحين إجراء التحاليل الخاصة بوظائف الكلى (بولينا Urea و الكرياتينين Creatinine و حامض البوليك Uric Acid).

3- 5 التضحية بالحيوانات Sacrifice Animals

تم قياس اوزان حيوانات التجربة قبل بدء عملية الحقن وبعد انتهاء المعاملة باستعمال الميزان الكهربائي، وفي اليوم التالي لانتهاء حقن الحيوانات للمدتين سبعة و 14 يوما تم التضحية بالحيوانات من خلال احداث شلل في الحيوان عن طريق الخلع العنقي Cervical Dislocation من خلال تثبيت رأس الحيوان بملقط كبير وسحب الذيل. بعدها تم تثبيت الحيوان بالدبابيس على صحن التشريح وتم فتح التجويف البطني من خلال عمل شق على طول الجهة البطنية للحيوان على شكل حرف T مقلوب من اسفل البطن الى عظم القص باستعمال المقص والملقط ثم تم استئصال الكلى اليمنى واليسرى وغسلها بالمحلول الملحي الفسلجي Sodium Chloride، بعدها تم تجفيف عينات الكلى بوساطة ورق الترشيح بعد ان تم ازالة المادة الدهنية منها. تم قياس الابعاد المترية من طول وعرض وارتفاع للكلى باستعمال المسطرة، بعدها تم تسجيل أوزان الكلى (اليمنى واليسرى) باستعمال الميزان الالكتروني الحساس، بعدها تم تثبيت الكلى اليمنى في محلول الفورمالين 10 Formalen solution في المائة لمدة 72 ساعة لغرض تحضير الشرائح النُسجية. حضر محلول الفورمالين وفق طريقة (2013) Bancroft من خلال مزج 10مل من مثبت الفورمالدهايد تركيز 37-40 في المائة مع ماء الحنفية بحجم 90 مل .

3- 6 الدراسة الوظيفية Physiological Study

تم قياس مستوى البولينا والكرياتينين و حامض البوليك في مختبر الازدهار الطبي التخصصي من خلال استعمال العدة المذكورة ادناه لكل نوع من الاختبارات .

3-6-1 قياس مستوى اليوريا Measurement of Urea Level

تم قياس نسبة اليوريا في مصل الدم تبعا للطريقة المرفقة مع عدة المجهر من الشركة الاسبانية Spinreact في جميع حيوانات التجربة تبعا للطريقة الاتية :

تم وضع 10 مايكرو لتر من مصل الدم في انبوبة الاختبار Test tube و 10 مايكرو لتر من مادة المحلول القياسي في الانبوبة القياسية Standard tube، ثم تم اضافة 1000 مايكروليتر من الكاشف الاول (R1) الى كلا الانبويتين، بعدها تم مزج المحاليل جيدا وحضنت لمدة خمس دقائق بدرجة حرارة 37م°، ثم اضيف 1000 مايكروليتر من الكاشف الثاني (R2) الى كلا الانبويتين وتم مزج المواد بشكل جيد وحضنها لمدة خمس دقائق بدرجة 37 م° ثم تم قياس الامتصاصية على الطول الموجي 590 نانومتر، بعدها أجريت الحسابات وحسب المعادلة الاتية :

$$\text{تركيز اليوريا mg/dl} = \frac{\text{قراءة انبوبة العينة}}{\text{قراءة الانبوبة القياسية}} \times \text{التركيز القياسي 50 mg/dl}$$

3-6-2 قياس مستوى الكرياتينين Measurement of Creatinine Level

تم قياس نسبة الكرياتينين في مصل الدم في جميع حيوانات التجربة تبعا للطريقة المرفقة مع عدة المجهر من الشركة الاسبانية Spinreact وهي كالاتي :

تم وضع 100 مايكرو لتر من مصل الدم في انبوبة الاختبار Test tube و 100 مايكرو لتر من مادة المحلول القياسي في الانبوبة القياسية Standard tube، بعدها تم اضافة 1000 مايكرو لتر من الكاشف العمل الى كلا الانبويتين، بعدها مزجت المحاليل جيدا وبعد نصف دقيقة تم اخذ قراءة درجة الامتصاصية بواسطة جهاز المطياف الضوئي على الطول الموجي 490 نانومتر لتمثل القراءة الاولى A1، وبعد 90 ثانية تمت القراءة الثانية A2، بعدها تم إجراء الحسابات وحسب المعادلة الاتية :

$$A_2 - A_1 = \Delta A$$

$$A_2 - A_1 = \Delta A$$

قراءة انبوبة العينة ΔA

$$X \text{ التركيز القياسي (2)} = \frac{\text{mg/dl}}{\text{قراءة الانبوبة القياسية } \Delta A}$$

قراءة الانبوبة القياسية ΔA

3- 6- 3 Measurement of Uric Acid Level البولييك حامض مستوى قياس

تم قياس نسبة حامض البولييك في مصل الدم في جميع حيوانات التجربة تبعا للطريقة المرفقة مع عدة المجهز من الشركة الاسبانية Spinreact وهي كالاتي :

تم تحضير ثلاثة انابيب اختبار الاول Blank ويستعمل للتصفير فقط يوضع فيه واحد مل من R1 والثاني Sample نموذج المصل ويوضع فيه واحد مل من R1 ويضاف اليه 20 مايكرو لتر من المصل اما الانبوب الثالث Standard وفيه نضع واحد مل من R1 ونضيف اليه 20 مايكرو لتر من Cal. Standard بعدها تمزج جيدا وتترك لمدة خمس دقائق بدرجة حرارة 73°م لغرض التفاعل بعدها يتم اخذ القراءة بواسطة جهاز المطياف الضوئي على الطول الموجي 520 نانومتر بعد ان يتم تصفير الجهاز لل Sample و ال Standard ضد ال Blank اي يصفر عليه، يتدرج اللون من وردي الى بنفسجي كلما زادت شدة اللون يعد اشارة على زيادة حامض البولييك.

3- 7- 3 Histological Study الدراسة النسجية

تم تحضير المقاطع النسجية و تلوينها حسب طريقة (Suvarna *et al.* (2018) كما يأتي:
تم اخذ الكلى اليمنى المثبتة في Formaldehyde solution وتم ازالة المثبت من الكلى من خلال غسلها بماء الحنفية لعدة مرات ولمدة نصف ساعة ثم تم حفظ الاعضاء بالكحول الأثيلي 70 في المائة لحين اجراء العمليات الخاصة بتحضير المقاطع النسجية وحسب الخطوات الآتية:

Dehydration 1-7-3 الأنكاز

تم تمرير العينات في تسلسل تصاعدي من الكحول الأيثيلي وعلى النحو الاتي 70، 80، 90 ، 100، 100 في المائة ولمدة ساعة واحدة لكل تركيز كحولي من هذه التراكيز المذكورة وذلك لغرض سحب الماء من العينات .

Clearing 2-7-3 الترويق

بعد عملية الأنكاز روقت العينات لمدة 15 دقيقة باستعمال الزايلين Xylene لغرض جعل الاعضاء أكثر شفافية.

Infiltration 3 - 7-3 الارتشاح

تم تشريب العينات بعد وضعها في مزيج من الزايلين وشمع البارافين Paraffin wax المنصهر بنسبة متساوية وهي 1:1 وبلغت درجة انصهار الشمع 56-58 م° ولفترة 20 دقيقة في فرن كهربائي وكانت درجة حرارة الفرن 60 م° بعدها تم تحويل العينات فقط الى شمع منصهر ولمدة ساعة واحدة داخل الفرن ثم بعدها حولت الى شمع منصهر مرةً اخرى ولمدة ساعة أخرى داخل الفرن.

Embedding 4 - 7-3 الطمر

طمرت العينات بشمع البرافين نفسه المستعمل في العملية السابقة في قوالب حديدية خاصة لعمل قوالب شمعية مكعبة وتم التخلص من فقاعات الشمع باستعمال ابرة ساخنة ثم تركت قوالب الشمع للتصلب في درجة حرارة الغرفة بعدها فصلت من قوالب الحديد.

Trimming and Sectioning 5 - 7-3 التشذيب و التقطيع

شدبت قوالب الشمع الصلبة التي تحتوي على العينات باستعمال مشرط حاد ولصقت على حامل بلاستيكي Histology cassette للتجهيز لعملية القطع بعدها قطعت العينات بواسطة جهاز المشراح الدوار Rotary microtome وبسمك خمسة مايكرومتر وتم عمل اشربة من المقاطع المستعرضة

37 Materials and Methods الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل

لللكلى. بعدها تم وضع اشربة المقاطع في حمام مائي Water bath بدرجة حرارة 45 م° لغرض فرش مقاطع العينة بعدها لصقت المقاطع على شرائح زجاجية تم تنظيفها مسبقاً ثم تركت لمدة يوم كامل لتجف على صفيحة ساخنة Hot plate في درجة حرارة 37 م°.

3-7-6 التلوين Staining

تم تلوين المقاطع بملون الهيماتوكسولين هارس والايوسين المزدوجة Harris Haematoxylin and Eosin لغرض توضيح تأثيرات مادة دقائق اوكسيد الزنك النانوي في التركيب النسجي لللكلى كما يأتي:

1- ازيل الشمع من المقاطع النسجية عن طريق غمر الشرائح الزجاجية بمادة الزايلين ولمدة 15 دقيقة وعلى مرحلتين

2- مررت المقاطع في سلسلة تنازلية التركيز من الكحولي الايثيلي وعلى النحو الاتي وهي: 100، 90، 80، 70 في المائة ولمدة دقيقتين لكل تركيز بعد ذلك تم غسل المقاطع بالماء المقطر ولمدة دقيقتين .

3- لونت المقاطع بملون الهيماتوكسولين هارس ولمدة سبع دقائق ثم نقلت الشرائح الزجاجية الى حوض فيه ماء الحنفية لغرض غسلها بالماء الجاري ولمدة سبع دقائق.

4- مررت المقاطع النسجية في سلسلة تصاعدية التركيز من الكحول الايثيلي 30، 50، 70 في المائة ولمدة دقيقتين لكل تركيز من الكحولات.

5- لونت المقاطع بملون الايوسين الكحولي ولمدة سبع دقائق بعدها مررت المقاطع في الكحول الايثيلي وعلى النحو الاتي: 70، 80، 90، 100، 100 في المائة ولمدة دقيقتين لكل تركيز .

6- مررت المقاطع بعدها الى الزايلين لغرض الترويق Clearing ولمدة ثلاث دقائق لمرتين متتاليتين.

3-7-7 Mounting التحميل

استعملت للتحميل مادة (DPX) Distyrene Plasticizer xylene من خلال وضع قطرات من هذه المادة فوق المقاطع النسجية ثم غطيت الشرائح بغطاء زجاجي Cover slide وتركت الشرائح لمدة على صفيحة ساخنة Hot plat في درجة حرارة الغرفة لتجف.

3-8 فحص وتصوير المقاطع النسجية

Examining and Photoimaging of Histological Sections

فحصت المقاطع النسجية بوساطة المجهر الضوئي المركب Light microscope بقوى تكبير مختلفة ، وكان المجهر مزود بكاميرا تصوير من نوع كانون Digital camera Sony Japan والموصولة بجهاز الكمبيوتر، تم التصوير في مختبر تصنيف النبات المتقدم في كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم.

3-9 القياسات البايومترية Biometric Measurements

تم قياس اقطار الكبيبات Glomerulus والنبيبات الملفوفة الدانية Proximal convoluted tubule والنبيبات الملفوفة القاصية Distal convoluted tubule فضلا عن اقطار الجسيمات الكلوية Renal Corpuscle وفسحة محفظة بومان باستعمال برنامج (Sun microsystems, Inc. USA) Image J وحسب خطوات (فرج، 2012) المدرجة ادناه بعد فتح البرنامج:

- 1- نختار File ← Open ثم نختار صورة المسطرة Stage meter التي تم تصويرها مسبقا وعلى عدسة قوة التكبير المستعملة ولتكن (40 x).
- 2- نختار من قائمة Analyze ← Calibrate ← OK .
- 3- يتم تفعيل رمز  الموجود في واجهة البرنامج ثم نرسم خط القياس على صورة مسطرة Stage meter من وسط خط الصفر الى وسط اقرب خط بزاوية مستقيمة.

39 Materials and Methods الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل

- 4- ثم من Analyze ← نختار Set Scale ← فتظهر نافذة نختار Known distance لكتابة القياس 100 مايكرو متر ونختار Unit of Length لغرض اختيار الوحدة المناسبة وهي μm ثم التأشير مقابل كلمة Global بعلامة صح ثم يتم الضغط على كلمة OK.
- 5- بعدها يتم اختيار اية صورة من صور نسيج الكلى للحيوانات ويتم التأشير على المكان المراد قياسه بالسحب والافلات.
- 6- اخيراً من Analyze ← نختار Measure فتظهر نافذة فيها أرقام القياس.

3-10 التحليل الاحصائي Statistical Analysis

تم تحليل نتائج الدراسة باعتماد البرنامج الاحصائي (SPSS) Social Package of Social Sciences النسخة 24 ، اذ تم استعمال اختبار t- Test لحساب الفروق بين اوزان الحيوانات قبل وبعد المعاملة واختبار F-test بطريقة Analysis of Variance (ANOVA) لحساب الفروقات المعنوية عند المستوى $P \leq 0.05$ بين المتوسطات واستعمل Least significant difference (LSD) لمعرفة أي اختلافات احصائية بين المجاميع (Griffith, 2007). تم عرض النتائج على شكل المعدل الحسابي $\pm \text{Mean}$ الخطأ القياسي Standard Error.

الفصل الرابع

النتائج

Results

4 - النتائج Results

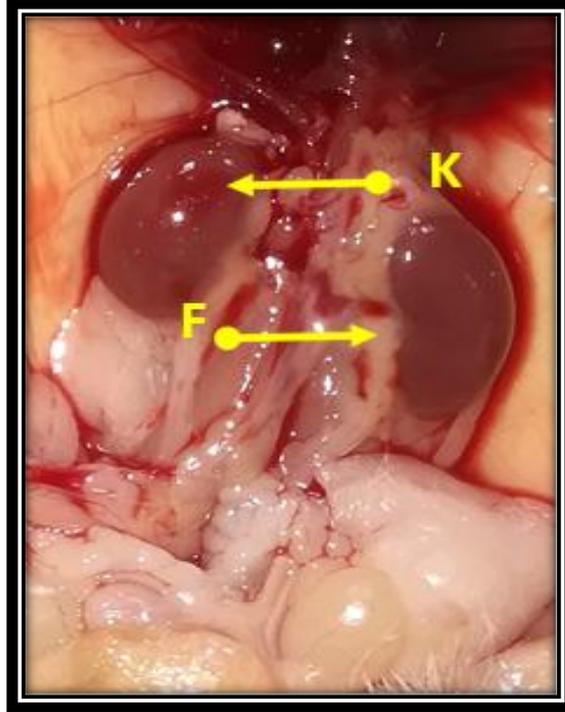
أظهرت نتائج هذه الدراسة عدداً من التغيرات المظهرية والسلوكية والوظيفية والنسجية كالآتي:

1-4 التغيرات في مظهر وسلوك الفئران**Changes in the appearance and behavior of mice**

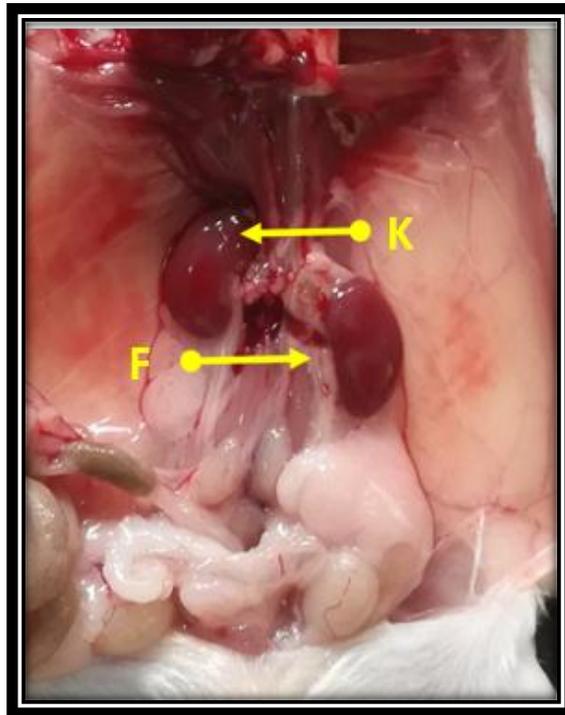
أظهرت نتائج الدراسة الحالية بعض التأثيرات الخارجية في الفئران المحقونة بدقائق اوكسيد الزنك النانوي بتركيز 150 ملغم/كغم ولمدة سبعة ايام منها فقدان الشهية للطعام loss of appetite والخمول Lethargy والانطواء Introversion وتحذب الظهر convex back وازدادت الاعراض شدة مع زيادة مدة الحقن لمدة 14 يوماً، وتحول لون البراز الى اللون البني المخضر في الحيوانات المحقونة لمدة سبعة أيام والى اللون الاسود المخضر في الحيوانات المحقونة لمدة 14 يوماً.

2-4 تغيرات المظهر الخارجي للكلى**The external kidney appearance changes**

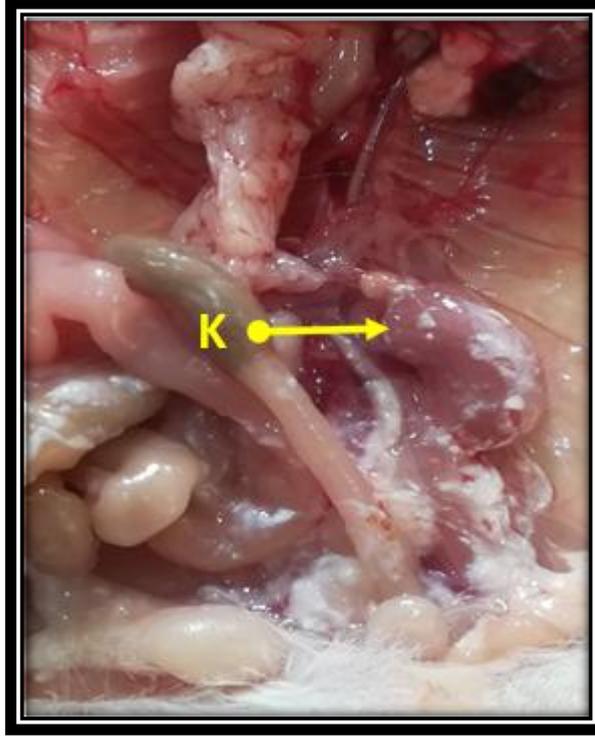
عند فحص المظهر الخارجي لكلى حيوانات السيطرة ظهر إن لون الكلى الطبيعي هو أحمر قان ووجود المادة الدهنية حولها (شكل 1-4)، بينما عند فحص المظهر الخارجي لكلى الحيوانات المحقونة بـ 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام ظهرت عدة تغيرات منها شحوب لون الكلى ونقص في المادة الدهنية الموجودة حولها (شكل 2-4) ، مقارنة مع مجموعة السيطرة للمدة نفسها وازدياد الشحوب في اللون ونقص المادة الدهنية بصورة كبيرة بزيادة مدة الحقن (14 يوماً) وبالتركيز نفسه مقارنة مع مجموعة السيطرة للمدة نفسها وحسب الشكل (3-4).



شكل (1-4): المظهر الخارجي لكلى الفئران البيض في حيوانات السيطرة يظهر فيها الشكل واللون الطبيعي للكلى و المادة الدهنية (F: Fat) المحيطة بالكلى (K: Kidney).



شكل (2-4): المظهر الخارجي لكلى الفئران البيض في الحيوانات المحقونة بـ 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام يظهر فيها بداية شحوب الكلى واختفاء جزئي للمادة الدهنية المحيطة بالكلى (F: Fat) المحيطة بالكلى (K: Kidney).



شكل (3-4): المظهر الخارجي لكلى الفئران البيض في الحيوانات المحقونة بـ 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً يظهر فيها شحوب الكلى و اختفاء المادة الدهنية المحيطة بالكلى (K: Kidney).

3-4 التغيرات الوزنية Weight changes

1-3-4 أوزان اجسام الحيوانات Weight of animal bodies

أظهرت النتائج حصول انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في متوسط اوزان الحيوانات المحقونة بداخل البريتون بتركيز 150 ملغم/كغم ولمدة 14 يوماً من دقائق اوكسيد الزنك النانوي حيث سجلت اوزان بمعدل 23.52 غم مقارنة مع مجموعة السيطرة بمعدل اوزان 27.08 غم ، بينما لم تظهر مدة الحقن سبعة ايام اي فرق معنوي ($P > 0.05$) في معدل اوزان اجسامها عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة على الرغم من فقدان اوزانها بشكل طفيف عند المقارنة مع المجموعة نفسها قبل الحقن (الجدول 1-4).

الجدول (1-4): يوضح التغيرات في اوزان اجسام جميع حيوانات التجربة قبل وبعد الحقن

اوزان الجسم (غم)		مدة الحقن / يوم	المجاميع المحقونة
بعد الحقن	قبل الحقن		
a0.68±29.75	0.28±29.35	7	السيطرة
a1.68±29.95	2.10±31.02	7	ZnO NPs 150 ملغم/كغم
a0.81±27.08	0.73±24.08	14	السيطرة
b0.64±23.52	0.45±24.06	14	ZnO NPs 150 ملغم/كغم

تمثل القراءات المتوسط الحسابي لأوزان أجسام الحيوانات ± الخطأ القياسي، الحروف المتشابهة عمودياً دلالة على عدم وجود فروق معنوية بين القراءات ($P>0.05$) بينما الحروف المختلفة عمودياً بين القراءات تدل على وجود فروق معنوية ($P\leq 0.05$).

4-3-2 أوزان وابعاد الكلى Kidney weights and diameters

لم تسجل الدراسة فروقاً معنوية في اوزان وابعاد الكلى في الفئران المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدد سبعة و 14 يوماً مقارنة مع مجاميع السيطرة (جدول 2-4 و 3-4). الجدول (2-4): يوضح اوزان كلى حيوانات السيطرة والحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً.

اوزان الكلى (ملغم)	مدة الحقن / يوم	المجاميع المحقونة
a 0.02±0.23	7	السيطرة
a 0.02±0.24	7	ZnO NPs 150 ملغم/كغم
a 0.02±0.23	14	السيطرة
a 0.01±0.22	14	ZnO NPs 150 ملغم/كغم

تمثل القراءات المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي، الحروف المتشابهة عمودياً دلالة على عدم وجود فروق معنوية بين القراءات ($P>0.05$).

الجدول (3-4): يوضح ابعاد الكلى (الطول-العرض-الارتفاع) في حيوانات السيطرة والحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً.

ابعاد الكلى (لم)			مدة الحقن/ يوم	الحيوانات المحقونة
الارتفاع	العرض	الطول		
a0±0.50	a0.03±0.65	a0.03±1.15	7	السيطرة
a0.02±0.52	a0.02±0.62	a0.04±1.12	7	ZnO NPs 150ملغم/كغم
a0.03±0.53	a0.03±0.65	a0.03±1.13	14	السيطرة
a0±0.50	a0±0.60	a0.01±1.11	14	ZnO NPs 150ملغم/كغم

تمثل القراءات المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي، الحروف المتشابهة عمودياً دلالة على عدم وجود فروق معنوية بين القراءات ($P>0.05$).

4-4 الدراسة الوظيفية Physiological study

1-4-4 تركيز البولينا Urea concentration

اظهرت النتائج الاحصائية لهذه الدراسة وجود زيادة معنوية ($P\leq 0.05$) في نسبة تركيز البولينا في

مصل الفئران المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً

مقارنة مع مجموعة السيطرة (الجدول 4-4).

الجدول (4-4): يوضح التغيرات في تركيز البولينا (ملغم/ديسيلتر) بين حيوانات السيطرة وبين الحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً.

المجاميع المحقونة	مدة الحقن / يوم	تركيز البولينا/ملغم/ديسي لتر \pm SE
السيطرة	7	a 2.04 \pm 36.00
150 ملغم/كغم ZnO NPs	7	b 1.84 \pm 41.50
السيطرة	14	a 1.25 \pm 37.25
150 ملغم/كغم ZnO NPs	14	b 0.75 \pm 41.17

تمثل القراءات المتوسط الحسابي \pm الخطأ القياسي، الحروف المتشابهة عمودياً دلالة على عدم وجود فروق معنوية بين القراءات ($P>0.05$)، بينما الحروف المختلفة عمودياً بين القراءات تدل على وجود فروق معنوية بين القراءات ($P\leq 0.05$).

4-4-2 تركيز الكرياتينين Creatinine concentration

اظهرت النتائج وجود زيادة معنوية ($P\leq 0.05$) واضحة في نسبة تركيز الكرياتينين في مصل دم الحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول 4-5).

الجدول (4-5): يوضح التغيرات في تركيز الكرياتينين (ملغم/ديسيلتر) بين حيوانات السيطرة وبين الحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً.

المجاميع المحقونة	مدة الحقن / يوم	تركيز الكرياتينين (ملغم/ديسي لتر)
السيطرة	7	a 0.11 \pm 0.88
150 ملغم/كغم ZnO NPs	7	b 0.19 \pm 1.45
السيطرة	14	a 0.12 \pm 0.92
150 ملغم/كغم ZnO NPs	14	b 0.17 \pm 1.40

تمثل القراءات المتوسط الحسابي \pm الخطأ القياسي، الحروف المتشابهة عمودياً دلالة على عدم وجود لفروق معنوية بين القراءات ($P>0.05$)، بينما الحروف المختلفة عمودياً بين القراءات تدل على وجود فروق معنوية بين القراءات ($P\leq 0.05$).

4-4-3 تركيز حامض البوليك Uric Acid concentration

اظهرت نتائج نسبة تركيز حامض البوليك (ملغم/ديسيلتر) في المصل على عدم وجود فروق معنوية بين الحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وبين مجموعات السيطرة للمدتين سبعة و 14 يوماً (جدول 4-6).

الجدول (4-6): يوضح نسبة تركيز حامض البوليك (ملغم/ديسيلتر) في حيوانات السيطرة والحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي للمدتين سبعة و 14 يوماً.

المجاميع المحقونة	مدة الحقن / يوم	تركيز حامض البوليك (ملغم/ديسيلتر)
السيطرة	7	a 0.31±4.10
150 ملغم/كغم ZnO NPs	7	a 0.65±5.37
السيطرة	14	a 0.44±3.88
150 ملغم/كغم ZnO NPs	14	a 0.45±3.73

تمثل القراءات المتوسط الحسابي \pm الخطأ القياسي، الحروف المتشابهة عمودياً دلالة على عدم وجود فروق معنوية بين القراءات ($P>0.05$).

4-4-5 التغيرات البايومترية النسيجية Biometric Histological Changes**4-5-1 أقطار الكبيبات Diameters of glomeruli**

بينت نتائج هذه الدراسة وجود انخفاض معنوي ($P\leq 0.05$) في قياسات أقطار الكبيبات بين مجموعة الحيوانات المحقونة بمادة دقائق اوكسيد الزنك النانوي بتركيز 150 ملغم/كغم وبين مجموعة السيطرة لمدة 14 يوماً بينما لم تظهر مدة الحقن سبعة ايام اي فروق معنوية ($P>0.05$) في قياسات أقطار الكبيبات عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة ولمدة الحقن نفسها (جدول 4-7).

الجدول (4-7): يوضح معدل أقطار الكبيبات في كلى حيوانات السيطرة وكلى الفئران المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً

معدل قطر الكبيبة (مايكرومتر)	مدة الحقن/يوم	المجاميع المحقونة
a 2.30± 53.68	7	السيطرة
a 1.69±53.96	7	ZnO NPs/ملغم 150
a 3.09±61.86	14	السيطرة
b 3.60±49.91	14	ZnO NPs 150 ملغم/كغم

تمثل القراءات المتوسط الحسابي \pm الخطأ القياسي، الحروف المتشابهة عمودياً دلالة على عدم وجود فروق معنوية بين القراءات ($P>0.05$)، بينما الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين القراءات ($P\leq 0.05$).

4-5-2 أقطار الجسيمات الكلوية ومسافة فسحة محفظة بومان

Renal corpuscle diameter and Bowman's Capsule Space

أوضحت نتائج هذه الدراسة وجود زيادة معنوية ($P\leq 0.05$) في قياس طول فسحة محفظة بومان في المجاميع المحقونة بتركيز 150 ملغم /كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً عند مقارنتها مع مجاميع السيطرة لمدة الحقن نفسها، اما أقطار الجسيمات الكلوية renal corpuscle diameter في الفئران المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً فلم تظهر فروق معنوية ($P>0.05$) عند مقارنتها مع مدد التعرض نفسها في حيوانات السيطرة (الجدول 4-8).

الجدول (4-8): يوضح أقطار الجسيمات الكلوية ومسافات فسح محفظة بومان لحيوانات السيطرة والحيوانات المحقونة بـ 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً.

المجاميع المحقونة	مدة الحقن/ يوم	قطر الجسيمة الكلوية (مايكرومتر)	فسحة محفظة بومان (مايكرومتر)
السيطرة	7	a 1.95 ± 62.80	a 0.56± 9.12
150ملغم/كغم ZnO NPs	7	a 2.75 ±68.50	b 1.51±14.54
السيطرة	14	a 3.19 ±69.59	a 0.99±7.74
150ملغم/كغم ZnO NPs	14	a 4.06± 65.01	b 1.18±15.10

تمثل القراءات المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي، الحروف المتشابهة عمودياً دلالة على عدم وجود فروق معنوية بين القراءات ($P>0.05$)، بينما الحروف المختلفة عمودياً تدل على وجود فروق معنوية بين القراءات ($P\leq 0.05$).

4-5-3 أقطار النبيبات الملفوفة الدانية والقاصية

Diameters of Proximal and Distal convoluted tubules

أظهرت القياسات البايومترية لهذه الدراسة وجود زيادة معنوية واضحة ($P\leq 0.05$) في أقطار النبيبات الكلوية الدانية والقاصية في المجاميع المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً عند مقارنتها مع مجاميع السيطرة لمدد الحقن نفسها (جدول 4-9).

الجدول(4-9): يوضح اقطار النبيبات الدانية والقاصية للفئران المحقونة بـ 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ومجاميع السيطرة وللمدتين 7 و 14 يوماً.

المجاميع المحقونة	مدة الحقن/يوم	قطر النبيب الداني (مايكرومتر)	قطر النبيب القاصي (مايكرومتر)
السيطرة	7	a 0.67±34.65	a 1.94±35.59
ZnO NPs 150 ملغم/كغم	7	b1.03±40.49	b 0.82±40.57
السيطرة	14	a1.03±36.91	a 0.89±36.95
ZnO NPs 150 ملغم/كغم	14	b1.79±40.61	b 2.12±40.85

تمثل القراءات المتوسط الحسابي \pm الخطأ القياسي، الحروف المتشابهة عمودياً دلالة على عدم وجود لفروق معنوية بين القراءات ($P>0.05$)، بينما الحروف المختلفة عمودياً تدل على وجود فروق معنوية بين القراءات ($P\leq 0.05$).

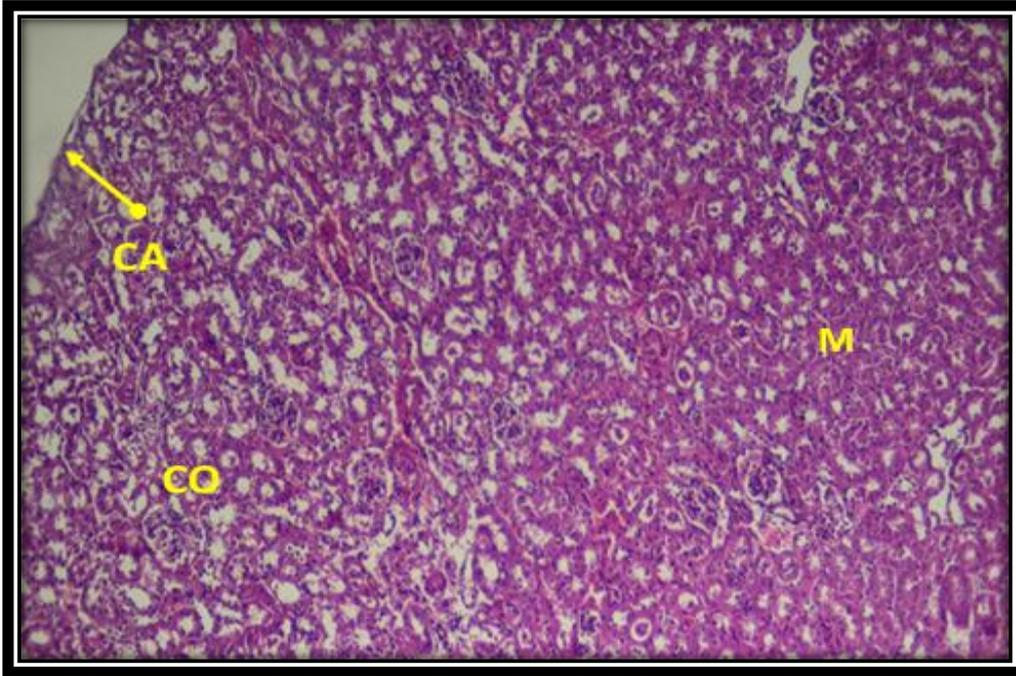
4-6 التغيرات النسجية Histological changes

4-6-1 تركيب الكلى النسجي في مجموعة السيطرة

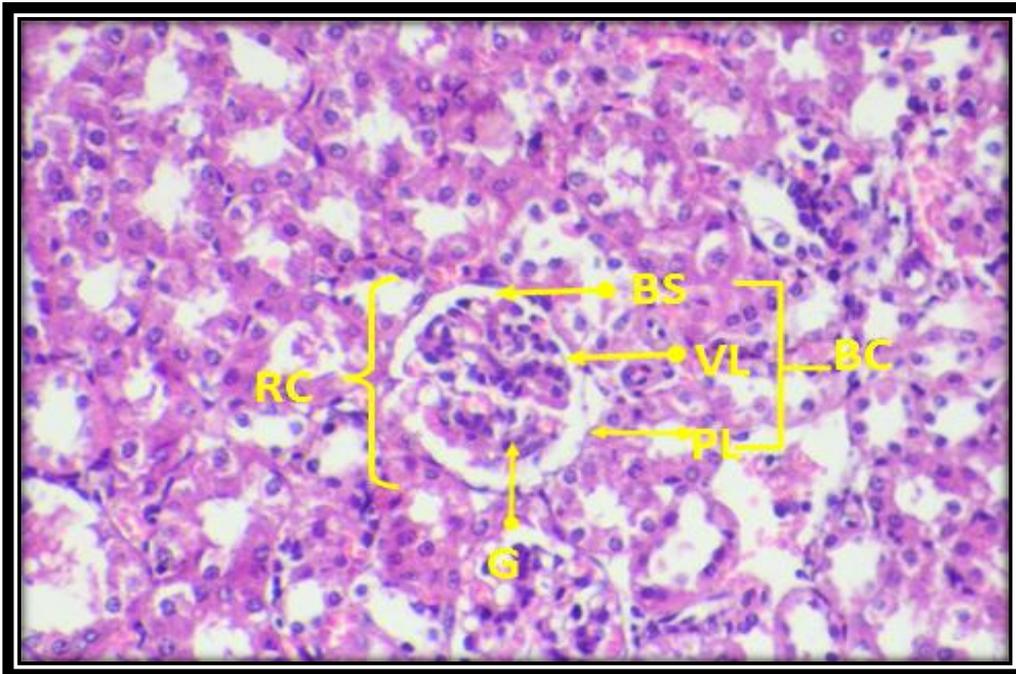
Histological structure of kidney in control group

أظهر التشريح العياني لكلى مجاميع السيطرة في ذكور الفئران البيض *Mus musculus* انها تتمثل بتركيب يكون على شكل يشبه بذرة الفاصوليا Bean shape ، ويكون سطحه الخارجي أملس ولونه أحمر قان ، وتتواجد في الجهة الظهرية من التجويف البطني (تحت الحجاب الحاجز) على جانبي العمود الفقري. تستقر الكلى في النسيج الدهني وتغطي بمحفظة ليفية رقيقة من النسيج الضام الهللي Areolar connective tissue. اظهر الفحص النسجي لكلى فئران السيطرة عدم وجود تغيرات في التركيب النسجي لأجزاء الكلى المختلفة مثل القشرة Cortex وهي المنطقة الخارجية والللب Medulla التي تمثل المنطقة الداخلية من الكلى (شكل 4-4)، اذ تظهر انوية الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية والسيتوبلازم

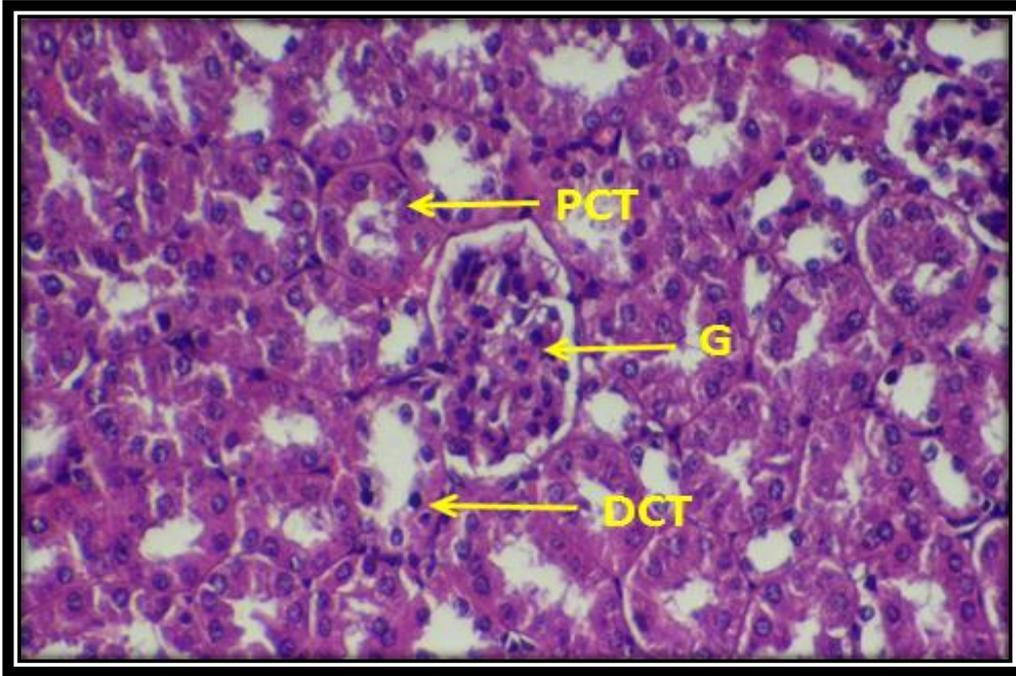
بصورة طبيعية مع عدم وجود علامات التهابية أو تنكسية ، ووجود الجسيمة الكلوية Renal corpuscles التي تظهر بصورة طبيعية في منطقة القشرة والمتكونة من الكبيبات Glomeruli المحاطة بمحفظة بومان Bowman's capsule . تتالف الكبيبات بصورة عامة من بعض الخلايا وشبكة من الاوعية الدموية الشعرية وتتنوع في قشرة النسيج الكلوي اما محفظة بومان فتتكون من طبقتين، الطبقة الاولى هي الجدارية Parietal Layer التي تتكون من خلايا ظهارية حرشفية بسيطة Simple squamous epithelial cell والطبقة الاخرى هي الطبقة الاحشائية Visceral layer التي تكون بتماس مباشر مع الكبيبة اما فسحة محفظة بومان Bowman's capsula space فتتواجد بين الطبقتين (شكل 4-5) . تتصل محفظة بومان بالنبيب الملفوف الداني Proximal convoluted tubules (PCT) التي تتميز بطائته باحتوائها على نسيج ظهاري مكعبي بسيط Simple cuboidal epithelium يستند الى الغشاء القاعدي Basement membrane ، تكون نواة خلايا النسيج غامقة الصبغة ومركزية الموقع وذات شكل كروي ويحمل السطح الحر للخلايا زغيبات تعرف بالحافة الفرشائية Brush border . يتصل النبيب الملفوف الداني عند نهايته مع عروة هنلي Henle's loop (بجزئها السميك والنحيف التي تتواجد في منطقة اللب) التي بدورها تتصل مع النبيب الملفوف القاصي Distal convoluted tubules (DCT) الذي يبطن بظهارة مكعبية بسيطة Simple cuboidal epithelium تستند الى الغشاء القاعدي تكون خلايا الظهارة مكعبية الشكل، افتح لوناً وسطحها الحر خالٍ من الحافة الفرشائية لذا يظهر تجويف النبيب الملفوف القاصي اوسع قطرا من تجويف النبيب الملفوف الداني (شكل 4-6) . وبينت المقاطع النسجية ايضا وجود النبيبات الجامعة Collecting Tubules التي تبطن بنسيج مكعبي بسيط تكون خلاياه ذات هيولي Cytoplasm باهت وتحتوي على نواة كروية الشكل تقع بالقرب من قاعدة الخلية وتكون ذات لون غامق (شكل 4-7) .



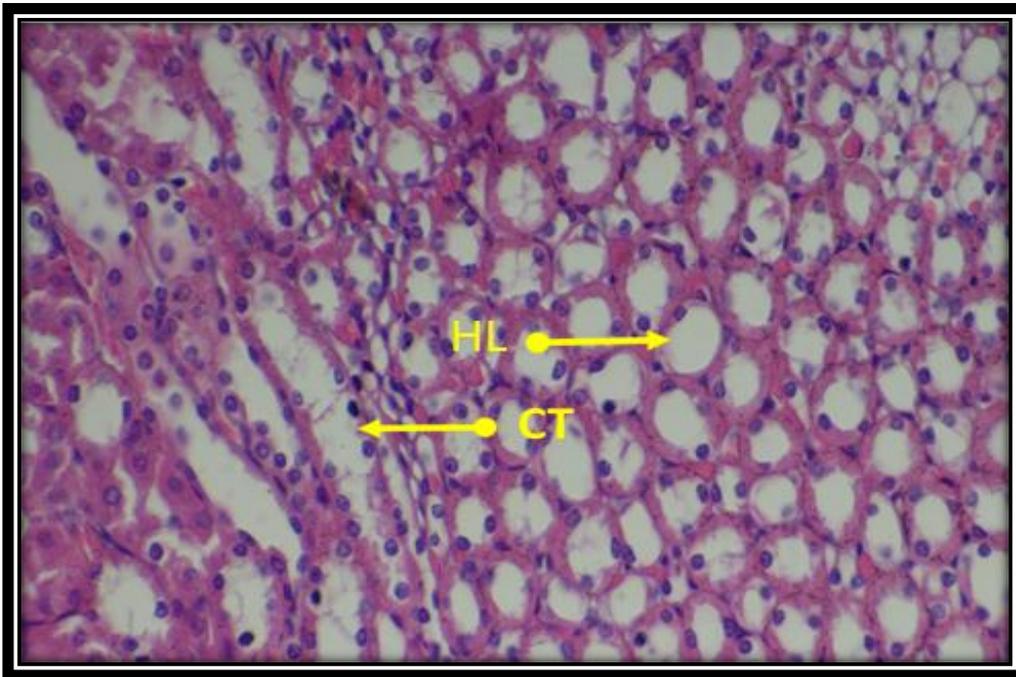
شكل (4-4): مقطع مستعرض في كلى احد حيوانات السيطرة يوضح التركيب النسيجي الطبيعي للكلى والمتمثل بالمحفظة (CA: Capsule) و القشرة (CO: Cortex) والللب (M: Medulla) (ملون H+E ، 100 X).



شكل (4-5): مقطع مستعرض في كلى احد حيوانات السيطرة يوضح مكونات الجسيمة الكلوية (RC: Renal corpuscle) وتتكون من محفظة بومان (BC: Bowman's capsule) والكبيبة (G: Glomerulus) المحاطة بالطبقة الجدارية لمحفظة بومان (PL: Parital layer) والطبقة الاحشائية (VL: Viscer layer) وفسحة محفظة بومان ما بين الكبيبة ومحفظة بومان (BS: Bowman's space) (ملون H+E ، 400 X).



شكل (4-6): مقطع مستعرض في كلى احد حيوانات السيطرة يوضح الشكل السوي للكبيبة (G:Glomerulus) والنبيبات الملفوفة الدانية (PCT: Proximal convoluted tubules) والقاصية (DCT: Distal convoluted tubule) (ملون H+E، 400 X).

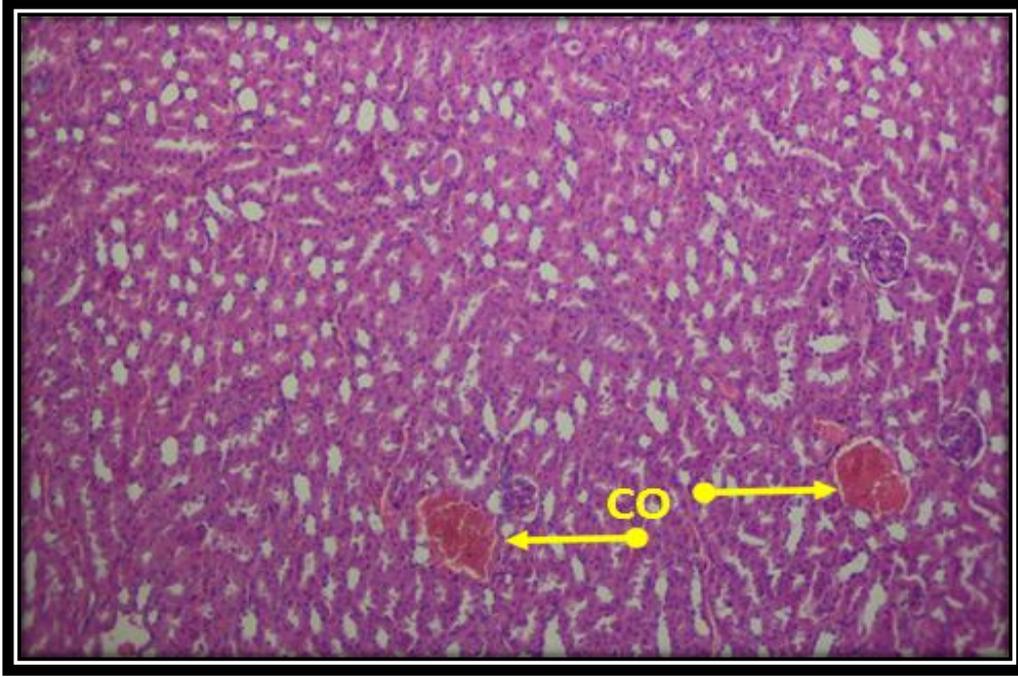


شكل (4-7): مقطع مستعرض في كلى احد حيوانات السيطرة يوضح فيه منطقة اللب ووجود عروة هنلي (HL: Henle's loop) والنبيبات الجامعة (CT: Collecting tubules) (ملون H+E، 400X).

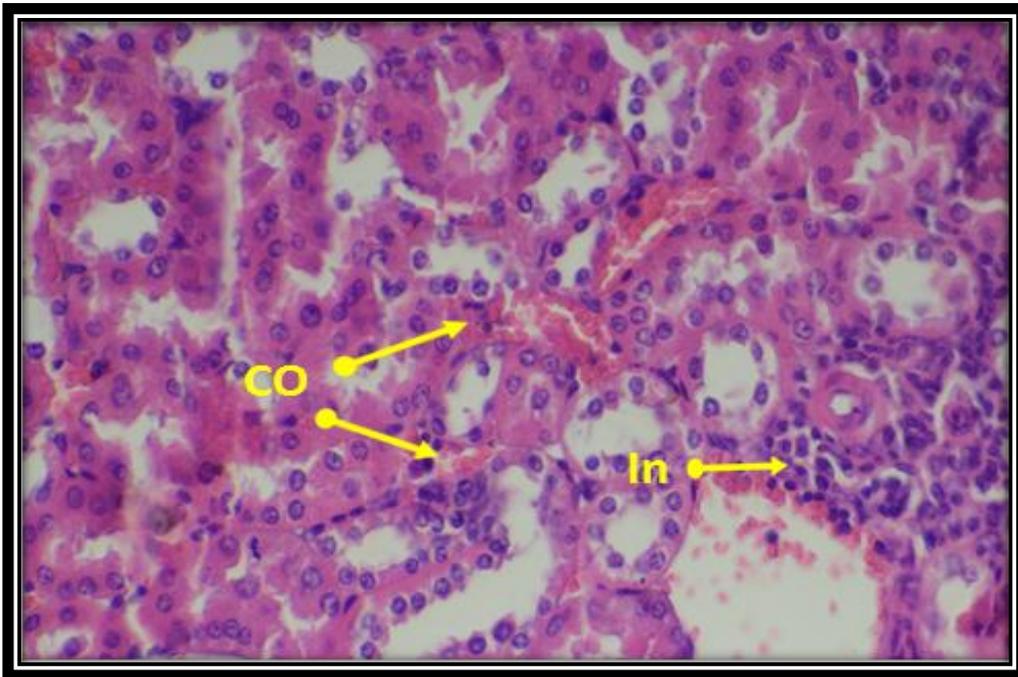
4-6-2 مجموعة الحيوانات المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك

النانوي

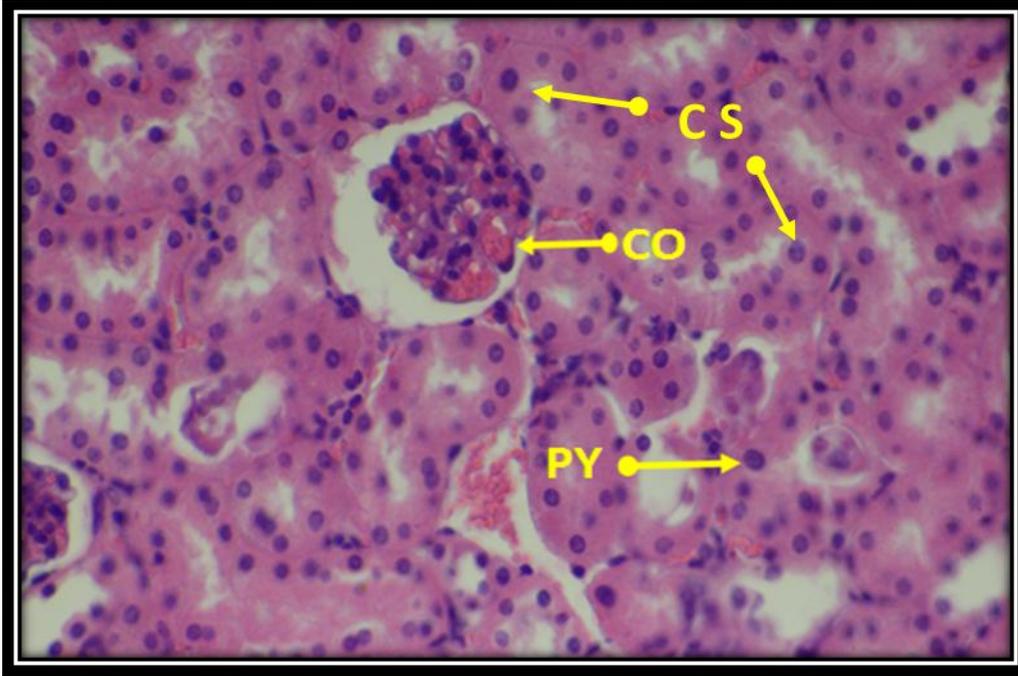
أظهرت المقاطع النسجية لكلى حيوانات التجربة المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً وجود اضرار نسجية عديدة منها احتقان الاوعية الدموية Congestion لمناطق متفرقة من القشرة (شكل 4-8)، وارتشاح الخلايا الالتهابية احادية النواة Mononuclear Cell Infiltration بالقرب من الاوعية الدموية (شكل 4-9) ، وتورم بعض الخلايا Cell Swelling وتغلظ انويتها Pyknotic nuclei ادى الى تضيق اجواف النيببات الكلوية تبعاً لذلك (شكل 4-10)، وضمور Atrophy وتنخر Necrosis بعض الانوية والخلايا المبطنة للنيببات (شكل 4-11)، فضلاً عن انفصال خلايا البطانة الظهارية للنيببات عن الغشاء القاعدي Sloughing وتكون قوالب الكالسيوم Calcium داخل النيببات (شكل 4-12). وفي منطقة القشرة لوحظ توسع فسحة محفظة بومان Expansion (شكل 4-13) وانكماش بعض الكبيبات Shrinkage (شكل 4-14) فضلاً عن تضرر وتنكس العديد من الكبيبات الكلوية Degeneration (شكل 4-15). كما لوحظ في بعض المقاطع فقدان تام لبعض الكبيبات Loss of Glomeruli شكل (4-16) واحتقان الفسح في منطقة اللب بين أجزاء عروة هنلي بكريات الدم الحمر وتضخم بعض الخلايا المبطنة للنيببات Hypertrophy (شكل 4-17). وقد ازداد التضرر بزيادة مدة الحقن (14 يوماً) اذ ازداد ظهور قوالب الكالسيوم والاحتقان الدموي في الحيوانات المحقونة بالتركيز نفسه (الاشكال من 4-18 الى 4-26).



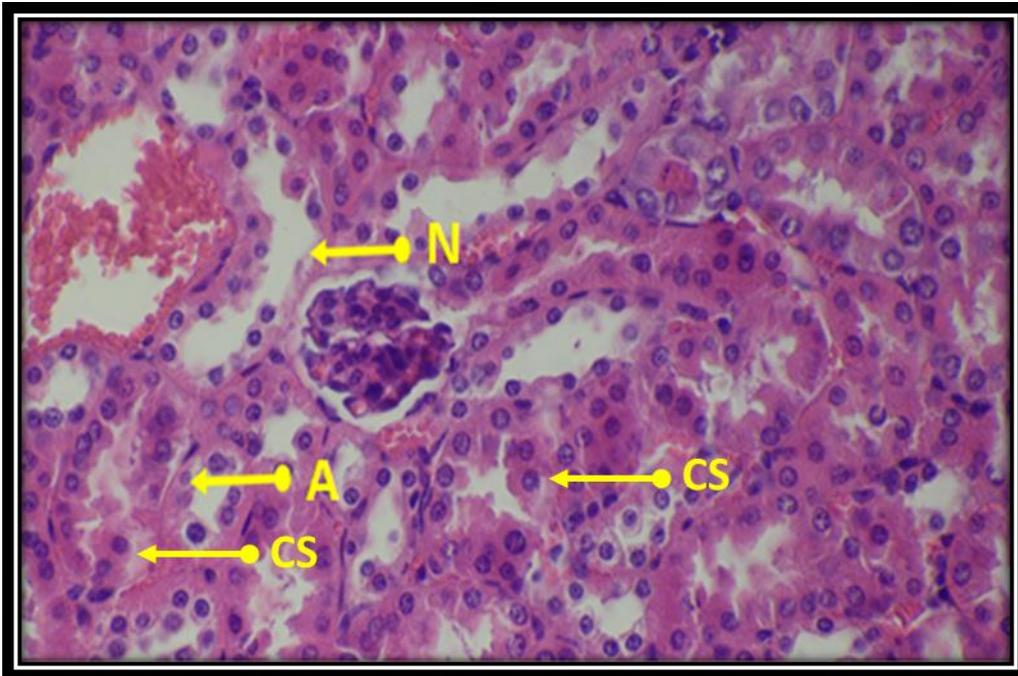
شكل (4-8): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام تظهر فيه الاحتقان الدموي للأوعية الدموية (CO:Congestion) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 100 X).



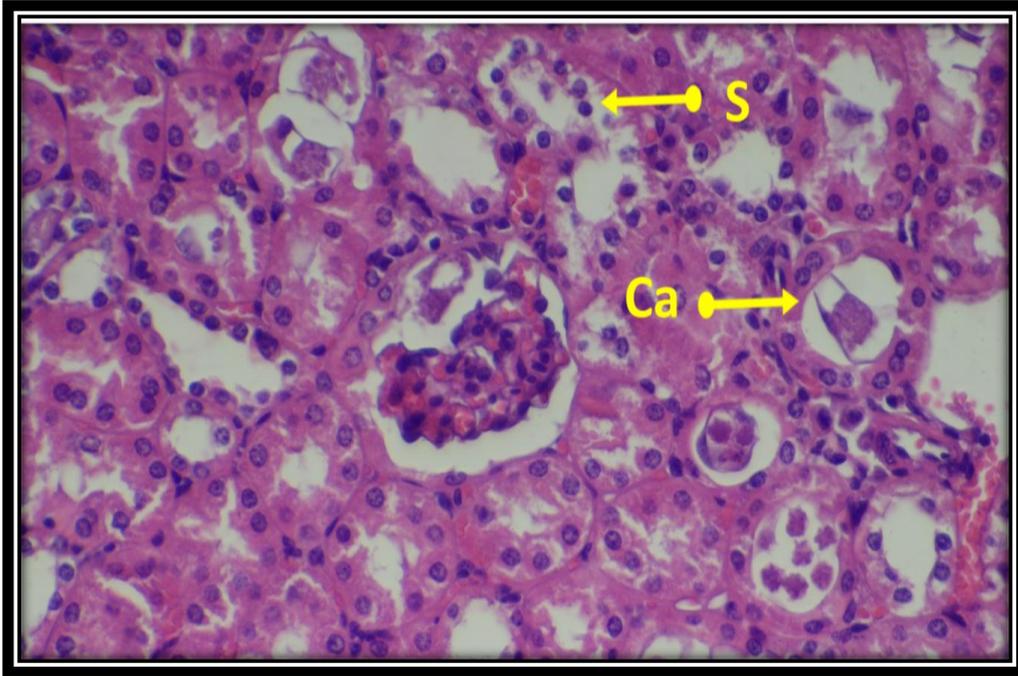
شكل (4-9): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام تظهر فيه احتقان الاوعية الدموية بين النبيبات الكلوية (CO:Congestion) وارتشاح الخلايا الالتهابية احادية النواة Mononuclear cell في منطقة القشرة (In: Infiltration) (ملون H+E ، 400 X).



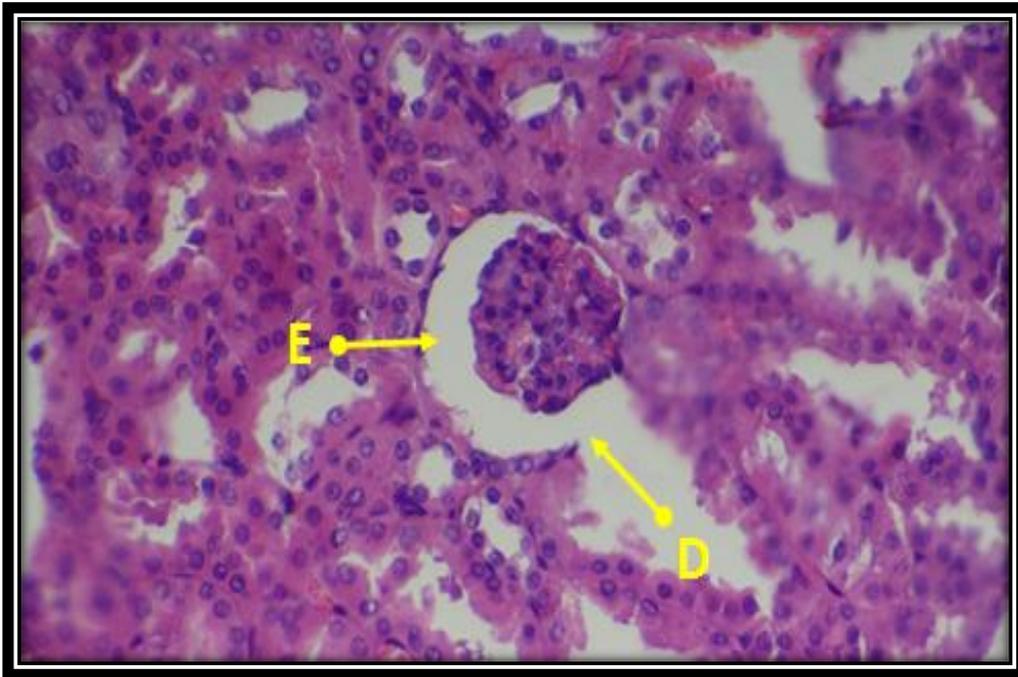
شكل (4-10): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام تظهر فيه منطقة القشرة وفيها الاحتقان الدموي داخل الكبيبة وتورم الخلايا (CO: Congestion) وتغلظ انوية بعض خلايا النبيبات (CS: Cell swelling) (ملون H+E ، 400 X). (Py: Pyknotic nuclei)



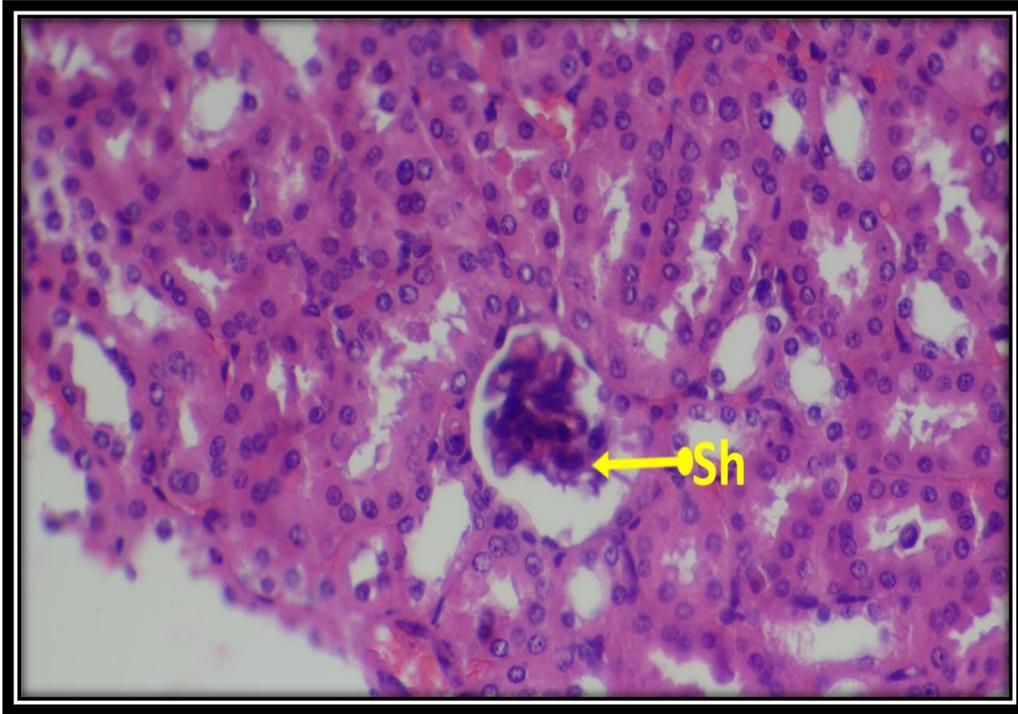
شكل (4-11): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام تظهر فيه ضمور (A: Atrophy) وتخر (N: Necrosis) بعض انوية الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية وتورم الخلايا (CS: Cell swelling) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 400 X).



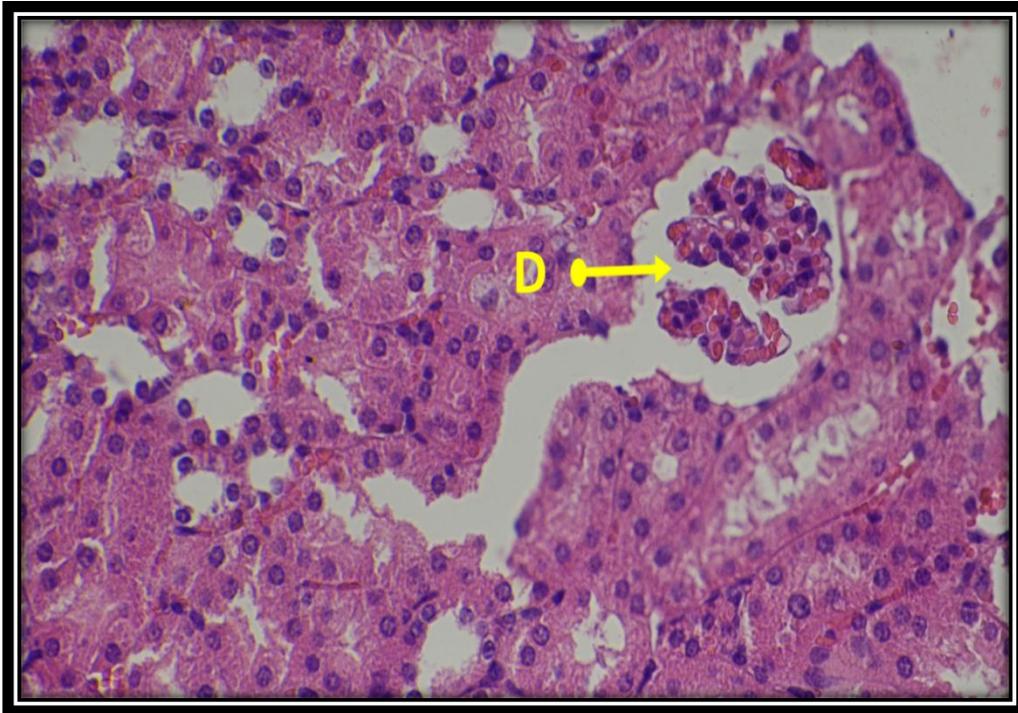
شكل (4-12): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام تظهر فيه انفصال الخلايا الظهارية المبطننة للنيبيات عن الغشاء القاعدي (S:Sloughing) وتكون قوالب الكالسيوم داخل النيبيات (Ca:Calcium) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 400 X).



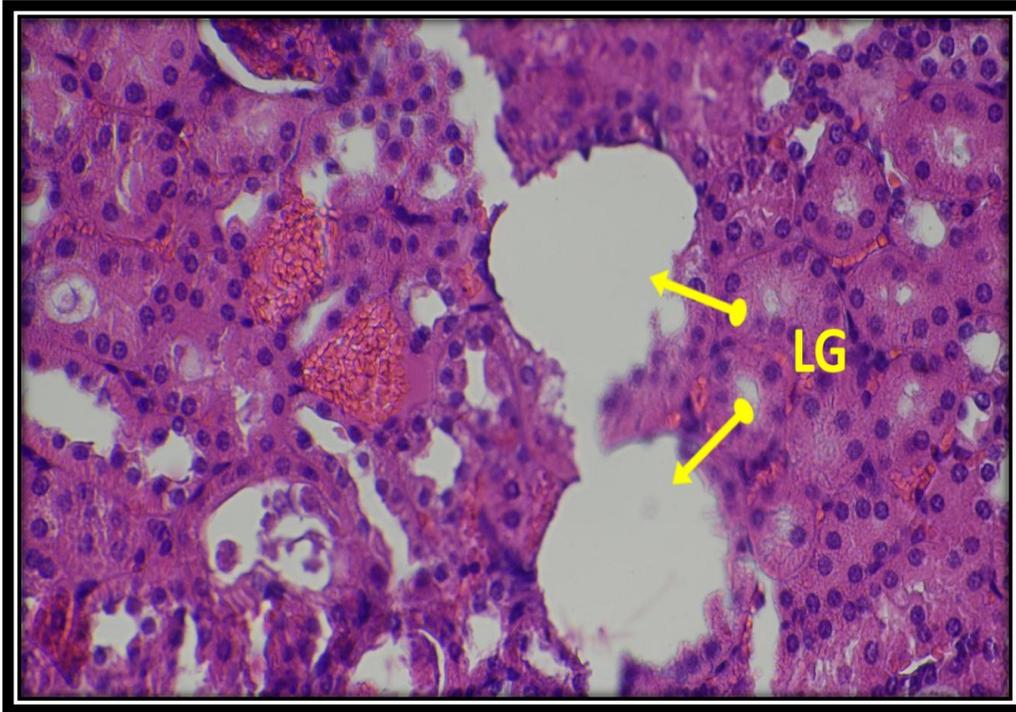
شكل (4-13): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام تظهر فيه تضرر محفظة بومان (D:Damage) وتوسع فسحة محفظة بومان (E:Expansion) في منطقة القشرة (ملون H+E، 400X).



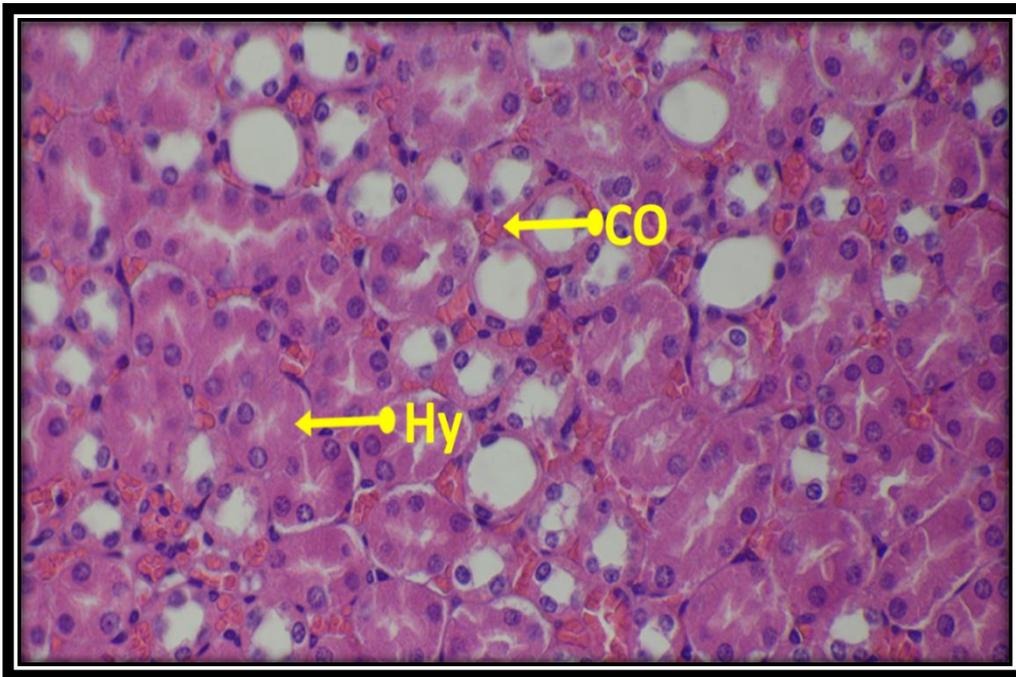
شكل (4-14): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام تظهر فيه انكماش الكبيبة الكلوية (Sh: Shrinkage) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 400 X).



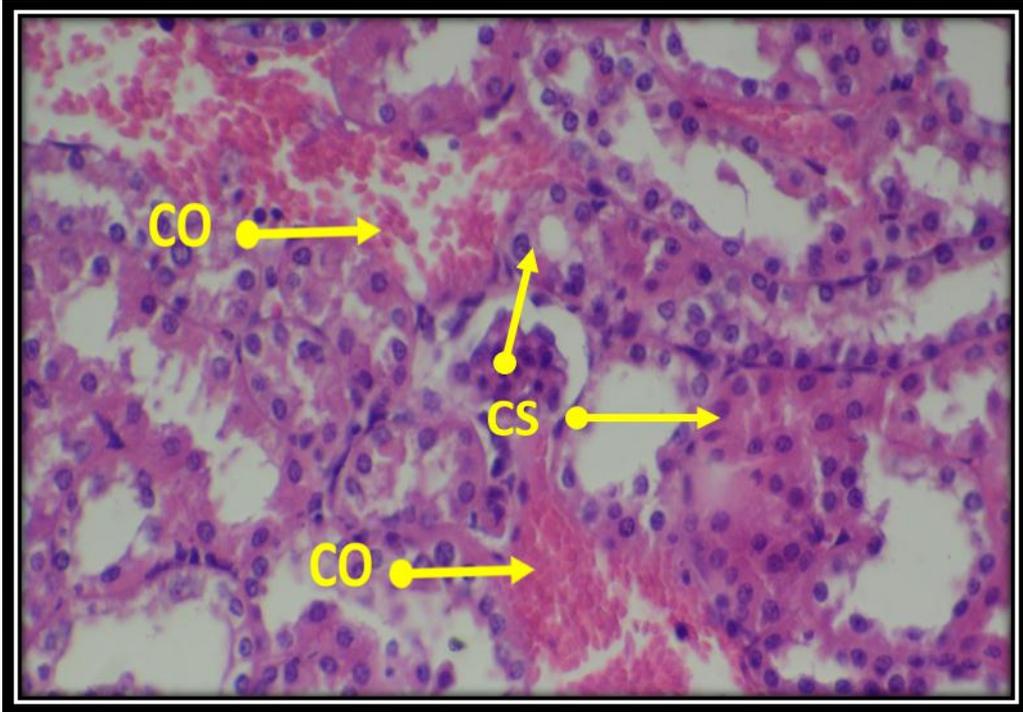
شكل (4-15): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام تظهر فيه تحطم الكبيبة الكلوية (D:Damage) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 400 X).



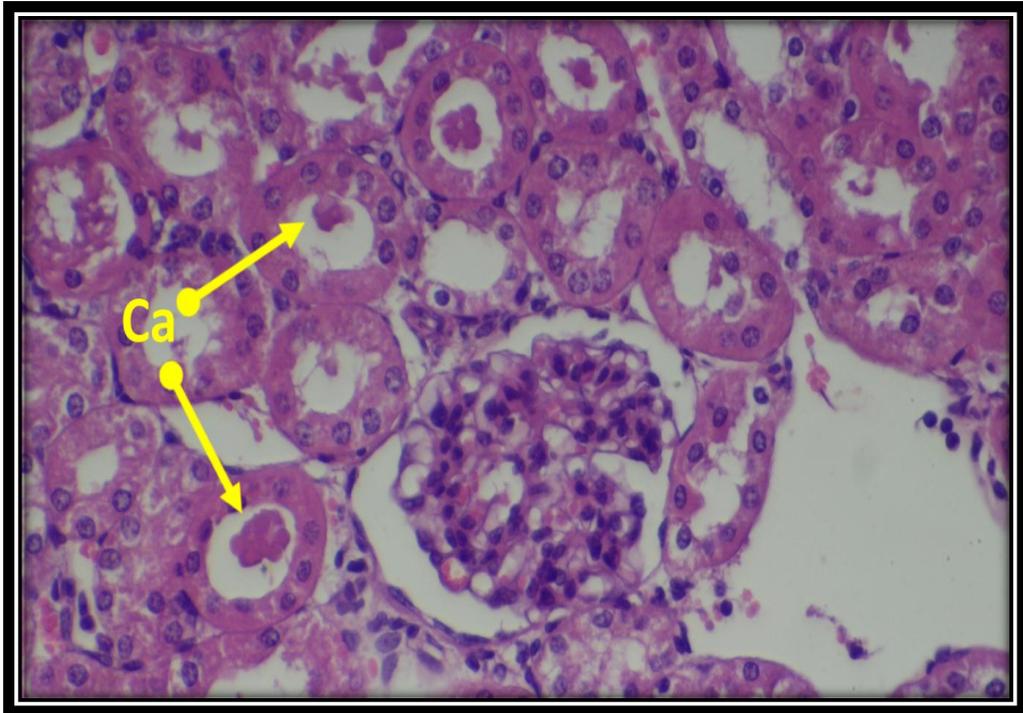
شكل (4-16): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام تظهر فيه فقدان كامل للكبيبة الكلوية (LG: Loss of glomerulus) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 400 X).



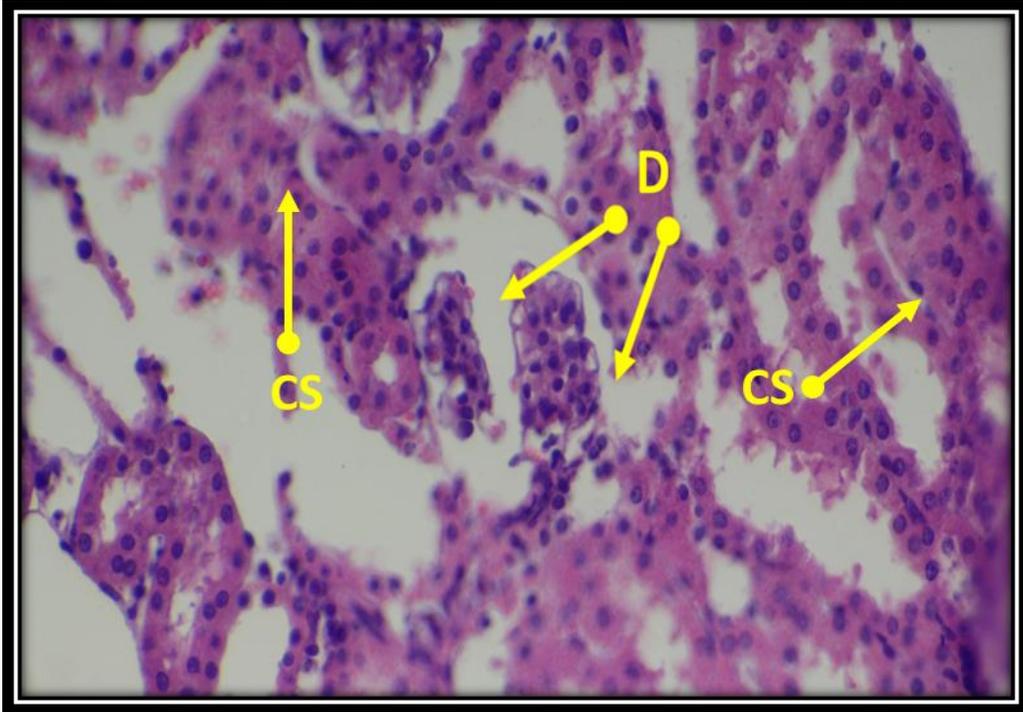
شكل (4-17): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام تظهر فيه الاحتقان الدموي في الفسح بين اجزاء عروة هنلي (CO: Congestion) وتضخم بعض الخلايا الظهارية المبطنة للبيبات الكلوية (HY: Hypertrophy) في منطقة اللب (ملون H+E ، 400 X).



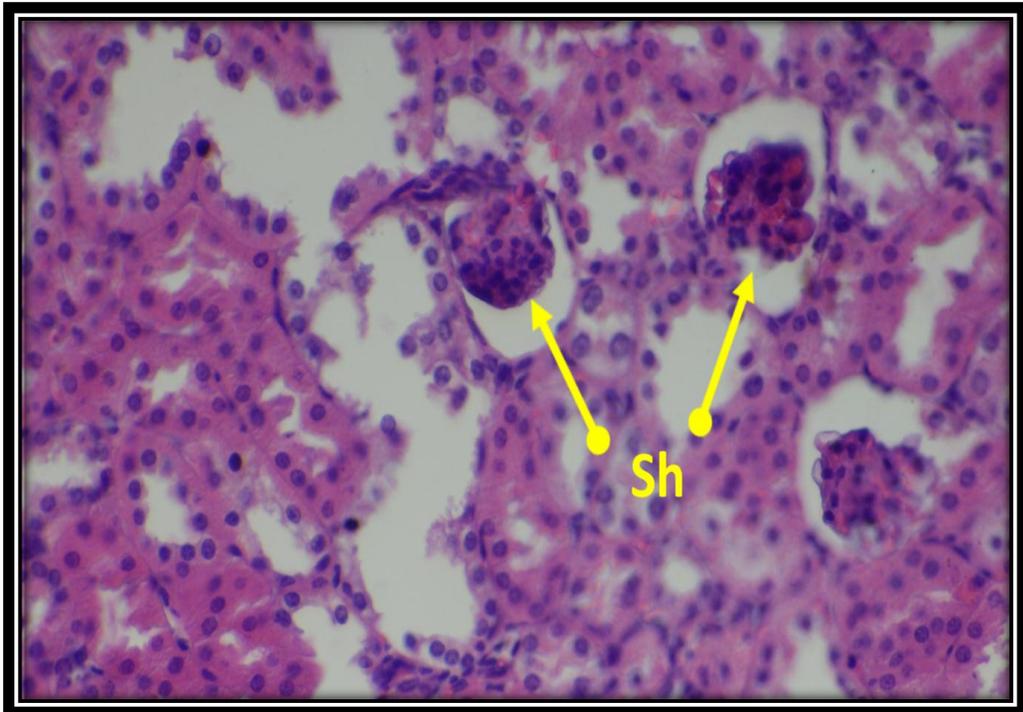
شكل (4-18): مقطع مستعرض في كلي أحد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة الاحتقان الدموي بين النبيبات الكلوية (CO: Congestion) وتورم الخلايا (CS: Cell swelling) في منطقة القشرة (ملون H+E، 400 X).



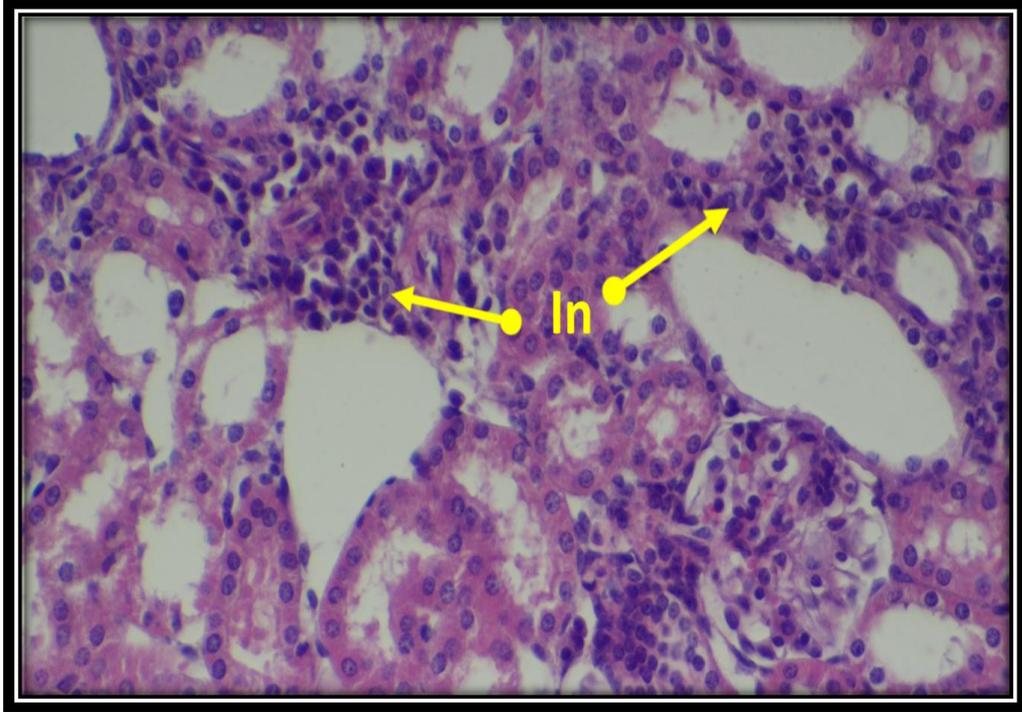
شكل (4-19): مقطع مستعرض في كلي أحد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة تكون قوالب الكالسيوم داخل النبيبات (Ca:Calcium) في منطقة القشرة (ملون H+E، 400 X).



شكل (4-20): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً تظهر فيه تنكس الكبيبة الكلوية وتضرر محفظة بومان (D: Degeneration) وتورم الخلايا (CS: Cell swelling) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 400 X).



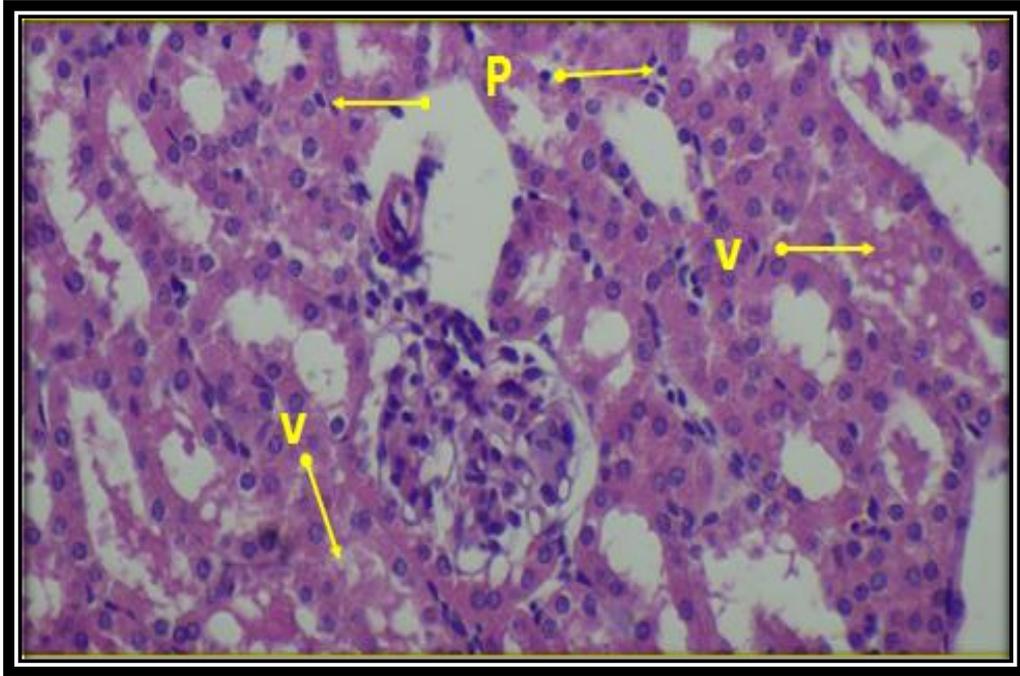
شكل (4-21): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة اعداد انكماش الكبيبات الكلوية (Sh: Shrinkage) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 400 X).



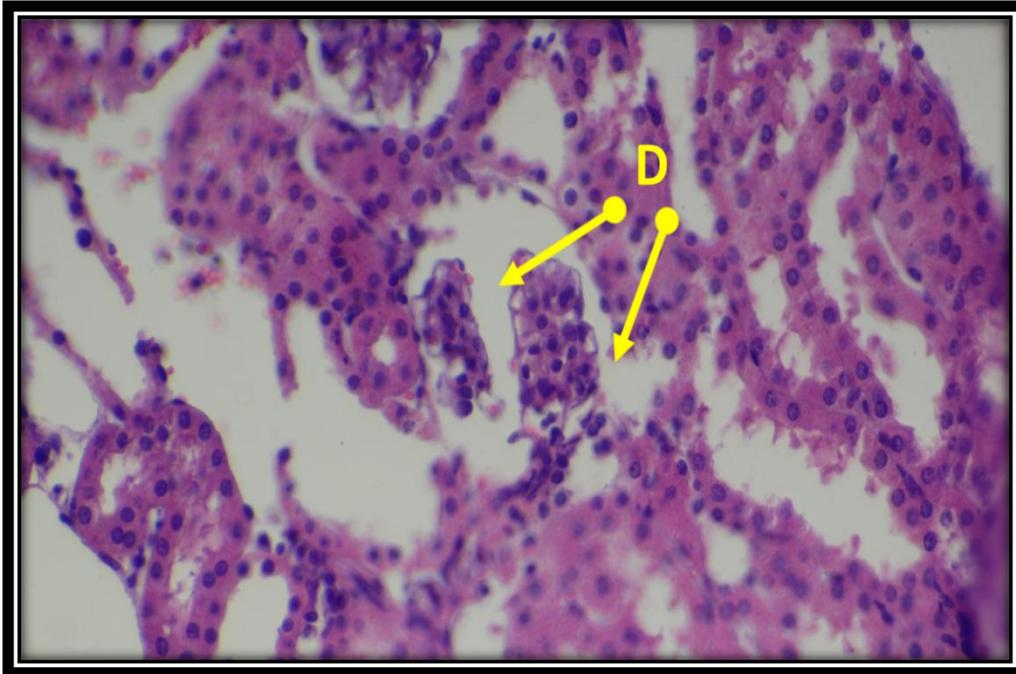
شكل (4-22): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة ارتشاح الخلايا الالتهابية احادية النواة في النسيج الخلالي (In: Infiltration) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 400 X).



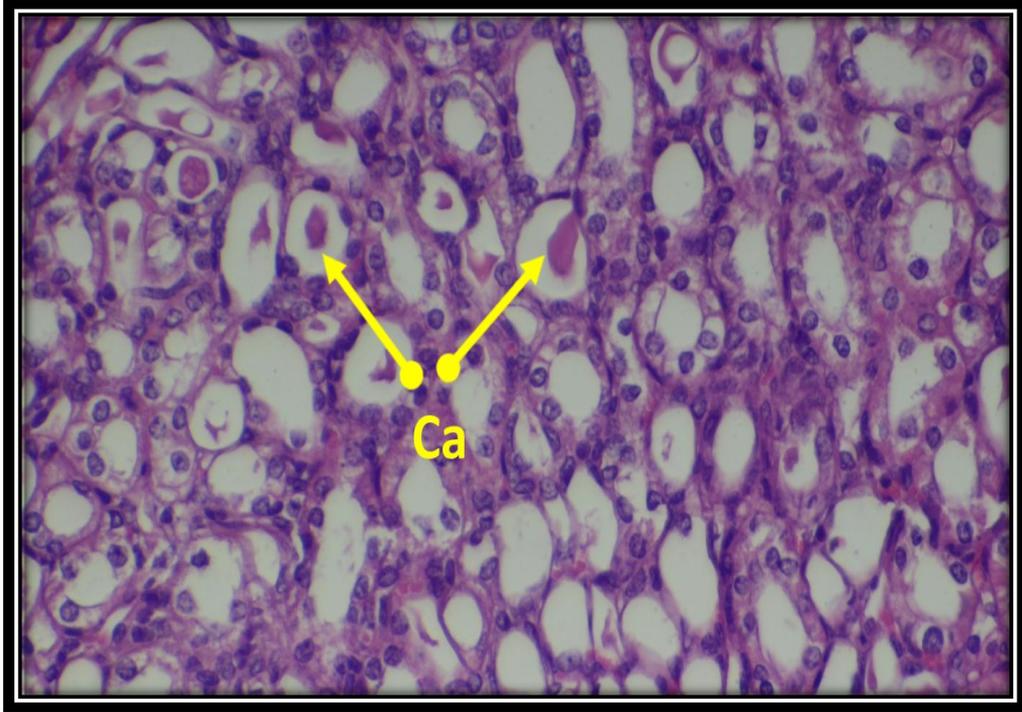
شكل (4-23): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً تظهر فيه شكل قوالب الكالسيوم داخل النيبات (Ca:Calcium) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 1000 X).



شكل (4-24): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة تغلظ انوية بعض الخلايا (P:Pyknotic) وتفجى سيتوبلازم الخلايا في منطقة القشرة (V:Vacuolation) (ملون H+E ، 400 X).



شكل (4-25): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً تظهر فيه تحطم وتضرر الكبيبة الكلوية ومحفظة بومان (D:Damage) في منطقة القشرة (ملون H+E ، 400 X).



شكل (4-26): مقطع مستعرض في كلى احد الفئران البيض المحقونة بتركيز 150ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً تظهر فيه زيادة تكون قوالب الكالسيوم داخل النبيبات (Ca:Calcium) في منطقة اللب (ملون H+E ، 400 X).

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

5- المناقشة Discussion

أظهرت نتائج الدراسة الحالية عدداً من التغيرات السلوكية والوزنية لحيوانات التجربة وتغيرات وظيفية ونسجية في كلى حيوانات التجربة والتي يمكن مناقشتها كالآتي:

1-5 التغيرات في سلوك واوزان الفئران

The Changes in the Behavior and Weight of Mice

توصلت نتائج الدراسة الحالية الى حدوث بعض التغيرات السلوكية في ذكور الفئران البيض المحقونة داخل تجويف البريتون بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة سبعة أيام والمتمثلة بالخمول والانطواء وتحذب الظهر و فقدان الشهية وازدادت الأعراض السابقة مع زيادة مدة الحقن 14 يوماً إذ أدت الى حصول انخفاض في أوزان أجسام الحيوانات مقارنة مع مجموعة السيطرة ، وسبب ظهور هذه الأعراض قد يرجع الى تراكم وسمية دقائق هذه المادة على جسم الحيوان وبالتالي حدوث هذه التغيرات، أو ربما يرجع السبب الى حصول اضطراب في الجهاز الهضمي او في وظائف الكبد نتيجة الحقن بدقائق اوكسيد الزنك النانوي ، حيث اشارت دراسة السراجي (2018) إن انخفاض أوزان أجسام الحيوانات وانخفاض كمية الشحوم حول الاعضاء يعود الى فقدان الشهية للطعام نتيجة سوء الهضم بسبب تراكم الدقائق النانوية داخل الجهاز الهضمي الناتج من التجريع الفموي.

ومن المظاهر الاخرى التي ظهرت في هذه الدراسة هو تغير لون الكلى الى أحمر شاحب في الحيوانات المحقونة بدقائق اوكسيد الزنك النانوي للمدتين سبعة و14 يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة ذات اللون الأحمر القاني ، وهذا قد يعود الى انكماش الكبيبات الكلوية وقلة وصول الدم الى النسيج الكلوي ، فضلاً عن تحول لون البراز الى اللون البني المخضر في الحيوانات المحقونة لمدة سبعة أيام والى اللون الاسود المخضر في الحيوانات المحقونة لمدة 14 يوماً والذي قد يرجع الى اضطراب وظائف الكبد، ولم

تظهر الدراسة اي اختلاف في ابعاد واوزان الكلى في الحيوانات المحقونة بالمادة النانوية مقارنة مع مجاميع السيطرة، مما يدل على عدم تأثير شكل ووزن الكلى بالمادة النانوية رغم سميتها العالية. في حين أوضحت دراسة عبد الكريم (2017) ان سبب حصول انخفاض في أوزان أجسام الحيوانات وخمولها و تحذب الظهر وفقدان الشهية فضلاً عن تلون البراز بلون بني مخضر يعود الى سمية الدقائق النانوية في الكبد، والتي تعد من الاسباب الرئيسية لحدوث هذه الاعراض ، أما دراسة إدريس (2001) فقد بينت إن سبب ظهور هذه الأعراض يعود الى الاختلال في عمل الكبد للحصول على المغذيات الضرورية .

5-2 التغيرات الوظيفية في الكلى Functional Changes in the Kidney

أظهرت النتائج الاحصائية للدراسة الحالية حصول زيادة معنوية في نسبة تركيز البولينا والكرياتين في مصل الدم Serum للحيوانات المحقونة داخل تجويف البريتون بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و14 يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة، بينما لم يكن هناك فرق معنوي في نسبة تركيز حامض البوليك Uric acid في مصل الدم للحيوانات المحقونة بالدقائق النانوية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة وللمدتين سبعة و14 يوماً، إن السبب في زيادة نسبة تركيز الكرياتين والبولينا في مصل الدم قد يعود الى التأثير السمي لدقائق اوكسيد الزنك النانوي في الكليتين. فيما أشارت دراسة الباحث (2014) Noori *et al.* إن حقن الفئران بـ 300 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي داخل البريتون أدى الى حدوث زيادة في مستوى البولينا والكرياتين خلال ثمانية أيام من الحقن و انخفاض في مستوى تركيز حامض البوليك في مصل الدم وقد يرجع ذلك الى ارتفاع تركيز دقائق اوكسيد الزنك النانوي المستعمل.

في حين بينت دراسة (2016) Fartkhoni *et al.* ان حقن الجرذ بتركيز 30, 50, 70, ملغم/كغم من دقائق ثنائي اوكسيد التيتانيوم النانوية TiO₂ ولمدة 21 يوماً أدت الى حدوث تغيرات قليلة

في مستوى تركيز البولينا وحامض البوليك ولم تؤثر هذه المعاملة في مستوى الكرياتينين. إن نتائج الدراسة الحالية تختلف عن نتائج دراسة (Esmaeillou *et al.* (2013) إذ بين أن معاملة الفئران بدقائق اوكسيد الزنك النانوي عن طريق الفم يوميا وبتركيز 333.33 ملغم/كغم ولمدة خمسة أيام لم تسبب أي اختلاف في نسبة البولينا والكرياتينين وقد يعود السبب إلى اختلاف طريقة التعرض أو قلة مدة التعرض مقارنة مع نتائج الدراسة الحالية .

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتيجة دراسة (Sarhan and Hussein (2014) إذ سجلت حدوث زيادة في نسبة مستوى الكرياتينين والبولينا عند حقن الفئران داخل البريتون تركيز 2000 ملغم/كغم من دقائق الفضة النانوية Ag NPs ولمدة أسبوع ، بينما لم تظهر دراسة (Ben-Slama *et al.* (2015) أية تغيرات وظيفية في مستويات الكرياتينين والبولينا في كلى ذكور الجرذ عند تجريعها بدقائق اوكسيد الزنك النانوي فمويا بتركيز 10 ملغم/كغم ولمدة خمسة ايام وقد يرجع ذلك إلى قلة التركيز المستعمل.

3-5 التغيرات البايومترية النسجية Histological Biometric Changes

1-3-5 اقطار الكبيبات والجسيمات الكلوية

Diameters of Glomerulus and Renal corpuscles

أظهرت النتائج الاحصائية للدراسة الحالية حدوث انخفاض معنوي في معدل أقطار الكبيبات الكلوية لذكور الفئران المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 14 يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة لمدة المعاملة نفسها وقد يرجع السبب إلى انكماش الكبيبات الكلوية الناتج من سمية دقائق اوكسيد الزنك النانوي على خلايا الكبيبة والاعوية الدموية الموجودة فيها، وإن سبب انخفاض قطر الكبيبات (انكماشها) قد يرجع إلى تضرر الكبيبات نتيجة المعاملة وهذا التضرر يؤدي إلى تباطؤ تدفق الدم إلى الكبيبات وبالتالي يقلل من وصول المواد السمية إليها (Ebaid *et al.*, 2007) ,

إن هذه النتائج تتفق مع نتائج دراسة (Ibrahim *et al.*, 2018) إذ لاحظ حصول انكماش وتخرر وتحطم في الكبيبات الكلوية عند حقن الفئران البيض داخل البريتون بجرعتين من تركيز 170 ملغم/كغم من دقائق الذهب النانوية ولمدة أسبوع واحد، أما أقطار الجسيمات الكلوية فلم تظهر اية فروق معنوية عند مقارنتها مع مدتي التعرض نفسها في حيوانات السيطرة .

5-3-2 أقطار النبيبات الملفوفة الدانية والقاصية في الكلية

Diameters of Proximal and Distal Convolved Tubules in the kidney

أظهرت النتائج الاحصائية للدراسة الحالية حدوث ارتفاع معنوي في معدل أقطار النبيبات الملفوفة القاصية والدانية الكلوية في المجاميع المحقونة بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و14 يوماً عند مقارنتها مع مجاميع السيطرة لمدتي المعاملة نفسها، ان ارتفاع معدل اقطار النبيبات الكلوية قد يرجع الى انتفاخ انوية الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات . ان هذه النتيجة تتفق مع دراسات عديدة منها دراسة (Alferah 2018) إذ بين إن تجريع الجرذ فمويًا بتركيز مختلفة (100 و 250 و 500 ملغم/كغم) من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 21 يوماً أدت الى حصول توسع في النبيبات الكلوية . أما دراسة (Lin *et al.* 2016) فقد اشار الى أن حقن الفئران السويسرية mice BALB/C داخل البريتون IP بتركيز 10 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة ست ساعات أدى الى حصول توسع في النبيبات الكلوية الدانية مع فقدان الحافة الفرشائية Brush borders نتيجة تنخر الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية الدانية وحدث ضمور في بعض الجسيمات الكلوية وتسطح الخلايا الظهارية المبطنة لها.

5-3-3 فسحة محفظة بومان Bowman's Capsule Space

توصلت نتائج الدراسة الحالية الى حدوث ارتفاع معنوي في سعة فسحة محفظة بومان في المجاميع المحقونة بتركيز 150 ملغم /كغم من مادة دقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً عند مقارنتها مع مجاميع السيطرة لمدتي الحقن نفسها، بينت دراسة (Sarhan and Hussein (2014) حصول انخفاض في فسحة محفظة بومان عند حقن الفئران داخل البريتون بتركيز 2000 ملغم / كغم من دقائق الفضة النانوية Ag NPs ولمدة أسبوع واحد. في حين اشارت دراسة الباحث Lin *et al.* (2016) أن حقن الفئران داخل البريتون بتركيز 10 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة ست ساعات ادى الى حدوث تقلص في فسحة محفظة بومان. أوضحت دراسة Fartkhooni *et al.* (2016) إن حقن الجرذ بتركيز 30, 50, 70 ملغم/كغم من جزيئات ثنائي اوكسيد التيتانيوم النانوية TiO₂ ولمدة واحد وعشرين يوماً أدت الى حدوث توسع وتحطم محفظة بومان وهذه النتيجة تتوافق مع نتائج الدراسة الحالية، وإن سبب حصول توسع في فسحة محفظة بومان قد يرجع الى التقلص الحاصل في الكبيبات الكلوية أو الى تحطم الطبقة الاحشائية لمحفظة بومان.

5-4 التغيرات النسجية في الكلى

Histological Changes in the Kidney

ان التغيرات النسجية في كلى الفئران البيض التي لوحظت في هذه الدراسة والمتمثلة بانسلاخ الخلايا الالتهابية واحتقان الأوعية الدموية وتشكيل قوالب الكالسيوم داخل النبيبات الكلوية وتضخم انوية الخلايا الظهارية وتخر وتحطم بعض النبيبات الكلوية وانحلال الخلايا الظهارية التي تبطن النبيبات الكلوية وانكماش وتجزئة وفقدان الكبيبات الكلوية وانفصال الخلايا الظهارية التي تبطن النبيبات الكلوية عن الغشاء القاعدي نتيجة الحقن بدقائق اوكسيد الزنك النانوي وللمدتين سبعة و 14 يوماً قد ترجع الى

تولد انواع الاوكسجين التفاعلي او حدوث اختلال في نفاذية اغشية الخلايا وبالتالي اختلال في وظائف الكلى او تراكم هذه الدقائق او احداث السمية والاختلال الوظيفي.

أشارت دراسة (Noori *et al.* (2014) إن حقن الفئران داخل البريتون بتركيز 300 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة ثمانية أيام أدت الى تجمع الخلايا العدلة Neutrophils في الشعيرات الدموية للكبيبة وبين النبيبات الكلوية فضلاً عن توسع الأوعية الدموية واحتقانها ، وإن ظهور الخلايا الالتهابية القريبة من الأوعية الدموية والجسيمات الكلوية والنبيبات الكلوية وظهور التغيرات النسجية يمكن أن يرجع الى تولد أنواع الأوكسجين التفاعلية ROS والإجهاد التأكسدي والذي يتكون بسبب زيادة بيروكسدة الدهون Lipid peroxidation الناتج من سمية دقائق اوكسيد الزنك النانوي في الكلى ، وإن تواجد الخلايا الالتهابية قد يؤثر في التوازن بين أنواع الأوكسجين التفاعلي ROS وانتاج مضادات الاكسدة Anti-oxidative اذ تعمل على تدمير الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية من خلال تغيير التمثيل الغذائي للدهون (Pujalte *et al.*, 2011)، في حين اشارت دراسة Shrivastava *et al.* (2016) إن تجريع الفئران فمويًا بدقائق الذهب النانوي Au NPs ودقائق الفضة النانوي Ag NPs وبتركيز واحد ميكرو متر ولمدة 14 يوماً أدت الى حدوث اختلال في وظائف الكلى وتلف الحامض النووي وظهور علامات التهابية مثل Interleukin-6 و Nitric oxide إذ ظهرت بشكل أكبر في البلازما وإن سبب ذلك يعود الى الإجهاد التأكسدي الذي يعد الآلية الرئيسية المسؤولة عن السمية وحدثت زيادة في انواع الاوكسجين التفاعلي وقلة الانزيمات المضادة للأكسدة مثل انزيم الكلوتاثيون Glutathione enzyme في انسجة الكلى.

أشار دراسة (Guan *et al.* (2012) أن معاملة خلايا الكبد البشرية (LO2) وخلايا الكلى الجنينية (HEK293) بتركيز 25 و 50 و 75 و 100 مايكرو غرام/مل من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 24 ساعة ادت الى حصول تشوهات مظهرية واضطرابات وظيفية في

المتقدرات mitochondria وتلف في الحامض النووي المؤكسد DNA واختزال الاوكسيد الفائق Superoxide dismutase فضلا عن استهلاك انزيم الكلوتاثيون، واقترح الباحث أن الاجهاد التأكسدي وبيروكسيد الدهون المتولد نتيجة سمية دقائق اوكسيد الزنك النانوي تؤدي دورا مهما في اضطراب غشاء الخلية وتضرر الحامض النووي وموت الخلية اللاحق وأكد هذا الاقتراح دراسة (Hanley et al. (2009) إذ بين ان الاجهاد التأكسدي وبيروكسدة الدهون له دور مهم في سمية دقائق اوكسيد الزنك النانوي والتي بدورها تحفز إنتاج السايوتوكينات Cytokines المسببة للالتهابات مثل IFN- γ و TNF- α و IL-12. في حين بين (Jia'en et al. (2010) إن إنتاج ROS بكميات كبيرة يؤدي الى تنشيط السايوتوكينات Cytokines والأنترلوكينات (ILs) و Kinases وعامل التنخر الورمي الفا Tumor Necrosis Factor- (TNF- α) الداخلة في التفاعلات الالتهابية نتيجة للجهد التأكسدي .

إن ظهور قوالب الكالسيوم في تجويف بعض النيببات الكلوية في هذه الدراسة قد يرجع الى انخفاض مستوى إنزيم الكلوتاثيون Glutathione enzyme الذي بدوره يعمل على تحويل بيروكسيد الهيدروجين H₂O₂ إلى ماء، وان الزيادة في نسبة بيروكسيد الهيدروجين في النسيج الكلوي قد يؤدي إلى حصول التسمم الكلوي ومن ثم حصول عدم توازن في نفاذية غشاء المتقدرات ، مما يزيد من كمية امتصاص الكالسيوم من قبل المتقدرات لهذا العنصر ومع زيادة نسبة أنواع الأوكسجين التفاعلية وتتحلل المتقدرات بسبب الاجهاد التأكسدي تزداد كمية الكالسيوم (Aydin et al., 2003)، بينما أشارت دراسة (Huang et al. (2010) إن زيادة تركيز دقائق اوكسيد الزنك النانوي وطول مدة التعرض قد تؤثر في الكائن الحي وتؤدي الى حصول زيادة في الإجهاد التأكسدي وزيادة في مستوى الكالسيوم داخل الخلايا.

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع الباحث (Esmaeillou et al. (2013) إذ أوضح ان تجريع الفئران فمويًا بتركيز 333.33 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي يوميا ولمدة خمسة أيام أدت الى حصول أضرار في نسيج الكلى تمثلت بالالتهابات و تضخم الخلايا الظهارية للنيبيبات القريبة وتجزئة

الكبيبات وتنخر وتحلل بعض الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية ، أما انفصال الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية عن الغشاء القاعدي Basement membranes التي لوحظت في هذه الدراسة فقد يرجع السبب في حدوثها الى محاولة هذه الخلايا في إعاقة وصول المادة السمية الى مجرى الدم وهذا ما بينته دراسة (Kumar et al., 2007).

اشارت دراسة (Salman 2018) بعدم حدوث تغيير في شكل النبيبات الكلوية والكبيبات عند تجريع الفئران فمويًا بتركيز 150 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 15 يوماً في حين تجريع الفئران بتركيز 350 ملغم/كغم ولمدة التعرض نفسها ظهر ارتشاح للخلايا الالتهابية أحادية النواة الموجودة بين النبيبات الكلوية وحول الأوعية الدموية في النسيج الكلوية.

توافقت النتائج الحالية مع دراسة (Alferah 2018) إذ وجد إن التجريع الفموي للجرذ الأبيض لتراكيز مختلفة (100 و 250 و 500 ملغم /كغم) من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة 21 يوماً أدى الى ظهور ارتشاح للخلايا الالتهابية واحتقان الاوعية الدموية بين النبيبات الكلوية وتنخر الجسيمات الكلوية وتحطم الخلايا الظهارية للنبيبات الكلوية الذي أدى الى توسع النبيبات الكلوية مع فقدان الحافة الفرشائية في النبيبات الدانية وانتشار النسيج الليفي الضام وتضرر وتحطم محفظة بومان فضلاً عن وجود المواد الحامضية بين وداخل النبيبات الكلوية في التراكيزين 100 و 250 ملغم/كغم ، أما التركيز 500 ملغم/كغم فقد اظهر زيادة في شدة التغيرات السابقة مع توسع شديد في النبيبات الكلوية والفقدان التام للجسيمات الكلوية وظهور فجوات في الخلايا الظهارية للنبيبات، مما يدل على حصول التهاب حاد لكلى الحيوانات المعاملة.

بعض الدراسات لم تظهر حصول اضرار في كلى الحيوانات المعاملة بدقائق اوكسيد الزنك النانوي منها دراسة (Ben-Slama 2015) إذ وجد ان تجريع ذكور الجرذ الابيض عن طريق الفم بـ 10 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة خمسة أيام لم تظهر اية تغيرات في التركيب النسيجي

لكلى الحيوانات، وكذلك دراسة (Amara et al., 2014) اذ وجدت ان حقن الفئران داخل البريتون وبتركيز 25 ملغم/كغم من دقائق اوكسيد الزنك النانوي ولمدة عشرة أيام لم تسبب اية تأثيرات في نسج الكلى ماعدا حصول اختلال في مستوى حامض البوليك و الكرياتنين، وهذا قد يرجع الى قلة التراكيز المستعملة للمعاملة .

حصول جميع التغيرات السابقة قد يعود الى سمية دقائق دقائق اوكسيد الزنك النانوي والتي قد تؤثر في إنتاج الانزيمات المضادة للأكسدة ومن ثم حدوث زيادة في إنتاج الأوكسجين التفاعلي وهي جزيئات متفاعلة كيميائياً ومنتجة بشكل طبيعي داخل النظم البيولوجية والتراكيز العالية منه قد تؤدي إلى تعطل التوازن في الأكسدة والاختزال وتظهر بسبب النقص في أنزيمات Glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase المضادة للأكسدة التي تعمل على تقليل هذه الجزيئات او حدوث اختلال في نفاذية الاغشية وبالتالي اختلال وظائف العضو (Zuo et al., 2015).

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

Conclusions

الاستنتاجات

توصلت الدراسة الحالية الى جملة من الاستنتاجات المهمة وهي عند حقن ذكور الفئران البيض داخل تجويف البريتون بدقائق اوكسيد الزنك النانوي وبتركيز 150 ملغم / كغم / يوم وللمدتين سبعة و 14 يوماً له القدرة على التسبب في العديد من الآثار الضارة وهي كالآتي :

1- حدوث علامات وأعراض مثل فقدان الشهية وانخفاض وزن الحيوانات وخمول وتحذب الظهر واسوداد لون البراز.

2- حدوث تغيرات عيانية مثل شحوب لون الكلى وقلة النسيج الدهني حول الكلى .

3- حدوث تغيرات وظيفية تمثلت بزيادة معدل الكرياتينين والبولينا بالدم وازدادت هذه التغيرات بزيادة مدة الحقن اذ كانت أكثر حدة في مدة الحقن 14 يوماً.

4- حصول تغيرات في التركيب النسيجي للكلى مثل ارتشاح الخلايا الالتهابية وتخر وتحطم بعض الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية وتضخم انويتها و احتقان الأوعية الدموية وتضرر وانكماش الكبيبات وترسب قوالب الكالسيوم داخل النبيبات الكلوية وتوسع النبيبات الكلوية فضلاً عن تضرر الكبيبة والجسيمة الكلوية.

5- ان جميع التأثيرات المذكورة اعلاه قد ترجع الى التأثيرات السمية لدقائق اوكسيد الزنك النانوي في كلى الفئران البيض والتي سببت ارتفاع في انواع الاوكسجين التفاعلي وقلة الانزيمات المضادة للأكسدة او حدوث ضرر في غشاء الخلية والذي يؤدي الى اختلال نفوذية الغشاء للمواد وبالتالي حصول التسمم الكلوي.

Recommendations

التوصيات

يتبين مما سبق ان دقائق اوكسيد الزنك النانوي لها تأثيرات سمية كبيرة في الفئران البيض لاسيما الكلى لذا توصي الدراسة الحالية بما يأتي:-

- 1- اجراء دراسات اخرى لمعرفة تأثير دقائق اوكسيد الزنك النانوي في اعضاء اخرى مثل الدماغ والقلب والكبد وغيرها.
- 2- استعمال دقائق نانوية ذات تراكيز مختلفة وحجم اقل من المستعملة في هذه التجربة لمعرفة تأثيراتها في اعضاء الجسم.
- 3- استعمال المجهر الالكتروني النافذ لمعرفة ترسبات الدقائق النانوية في عضيات نسج الاعضاء المختلفة.
- 4- اجراء دراسات باستعمال التقنية البايولوجية الجزيئية لمعرفة تأثير هذه الدقائق.

المصادر

References

المصادر العربية

Arabic references

- أحميدة، محمد حمزة و أحميدة، نجوى حمزة واحميد، عزيزة أنور (2017).مقدمة عن تقنية النانو: تعريفها، ومصطلحاتها، وتواجدها، وتطبيقاتها في البيئة. تكنولوجيا النانو وتطبيقاتها في البيئة، 2:12-26.
- ادريس، زينة جابر (2001). صحة الجهاز الهضمي، (الطبعة الاولى) مترجم، (الدار العربية للعلوم). لبنان:189-203.
- السراجي، ماجدة جمعة راضي (2018). دراسة نسجية لتأثير اوكسيد الزنك النانوي (ZnO NPs) على اعضاء الجهاز التناسلي الذكري في الفئران البيض. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة- ابن الهيثم. عدد الصفحات 123.
- عبد الكريم، صبا طارق (2017). دراسة تأثير جسيمات النحاس النانوية في وظائف الكبد وتركيبه النسجي وبعض المعايير الدمية في ذكور الجرذ البيض. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة - ابن الهيثم. عدد الصفحات 96.
- فرج، صدامه سعيد (2012). دراسة نسجية وكيمياء نسجية لقناة البيض في الفئران البيض المعاملة بالاستراديول والبروجسترون. اطروحة دكتوراه. كلية التربية/ابن الهيثم، جامعة بغداد.
- منيف، رافع عبدالله واسماعيل، رائد عبد الوهاب ومحمد، صبري جاسم (2013). دراسة الخواص التركيبية والبصرية لغشاء اوكسيد الزنك الرقيق نانوي التركيب بطريقة الترسيب بالحمام الكيميائي. مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 18(1): 196-201.

Foreign references

المصادر الاجنبية

- Abhilash, M. (2010). Potential applications of Nanoparticles. *Int. J. Pharm. Biol. Sci.*, 1(1):1-12.
- Akhtar, M. J.; Ahamed, M.; Kumar, S.; Khan, M. M.; Ahmad, J., and Alrokayan, S. A. (2012). Zinc oxide nanoparticles selectively induce apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species. *Int. J. Nanomed.*, 7: 845-857.
- Alagarasi, A. (2011). Introduction to nanomaterial. book: Introduction to Nanomat., Indian Institut. Technol. Chapter: 1: pp: 76.
- Alferah, M. A. Z. (2018). Renal Toxicity of Zinc Oxide Nanoparticles(ZnO NPs) of Male Westar Rats. *Int. J. Sci. Res. (IJSR)*, 7(2): 1092- 1097.
- Amara, S.; Slama, I. B.; Mrad, I.; Rihane, N.; Khemissi, W.; El Mir, L.; Rhouma, K.B.; Abdelmelek. H. and. Sakly, M. (2014). Effects of zinc oxide nanoparticles and/or zinc chloride on biochemical parameters and mineral levels in rat liver and kidney. *Hum. Exp. Toxicol.*, 33(11), 1150-1157.
- Anreddy, R. N. R. (2018).Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress and liver toxicity in rats following oral exposure. *Toxicol. Rep .*, 5: 903-904.
- Ansari, S.A.; Satar, R.; Panda, D.S.; Zaidi, S.K.; Chibber, S.; Khan, M.J.; Khan, T.A.; Jafri, M.A., and Alqahtani, M.H.(2014).Surface Engineering of Multifunctional Nanocomposites for Biomedical Applications: A Brief Update. *Iran J. Biotech.*12(1):1-7.
- Aydin, G.; Oncu, M.; Cicek, E.; Karahan, N. and Goklap, O. (2003). Histopathological changes in liver and renal tissues induced by different doses of diclofenac sodium in rats. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 27:1131-1140.
- Bancroft, J. D. (2013). Histochemical techniques. Butterworth-Heinemann.

- Behnammorshedi, M.; Nazem, H. and Moghadam, M. S. (2013). The effect of gold nanoparticle on luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, testosterone and testis in male rat. *Biomed. Res. J.*, 26(2):348-352.
- Ben-Slama, I; Mrad, I.; Rihane, N.; EL Mir, L.; Sakly, M and Amara, S. (2015). Sub-acute oral toxicity of zinc oxide nanoparticles in male rats. *J. Nanomed. Nanotechnol.* 6(3):1-6.
- Bhatia, S. (2016). Nanoparticles types, classification, characterization, fabrication methods and drug delivery applications. In *Natural polymer drug delivery systems* Springer International Publishing Switzerland, Chapter 2:33-93.
- Biswas, P. and Wu, C, Y. (2005). Nanoparticles and the environment. *J. Air Waste Manage Assoc.*, 55: 708-746.
- Buzea, C.; Pacheco, I. and Robbie, K.(2007). Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Bio. Interphases.* 2(4): MR 17-171.chapter 2:33-93.
- Chen, Z.; Meng, H.;Xing, G.; Chen, C.; Zhao, Y.; Jia, G.; Wang, T.; Yuan, H.;Ye, C.; Zhao, F.; Chai, Z.; Zhu, C.; Fang, X.; Ma, B. and Wan, L. (2006). Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicol. Lett.*,163(2):109-120
- Chithrani, B. D.; Ghazani, A. A.; and Chan, W. C. (2006). Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano Lett.*, 6(4): 662-668.
- Choi, J.; Kim, H.; Kim, P.; Jo, E.; Kim, H. M.; Lee, M. Y.; Jin, S. M. and Park, K. (2015). Toxicity of zinc oxide nanoparticles in rats treated by two different routes: single intravenous injection and single oral administration. *J. Toxicol. Environ. Health A.*, 78(4): 226-243.
- De Angelis, I.; Barone, F.and Zijno, A.(2013). Comparative study of ZnO and TiO(2) nanoparticles: physicochemical characterisation and toxicological effects on human colon carcinoma cells. *Nanotoxicology*,7(8):1361–1372.

- Doudi, M. and Setorki, M. (2014a). Acute effect of nano-copper on liver tissue and function in rat. *Nanomed. J.*, 1(5):331-338.
- Doudi, M. and Setorki, M. (2014b). The effect of gold nanoparticle on renal function in rats. *Nanomed. J.*, 1(3): 171-179.
- Ebaid, H.; Dkhil, M. A.; Danfour, M.; Tohamy, A. and Gabry, M. S. (2007). Piroxicam induced hepatic and renal histopathological changes in mice. *Libyan J. Med.*, 13: 56-61.
- Ene -Ojo, A.; Chinedu, E. A. and Yakasai, F. (2013). Toxic effects of sub-chronic administration of chloroform extract of *Artemisia maciverae* Linn. On the kidney of swiss albino rats. *Int. J. Biochem. Res. and R.*, 3(2): 119-128.
- Esmaeillou, M.; Moharamnejad, M.; Hsankhani, R.; Tehrani, A. A. and Maadi, H. (2013). Toxicity of ZnO nanoparticles in healthy adult mice. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 35(1): 67-71.
- Fan, Z. and Lu, J. G. (2005). Zinc oxide nanostructures: synthesis and properties. *J. Nanosc. Nanotechn.*, 5(10):1561-73.
- Fartkhooni, F; Noori, A. and Mohammadi, A. (2016). Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles Toxicity on the Kidney of Male Rats. *Int. J. Lif. Sci.*, 10 (1): 65 – 69.
- Gavanji, S.; Sayedipour, S. S.; Doostmohammadi, M. and Larki, B. (2014). The effect of different concentrations of silver nanoparticles on enzyme activity and liver tissue of adult male Wistar rats in vivo condition. *Int. J. Sci. Res. Knowl.*, 2(4):182-188.
- Georgieva, J. V.; Kalicharan, D.; Couraud, P. O.; Romero, I. A.; Weksler, B.; Hoekstra, D. and Zuhorn, I. S. (2011). Surface characteristics of nanoparticles determine their intracellular fate in and processing by human blood-brain barrier endothelial cells in vitro. *Mol. Ther.*, 19(2): 318-325.

- Ghorbani, m.; Soheili, S.; Moradhaseli, S. and Shokouhian, A. (2013). Histopathological effects of ZnO nanoparticles on liver and heart tissues in Wistar rats. *Adv. Biores.*, 4 (2): 83- 88
- Griffith, A. (2007). *SPSS FOR Dummies*. Wiley Publishing- Inc. Indianapolis, Indiana. PP.1-363.
- Guan, R.; Kang, T.; Lu, F.; Zhang, Z.; Shen, H. and Liu, M. (2012). Cytotoxicity, oxidative stress, and genotoxicity in human hepatocyte and embryonic kidney cells exposed to ZnO nanoparticles. *Nanosci. Res. Lett.*, 7(1): 602.
- Handy, R. D. and Shaw, B. J. (2007). Toxic effects of nanoparticles and nanomaterial: Implications for public health, risk assessment and the public perception of nanotechnology. *Health. Risk Society*, 9: 125 -144.
- Handy, R.; Kammer, F. V.; Lead, J.; Hassell, M.; Owen, R. and Crane, M. (2008). The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*, 17(4): 287-314.
- Hanley, C.; Layne, J. and Punnoose, A.(2008). Preferential killing of cancer cells and activated human T cell using ZnO nanoparticles. *Nanotechnology*, 19(29):295103.
- Hanley, C.; Thurber, A.; Hanna, C.; Punnoose, A.; Zhang, J.and Wingett, D.G. (2009). The influences of cell type and ZnO nanoparticle size on immune cell cytotoxicity and cytokine induction. *Nanoscale Res. Lett.*, 4: 1409-1420.
- Hett, A. (2004). *Nanotechnology small matter, many unknowns*. Swiss Reinsurance Company. Zurich, Switzerland, 1st ed., PP:57.
- Huang, C. C.; Aronstam, R. S.; Chen, D. R. and Huang, Y. W. (2010). Oxidative stress, calcium homeostasis, and altered gene expression in human lung epithelial cells exposed to ZnO nanoparticles. *Toxicolo. Vitr.*, 24(1): 45-55.

- Ibrahim, K. E.; Al-Mutary, M. G.; Bakhiet, A. O. and Khan, H. B. (2018). Histopathology of the Liver, Kidney, and Spleen of Mice Exposed to Gold Nanoparticles. *Molecules*, 23(8): 1848.
- Jia'en, J.; Muralikrishnan, S.; Ng, C.; Yung, L. and Bay, B. (2010). Nanoparticle induced pulmonary toxicity. *Exp. Biol. Med.*, 235:1033-1025 .
- Kafayati, M.E.; Raheb, J.; Angazi, M. T.; Alizadeh, S. and Bardania, H. (2013). The effect of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles on the growth of genetically manipulated bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* (PTSOX4). *Iran. J. Biotechnol.*, 11(1): 41-46.
- Kamaly, N.; He, J.C.; Ausiello, D. A. and Farokhzad, O. C. (2016). Nanomedicines for renal disease: Current status and future applications. *Nat. Rev. Nephrol.*, 12(12): 738-753.
- Khare, P.; Sonane, M.; Pandey, R.; Ali, S.; Gupta, K. C., and Satish, A. (2011). Adverse effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles in soil nematode, *Caenorhabditis elegans*. *J. Biomed. Nanotechnol.*, 7(1): 116-117.
- Kim, T. H.; Kim, M.; Park, H-S.; Shin, U. S.; Gong, M-S. and Kim, H. W. (2012). Size-dependent cellular toxicity of silver nanoparticles. *J. Biomed. Mater. Res.*, 100(4): 1033-1043.
- Klaine, S. J.; Alvarez, P. J. J.; Batley, G. E.; Fernandes, T. F.; Handy, R. D.; Lyon, D. Y.; Mahendra, S.; Mclaughlin, M. J., and Lead, J. R. (2008). Nanomaterial in the environment behaviour, fate, bioavailability, and effects. *Environ. Toxicol. Chem.*, 27(9): 1825 -1851.
- Kumar, V.; Abbas, A. K.; Fausto, N. and Mitchell, R. (2007). Robbins basic pathology. 8th edn. Saunders Elsevier, 632-634.
- Lasagna-Reeves, C.; Lasagna, D. Gonzalez-Romero, M.A.; Barria, I; Olmedo, Clos, A; Ramanujam, V.M; Urayama, A; Vergara, L.; Kogan, M. J. and Soto, C. (2010). Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice. *Biochem. Biophys. Research Commun.*, 393(4): 649-655.

- Lee, J. H.; Kim, Y. S.; Song, K. S.; Ryu, H. R.; Sung, J. H.; Park, J. D.; Park, H. M.; Song, N. W.; Shin, B. S.; Marshak, D.; Ahn, K.; Lee, J. E. and Yu, I. J. (2013). Bio persistence of nanoparticles in tissues from Sprague–Dawley rats. *Part. Fibre Toxicol.*, 1(10): 1-36.
- Lewinski, N.; Colvin, V.; and Drezek, R. (2008). Cytotoxicity of Nanoparticles. *Small*, 4(1): 26-49.
- Li, Y.; Cheng, G. S. and Zhang, L. D. (2000). Fabrication of highly ordered ZnO nanowire arrays in anodic alumina membranes. *J. Mater. Res.*, 15(11), 2305-2308.
- Lin, W.; Xu, Y.; Huang, C.-C.; Ma, Y.; Shannon, K.; Chen, D.-R. and Huang, Y.- W.(2009). Toxicity of nano- and micro-sized ZnO particles in human lung epithelial cells. *J. Nanopart. Res.*, 11:25-39.
- Lin, Y. F.; Chiu, I. J.; Cheng, F. Y.; Lee, Y. H.; Wang, Y. J.; Hsu, Y. H. and Chiu, H. W. (2016). The role of hypoxia-inducible factor-1 α in zinc oxide nanoparticle-induced nephrotoxicity in vitro and in vivo. *Particle and Fibre Toxicology*, 13(1): 52.
- Mahdieh, Y.; Melika, T.; Mahsa, S.; Andishe, K and Sanam, F-s. (2016). The effects of titanium dioxide nanoparticles on ovarian tissue and oogenesis in mice. *J. Chem. Pharmaceut. Res.*, 8(4):1058-1061.
- Mansouri, E.; Khorsandi, I.; Orazizadeh, M. and Jozi, Z. (2015). Dose-dependent hepatotoxicity effects of zinc oxide nanoparticles. *Nanomed. J.*, 2(4): 273-282.
- Mirzaeia, H.; and Darroudic, M. (2017). Zinc oxide nanoparticles Biological synthesis and biomedical applications. *Ceramics Int.*; 43: 907–914.
- Moos, P.J.; Olszewski, K.; Honeggar, M.; Cassidy, P.; Leachman, S.; Woessner, D.; Cutlera, N.S. and Veranth, J. M.(2011). Responses of human Cells to ZnO nanoparticles: a gene transcription study. *Metallomics*. 3(11):1199–1211.

- Nair, S.; Sasidharan, A.; Rani, V. D.; Menon, D.; Nair, S.; Manzoor, k. and Raina, S. (2009). Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 20(1):235–241.
- Noori, A.; Karimi, F.; Fatahian, S., and Yazdani, F. (2014). Effects of zinc oxide nanoparticles on renal function in mice. *Int. J. Biosci.*, 5(9):140-146.
- Oberdorster, G.; Finkelstein, J. N.; Johnston, C.; Gelein, R.; Cox, C.; Baggs, R. and Elder, A. C. (2000). Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice. *Res. Rep. Health Eff. Inst.*, (96): 5-74.
- Oberdorster, G.; Oberdörster, E. and Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ. Health Perspectives*, 113(7): 823-839.
- Oberdorster, G.; Sharp, Z.; Atudorei, V.; Elder, A.; Gelein, R.; Wand, K. and Cox, C. (2004). Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal. Toxic.*, 16(7): 437-445.
- Pokropivny, V.; Lohmus, R.; Hussainova, I.; Pokropivny, A. and Vlassov, S. (2007). Introduction in nanomaterials and nanotechnology. University of Tartu. P:225.
- Premanathan, M.; Karthikeyan, K.; Jeyasubramanian, K. and Manivannan, G. (2011). Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. *Nanomed. : Nanotechn., Biol. Med.*, 7(2):184–192.
- Pujalté, I.; Passagne, I.; Brouillaud, B.; Tréguer, M.; Durand, E.; Ohayon-Courtès, C. and L'Azou, B. (2011). Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. *Part. fibre toxicol.*, 8(1), 10.
- Rani, V. S. A.; Kumar, A.K.; Kumar, C. P., and Reddy, A. R. N., (2013). Pulmonary toxicity of copper oxide (CuO) nanoparticles in rats. *J. Med. Sc.*, 13(7): 571-577.

- Rasmussen, J.W.; Martinez, E.; Louka, P. and Wingett, D.G. (2010). Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 7(9):1063–1077.
- Revell, P.A. (2006). The biological effects of nanoparticles. *Nanotech. Percept.*, 2: 283–298.
- Salman, R.A. (2018). Histopathological effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Kidney and Liver Tissues in Albino Male Mice. *Ibn Al-Haitham J. Pure Appl. Sc.*, 31(1): 9-14.
- Samberg, M. E.; Oldenburg, S. J. and Monteiro- Riviere, N. A. (2009). Evaluation of silver nanoparticle toxicity in skin in vivo and keratinocytes in vitro. *Environ. Health Perspect.*, 118(3):407-413.
- Sardari, R.; Zarchi. S.; Talebi .A. Nasri S, Imani. S and Khoradmehr, A. (2012). Toxicological effects of silver nanoparticles in rats. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 6(27): 5587-5593.
- Sarhan, O. M. M. Hussein, R.M. (2014). Effects of intraperitoneally injected silver nanoparticles on histological structures and blood parameters in the albino rat, *Int. J. Nanom.*, 9: 1505–1517.
- Sarkar, D.; Latif, S.; Aich, J and Uddin.M. (2006). Studies on serum creatinine and creatinine clearance in hypertensive patients. *J. Bangl. Soc. Phys.*, 1: 19-26.
- Shakibaie, M.R. and, Harati A. (2004). Metal accumulation in *Pseudomonas aeruginosa* occur in the form of nanoparticles on the cell surface. *Iran. J. Biotechn.* 2: 55-60.
- Sharma, V.; Singh, P.; Pandey, A.K. and Dhawan, A. (2012). Induction of oxidative stress, DNA damage and apoptosis in mouse liver after sub-acute oral exposure to zinc oxide nanoparticles. *Mutat. Res.*, 745: 84–91.
- Shrivastava, R.; Kushwaha, P.; Bhutia, Y.C, and Flora, S. (2016). Oxidative stress following exposure to silver and gold nanoparticles in mice. *Toxicol. Ind. Health*, 32(8):1391–1404.

- Silva, G. A. (2003). Nanotechnology approaches to crossing the blood-brain barrier and drug delivery to CNS. *BMC Neuro. Sc.*, 9(3): S4.
- Smijs, T. G. and Pavel, S. (2011). Titanium dioxide and Zinc Oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. *Nanotechn. Sc. Appl.*, 4: 95-112.
- So, A. and Thorens, B. (2010). Uric acid transport and disease. *J. Clin. Inv.*, 120: 1791-1799.
- Suvarna, K. S.; Layton, C. and Bancroft, J. D. (Eds.). (2018). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 8th ed., E-Book. Elsevier Health Sc., PP:558.
- Taha, M. N. and Ali, A. M. (2015). Changes in the Weights of the Testes and Epididymes, as Well as Sperm Characteristic of Male Albino Mice, Treated with Silver Nanoparticles. *Ibn AL-Haitham J. Pur. Appl. Sc.*, 28(3):309-316.
- Tang, H-Q.; Xu, M.; Rong, Q.; Jin, R-W.; Liu, Q-J. and Li, Y-L. (2016). The effect of ZnO nanoparticles on liver function in rats. *Int. J. Nanom.*, 11: 4275-4285.
- Trop, M.; Novak, M.; Rod, S.; Hellbom, B.; Kroll, W. and Goessler, W. (2006). Silver-coated dressing acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. *J. Trauma*, (3): 648-652.
- Wang, B.; Feng, W.; Wang, M.; Wang, T.; Gu, Y.; Zhu, M.; Ouyan H.; Shi, J.; Zhang, F.; Zhao, Y.; Chai, Z.; Wang, H. and Wang, J. (2008). Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *J. Nanopart. Res.*, 10(2): 263-276.
- Wang, J.; Zhou, G.; Chen, C.; Yu, H.; Wang, T.; Ma, Y.; Jia, G.; Gao, Y.; Li, B.; Sun, J.; Li, Y.; Jiao, F.; Zhao, Y. and Chai, Z. (2007). Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol. Lett.*, 168:176-185.

- Watson, C. Y.; Molina, R.M.; Louzada, A.; Murdaugh, K.M.; Donaghey, T.C. and Brain, J. D. (2015). "Effects of zinc oxide nanoparticles on Kupffer cell phagosomal motility, bacterial clearance, and live function." *Int. J. Nanomed.*, 10 (1): 4173- 4184.
- White, J. M. L.; Powell, A. M.; Powell, A.M.; Brady, K. and Russell-jonse, R. (2003). Severe generalized argyria secondary to ingestion of colloidal silver protein. *Clin. Expr. Derm.*, 28:254-256 .
- Wilhelmi, V.; Fischer, U.; Weighardt, H.; Schulze, O.K.; Nickel, C.; Stahlmecke, B.; Kuhlbusch, T.A.; Scherbart, A.M.; Esser, C.; Schins, R.P. and Albrecht, C. (2013). Zinc oxide nanoparticles induce necrosis and apoptosis in macrophages in a p47phox- and Nrf2-independent manner. *PLoS One.*, 8(6):e65704.
- Yang, S.C.; Shen, Y.C.; Lu, T.C.; Yang, T.L. and Huang, J. J. (2012). Tumor detection strategy using ZnO light-emitting nanoprobes. *Nanotechnology*, 23(5): 055-202.
- Yang, Z.; Liu, Z.W.; Allaker, R.P.; Reip, P.; Oxford, j.; Ahmad, Z and Ren, G. (2010). A review of nanoparticle functionality and toxicity on the central nervous system. *J. Royal Soc. Interface*, 7(4): S411–422.
- Yu, B.; Wang, Y.; Wang, Y.; Yu, X.; Zhang, H.; Zhu, J.; Wang, C.; Chen, F. Liu, C.; Wang, J. and Zhu, H. (2017). Cuprous oxide nanoparticle inhibited melanoma progress by targeting melanoma stem cells. *Int. J. Nanomed.*, 12: 2553-2567.
- Zargar, R. A. and Arora, M. (2017). Synthesis and characterization of ZnO nanoparticles for biomedical applications. *Glob. J. Nanomed.*, 2(1): 1-3.
- Zuo, L.; Zhou, T.; Pannell, B. K.; Ziegler, A. C. and Best, T. M. (2015). Biological and physiological role of reactive oxygen species—the good, the bad and the ugly. *Acta Physiologica*, 214(3): 329-348.

Summary

The current study was conducted to investigate the impact of Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) on the morphological, weight, biometric, functional and histological changes in the kidney of male albino mice (*Mus musculus*).

In the experiment, 24 male albino mice were divided into four groups, using six animals in each group. The first and second group were injected into the peritoneum (IP) with 0.1 ml of 150 mg/kg of ZnO NPs (25-45 nm) for 7 and 14 days respectively. The third and fourth group are the control groups that were injected with 0.1 ml of 0.9 percent of sodium chloride solution into peritoneum for seven and 14 days respectively.

Blood was withdrawn from the injected groups for the purpose of measuring functional changes in the kidneys, namely creatinine, urea, and uric acid, as well as collecting the right kidney samples for the purpose of histological studies after the animals were sacrificed.

The morphological results showed a decrease in the appearance of fatty substance surrounding the kidney and the accumulation of ZnO NPs on the outer part of the kidneys with a pale kidney color. The results also showed a significant reduction ($P \leq 0.05$) in the weight of animals that were injected for 14 days compared with the control group of the same duration.

The functional study of kidney results illustrated a significant increase ($P \leq 0.05$) in the average level of serum creatinine and urea concentration in animals that were injected with 150 mg / kg of ZnO NPs for two periods (7 and 14 days) compared with the control group for the same duration, while no significant differences ($P > 0.05$) in the average level of serum uric acid in animals that were injected with 150 mg / kg of ZnO NPs for 7 and 14 days compared to the control groups of the same duration.

The results of the biometric study showed a significant increase ($P \leq 0.05$) in the average diameters of proximal and distal renal tubules in animals

B

that were injected with ZnO NPs for seven and 14 days compared to the control groups of the same duration of exposure. The results showed a significant increase ($P \leq 0.05$) in the rate of expansion of Baumann's capsule space in animals that were injected with ZnO NPs for a period of 7 days. The rate of expansion was increased by increasing the duration of injection (14-day) compared with the control groups of the same duration of exposure. The results also showed a significant decrease ($P \leq 0.05$) in the average diameter of glomeruli in animals that were injected with ZnO NPS for a period of 14 days compared with the control groups that have been injected with the sodium chloride for the same period.

The results showed significant incidence of histological changes in the structure of animal kidneys that have been injected with ZnO NPs for a period of 7 days, including a blood congestion in most of the kidney tissues, especially in the blood vessels and between renal tubules, accumulation of inflammatory cells between renal corpuscle and renal tubules, necrosis in the lining of epithelial cells in the tubules, loss of some renal glomeruli, sloughing of epithelial cells from the basement membrane, expansion of Bowmann's capsule space, and the hypertrophy of some nucleus in lining epithelial cells of renal tubules. The severity changes were increased in animals that have been injected for 14 days as it showed other changes such as shrinkage and degeneration of renal glomeruli, and calcium molds are formed within the tubules.

From this study, we conclude that exposure to ZnO NPS for 7 and 14 days at a concentration of 150 mg/kg has a major adverse impact on the tissue structure and function of kidney in albino mice.



University of Baghdad

**College of Education for Pure Science/Ibn Al-Haitham
Department of Biology**

**Histological Change and Functional Study of
The Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on The
Kidney of Male Albino Mice**

A Thesis

**Submitted to the Council of the College of Education for Pure
Sciences-Ibn Al Haitham/ University of Baghdad, In Partial
Fulfillment of the Requirement for the Degree of M.Sc.in
Biology/Zoology/ Histology**

By

**Basim Sultan Obaid Wanen AL Zerjawe
(B. Sc., College of Education for Pure Sciences-Ibn Al Haitham/
University of Baghdad, 2013)**

Supervised by

Assist. Prof. Dr. Genan Adnan Abdul Latef AL Bairuty

1441 A.H.

2019 A.D.