



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية – كلية التربية

قسم علوم الحياة

بحث بعنوان
تحت إشراف

" اثر قتل الحيوانات المخبرية الطبيعي والكيميائي في بعض المعايير
النسجية والفسلجية دراسة مقارنة "

مقدم الى رئاسة قسم علوم الحياة- كلية التربية كجزء من متطلبات نيل شهادة
البكالوريوس في علوم الحياة

إعداد الطالب
1371-1371

حسين ميري كريم

بإشراف
1371-1371

م.د جميل كريم والي العمري

آية القرآنية

بسم الله الرحمن الرحيم

((وقل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون وستردون الى عالم الغيب

والشهادة فينبئكم بما كنتم تعملون))

صدق الله العظيم

التوبة - آية (105)

الاهداء

١٤٣٥ هـ

الى والدي العزيزين الذين لن انسا لهم جهودهم وتضحياتهم ما دمت اللفظ انفس
الى والدي العزيزين الذين لن انسا لهم جهودهم وتضحياتهم ما دمت اللفظ انفس

الحياة ...
الحياة ...

اليك اينها الغالية الحنونة نور حياتي (امي) ...
اليك اينها الغالية الحنونة نور حياتي (امي) ...

الى الذي بذل عمه وجهده وماله في سبيل تعليمي وتربيتي واعطاني من حله
الى الذي بذل عمه وجهده وماله في سبيل تعليمي وتربيتي واعطاني من حله

الكثير حنه وصلت الى ما وصلت اليه (ابي) ...
الكثير حنه وصلت الى ما وصلت اليه (ابي) ...

الى كل معلم ومعلمه بذلو اعمارهم في التعليم والعطاء ...
الى كل معلم ومعلمه بذلو اعمارهم في التعليم والعطاء ...

الى كل من اثار شمعه في طريق العلم ...
الى كل من اثار شمعه في طريق العلم ...

شكر وتقدير

بكل الاحترام والتقدير يسرنا ان نرفع اخلص كلمات الشكر والعرفان الى

(م. د. جميل كريمة والي العمري) الذي كان عوننا لي بعد الله في الجاز كتابة بحث

النخرج والحصول على شهادة البكالوريوس في علوم الحياة سائلين المولى عز وجل

ان تحفظه ويسدد خطاه وان يفضل عليه بالخير حيث كان

كما اتوجه بالشكر والتقدير الى رئاسته القسرية والاساتذة الافاضل

الخلاصة

Abstract الخلاصة

تم اختيار موضوع هذا البحث في محاولة للتعرف على حقيقة كون المواد الكيماوية المستخدمة في التجارب المختبرية مثل مادة الكلوروفورم ومادتي الكيتامين -زايلازين من الممكن ان تسبب تأثيرات سلبية على نتائج المعايير المدروسة في التجربة او لا مقارنة مع الطريقة الطبيعية لقتل الحيوان بدون مادة كيميائية وهي طريقة فصل الفقرة العنقية وذلك من خلال اجراء دراسة نسجية لكل من نسيج الكبد والكلية لحيوانات مقتولة بهذه الطرق الثلاثة، شملت عينة الدراسة 9 فئران سوية (Healthy) من ذكور الفئران البيض وبأعمار تراوحت من ستة إلى ثمانية أسابيع وكانت أوزانهم تتراوح ما بين (23-26) غرام قسمت عشوائيا الى مجموعة اولى T1 ضمت ثلاث حيوانات تم شل حركتها بأجراء عملية فصل الفقرة العنقية، المجموعة الثانية T2 ضمت ثلاث حيوانات تم تخديرها باستخدام مادة الكلوروفورم المجموعة الثالثة T3 تم معاملتها بخليط من مادتي Kitamine-Xylazine لغرض تخديرها.

اظهرت نتائج الفحص النسيجي للمقاطع النسجية المأخوذة من كبد وكلية كل من حيوانات مجاميع التجربة ان المجموعة الاولى كانت الاقل تضررا وضمن الحدود التي لا تعتبر ذات تأثير سلبي على الكبد مقارنة مع المجموعة الثانية التي اظهرت نتائجها تضرر وتأثر سلبي واضح وشديد في النسيج الكبدي وطبيعة الترتيب الهندسي للخلايا الكبدية في حين كانت نتائج المجموعة الثالثة تشير الى تأثير متوسط الشدة ما بين نتائج كل من المجموعة الاولى والثانية، بالمقابل لم يكن لأي من طرق القتل الثلاثة في هذه التجربة اي تأثير ملحوظ او سلبي على نسيج الكلية.

اذن من خلال نتائجنا نلاحظ ان المواد الكيماوية لها تأثير سلبي على المعايير النسجية المدروسة مما قد ينعكس سلبا على دقة نتائج المعايير المعتمدة في التجارب المختبرية على الحيوانات.

المقدمة

المقدمة

القتل الرحيم للحيوانات في اليونانية يعرف بالموت الجيد وهو تطبيق الموت على الحيوان او السماح له بالموت عن طريق منع التدابير الطبية المتطرفة القاسية او طرق القتل المختلفة في الاختبارات المعملية وقد تم تصميم اساليب القتل الرحيم للتخفيف من الحد الأدنى للألم والمعاناة التي يمر بها الحيوان لذلك تعددت طرق قتل الحيوانات المختبرية وتنوعت بين طرق القتل الطبيعية وطرق القتل الفيزيائية أي القتل باستخدام المواد الكيماوية وبين الطرق التقليدية المباشرة بدون الاستعانة بالمواد الكيماوية (Duffin *et al.*, 2010) .

إنَّ قَتْل حيوانات الأبحاث من أكثر المهام غير السارة في العِلْم، ويتحتم القيام بها بأقصى درجة من الإنسانية. ويتزايد قلق الباحثين الذين يدرسون الرفق بالحيوان والقتل الرحيم من أن التقنيات المستخدمة بشكل واسع ليست الأقل إيلاّمًا والأقل إجهادًا بين المتاح وكان خبراء من مختلف أنحاء العالم قد اجتمعوا مؤخرًا في نيوكاسل على نهر التايمز بالمملكة المتحدة؛ لمناقشة الأدلة ومحاولة الوصول إلى توافق في الآراء (Preece, 2011) .

فكثيرا ما اثير الجدل حول امكانية تأثر معايير التجربة المختبرية المدروسة بطريقة القتل بين مؤيد لوجود هذا التأثير وبين معارض وتطرق العديد من الاساتذة في لجان مناقشة اطاريح الدكتوراه ورسائل الماجستير الى هذه الاحتمالية من عدمها، لذا تم اختيار موضوع هذا البحث في محاولة للتعرف على حقيقة كون المواد الكيماوية المستخدمة في التجارب المختبرية مثل مادة الكلوروفورم ومادتي الكيتامين -زايلازين من الممكن ان تسبب تاثيرات سلبية على نتائج التجربة او لا بالمقارنة مع الطريقة الطبيعية لقتل الحيوان بدون مادة كيميائية وهي طريقة فصل الفقرة العنقية. وذلك من خلال اجراء دراسة نسجية لكل من نسيج الكبد والكلية لحيوانات مقتولة بهذه الطرق الثلاثة.

استعراض المراجع

التجارب المختبرية

تستخدم الحيوانات في الابحاث الطبية الحيوية من وجهة نظر تاريخية مما يوفر نظرة ثاقبة حول القضايا الاجتماعية والاخلاقية الاكثر أهمية في هذا الموضوع عبر الزمن هو كيفية استخدام طرق القتل المقبولة علمياً و اخلاقياً وان البشر يستخدمون انواع من الحيوانات الفقرية كنماذج للتشريح منذ فجر الطب حيث اقامة الاطباء في اليونان بتشريع الحيوانات لأجراء دراسات تشريعية وان اجراء التجارب على الحيوانات ادى الى تطور البحث العلمي (Von Staden *et al.* , 1989).

أدرك عالم التشريح الفلكي فيزالبوس (1514- 1564) من خلال عمله كطبيب وجراح ان الهياكل التشريعية التي يعتقد انها موجودة في البشر كان وجودها في الحيوانات الاخرى غائبة في الواقع (O malleg *et al.* , 1964) وقد دفعه ذلك الى كسر القواعد المدنية والدينية الراسخة وتشريح الجثث البشرية (Von Staden *et al.* , 1989) وبالتالي وضع اسس التشريح المقارن الحديث.

في القرن السابع عشر اجريت التجارب على الحيوانات في الفترة المواتية للتقدم العلمي المعروفة الان باسم عصر التنوير وتعرض زينية ديكارت (1596-1650) لانتقادات شديدة من قبل العديد من المعاصرين ولكن مع ذلك قدم العلماء وسيلة لتبرير ما يمكن اعتباره الان تجارب مروعة للغاية (Maehle *et al.* , 1987).

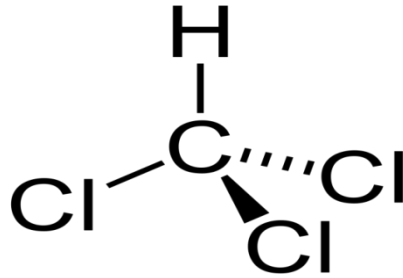
كان ينظر الى الحيوانات المختبرية بانها حيوانات خسيصة من قبل معظم الناس وبالتالي فأنا أقل جدارة بالاعتبار الاخلاقي. والتي بدورها اعتبرت ان استخدامها في البحث اكثر قبولا (Rudacille *et al.* , 2001) كما اشار Baumans وجماعته (2007) الى ان الحيوانات المختبرية مقارنة مع الحيوانات الاخرى تمتاز بما يلي:-

- 1- انها صغيرة وسهلة الاستخدام ورخيصة نسبياً.
 - 2- انها شديدة المقاومة للتزاوج الداخلي المتعاقب ولها عمر افتراضي قصير ومعدل تكاثر سريع.
- حيث كانت الفئران هي اول انواع القوارض التي استخدمت في الاغراض العلمية. يعود استخدامها في الابحاث الفسيولوجية الى عام 1828. وبعدها تطورت واصبحت الاداة المفضلة في البحث العلمي. وهي جرد wister والتي اغلبها يتم استخدامها في المختبرات في الوقت الحالي (Lindsey *et al.* , 2006)، وعلى الرغم من ظهور حركة حقوق الحيوان فقد كان البحث على الحيوانات لأغراض طبية حيوية كما يزال مقبولاً من الناحية الاخلاقية من قبل اغلب الجمهور مع ذلك اصبحت معاناة الحيوان ذات صلة اجتماعية ومعنوية (Crettaz *et al.* , 2012).

وينبغي السعي لتحقيق توازن اخلاقي بين الفوائد الناجحة عن التقدم الطبي الحيوي او تقليل من مقدار الالم او الضيف الذي تعاني منه الحيوانات في تلبية الاحتياجات الاساسية للإنسان وللحيوانات الاخرى (Singer *et al.* , 2000).

الكوروفورم chloroform

حضر الكوروفورم لأول مرة عام 1831 من قبل كل من يوستوس فون ليبيغ واوجين سويران وذلك بشكل مفعّل واكتشفت خواصه المخدرة من قبل العديد من الاطباء حيث لاقى استخدام الكوروفورم رواجاً كمخدر في العمليات الجراحية مثل الطبيب الانكليزي روبرت كلومز عام 1842 والفسولوجي الفرنسي ماري جان بير فلورين عام 1842 والطبيب الاسكتلندي جيمس بونغ سيمبسون.



الشكل (1): التركيب الكيميائي للكوروفورم

هو مركب عضوي صيغته الكيميائية $CHCl_3$ شكل (1) وهو سائل عديم اللون سهل التطاير.

للكوروفورم تأثير تحذيري كما انه مذيّب جيد لمختلف المواد الكيميائية خاصة الزيوت غير قابل للاشتعال وله رائحة خفيفة مميزة له.

* اذا وقعت قطعة مبللة بالكوروفورم على انف شخص ولمدة دقيقتين وكانت القطعة محكمة على انفه يموت الشخص واذا كانت القطعة غير محكمة يغمى عليه بعدما تنفس من غاز الكوروفورم (Sir James et al 2013).

استخداماته

يستعمل الكوروفورم على نطاق واسع في العديد من الصناعات الورق والمطاط ومطافئ الحريق ومستحضرات التجميل ومواد التخدير كما يمكن ان ينتج من عملية كلورة مياه الشرب ويستخدم كمذيّب عضوي للعديد من المواد في المختبرات التعليمية والصناعية مما يؤدي تعرض الانسان للكوروفورم من خلال المياه الصالحة للشرب والغذاء والتربة وكذلك عن طريق الاتصال الجلدي المباشر في الاوساط الملوثة كما يمتلك الكوروفورم امكانية تطفير خارج جسم الكائن الحي وداخله (Budavari et al ., 2001).

سلبيات استخدام الكلوروفورم

أشارت دراسات اخرى ان الجرعة العالية من الكلوروفورم احدثت ضرراً كروموسومياً في خلايا النسيج الكلوي للجرذان (AL-Fartose et al., 2004).

وبين بعض الباحثين ان الجرعتين العاليتين من الكلوروفورم 9,30 ppm يسبب أوراًماً كلوية في الفئران (Templie et al., 1998)، ان التعرض للمزيد من الكلوروفورم يؤدي الى تنشيط الاورام في كبد وكلية القوارض (Ipcs et al., 2000).

اشارت بعض الابحاث الى الاثر التراكمي للكلوروفورم في انسجة الكائنات الميتة حيث احتفظت تلك الانسجة بالكلوروفورم بشكل غير متوقع. بسبب امتلاكه معدل ذوبان عالي في الدم لذا فعند التعامل به فان نسبة كبيرة منه تنتقل الى الدم ومن بقائها في الرئة ويتم التخلص منه بسيط لقدرة ذوبانه بسهولة في دهون الدم او يستغرق معدل اتران الكلوروفورم والتخلص منه الى 2-3 اسبوع (EPA et al., 1998).

خلق عنق الرحم creation of the cervix

هو وسيلة شائعة للقتل الحيواني يشير الى تقنية تستخدم في القتل الجسدي للحيوان الصغير عن طريق الضغط على الرقبة وخلق العمود الفقري من الجمجمة والدماغ (Glossary et al., 2007).

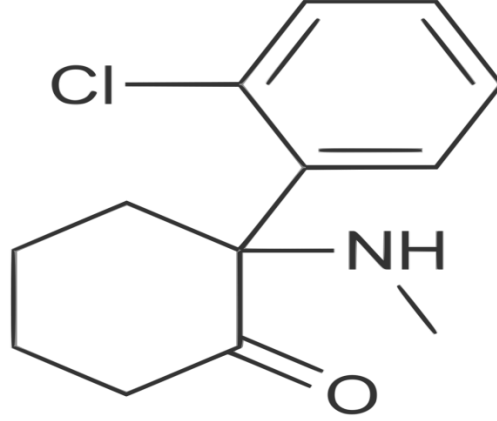
الهدف هو فصل الحبل الشوكي بسرعة (Extension et al., 2008) عن الدماغ لتزويد الحيوان بموت سريع وغير مؤلم.

طريقة الفصل

ضغط قوية على قاعدة الجمجمة ولف الذيل بين الابهام والسبابة في نفس الوقت اسحب للخلف على الذيل هذا يقطع الحبل الشوكي عند قاعدة الدفاع او داخل منطقة العمود الفقري (الثالث العلوي من الرقبة) (Extension et al., 2008) وفقاً فأن خلق عنق الرحم، (CCAC للمجلس الكندي الرعاية الحيوان يتم عادةً فقط على الحيوانات الصغيرة تعتبر جامعة iowa وبعض الجامعات البيطرية هذه التقنية بمثابة طريقة مقبولة اخلاقياً لأنها حياة القوارض الصغيرة مثل الجرذان والفئران والسناجب) (Glossary et al., 2007).

الكيتامين ketamine

كيتامين بالانكليزي(Ketamine) شكل (2) واسعة التجاري كيتالار، هو مادة يستخدم حالياً بشكل اساسي في تخدير الحيوانات في الطب البيطري (veterinary medicine) وللتخدير في العمليات الجراحية. تم اكتشاف الكيتامين في عام 1962 وهو مدرج في قائمة الادوية الاساسية لمنظمة الصحة العالمية وهي الادوية الاكثر فعالية والامنة واللازمة في النظام الصحي وهو متاح كدواء عام (CESAR (Glossary et at ., 2014



شكل (2): التركيب الكيميائي للكيتامين

استخدامات الكيتامين

يستخدم الكيتامين اساساً للبدء واستخدام التخدير حيث انه بسبب حالة تشبه النشوة مع تخفيف الالم ولتهديئة وفقدان الذاكرة حيث يبدأ تخديره عادةً في غضون خمسة دقائق عندما تعطى عن طريق الحقن لكن اثاره الجانبية تستمر لمدة تصل الى 25 دقيقة ويستخدم الكيتامين كموسع للقصبات الهوائية في علاج الربو الحاد بالإضافة الى فوائده السريرية محدودة (Jat et at ., 2012) كما يمكن استخدام الكيتامين احياناً في علاج متلازمة الالم النامي المركب ووجد استعراض منهجي عام 2013 ادلة منخفضة الجودة فقط لدعم استخدام الكيتامين لعلاج هذه المتلازمة كما تم اختبار الكيتامين كمضاد للاكتئاب سريع مفعول لعلاج الاكتئاب المقاوم للعلاج في الاضطراب ثنائي القطب واضطراب الاكتئاب الرئيسي وغالباً ما تكون فائدة قصيرة الامد (Glossary et at.,2014)

مساوي استخدام الكيتامين

اشار Tyler وجماعته (2007) الى جملة من مساوي استخدام الكيتامين منها :

ردود الفعل النفسية عند انتهاء مفعول الدواء وقد تشمل ردود فعل التهيج والارتباك والهلوسة وارتفاع ضغط الدم والهزاف العضلية اموراً شائعة نسبياً من حيث انخفاض ضغط الدم وبطئ التنفس يكون بنسبة أقل وندراً ما يحدث تشنج للحجرة، كما تم تصنيف الكيتامين كمضاد للمستقبلات NMDA ولكن لم يتم فهم الية جيداً اعتباراً من عام 2017 ووجدت دراسة اجريت على قرود ديسوس أن التسريب الوريدي للكيتامين على مدار 24 ساعة تسبب في حدوث اضرار في دماغ الحيوانات عمرها خمسة ايام ولم تحدث في الحيوانات عمرها 35 يوم (Patel et al ., 2009) ولا يوحي بعض خبراء حديثي الولادة باستخدام الكيتامين كعامل مخدر مع حديثي الولادة من البشر بسبب الاثار السلبية المحتملة التي قد تسببها في الدفاع النامي وقد شوهدت هذه التغييرات التنكيسية العصبية في التنمية المبكرة مع الادوية الاخرى التي تشترك في نفس الية عم تضاد مستقبلات تمداه مثل الكيتامين (Patel et al ., 2009).

تأثير الكيتامين على الكبد والكلية

في تقارير حالة لثلاثة مرضى تم علاجهم بالكيتامين لتخفيف الالم المزمن حدث خلل في انزيمات الكبد بعد تكرار العلاج بضخ الكيتامين مع تراجع قيم انزيمات الكبد تحت المعدل الطبيعي عند وقف الدواء وتشير النتيجة انه يجب مراقبة انزيمات الكبد خلال هذا العلاج ويختلف وقت بداية اعراض المسالك البولية السفلي اعتماداً في جزء منه على شدة وزمن استخدام الكيتامين ومع ذلك فمن غير الواضح ما اذا كانت شدة وطول فترة استخدام الكيتامين يتوقف خطياً مع ظهور هذه الاعراض وقد ذكره جميع الحالات المبلغ عنها التي يكون فيها المستخدم قد استهلك اكثر من 5 جم/يوم (Yeung et al ., 2009).

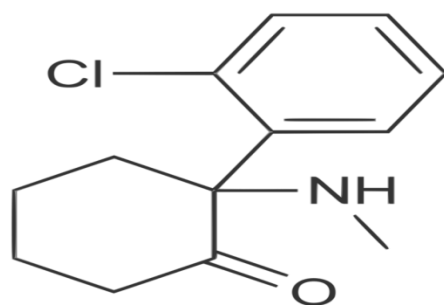
تم التبليغ عن نخر الحليمات الكلوية في بعض الحالات وقد تم دراسة امراض النخر الحليمي في الفئران وتم اقتراح انه يمكن اعتبار الارتشاح التهابات وحيدات النوى في الحليمات الكلوية الناجمة عن التعود على الكيتامين هي الالية الممكنة (Beu et al ., 2012)

الديناميكية الدوائية

يعمل الكيتامين في المقام الاول كمضاد لمثيل تمداء، لكن الية الكاملة لم تكن مفهومة جيداً اعتباراً من عام 2017 (Tyler et al ., 2017).

زيلازين xylazine

تم اكتشافه في عام 1962 من قبل العالم بايرقي ليفركوزن في المانيا كعامل خافض للضغط شكل (3) ويتم استخدامه للتخدير، استرخاء العضلات، وتسكين الحيوانات مثل الخيول والماشية وغيرها من الثدييات غير الثديية. كما يستخدم الاطباء البيطريون زيلازين وخاصة في القطط و كثيراً ما يستخدم زيلازين في تركيبة من الكيناسين تحت العديد من الاسماء التجارية في مختلف انحاء العالم وعلى الاخص اسم العلامة التجارية باير رومبون (Sedazine, Anased). كما يتم تسويقه باسم (Chanazine 50)، كما تختلف فعالية الدواء مع الحيوانات المختلفة (Patricia et al ., 2012).



شكل (3): التركيب الكيميائي للزيلازين

الاستخدامات الطبية

كثيراً ما يستخدم زيلازين كمسكن لارتخاء العضلات حيث يستخدم في علاج الكزاز، كما يكون شبيه جداً بالعقاقير مثل الفينوثيرازين ومضادات الاكتئاب ثلاثية الحلقات والكوتيدين ويستخدم كمخدر عادةً بتزامن مع الكيتامين (Ruiz- Colon et al ., 2014).

يستخدم الزيلازين للحدود من الحساسية اتجاه الانسولين والجلوكوز ويستخدم لخفض مستويات الجلوكوز الى مستوى Yohimbine استخدام صحي في الية السريرية (Xiao et al ., 2013) ويمكن لل Yohimbine عكس التأثيرات الضارة للزيلازين اذا تم اعطاؤه عن طريق الوريد بجرعة مقدارها 0,5 مل، 20 رطل فترة قصيرة من اعطاء زيلازين (Xiao et al ; 2013).

الآثار الجانبية للزيلازين

جرعة زائدة عادة مميتة في البشر نظراً لاستخدامه في المخدرات. تختلف الأعراض التي تسببها بين الأفراد Xylazine الأدوية المصاحبة. وتشمل الآثار الجانبية الأكثر شيوعاً لدى البشر المرتبطة بزيلازين بطء القلب، صعوبة التنفس انخفاض ضغط الدم محاربة ارتفاع ضغط الدم الثانوي لتحفيز العصب المبهم زيلازين يقلل بشكل كبير من حصول ضربات القلب في الحيوانات التي لم يتم تخديرها مسبقاً مع الأدوية التي لها تأثيرات مضادة لكولينالزيلازين يمكن ان يؤدي الى مرض سكري او ارتفاع سكر الدم (Torruet et at ., 2011).

كما يمكن ان تحدث آثار جانبية اخرى هي رخاوة والوهن وتنتج عدم وضوح الرؤية. الارتباك والدوخة والنعاس انكماش البطين المبكر وتلفظ، خلل القياس، والاعماء وضعف المنعكسات وتقل اللسان، عدم انتظام دقات القلب تقبض الحرفة وجفاف الفم (Xiao et at., 1998). يقال ان الاستخدام المزمن يرتبط بالتدهور الجسدي الاعتماد ولخراجات وتقرحات الجلد، والتي يمكن ان تكون مدمرة جسدياً ومؤلمة (Ruiz-Colon et at ., 2014).

ويمكن ان يسبب آثار جانبية سلبية على الكبد والكلية لذلك يوصي الاطباء عادةً باستخدام علاج ازالة السموم الذي يجب استخدامه لإدارة خلل الوظيفي المحتمل الذي يتضمن اعضاء عالية الرقة مثل الكبد والكلية (Ruiz- Colon et at ., 2014).

الآثار الجانبية في الحيوانات تشمل ارتفاع ضغط الدم عابرة انخفاض ضغط الدم والاكتئاب في الجهاز التنفسي (Veilleux-Lemieux et at ., 2013). وعلاوة على ذلك فان انخفاض حساسية الانسجة للانسولين يؤدي الى ارتفاع السكر في الدم الناجم عن زيلازين وخفض امتصاص الجلوكوز في الانسجة وتستمر مدة التأثيرات في جسم الحيوان لمدة تصل الى ساعات وفي الحيوانات يمكن اعطاء الزيلازين الحقن العضلي او الوريدي (Xiao et at ., 1998). وباعتبار مخدراً بيطرياً يتم اعطاء الزيلازين مرة واحدة للتأثير المقصود قبل او اثناء العمليات الجراحية (Ruiz- Colon et at ., 2014) و يستخدم في الحيوانات مهدئ للأعصاب ومسكن ومرخي للعضلات في الكلاب والقطط والخيول والغزلان (Reyes et at ., 2012).

الدوائية

في الكلاب والاعنام والخيول والماشية عمر النصف قصير جداً فقط في 1.21 الى 5.91 دقيقة في الاعنام وما يصل الى 49.51 دقيقة في الخيول (Silva- Torres et at ., 2014) في الفئران القصيرة نصف العمر هي ساعة (Ruiz- Colon et at ., 2014).

يحتوي الزيلازين على كمية كبيرة 1.9- 2.5 (74)VD للخيول والماشية والاعنام والكلاب على الرغم من وصول الى تركيزه في البلازما الى الذروة في 12- 14 دقيقة في جميع الانواع والتنوع البايولوجي يختلف في جميع الانواع (Veilleux –Lemieux et at ., 2013)،

ويعتمد عمر النصف على عمر الحيوان حيث يرتبط العمر بالمدة الطويلة للتحذير ووقت التعافي (Ruiz- Colon *et al.*, 2014) وتحدث السمية مع الاعطاء والمتكرر بالنظر الى التخلص الايضي من الادواء عادةً ما يتم حسابه من 7 الى 9 واضعاف النصف ويستغرق من 4-5 ايام لإزالة زيلازين (Veilleux-Lemieux *et al.*, 2013).

الكيتامين زيلازين

الكيتامين هو مضاد المستقبلات الحسية التي توفر فقدان الذاكرة وتسكين الالم والانفصال عن البيئة وعدم الحركة (Ruiz- Colon *et al.*, 2014).

يعمل الكيتامين جانباً الى جنب الزيلازين في تخدير القوارض. حيث ان الزيلازين يكمل تأثير الكيتامين مع خصائص مسكنة استرخاء العضلات والتخدير.

يوفر مزيج الكيتامين تخديراً أمنً نسبياً دون الحاجة الى مقدرات منخفضة وعادةً ما يتم حقنه داخل الصفاق واحد (Branson *et al.*, 2014).

يمكن ان يكون لدى الفئران الفردية استجابات شديدة التغير للتخدير مع بعض الفئران التي لا تحقق مستوى مخدر جراحي مقبول.

يعمل الكيتامين كمخدر عام ويقوم بإذابة عالية الدهون في الابدائية، ومن ثم يتم توزيع الكيتامين على الانسجة شديدة النضج مثل الدماغ.

هناك تأثيراً واضحاً للعمر والعوامل المرتبطة به على حركة الدوائية للكيتامين زيلازين.

لان يتم استقلاب كل من الكيتامين وزيلازين بواسطة انزيمات في الكبد وافرازها في الكلى فان 450م السيتوكروم التغيرات المرتبطة بالعمر (Meyer *et al.*, 2008)

واستقلاب الكبد يمكن ان تفسير نتائجنا جيداً (Wauthier *et al.*, 2008). سوف تحدث تغيرات في البنية الاساسية للعقبات الكبدية الخلوية على سبيل المثال (الشبكة الاندوبلامية) مع تقدم السن يمكن ان يرتبط بتغيرات كيميائية حيوية (Schmucker *et al.*, 1990).

تم تغير الاستقلاب الكبدي في مختلف ركائز في الفئران التي تختلف في العمر. وذلك بسبب التغيرات النوعية في السيتوكروم التي قد تحدث في انسجة الكلى والدماغ بالإضافة الى ذلك قد تختلف تركيزات البلازما الدوائية بسبب التغيرات الفسيولوجية المرتبطة بالشيخوخة على سبيل المثال تتناقص معدلات الترشيح الكبيبي مع تقدم العمر على الرغم من المعدل الجمالي للنيفرون لابد ان يتغير وبذلك فان التغيرات الحركية الدوائية المرتبطة بعمر الحيوان قد تعكس كل من التعديلات الايضية والفيسيولوجية. (Gaertner *et al.*, 2008).

طرائق العمل

طرائق العمل Methodes

أجريت هذه الدراسة في البيت الحيواني التابع لقسم علوم الحياة كلية التربية /جامعة القادسية واستخدمت الفئران البيض التي تم شرائها من البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري /جامعة القادسية، شملت عينة الدراسة 9 فئران سوية (Healthy) من ذكور الفئران البيض وبأعمار تراوحت من ستة إلى ثمانية أسابيع وكانت أوزانهم تتراوح ما بين (23_26) غرام وزعت الحيوانات عشوائيا في ثلاثة أقفاص بلاستيكية أبعادها 15 X 35 X 15 سم، عرضت الحيوانات جميعها لنفس الظروف من درجة الحرارة والإضاءة وأعطيت الحيوانات الخبز الجاف والماء بصورة حرة وتركت لمدة عشرة ايام للتأقلم.

التضحية بالحيوانات Animals sacrifice

بعد مرور عشرة ايام في اليوم الحادي عشرة بدأت عملية التضحية بالحيوانات وذلك باتباع الطرق الثلاث المختارة في هذا البحث وذلك كما يلي:

المجموعة الاولى T1 : ضمت ثلاث حيوانات تم شل حركتها بأجراء عملية فصل الفقرة العنقية وذلك من خلال الضغط بواسطة حامل الشفرة على رقبة الحيوان من الخلف وسحب الذيل باليد الاخرى بحركة سريعة لكن ثابتة ومستمرة بدون توقفات الى يتم سماع صوت طقطقة الفقرات العنقية والاحساس بانفصال الحبل الشوكي (Almad et al., 2011)..

المجموعة الثانية T2 : ضمت ثلاث حيوانات تم تخديرها باستخدام مادة الكلوروفورم وذلك بتغميس قطعة من القطن بكمية 2 مل من الكلوروفورم ووضعها مع الحيوان في وعاء مغلق لمدة اربع دقائق بالضبط وهي الفترة الزمنية التي لوحظ بانها كافية لتخدير الحيوان دون وصوله الى الموت الكامل وهذا ما يتبع في التجارب المختبرية، مع مراعاة تهوية الوعاء وتبديل قطعة القطن في كل مرة عند قتل كل حيوان لضمان تعرض كل الحيوانات الثلاث الى نفس الظروف والكمية من الكلوروفورم والفترة الزمنية.

المجموعة الثالثة T3: تم معاملتها بخليط من مادتي Kitamine-Xylazine لغرض تخديرها وذلك بعد ان تم قياس وزن كل حيوان لغرض حساب خليط الجرعة الملائمة لتخديره باتباع طريقة (Andrew *et al.*, 2015) والتي اشارت الى ان الجرعة المناسبة لتخدير القوارض هي (Kitamine 80mg/k + Xylazine 10mg/k) ، حيث تم مزج الخليط في محقنة طبية سعة واحد مل ذات ابرة رفيعة وتم الحقن في عضلة الفخذ الداخلية وترك الحيوان لحين تخدره وتوقفه عن الحركة.

في كل من الطرق الثلاث بعد وصول الحيوان الى مرحلة الشلل التام تم تثبيت الحيوان وفتح البطن واستئصال الكلية واخذ قطعة من الكبد وحفظت في الفورمالين 10% لغرض اجراء الفحوصات النسجية.

Histological examination الفحوصات النسجية

تم اتباع طريقة (Luna, 1968) في تحضير الشرائح النسجية لمقاطع الكلى والكبد في مختبر بغداد بأشراف الدكتور أوس الجنابي المتخصص في الانسجة المرضية وتم فحصها تحت القوة 40X لدراسة وتصوير التغيرات النسجية في كل منها تحت اشراف ومتابعة الاستاذ المساعد الدكتور حسين الحميداوي.

النتائج والمناقشة

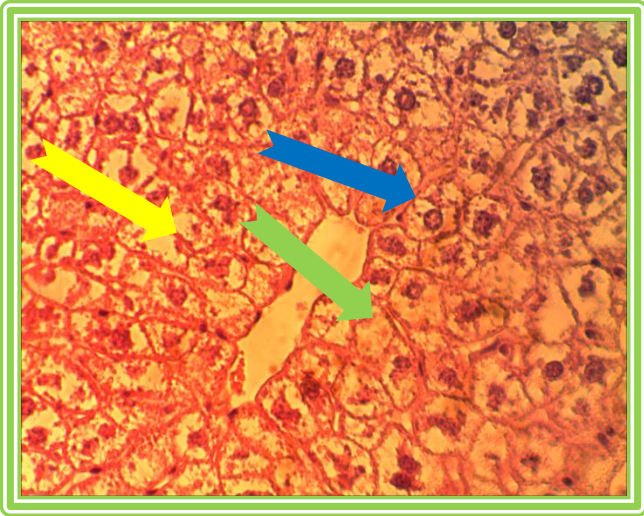
النتائج والمناقشة Results and Discussion

نتائج الفحص النسيجي ان المقاطع النسجية للكبد والكلية المأخوذة من حيوانات المجموعة الاولى التي تم قتل حيواناتها باستخدام فصل العنق اي بدون استخدام مواد كيميائية الشكل (1) اظهرت تغيرات طفيفة مقارب للشكل المفترض الطبيعي على الرغم من وجود تحلل بسيط للانوية حول الشرايين مع وجود احتقان دموي بسيط ولكن معظم الخلايا كانت ذات انوية طبيعية وتنظيم هندسي مع عدم ملاحظة تنخر او تهتك نسيجي.

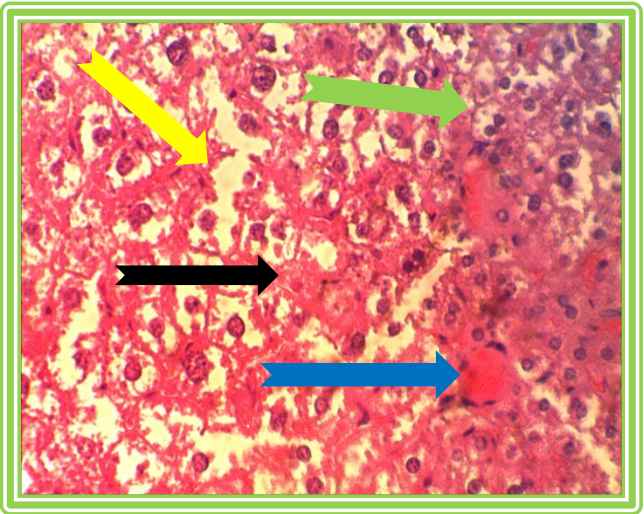
مجموعة المعاملة الثانية التي قتلت حيواناتها باستخدام الكلوروفورم شهدت نتائج الفحص النسيجي للمقاطع المأخوذة من كبد هذه الحيوانات الشكل (2) تضررا ملحوظا بالمقارنة مع باقي مجاميع التجربة، اذا كان هنالك تهتك وتنخر شديد في الانسجة وتحلل للانوية واحتقان دموي في اكثر من شريان ضمن المقطع النسيجي مع عدم انتظام في الشكل الهندسي النظامي للخلايا الكبدية.

مجموعة المعاملة الثالثة التي قتلت حيواناتها باستخدام خليط كيتامين-زيلازين شهدت نتائج الفحص النسيجي للمقاطع المأخوذة من كبد هذه الحيوانات الشكل (3) تضررا اخف واقل شدة بالمقارنة مع المجموعة الثانية، اذ كان هنالك تحلل لبعض الانوية مع وجود انتظام هندسي للخلايا الكبدية وتجمع دموي بسيط.

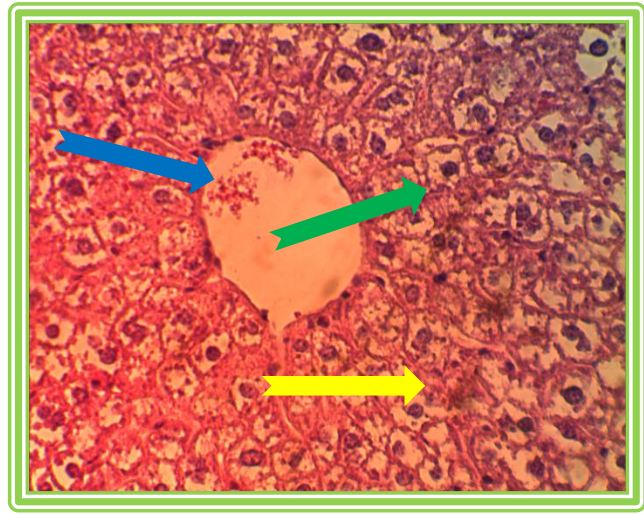
فيما يتعلق بالمقاطع النسجية التي اخذت من الكلى لكل مجاميع التجربة الاشكال (4) و (5) و (6) على التوالي، فلم يلاحظ أي تغير او تضرر في هذه المقاطع.



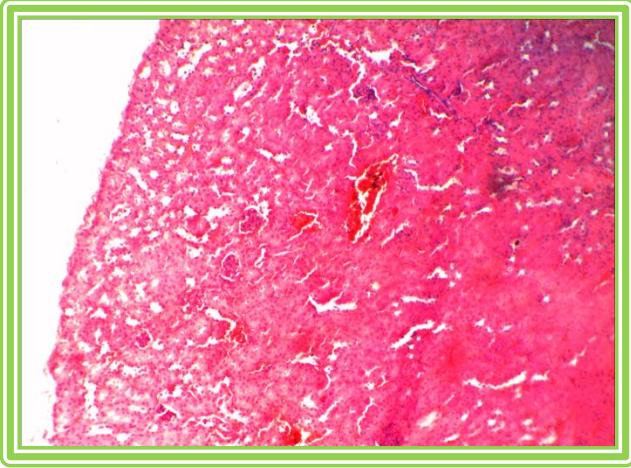
شكل(1): نسيج الكبد في المجموعة الاولى(فصل العنق)، انوية طبيعية(السهم الازرق)، تنظيم هندسي (السهم الاخضر)، تحلل خلوي بسيط(السهم الاصفر).
H&E 400X



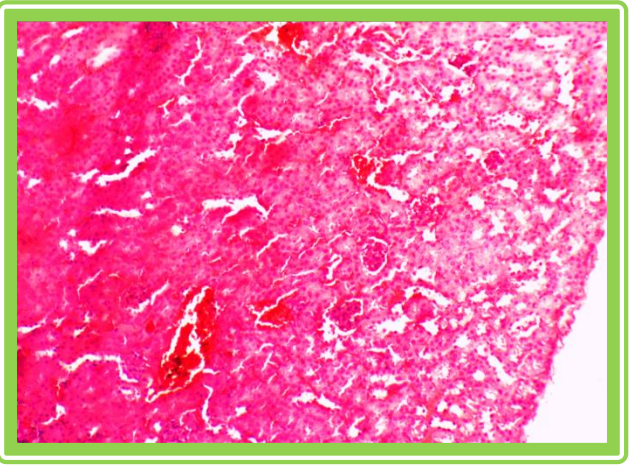
(: نسيج الكبد في المجموعة 2شكل) الثانية(الكلوروفورم)، انوية متحللة(السهم الاسود)، عدم انتظام هندسي (السهم الاخضر)، تنخر خلوي (السهم الاصفر).
H&E 400X



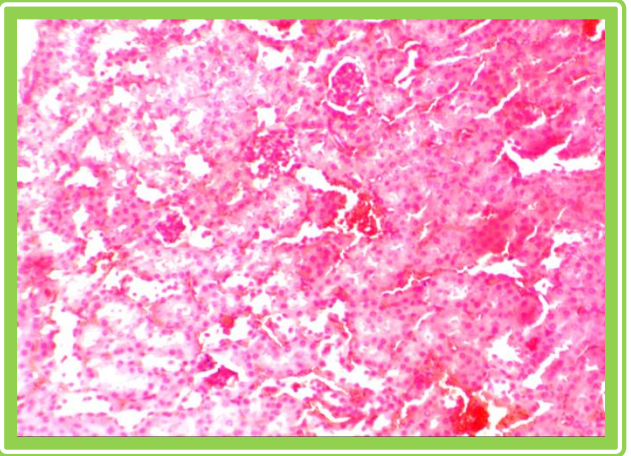
شكل(3): نسيج الكبد في المجموعة (، تحلل انوية بسيط(السهم K+Z الثالثة ا) الاصفر)، انتظام هندسي (السهم الاخضر)، تجمع دموي (السهم الازرق) .
H&E 400X



شكل(4): نسيج الكلية في
المجموعة الاولى (فصل العنق)،
H&E ترتيب نسيجي منتظم.
100X



شكل(5): نسيج الكلية في
المجموعة الثانية (كلوروفورم)،
H&E ترتيب نسيجي منتظم.
100X



شكل(6): نسيج الكلية في
المجموعة الثالثة
(، ترتيب نسيجي منتظم. K+Z)
H&E 100X

ان ما اظهرته نتائج الفحص النسيجي لكل من مقاطع الكبد والكلية في مجموعة المعاملة الاولى التي تم التضحية بحيواناتها بواسطة طريقة فصل الفقرة العنقية من ترتيب مقارب للشكل الطبيعي لخلايا نسيج الكبد والكلية قد يعود الى كون هذه الطريقة لم يستخدم فيها مواد كيميائية للقتل وهذا قد يعتبر التفسير المنطقي الوحيد اذا ما قارنا هذه النتائج مع نتائج بقية مجاميع التجربة باعتبار ان المواد الكيميائية هي المتغير الوحيد في التجربة، يسند هذا ما توصلت اليه دراسات اخرى من ضمنها دراسة Andrew وجماعته (2015) والتي اشارت الى ان طريق قطع الحبل الشوكي المؤلم يمكن ان تسبب اضطرابا كبيرا في الجسم مما يسبب خلل وظيفي وعضوي للكثير من الاعضاء بسبب ضعف التمثيل الغذائي والتزود الخلوي بالخلايا وخاصة في الكبد والكلية لأنها الاجهزة الاساسية التي تكون في موجهة التقلبات الجسمية الايضية والمراكز التنسيقية للثبات الداخلي للجسم.

فعملية جرح الحبل الشوكي تسبب ارتفاع مستوى الجاذبات الكيميائية Chemokines في الدورة الدموية وبالتالي زيادة تجمع الخلايا البيضاء في اعضاء مثل الرئة والكبد والكلية وهذا ما يمكن ان يسبب اضرار نسجية مرضية مثل الوذمة والنزف (Bao et al., 2012).

ولكن من الجدير بالذكر ان هذه التغيرات السلبية تحتاج الى اصابة مستمرة لوقت طويل نسبيا حتى تصل الى المرحلة المرضية والتضرر الفعلي لذلك لم يتم ملاحظة تغيرات سلبية شديدة او متوسطة في حيوانات هذه المجموعة لان تجربتنا كانت انية أي تم استئصال الاعضاء بعد القتل مباشرة، في حين ان التغيرات السلبية المرضية وتضرر انسجة الكبد والكلية لوحظ بانها تظهر فعليا بعد مرور ثلاثة اسابيع على الاقل من عملية جرح وتمزيق الحبل الشوكي في الفئران (Andrew et al., 2015).

ان التسمم بالمواد الكيميائية يمكن ان يسبب اضرار نسجية متفاوتة الشدة اما بشكل مباشر بسبب المادة نفسها او بشكل غير مباشر بسبب النواتج الايضية العرضية لهذه المادة الكيميائية مما يؤدي الى تضرر الاعضاء الجسمية خاصة الكبد كونه عضو التخلص من السموم في الجسم وتنتقل منها الى اجهزة اخرى مثل الكلية كونه العضو الاخراجي في الجسم (Dekant, 2001).

بالتالي فإن هذه المعلومة ممكن أن تفسر الضرر الحاصل في انسجة الكبد في مجاميع الحيوانات التي قتلت باستعمال الكلوروفورم والكيثامين-زيلازين. فالكلوروفورم يتم امتصاصه وانتشاره خلال جسم الانسان والحيوانات الاخرى مثل القوارض عند التعرض له سواء بالتنفس والاستنشاق او التناول الفموي وهذا قد ثبت من خلال الدراسات التي سجلت مستوى عالي من الكلوروفورم في الانسجة الدهنية، الدماغ، الكبد، الكلية، الغدة الادرينالية والدم (Bingham et al., 2001).

وهذا ما تأكده نتائج الفحص النسيجي للمقاطع النسجية المأخوذة من كبد الحيوانات المقتولة بالكلوروفورم التي اظهرت تغيرات نسجية سلبية وتضرر في انسجة وخلايا الكبد، وقد يكون ذلك بسبب الكلوروفورم نفسه او بسبب ناتجه الايضي الرئيسي وهو dichloromethyl وهو جذر حر قوي يمكن ان يتفاعل بشكل اوامر تساهمية قوية مع الانزيمات الكبدية في الخلايا ومع الاحماض الدهنية مما يؤدي الى فقد هذه الانزيمات وزيادة عملية بيروكسدة الدهن وارتفاع مستوى الجذور الحرة التي تتفاعل مع انسجة الخلايا وتدمر الجدران الخلوية (U.S. EPA. 2001)، خاصة وان عملية القتل تمت بواسطة الاستنشاق، وهذه الطريقة تسبب التسمم الشديد للأعضاء الرئيسية وهي الجهاز العصبي والكبد (Bingham et al., 2001). وهذا ما قد يفسر التضرر الشديد والملحوظ في انسجة كبد حيوانات المجموعة الثانية بالمقارنة حتى مع المقاطع النسجية لحيوانات المجموعة الثالثة التي قتلت بحيواناتها بمادتي كيثامين-زيلازين.

فمن خلال نتائج الفحص النسيجي لنسيج الكبد في هذه المجموعة والتي اشارت الى ان مستوى التضرر النسيجي اقل واخف مما في مجموعة الكلوروفورم ربما يكون هذا دليل على كون خليط الكيثامين-زيلازين اخف وطأة واقل ضررا من الكلوروفورم، لان الكيثامين يمكن ان يسبب تأثير على انسجة الكبد ولكنها اضرار بسيطة قد تصل الى درجة الاضرار المجهرية أي القليلة والبسيطة جدا ويمكن ان يقلل تخزين الكلايوجين ويسبب تليف الكبد عند التعرض لفترات طويلة (Wong et al., 2012)، ولكن عملية التليف بسبب الكيثامين تحتاج الى وقت طويل لكي تظهر بشكل ملحوظ (Cheung et al., 2017).

لان خليط الكيثامين-زيلازين يحتوي في تركيبه على مادة isoflurane ذات التأثير الوقائي للكبد التي قد تحمي الخلايا الكبدية من تأثير المواد الكيماوية ولو بشكل محدود وهذا ما دفع الى استخدام هذا الخليط في عمليات التخدير بشكل شائع في التجارب المخبرية (Tang et al., 2014).

اما فيما يخص الكلية فان عدم ملاحظة اضرار نسجية فيها وعدم تأثرها بالمواد الكيماوية فقد يعود على قصر فترة التعرض لهذه المواد الكيماوية من بدأ تخدير الحيوان وحتى استئصال الكلية من جسم الحيوان، لان الكلية تعتبر عضو اقل حساسية واقل تعرض للمواد الكيماوية بالمقارنة مع الكبد الذي يكون العضو المستهدف الرئيسي وتحتاج الى فترة تعرض اطول قد تصل الى اشهر حتى تتأثر نسيجيا وبشكل ملحوظ (Dragon *et al.*, 2014).

المصادر

References :-

von Staden and H. Herophilus. (1989) .The Art of Medicine in Early Alexandria. Cambridge University Press; Cambridge, UK.

O'Malley C.D. and Andreas Vesalius of Brussels. (1964). University of California Press; Berkeley, CA, USA.

Maehle A.-H and Tröhler U. (1987). Animal experimentation from antiquity to the end of the eighteenth century: Attitudes and arguments. In: Rupke N.A., editor. Vivisection in Historical Perspective. Croom Helm; London, UK.

Rudacille D . (2001) .The Scalpel and the Butterfly: The Conflict between Animal Research and Animal Protection. University of California Press; Berkeley, CA, USA The dogs of war; pp. 55–79.

Baumans V.(2007) . The welfare of laboratory mice. In: Kaliste E., editor. The Welfare of Laboratory Animals. Volume 2. Springer; Dordrecht, The Netherlands :pp. 119–152.

Lindsey J.R. and Baker H.J. (2006) . Historical foundations. In: Suckow M.A., Weisbroth S.H., Franklin C.L., editors. The Laboratory Rat. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands.

Crettaz von Roten F.(2012). Public perceptions of animal experimentation across Europe. Public Underst. Sci doi: 10.

Singer P.(2000) Ethics into Action: Henry Spira and the Animal Rights Movement. Rowman & Littlefield Publishers; Lanham, MD, USA.

Smyth D.H.(1978). Alternatives to Animal Experiments. Sclar Press [for] the Research Defence Society; London, UK.

Sir James.(2013). Young Simpson Encyclopaedia. Archived from the original on 27 July 2013. Retrieved 23 August 2013.

Budavari, S. (2001) The Merck index, 13th ed White house Station, NJ, Merck & Co., p. 2162.

Constan AA ; Wong BA ; Everitt JI, Butterworth BE (2002) Chloroform inhalation exposure conditions necessary to initiate liver toxicity in female B6C3F1 mice. *Tox. Sci.*,66:201–208.

AL-Fartose, K. K.(2004). Physiology studies of the effect of benzene in Laboratory Ph.D. thesis. Educ. coll., Basrah Univ mice and human.

Templin, M. V.; A. Constan,. D.C. Wolf,. B.A Wong,. (1998) Patterns of chloroform-induced regenerative cell proliferation in BDF1 mice. correlate with organ specificity and dose–response of tumor formation. *Carcinogenesis*, 19:187–193.

-IPCS (2000b) Disinfectants and disinfectant byproducts. Geneva, World Health Organization, *Int Pro. Che. Saf.*: 216.

U.S. EPA. (1994d) Final draft for the drinking water criteria document on trihalomethanes. Prepared for Health and Ecological Criteria Division, Office of Science and Technology, Washington, DC, under EPA Contract 68- 139 by Clement International Corporation.

"Glossary Archived June 29, 2007, at the Wayback Machine." CCAC Programs. 2005. Canadian Council on Animal Care Archived 2009-10-17 at the Wayback Machine. Accessed 13 July 2007.

Extension "Archived copy". Archived from the original on 2008-01-15. Retrieved 2007-07-13.

University of iowa. "Euthanasia Archived January 26, 2008, at the Wayback Machine." Accessed 15 August 2007.

Tyler. Marshall W., Yourish. Harmony B., Ionescu Dawn F., Haggarty. Stephen J.(2017) "Classics in Chemical Neuroscience: Ketamine". *ACS Chemical Neuroscience*.

Patel.P, Sun L. (April 2009) "Update on neonatal anesthetic neurotoxicity: Insight into molecular mechanisms and relevance to humans.

Yeung.LY.JA, Lam,WP; Mak.YT. (December 2009) "Mice are prone to kidney pathology after prolonged ketamine addiction.

Ruiz-Colón, K; Chavez-Arias, C; Díaz-Alcalá, JE; Martínez, MA (July 2014). "Xylazine intoxication in humans and its importance as an emerging adulterant in abused drugs: A comprehensive review of the literature". *Forensic Science International*.

Xiao, YF; Wang, B; Wang, X; Du, F; Benzinou, M; Wang, YX (20 October 2013). "Xylazine-induced reduction of tissue sensitivity to insulin leads to acute hyperglycemia in diabetic and normoglycemic monkeys". *BMC Anesthesiology*.

Torruella, RA (11 April 2011). "Xylazine (veterinary sedative) use in Puerto Rico". *Substance Abuse Treatment, Prevention, and Policy*.

Veilleux-Lemieux, D; Castel, A; Carrier, D; Beaudry, F; Vachon, P (September 2013). "Pharmacokinetics of ketamine and xylazine in young and old Sprague-Dawley rats". *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*.

Reyes, JC; Negrón, JL; Colón, HM; Padilla, AM; Millán, MY; Matos, TD; Robles, RR (June 2012). "The emerging of xylazine as a new drug of abuse and its health consequences among drug users in Puerto Rico". *Journal of Urban Health*.

Gaertner DJ, Hallman TM, Hankenson FC, Batchelder MA. 2008. Anesthesia and analgesia for laboratory rodents, p 239–297. In: Fish R, Danneman PJ, Brown M, Karas A, editors. *Anesthesia and analgesia in laboratory animals*. London (UK): Elsevier.

Branson KR. 2001. Injectable anesthetics, p 247–258. In: Adams HR, editor. *Veterinary pharmacology and therapeutics*. Ames (IA): State University Press.

Meyer RE, Fish RE. 2008. Pharmacology of injectable anesthetics, sedatives, and tranquilizers, p 27–82. In: Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ. *Anesthesia and analgesia in laboratory animals*. San Diego (CA): Academic Press.

Wauthier V, Verbeeck RK, Buc Calderon P. 2004. Age-related changes in the protein and mRNA levels of CYP2E1 and CYP3A isoforms as well as in their hepatic activities in Wistar rats. What role for oxidative stress? Arch Toxicol

Schmucker DL. 1990. Hepatocyte fine structure during maturation and senescence. J Electron Microscop Tech 14:106–125.

Duffin, J.(2010). Interrogating life: History of physiology. In History of Medicine: A Scandalously Short Introduction, 2nd ed.; University of Toronto Press Toronto, Canada . 40

Preece, R. (2011).The history of animal ethics in western culture. In The Psychology of the Human-Animal Bond: A Resource for Clinicians and Researchers; Blazina C., Boyra, G., Shen-Miller, D., Eds.; Springer: New York, NY, USA, pp. 45–62.

Andrew D. Sauerbeck,¹ J. Lukas Laws,¹ Veera V.R. Bandaru,² Phillip G. Popovich,¹ Norman J. Haughey,² and Dana M. McTigue. (2015). Spinal Cord Injury Causes Chronic Liver Pathology in Rats. JOURNAL OF NEUROTRAUMA 32:159–169.

Luna, L.G. (1968). Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd ed. McGraw. Hill book. Co. London.

Bao, F., Omana, V., Brown, A., and Weaver, L.C. (2012). The systemic inflammatory response after spinal cord injury in the rat is decreased by alpha4beta1 integrin blockade. J. Neurotrauma 29, 1626–1637.

Almad, A., Lash, A.T., Wei, P., Lovett-Racke, A.E., and McTigue, D.M. (2011). The PPAR alpha agonist gemfibrozil is an ineffective treatment for spinal cord injured mice. Exp. Neurol. 232, 309–317.

Bingham B, Cohrssen B, and Powell C (eds). *Patty's Toxicology*. 5th Edition . Vol. 5.

2001: John Wiley & Sons, Inc.

Wong, Y.W.; Lam, L.; Tang, H.; Liang, Y.; Tan, S.; Yew, D.T. Intestinal and liver

changes after chronic ketamine

and ketamine plus alcohol treatment. *Microsc. Res. Tech.* 2012, 75, 1170–1175.

Cheung H.M.; Chow T. C. H.; David T. W. Y.(2017). How Ketamine Affects Livers of

Pregnant Mice and Developing Mice?. *Int. J. Mol. Sci.* 18:1098- 1110.