المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٢، العدد ٢، ٢٠٠٨ (١٢٧-١٣٩)

دراسة مرضية للتسمم التجريبي بالكادميوم في اسماك الكارب الاعتيادي *Common carp (Cyprinus carpio L)*

شهباء خليل ابراهيم الطائي و الاء حسين علي الحمداني

فرع الأمراض، كلية الطب البيطري،جامعة الموصل، الموصل، العراق
e-mail: shahbaa_khalil@yahoo.com

(الاستلام٢٥ كانون الثاني ٢٠٠٨؛ القبول١٦ كانون الأول ٢٠٠٨)

الخلاصة

تم في هذه الدراسة تحديد التركيز المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم في اسماك الكارب الاعتيادي Cyprinus carpioL خلال 24 ساعة كذلك درست التاثيرات السمية للتركيز دون المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم للمدة 15,7,4يوما.اشارت النتائج المستحصل عليها الى حدوث انخفاض معنوي($p\leq0.05$)في تركيز الهيموغلوبين وحجم خلايا الدم الحمر المرصوصة وعدد الخلايا اللمفية في كل المجموعات وارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في نشاط الالنين امينو ترانسفيريز Alanineamino Transferase ALT ونشاط الكرياتين فوسفوكانيز Creatine phosphokinase CPK في مصل الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة، واعتمادا على مدة التجربة اذ كانت الزيادة معنوية عند اليوم الخامس عشر من التجربة. اظهرت الاسماك المعاملة بالتركيز دون المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم تغييرات سلوكية عصبية تمثلت بالسباحة غير الطبيعية والقفز فوق سطح الماء وبعدها تواصل السباحة بصورة طبيعية. اما الافات المرضية العيانية للتركيز دون المميت الوسطي، فقد تضمنت احتقان الغلاصم. نسجيا تمثلت الافات بحدوث فرط التنسج في الخلايا الظهارية وتضخم الخلايا الساندة المخاطية مع ارتشاح الخلايا الالتهابية مما ادى الى التصاق الصفائح الغلصمية الثانوية. عند استمرار التعرض للكادميوم الى اليوم الخامس عشر لوحظت الافات نفسها ولكن اكثر شدة. لوحظ احتقان الكبد والكلية مع ظهور بقع شاحبة على السطح الخارجي لهما، ونسيجيا تضمنت الافة ارتشاح الخلايا الالتهابية وخاصة الخلايا الميلانية البلعمية والخلايا وحيدة النواة في النسيج الكبدي، وتثخن جدار القنوات الصفراوية، وحدوث النزف والنخر في النسيج الكبدي بينما في الكلية فقد لوحظ احتقان الاوعية الدموية مع تكون القوالب المتزججة في النبيبات الكلوية.

Pathological study of experimental cadmium toxicity in common carp (*Cyprinus carpio L.*)

S. K. I. Al-Taee, A. H. A. Al-Hamdani

Department of Pathology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

The median lethal concentration of cadmium chloride $CdCl_2$ at 24 hour in *Cyprinus carpioL* was determined. The toxic effect of sublethal concentration of $CdCl_2$ was studied for 4, 7, 15 day. There was estimated significant decrease in hemoglobin concentration, Packed cell volume (PCV) and lymphocyte counts, with significant increase ($P\leq0.05$) in the serum alanine aminotransferase and creatine phosphokinase activity correlated with progression of exposure period. The elevation was more significant on the 15^{th} day in all groups in comparison with non treated control group. The fish treated with sublethal concentration of $CdCl_2$ showed behaviors of nervous signs manifested as abnormal swimming and jumping above the water surface. The gross lesions of sublethal concentration toxic effects included congestion of gills. Histopathological lesions revealed hyperplasia of epithelial cells with hyperatrophy of piler cells and inflammatory cells infiltration which lead to adhesion of the secondary lamellae of gills. The same lesions were observed on the 15^{th} day of exposure but were more severe.

In liver and kidney which appeared congested with presence of pale areas, histopathological lesions include infiltration of inflammatory cells, specially melanomacrophage and mononuclear cells in hepatic tissue with thickening of the bile duct wall, hemorrhage and necrosis in hepatic tissue. In the kidney, there was a congestion of blood vessels and deposition of hyaline casts in the renal tubules. Accumulation of cadmium in gills, kidney and liver after 4, 7 and 15th day of exposure showed an increase in level of accumulation with progression of exposure period.

Available online at http://www.vetmedmosul.org/ijvs

المقدمة

يتواجد الكادميوم في المياه العذبة وبتراكيز واطئة تتراوح بين 0.01-0.5 مايكروغرام/لتر (1) وتختلف هذه التراكيز اعتمادا" على الترسبات السطحية وطبيعة الصخور القاعدية (2). يعد الكادميوم من الملوثات التراكمية والتي لها تأثير سمي على الاحياء المائية حتى عند التراكيز الواطئة (3)، يدخل الكادميوم الى اجسام الاسماك عن طريق السبيل الهضمي والغلاصم وينتقل بعد ذلك الى الدم ويتحد بخلايا الدم الحمر والالبومين وينتشر الى اعضاء الجسم (4) وتصل نسبة الكادميوم المتراكم في كل من الكبد والكلية الى (75%) (5) وبنسب مختلفة في كل من القلب والغلاصم والانسجة الاخرى (6, 7) فقد اشار الباحث (8) الى ان بعض الاسماك تكون حساسة جدا للتراكيز المنخفضة من الكادميوم 0.001 – 3.70 ملغم/لتر مثل سمكة *Gambusia affinis*، وسمكة الزرد*rerio Brachydanio* (9)، بينما تظهر انواع اخرى من الاسماك مقاومة وقدرة تحمل كبيرتين للتراكيز العالية من الكادميوم 3.5 -126.0 ملغم /لتر مثل السمكة ثلاثية الشوكات *Gasterosteus acuteatus* وسمكة البنيني كبيرة الفم *Cyprinion macrostomus* والسمكة من نوع *Closia fasciatus* (10).

تزداد القابلية السمية للكادميوم في الاسماك عند نقص كمية الاوكسجين المذاب في الماء Hypoxia بسبب تحطم نسيج الغلاصم (11). كما يؤدي التسمم بالكادميوم الى احداث اضطراب وخلل بالتوازن الايوني ومن ثم حدوث تغيير في نضوحية الغشاء الخلوي Cell Wall Permeability (12). كذلك يؤدي التسمم بالكادميوم في الاسماك الى فقدان الشهية، واحداث تغيير في سلوك الاسماك اذ تكون الاسماك المعرضة للكادميوم بطيئة الحركة فضلا"عن استقرارها في قعر الحوض،وقلة استجابتها للمؤثرات الخارجية كالصوت والضوء (13)، كما يؤثر الكادميوم على صورة الدم في الجسم اذ يؤدي الى تحطيم كريات الدم الحمر وقلة حجم خلايا الدم الحمر المرصوصة وانخفاض تركيز الهيموغلوبين ومن ثم حدوث فقرالدم وله تأثير متباين على العد التفريقي لكريات الدم البيض (14).

يؤدي التسمم بالكادميوم الى احداث تغيرات كيموحيوية في جسم الاسماك اذ اشار (15) الى ان تعرض الأسماك الذهبية *Carassius auratus*للكادميوم بتركيز 20 ملغم /لتر ولمدة 15يوما" ادى الى زيادة فعالية Superoxide Dimutase (SOD) وادى بعد 7 و 15يوما" الى زيادة فعالية انزيم Catalase (CAT) في خلايا الدم الحمر، مما يدل على اهمية هذه الانزيمات بوصفها اليات حماية ضد اصناف الاوكسجين الفعالة Reactive Oxygen Species(ROS)في الانسجة الناتجة من التسمم بالكادميوم والمؤدي الىالاجهاد التاكسدي (16, 17).

المواد وطرائق العمل

الاسماك

استخدمت في هذه الدراسة اسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio L.*، التي تم الحصول عليها من قسم الثروة الحيوانية- كلية الزراعة/جامعة دهوك وبواقع 55 سمكة، تراوحت اوزانها بين (50-100) غم وضعت في احواض زجاجية قياسها (80×40×40) سم٣ في ماء خال من الكلور Dechlorinated Water وكانت الدالة الحامضية pH 7.5 ودرجة حرارة18-20 م ه مع توفر الاوكسجين خلال مدة التجربة. تركت الاسماك لمدة اسبوع للتآقلم وللتأكد من خلوها من الامراض مع استمرار التغذية إلى حين بدء التجربة اذ قطع الغذاءعنها قبل بدء التجربة بـ 24 ساعة والى نهاية مدة التجربة.

جمع عينات الدم

جمعت عينات الدم من الوريد الذنبي للسمكة Caudal Veinبواسطة محقنة بلاستيكية سعة٢,٥ سم ٣ وقسمت الى قسمين :القسم الاول من الدم وضع في انابيب زجاجية خالية من مانع التخثر ووضعت الانابيب بشكل مائل وبدرجة حرارة الغرفة ولمدة 30 دقيقة ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/10دقائق، لغرض الحصول على المصل، القسم الثاني من الدم حفظ في انابيب حاوية على مانع التخثر لغرض اجراء الفحوصات الدموية.

وتم اجراء الصفة التشريحية للاسماك المستخدمة في هذه الدراسة وسجلت التغييرات المرضية العيانيةواخذت نماذج من الغلاصم والكلية والكبد من هذه الاسماك وحفظت في الفورمالين الدارئ10% لغرض اجراء الفحوصات النسجية.قسمت الاسماك الى مجموعتين :المجموعة الاولى لتحديد التركيز المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم اذ تم معاملة الاسماك بكلوريد الكادميوم وبتراكيز انحصرت بين (2- 1) ملغم/لتر،وبواقع 5 اسماك لكل تركيز، واستخدمت طريقة رسم المنحنى طريقة Trevan (18) في تحديد التركيز المميت الوسطي.اما المجموعة الثانية فكانت لدراسة التاثيرات السمية لكلوريد الكادميوم اذ استخدمت 30سمكة، قسمت عشوائيا الى مجموعتين وضعت كل مجموعة في60 لتر ماء.

المجموعة الاولى :وضعت الاسماك في ماء خال من الكلور وحاوي على كلوريد الكادميوم وبالتركيزتحت المميت الوسطي(1) ملغم/لتر

المجموعة الثانية : اعتبرت مجموعة سيطرة اذ وضعت في ماء خال من الكلور. وتم قتل 5 اسماك من كلا المجموعتين بعد مرور 4و7 و15 يوما" على التوالي ودرست المعايير التالية:-

1-المعايير المرضية العيانية والنسجية

2-المعايير الدموية والتي شملت:

- قياس تركيز الهيموغلوبين باستخدام عدة القياس الخاصة انتاج شركة Syrbio، فرنسا.
- تقدير حجم خلايا الدم الحمر المرصوصة باستخدام طريقة المايكروهيماتوكريت،والنسبة المئوية للخلايا اللمفية (19).

3-المعايير الكيموحيوية والتي شملت:

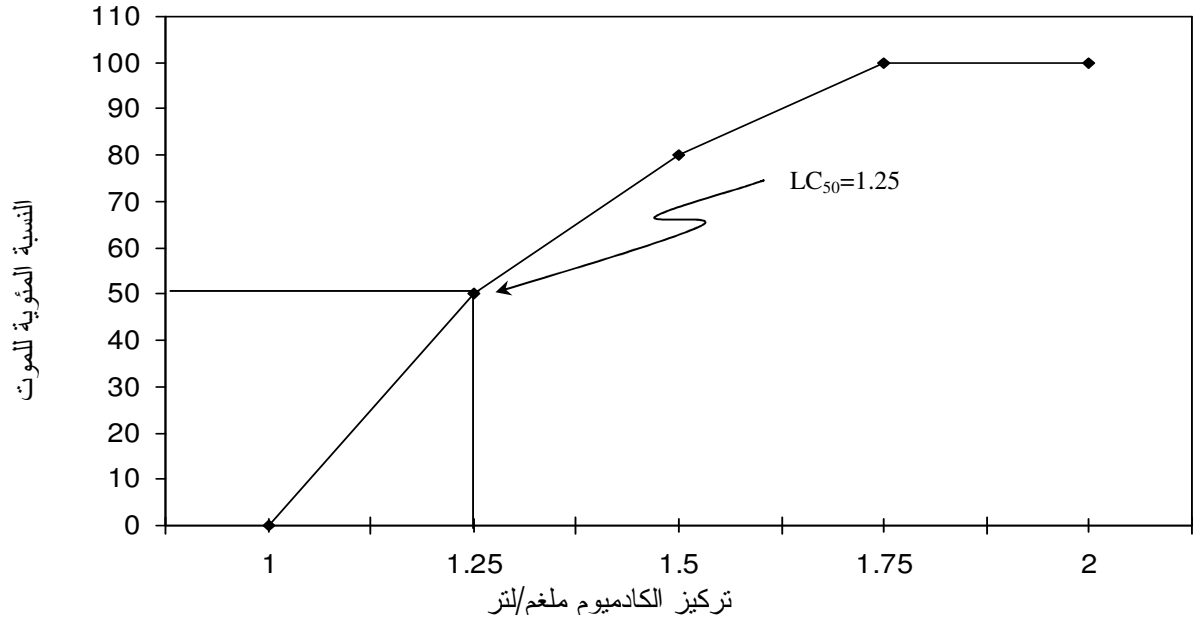
- قياس نشاط انزيم الالنين امينو ترانسفيريز انتاج شركةBiomaghreb، المغرب.
- قياس نشاط انزيم الكرياتين فوسفوكاينيزانتاج شركة Biolabo SA، فرنسا.

التحليل الاحصائي

تم استعمال اختبار تحليل التباين واختباردنكن متعدد المديات وباستعمال برنامج التحليل الاحصائي (20).

النتائج

اظهرت نتائج هذه الدراسة بان التركيز المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم 1.25 ملغم/لتر وذلك باستخدام طريقة رسم المنحنى (طريقةTrevan) كما موضح في الشكل (1) اذ ادت معاملة الاسماك بهذا التركيز الى قتل نصف عدد الاسماك المعاملة بكلوريد الكادميوم خلال 24 ساعة.



الشكل ١: التركيز المميت الوسطي LC_{50} لكلوريد الكادميوم في اسماك الكارب الاعتيادي.

التغييرات المرضية

اظهرت الاسماك المعاملة بالتركيز دون المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم تركيز1 ملغم/لتر سباحة غير طبيعية تمثلت بظهور حركات عصبية والقفز فوق سطح الماء، ثم الاستقرار في قعر الحوض لفترة زمنية وبعدها تواصل السباحة بصورة طبيعية.

وقد تمثلت الافات المرضية العيانية لاعضاء الاسماك المعاملة بكلوريد الكادميوم باحتقان الغلاصم، وشحوب الكلية والكبد مع ظهور بقع نخرية محاطة بمناطق نزفية، وسجلت هذه الافات عند اليوم الرابع من المعاملة وازدادت هذه الافات شدة الى نهاية التجربة عند اليوم الخامس عشر، الصورة (1).

وقدا ظهرت نتائج الفحص النسيجي لكل من الغلاصم والكلية والكبد بعد مرور 4 ايام من المعاملة وجود افات في ***الغلاصم*** تمثلت بحدوث فرط تنسج في الخلايا الظهارية المبطنة للصفائح الغلصمية الثانوية مما ادى الى حدوث التصاقات فيما بينها، وزيادة اعداد الخلايا الساندة المخاطية Pilercells مع كبر حجمها وامتلاء تجويفها بالمادة الافرازية المخاطية وارتشاح الخلايا الالتهابية مع احتقان الاوعية الدموية. اما في ***الكلية***فقد تمثلت الافات بارتشاح الخلايا الالتهابية في النسيج الخلالي مع وجود نزف وحدوث التنكس الزجاجي Hyaline degeneration في بعض النبيبات الكلوية. امّاالافات المرضية النسيجية التي لوحظت في ***الكبد*** فقد تمثلت بتثخن جدار القنوات الصفراوية مع انسلاخ الظهارة المبطنة للقناة الصفراوية، كما لوحظ ارتشاح الخلايا الالتهابية المتمثلة بالخلايا احادية النواة Mononuclear cells والخلايا الميلانيةالبلعمية Melanomacrophage، مع وجود نزف في النسيج الكبدي والنسيج البنكرياسي، فضلا" عن ترسب صبغة الهيموسيدرين في النسيج الكبدي البنكرياسي مع حدوث التنكس الفجوي. اما بعد مرور7 ايام من المعاملة فقد كانت الافات مماثلة لما ذكر عند اليوم الرابع من المعاملة ولكن بشدة اكثرلكل من الغلاصم والكلية، اما في ***الكبد*** فقد كانت الافات المرضية مشابهة لما ذكر عند اليوم الرابع فضلا" عن التنكس الفجوي في الخلايا الكبدية. وفي ***الغلاصم*** ادت معاملة الاسماك بكلوريد الكادميوم الى اليوم الخامس عشر الى زيادة شدة الافة المرضية اذ لوحظ فرط تنسج في الخلايا الظهارية للصفائح الغلصمية الثانوية وفي قمم الصفائح الغلصمية الابتدائية فضلا عن تضخم في الخلايا المخاطيةالساندة ووجود النزف في الصفائح الغلصمية الصورة(2)مقارنة مع غلاصم الاسماك غير المعاملة بكلوريد الكادميوم الصورة(3). وفي ***الكلية*** فقد لوحظ ارتشاح الخلايا الالتهابة احادية النواة وبشكل منتشر Diffuse infiltration مع وجود النزف في النسيج الخلالي كما لوحظ انسلاخ الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية عن الغشاء القاعدي في بعض من هذه النبيبات فيما لوحظ تحطم الغشاء القاعدي وحدوث الضخامة في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية وحدوث التورم الغيمي الصورة (4) مع تكون القوالب المتزججة Hyaline casts في تجويف النبيبات الكلوية الصورة (5). اما في ***الكبد*** فقد تمثلت الافات بحدوث تنكس فجوي شديد واحتقان الجيبانيات الصورة (6) فضلاعن ارتشاح الخلايا الالتهابية والنخرفي النسيج الكبدي الصورة (7) مقارنة مع كبد الاسماك غير المعاملة بكلوريد الكادميوم الصورة (8).

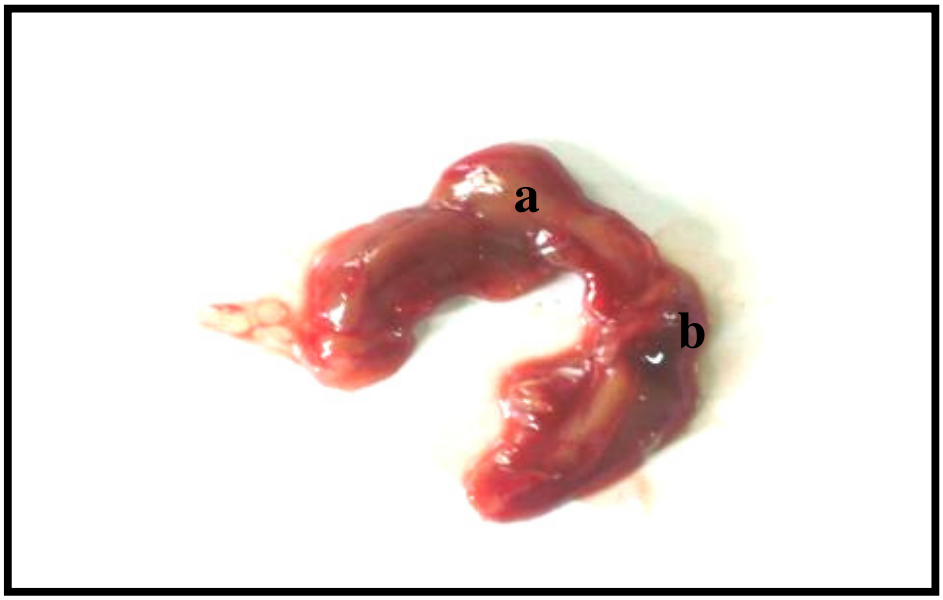
التغييرات الدموية

ادى معاملة الاسماك بكلوريد الكادميوم ١ ملغم/لتر وخلال 4،7، 15 يوماً الى انخفاض معنوي ($P<0.05$) في النسبة المئوية لحجم خلايا الدم الحمر المرصوصة والنسبة المئوية للخلايا اللمفية أما تركيزالهيموغلوبين فقد انخفض معنويا ($P<0.05$) خلال 7،15 من المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة وكما موضح في الجدول رقم (1).

التغييرات الكيموحيوية

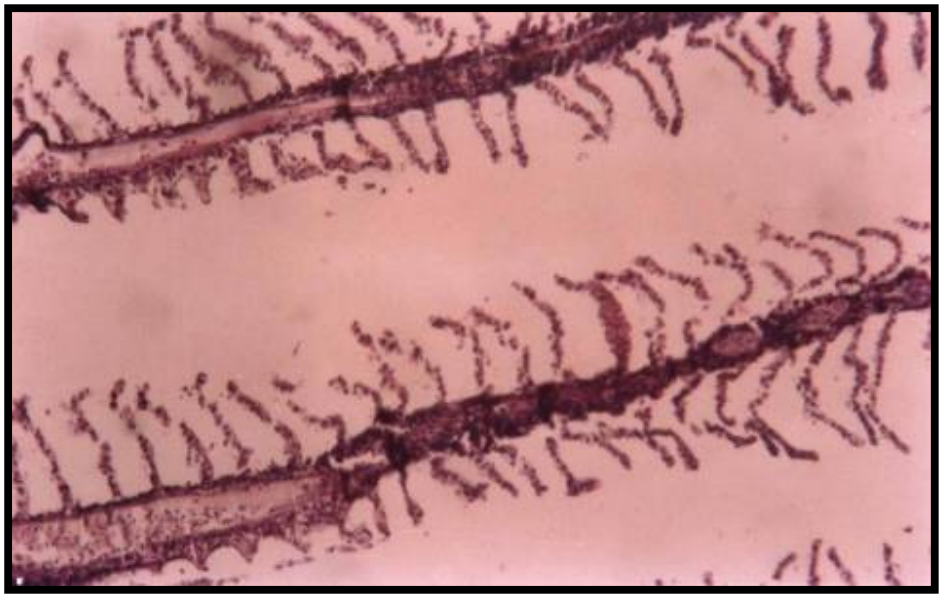
نشاط انزيم الالنين امينو ترانسفيريز ALT في مصل الدم (وحدة دولية /لتر): يوضح الجدول (2)وجود فروق معنوية($P\leq0.05$) في مستوى نشاط الانزيم ALT في المجموعات المعرضة لكلوريد الكادميوم وفي اوقات زمنية مختلفة،اذ كان هناك ارتفاع معنوي($P\leq0.05$) لمعدل المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم لمدة 4أيام عن المجموعة غير المعاملة بكلوريد الكادميوم. وقد كان الارتفاع اكثر معنوية ($P\leq0.05$) عند المجموعتين المعاملتين لمدة 7 و15 يوماً عن معدل المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم لمدة4 ايام وعن المجموعة غير المعاملة بكلوريد الكادميوم.

نشاط انزيم الكرياتين فوسفو كاينيزCPK في مصل الدم (وحدة دولية/لتر) : يوضح الجدول (2)وجود فروق معنوية($P\leq0.05$) في مستوى نشاط الانزيم ALT في المجموعات المعرضة لكلوريد الكادميوم وفي اوقات زمنية مختلفة،اذ كان هناك ارتفاع معنوي($P\leq0.05$) لمعدل المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم لمدة 4أيام عن المجموعة غير المعاملة بكلوريد الكادميوم. وقد كان الارتفاع اكثر معنوية ($P\leq0.05$) عند المجموعتين المعاملتين لمدة 7 و15 يوماً عن معدل المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم لمدة4 ايام وعن المجموعة غير المعاملة بكلوريد الكادميوم.

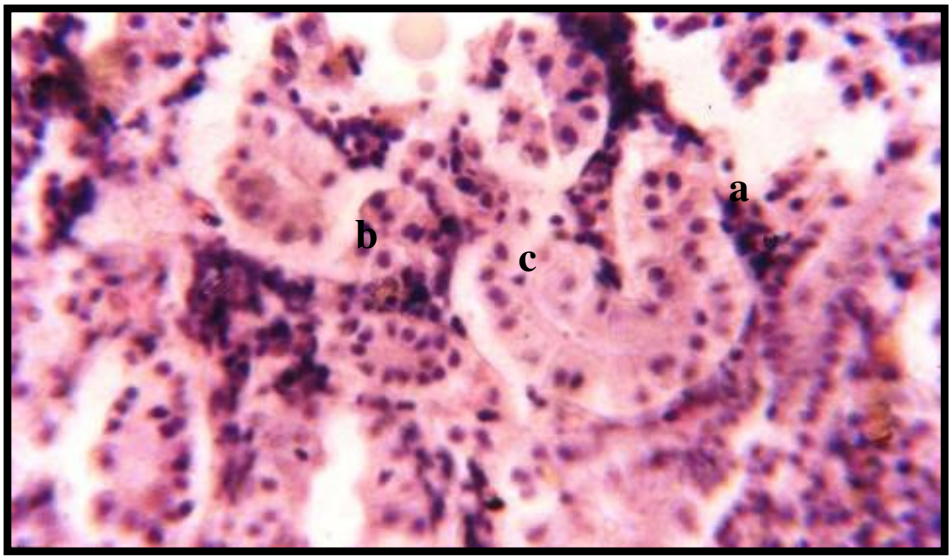


الصورة (1) كبد سمكة معاملة بكلوريد الكادميوم 1ملغم/لتر ولمدة 4 ايام يوضح وجود النخر(a) والاحتقان (b).

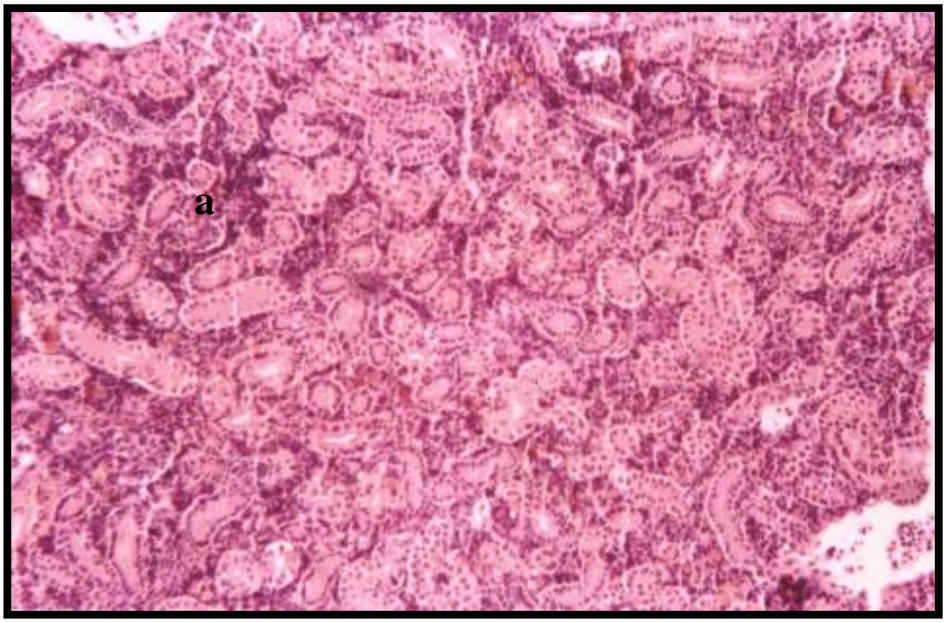
الصورة (2) لمقطع نسجي في غلاصم سمكة معاملة بكلوريد الكادميوم 1ملغم/لتر ولمدة 15 يوما"توضح فرط التنسج في الخلايا الظهارية المبطنة لقواعد الصفائح الغلصمية الثانوية (a) وفي قمم الصفائح الغلصمية الابتدائية (b) H&E، X400.



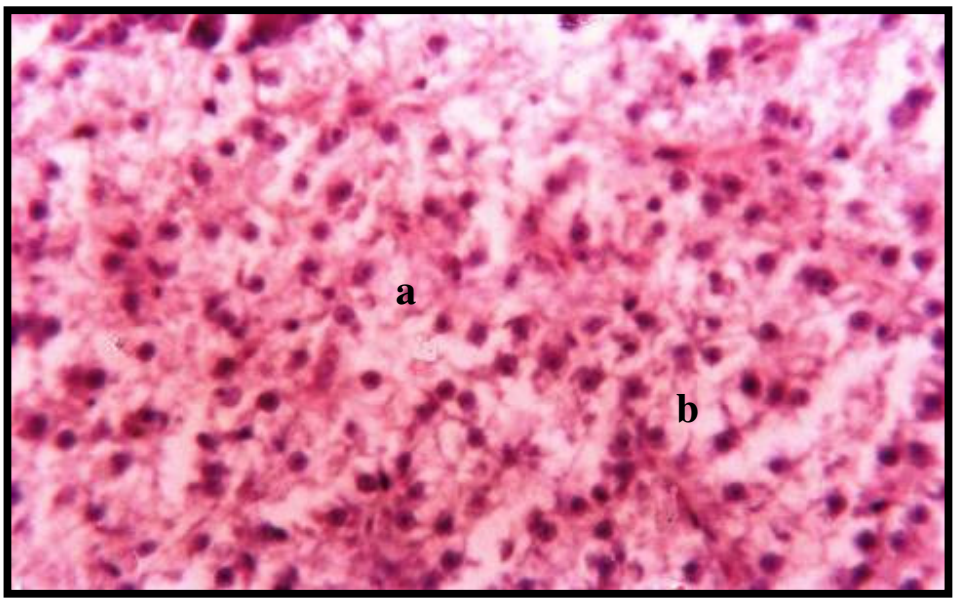
الصورة (3) لمقطع نسيجي في غلاصم سمكة غير معاملة بكلوريد الكادميوم , الصبغة H&E , X400.



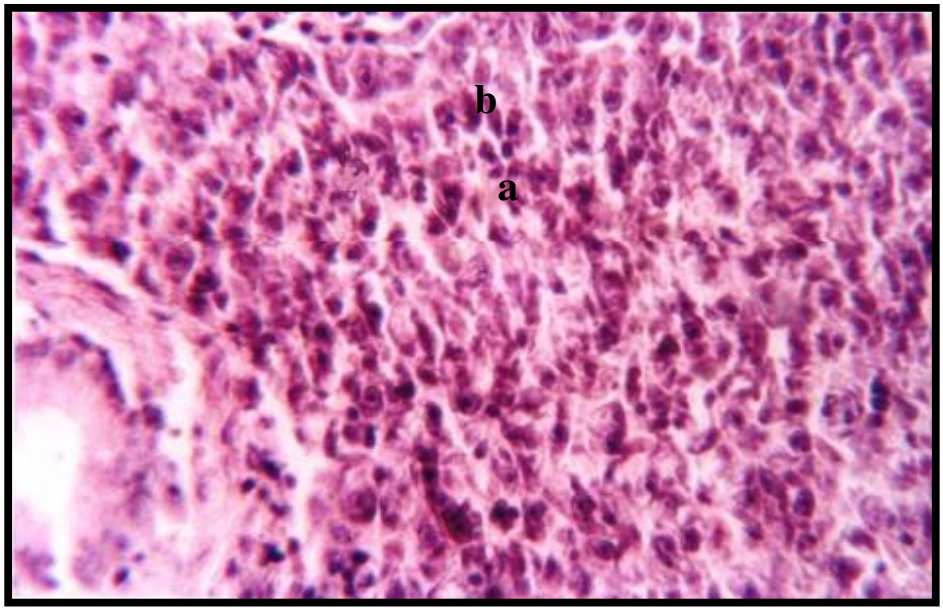
الصورة (4) لمقطع نسيجي في كلية سمكة معاملة بكلوريد الكادميوم 1ملغم/لتر ولمدة 15 يوما"توضح ارتشاح الخلايا الالتهابية بشكل منتشر (a) حدوث النزف (b) حدوث التورم الغيمي (C) H&E، X400.



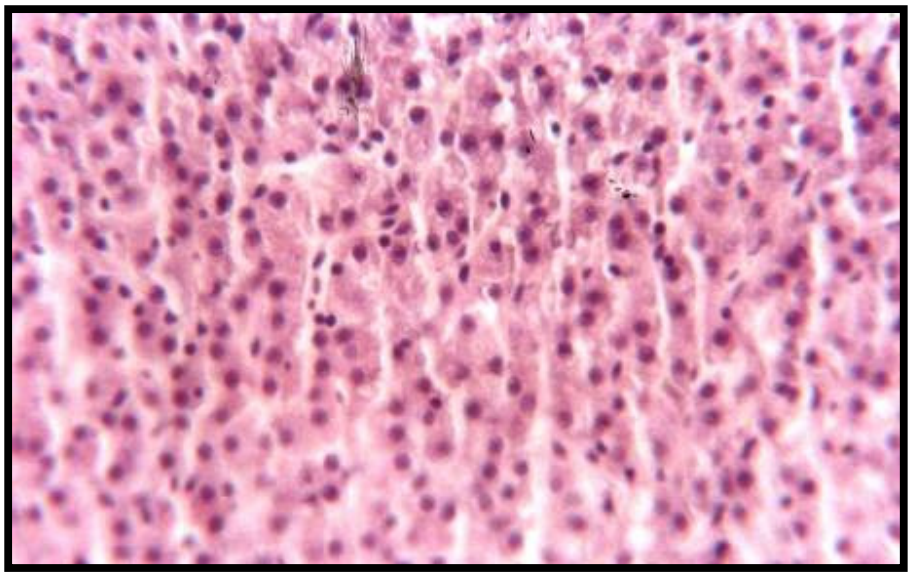
الصورة (5) لمقطع نسيجي في كلية سمكة معاملة بكلوريد الكادميوم 1ملغم/لتر ولمدة 15 يوما"توضح تكون القوالب المتزججة في بعض النبيبات الكلوية (a) H&E، X400.



الصورة (6) لمقطع نسيجي في كبد سمكة معاملة بكلوريد الكادميوم 1ملغم/لتر ولمدة 15 يوما"توضح حدوث التنكس الفجوي (a) واحتقان الجيبانيات(b) H&E، X400.



الصورة(7) لمقطع نسيجيفي كبد سمكة معاملة بكلوريد الكادميوم 1ملغم/لتر ولمدة 15 يوما"توضح حدوث النخر (a) وارتشاح الخلايا الالتهابية(b) H&E، X400.



الصورة (8) لمقطع نسيجي في كبد سمكة غير معاملة بكلوريد الكادميوم , الصبغة H&E , X400.

جدول (1) تأثير كلوريد الكادميوم 1ملغم/لتر على المعايير الدموية خلال اوقات زمنية مختلفة.

المجموعات(عدد ايام التعرض لكلوريد الكادميوم)	الهيموغلوبين غم/100 مللتر	حجم خلايا الدم الحمر المرصوصة%	عدد الخلايا اللمفية%
المجموعة غير المعاملة بكلوريد الكادميوم	1.8±14.76 a	3.34±45.4 a	0.98±96.60 a
المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم لمدة4 ايام	0.40±10.36 a	2.58±20.40 b	4.34±80.40 b
المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم لمدة7 ايام	1.00±8.46 b	0.5±21.20 b	1.03±80.40 b
المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم لمدة15 يوما	0.19±6.26 b	0.58±20.80 b	3.62±80.00 b

- القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي.
-الحروف المختلفة الموجودة على المعدلات تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ($P\leq0.05$).

الجدول (2) تأثير كلوريد الكادميوم على المعايير الكيموحيوية في مصل الدم وخلال اوقات زمنية مختلفة.

المجموعات(عدد ايام التعرض لكلوريد الكادميوم)	انزيم الالنين امينو ترانسفيريز وحدة دولية/لتر	انزيم الكرياتين فوسفو كاينيز وحدة دولية /لتر
المجموعة غير المعاملة بكلوريد الكادميوم	0.71± 5.48 c	0.91 ± 5.38 b
المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم 1ملغم/لترلمدة4 ايام	3.86 ± 63.40 b	1.80 ± 11.90 ab
المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم 1ملغم/لترلمدة7 ايام	4.32 ± 81.06 a	2.67 ± 19.88 a
المجموعة المعاملة بكلوريد الكادميوم 1ملغم/لترلمدة15 يوما	5.67 ± 85.76 a	5.57 ± 23.70 a

- القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي
-الحروف المختلفة الموجودة على المعدلات تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ($P\leq0.05$).

المناقشة

تم من خلال هذه الدراسة تحديد التركيز المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم خلال 24ساعة في اسماك الكارب الاعتيادي باستخدام طريقةرسم المنحنى (Trevan method) (18) وكان التركيز المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم 1.25 ملغم /لتر وهو التركيز الذي ادى إلى قتل نصف عدد الأسماك خلال24 ساعة. ويختلف التركيز المميت الوسطي اعتماداً على عوامل عديدة منها عمرالنصف للمركب وخصائصه الكيميائية والفعالية الايضية للمادة السمية(21) وكذلك العوامل الخارجية المتعلقة بالظروف البيئية ومكونات الماء ووجود ملوثات اخرى غير الكادميوم (22).

فضلا عن عمر السمكة اذ تزداد مقاومة اسماك الكارب الاعتيادي لسمية الكادميوم بازدياد حجم وعمر السمكة (23) وكذلك نوع الاسماك، اذ يتراوح التركيز المميت الوسطي للكادميوم خلال 96 ساعة ولمختلف انواع الاسماك من 0.5-21.1 ملغم/لتر (24) وقد اشارالباحث (25) بان التركيز المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم لاسماك Yellow-eye mullet (*Aldrichette forsteri* C. and V.) خلال 168ساعة 16ملغم/لتر،بينما يصل التركيز المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم في اسماك *Channa punctatus* خلال 96 ساعة الى 11.2 ملغم /لتر (26).

التغييرات المرضية

من نتائج هذه الدراسة لوحظت الاعراض العصبية على الاسماك المعاملة بالتركيز دون المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم بعد مرور 7 ايام من المعاملة وقد تمثلت هذه الاعراض بظهور الحركات العصبية والسباحة غير الطبيعية للاسماك، وهذا ما اشار اليه الباحث (27) من ان تعرض الاسماك بمختلف انواعها الى التركيز دون المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم ادى الى ظهور سلوك غير طبيعي للاسماك، وان ظهور مثل هذه الاعراض على الاسماك بعد مرور 7 ايام من المعاملة يعود الى طول المدة الزمنية للتعرض وزيادة تركيز الكادميوم في دم الاسماك المعاملة، اذ من المعروف بان الكادميوم يعبر الحاجز الدماغي – الدموي ليصل الى معظم اجزاء الدماغ، لذا فانه سيؤدي الى احداث الاذى الخلوي لنسيج الدماغ وخلل في فعالية خميرة الاستيل كولين استيريزAcetycholinestrase AchE (28) وقد اتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج الباحث (13)اذ اشار الى ان تعرض اسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio L.* الى كلوريد الكادميوم وبالجرعة دون المميتة الوسطية 10مايكروغرام /كيلوغرام من وزن الجسم ادى الى حدوث تغير في سلوك الاسماك وعدم استجابتها للضوء والمؤثرات الخارجية.

وقد ادى معاملة الاسماك بالتركيز دون المميت الوسطي لكلوريد الكادميوم الى احداث تغييرات مرضية عيانية لكل من الغلاصم والكلية والكبد،وكانت هذه الافات مطابقة لما ذكره الباحث(29) والباحث (30) اذ تمثلت هذه الافة بحدوث احتقان الغلاصم وشحوب الكلية والكبد مع ظهور البقع النزفية، وقد اشار نفس الباحثين الى ان شدة الافة تزداد بازدياد مدة التعرض للكادميوم. و يؤدي الكادميوم الى حدوث الاستجابة الالتهابية وتثبيط الفعالية الخلوية، بسبب الفقدان الحاصل في انتاج الطاقة ونقصان Adenosine Triphosphate ATPمما يؤدي الى نقصان الاوكسجين اذ اشار الباحث (31) الى ان للكادميوم تاثير سلبي على بيوت الطاقة في الغلاصم اكثر من أي عضو اخر وذلك لانها العضو الاكثر تماسا" مع الملوثات البيئية، ومن ثم سيؤدي الى احداث خلل في أيض الخلية.

وتتطابق هذه النتائج مع النتائج التي ذكرها الباحث (11) من ان سميةالكادميوم وما يسببه من الاذى الخلوي في اسماك الكارب الاعتيادي تزداد تحت ظروف نقص الاوكسجين، فضلا عن تاثيره السمي على الاغشية الخلوية ومن ضمنها الاوعية الدموية اذ يؤدي الى زيادة نضوحيتها ومن ثم تسرب كريات الدم الحمر خارج الوعاء الدموي بعد مرورها من خلال الخلايا المبطنة للوعاء الدموي مؤدية الى حدوث النزف بسبب حدوث الانسلال Diapedesis (32) وحدوث الذوى Ischemia ومن ثم انقطاع او قلة الامداد الدموي عن النسبج ونقصان الاوكسجين مؤدية الى شحوب الكبد والكلية بسبب حدوث النخر كنتيجة لانقطاع الامداد الدموي (33).

دلت نتائج الفحص النسيجي لكل من الغلاصم والكلية والكبد الى حدوث تغييرات مرضية نسيجية لهذه الاعضاء تحت تاثير كلوريد الكادميوم وبالتركيز دون المميت الوسطي 1 ملغم/لتر، وبما ان الغلاصم هي العضو الاكثر حساسية لحدوث اي تغيير في البيئة المائية لذا فان الاذى والتغييرات النسيجية في الغلاصم تعد استجابة للتغييرات البيئية، اذ تعتمد شدة الافة والتحطم الغلصمي على تركيز الكادميوم ومدة التعرض (34). ويمكن ان تصنف الافات المرضية النسيجية الملاحظة على الاسماك الى قسمين، القسم الاول ناتج عن التاثير المباشر للمادة السمية والتي تؤدي الى حدوث الاستجابة الالتهابية والتنكس والنخر، والقسم الثاني من التغييرات المرضية النسيجية قد يعد كالية للتعويض عن الفقدان الحاصل في خلايا الانسجة او قد يكون ناتج عن عوامل الاجهاد (35).

اذ ادت معاملة الاسماك بكلوريد الكادميوم تركيز 1 ملغم/لترالى حدوث فرط التنسج في الخلايا الظهارية المبطنة لقواعد الصفائح الغلصمية الثانوية وزيادة اعداد الخلايا الساندة المخاطية، وارتشاح الخلايا الالتهابية مع حدوث النزف، وقد لوحظت هذه الافات عند اليوم الرابع من المعاملة واستمرت الى اليوم السابع ولكن بصورة اكثر شدة وعند استمرار معاملة الاسماك بكلوريد الكادميوم 1 ملغم/لتر ولمدة 15 يوما"كانت الافات في الغلاصم عبارة عن حدوث فرط التنسج في قمم الصفائح الغلصمية الابتدائية مع تضخم الخلايا المخاطية الساندة، وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره الباحث (36) من ان تعرض اسماك *Macropsobrycon uruguayanae* للكادميوم تركيز 1.5ملغم/لتر ولمدة 30 و 60 يوما" ادى الى حدوث فرط التنسج في الصفائح الغلصمية الابتدائية والثانوية وحدوث الالتصاق بين الخيوط وارتشاح الخلايا الالتهابية وتضخم الخلايا الساندة المخاطية وزيادة انتاج المخاط والذي يكون استجابة طبيعية للاسماك اذ يعمل كحاجز لتركيز المواد الضرورية والاساسية للاسماك من المحيط، ويعمل المخاط بنفس الوقت على التقليل من الاصابات والاذى الفيزيائي(37) ان ظهور هذه التغييرات النسيجية قد يكون ناتج عن قلة الاوكسجين وانعدام التنظيم الايوني كنتيجة للتسمم بالكادميوم، اذ اشارا الباحثان (38) الى وجود علاقة طردية بين التغييرات المرضية في الانسجة المسؤولة عن التنظيم الايوني الناتجة عن التسمم بالكادميوم والتوازن الايوني، وهذا مايفسر حدوث الاذى الخلوي في كل من الغلاصم والكلية، اذ يؤثر الكادميوم على الانزيمين Na^+/k^+ _ATPase و Ca^{++}/Mg^{++}_ATPase من خلال الفته القوية لمجموعة السلفهايدرل الموجودة في هذين الانزيمين، ومن ثم سيؤدي الكادميوم الى خلل في وظيفة هذين الانزيمين والتي هي نقل الايونات وكذلك نقل البروتين،

وكاستمرار التاثير السمي للكادميوم ادى الىحدوث فرط التنسج في الصفائح الغلصمية الابتدائية والثانوية وحدوث الالتصاق بين الخيوط الغلصمية نتيجة زيادة عدد الخلايا الظهارية وحدوث الاستجابة الالتهابية مما يؤدي الى قلة التبادل الغازي ومن ثم قلة اخذ الاوكسجين وهذا له تاثيرعلى الصحة العامة للاسماك.

وفي الكلية لوحظ انسلاخ الظهارة المبطنة للنبيبات الكلوية عن الغشاء القاعدي في بعض النبيبات مع حدوث تحطم للغشاء القاعدي في البعض الاخر وترسب القوالب المتزججة في تجويف النبيبات الكلوية وضخامة الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره الباحث (29) من ان معاملة اسماك *Puntius gonionotus* بالكادميوم ولمدة 4 اسابيع ادى الى حدوث افات مرضية نسيجية في الكلية وكنتيجة لقلة الاوكسجين بسبب التسمم بالكادميوم ادى الى حدوث اضطراب في ايض الخلية والمتمثلة بتورم المتقدرات وخلل في ايض مضخة الصوديومSodium Pumping وهذا ما اثر على عملية تصنيع البروتين من قبل الشبكة الهيولية الباطنة بسبب تكسر وفقدان الحبيبات من الشبكة الهيولية الباطنة وخلل في وظيفة اجسام كولجي انعكس على عدم انتظام في تصنيع البروتين (39)، او قد يعود الى حدوث زيادة في معدل الترشيح الكبيبي وخلل في نضوحية النبيبات الكلوية مما يؤدي إلى حدوث خلل في اعادة امتصاص بعض الحوامض الامينية والجزئيات البروتينية والتي تاخذ شكل القوالب المتزججة والمترسبة داخل تجويف النبيبات الكلوية (40) .

ويعد تكاثر الاجسام الحالة كمؤشر للاستجابة الخلوية عند حدوث حالات التسمم بالمعادن كمحاولة لنقل وتحلل ايونات هذه المعادن (41)، يؤثر الكادميوم ايضا" على نضوحية غشاء الاجسام الحالة بسبب تداخله مع الكلايكولبيد التي هي احدى مكونات الغشاء الخلوي ومن ثم جعله اكثر هشاشة واكثر نضوحاً للحامض acid hydrolase، ومن ثم حدوث التنكس الخلوي (42)، وان اذى الكلية قد يعود الى ايونات الكادميوم التي تتحرر من معقد الميتالوثايونين _ كادميوم بواسطةالجسميات الحالة في خلايا النبيبات الكلوية (43) اما في الكبد فقد تمثلت الافة بتثخن جدار القنوات الصفراوية مع انسلاخ الظهارة المبطنة للقنوات الصفراوية، ارتشاح الخلايا الالتهابية وخاصة الخلايا احادية النواة والخلايا الميلانية البلعمية مع النزف وترسب صبغة الهيموسيدرين وحدوث التنكس الفجوي واحتقان الجيبانيات في النسيج الكبدي البنكرياسي وجاءت نتائج هذه الدراسة متطابقة مع نتائج الباحث (29). ونتيجة لاذى المتقدرات في الخلية تحت التأثير السمي للكادميوم ادى إلى حدوث خلل في الضغط الاوزموزي انعكس على الخلية بتجمع الماء داخل الخلية وحدوث التنكس الفجوي وفي حالة استمرار تعرض الخلايا للمادة السامة ادى إلى النخر بسبب النقصان في التجهيز الدموي وحدوث حالةالذوى (33).

وهذا ما لوحظ في كبد الاسماك المعاملة بكلوريد الكادميوم تركيز 1 ملغم/لتر عند اليوم الخامس عشر من المعاملة. كذلك لوحظ حدوث حالة فرط التنسج في الخلايا الكبدية والذي قد ينجم عن تجمع الكادميوم وارتباطه بـDNA الخلية كتخريش مستمر والذي قد يؤدي الى حالة فرط التنسج، وتاتي هذه الافات متوافقة مع الزيادة الحاصلة في فعالية انزيم ALT.

ونظرا" لما للكادميوم من تاثير سلبي على نضوحية الاغشية الخلوية وذلك من خلال التداخل التضادي (44) بين الكادميوم والكالسيوم من اذ ينتقل الكادميوم عبر قنوات نقل الكالسيوم،وكذلك يعمل الكادميوم على زيادة طرح الكالسيوم من خلال تداخله مع ارتباط الكالسيوم_ بروبتن (45)، لذا سيؤثر الكادميوم على زيادة نضوحية الاغشية الخلوية ومن ضمنها اغشية الاوعية الدموية مؤديا"الى حدوث النزف وبالوقت نفسه حدوث النخر في الكلية والكبد بسبب نقصان في الامداد الدموي. ونتيجة لهذه الاسباب المذكورة تكون كريات الدم الحمر اكثر هشاشة واكثر قابلية للتحلل والتحطم ومن ثم تحلل الهيموغلوبين الى المادة البروتينية globin والمادة الحاوية على الحديد وهي الهيمhaem والتي تتجمع داخل الخلية البلعمية للنسيج الكبدي مؤدية الى حدوث حالة التخضب بالهيموسيدرين (46)، وتاتي هذه الافة متوافقة مع النقصان الحاصل في تركيز الهيموغلوبين وقلة حجم خلايا الدم الحمر المرصوصة

المعايير الدموية

اوضحت الدراسة الحالية حدوث انخفاض معنوي في تركيز الهيموغلوبين وحجم خلايا الدم الحمر المرصوصة وكذلك اعداد الخلايا اللمفية خلال مدة التجربة 4 و7 و15 يوما" وتتفق هذه النتائج مع النتائج التي ذكرها الباحثين (47) من ان حقن اسماك الكارب الاعتيادي بالكادميوم 10مايكروغرام /كغم من وزن الجسم ادى الى احداث تغييرات وانخفاض في تركيز الهيموغلوبين وحجم خلايا الدم الحمر المرصوصة، وتتفق ايضا مع النتائج التي ذكرها الباحث (15) عند تعرض الاسماك الذهبية *Carassius auratus* للكادميوم وبتركيز 20 ملغم/لتر ادى الى انخفاض في تركيز الهيموغلوبين وحجم خلايا الدم الحمر المرصوصة بعد 7 و 15 يوما". وقد يعود ذلك لعدة عوامل منها : ما يسببه الكادميوم من قلة في تركيز ايون الحديد في الدم (48)، وكذلك يعمل على تقصير عمر النصف لكريات الدم الحمر، وتحللها كنتيجة لحدوث تغيير في نفوذية الغشاء الخلوي مما يجعلها اكثر هشاشة واكثر قابلية للتكسر (14)، فضلاً عن ذلك اشار الباحث (49) إلى انه هناك علاقة بين سمية الكادميوم وتصنيع هرمون الاثروبيوتين في نسيج الكلية والذي له اهمية في زيادة اعداد خلايا الدم الحمر ومن ثم زيادة حجم الدم، لذا فأن الخلل والضرر الناتج من سمية الكادميوم

يؤدي إلى انخفاض حجم الدم لعدم تصنيع هذا الهرمون، كما ان للكادميوم تأثير على وظيفة الكلية في انتاج الشكل الفعال لفيتامين D_3لذا فأنه سيؤثربصورة غير مباشرة على عملية توازن الكالسيوم والفسفور وفيتامينD_3 في الدم، مؤديا بذلك الىهشاشة العظام وتلينها الذي قد يكون سبب اخر لحدوث الانخفاض في تركيز الهيموغلوبين وحجم خلايا الدم الحمر المرصوصة (50). ان الانخفاض في اعداد الخلايا اللمفية قد يكون ناتج عن قابلية الكادميوم في احداث الاذى الخلوي في الاعضاء اللمفية الابتدائية والثانوية وكنتيجة لهذا الاذى سيؤدي الى خلل في انتاج الخلايا اللمفية (51).

المعايير الكيموحيوية

انزيم الالنين امينو ترانسفيريز: تتركز الاهمية السريرية لتقدير ALT في المصل في علاقته المباشرة بامراض الكبد (52) وحدوث الاذى الخلوي في النسيج الكبدي، وبما ان الكادميوم يرتبط بمواقع ارتباط الكالسيوم في الغشاء الخلوي ومع بعض المكونات النشطة بايولوجيا مثل تحرر الاحماض الامينية فانه يعمل على عدم اتزان نفاذية الغشاء الخلوي وبالتالي تحرر ALT إلى المصل، وكذلك له تاثير تثبيطي للانزيمات الناقلة للايونات اذ انه يعمل على انعدام التوافق الايوني بين الكالسيوم والصوديوم (53). ويتبين من نتائج هذه الدراسة وجود زيادة في نشاط الانزيم ALT في مصل الدم عند معاملة الأسماك بالكادميوم للمدة 4، 7 أيام وسجلت اعلى قيمة للامين الناقل عند اليوم الخامس عشر من المعاملة، ويعد هذا مؤشراً للضرر الذي الحق باكباد الأسماك عند معاملتها بكلوريد الكادميوم بالتركيز دون المميت الوسطي 1 ملغم/لتر وتتفق هذه النتائج مع نتائج عدد من الباحثين (54) والذي اشارالى ان تعرض اسماك الكارب الاعتيادي الى تراكيز مختلفة من كلوريد الكادميوم وعن طريق الماء او عن طريق الغذاء ادى الى زيادة نشاط الانزيم ALTوالذي يعد مؤشر لحدوث التحطم في الخلايا الكبدية.

انزيم الكرياتين فوسفوكاينيز: يعد انزيم الكرياتين فوسفوكاينيز من الانزيمات الهيولية والتي لها اهمية في الامراض العضلية مثل الاضمحلال العضلي (55)، وقد ادى معاملة الأسماك بكلوريد الكادميوم إلى حدوث زيادة في نشاط الانزيم CPK في مصل الدم وكانت اعلى قيمة عند اليوم الخامس عشر ويعزى هذا إلى حدوث الاذى العضلي الناتج عن تأثيرالكادميوم ومن ثم ازدياد نشاط الانزيم CPK. وجاءت نتائج هذه الدراسة متفقة مع ما ذكره الباحث(56) والذي اشار الى ان تعرض الاسماك نوع *Oreochromis niloticus* لتراكيز مختلفة من كلوريد الكادميوم ولمدة 60 يوم ادى الى ازدياد نشاط انزيم الكرياتين فوسفوكاينز.

شكر وتقدير

نقدم وافر شكرنا وتقديرنا الى عمادة كلية الطب البيطري – جامعة الموصل و رئاسة فرع علم الامراض ومنتسبيه لما قدموه من عون لانجاز هذا الجهد العلمي المتواضع.

البحث مستل من رسالة الماجستير للباحثة الاولى.

المصادر

1. Alabaster JS ,Lloyd R. Water quality criteria for freshfish.FAO Butter Worths London- Boston , 1982;p297.
2. Jorgenson LA, Peterson B. Trace metal in fish used for time trend analysis and environmental indicators.Environmental Bull;1994 28(4):235-254.
3. Cicik B, Engin K. The effects of cadmium on levels of Glucose in serum and Glycogen Reservesin the liver and muscle tissues of Cyprinus carpio L. 1758. Turk J Vet Amim Sci.. 2005; 29 : 113 - 117.
4. Gasamp. Cadmium, Lead and Tin in the marine environment.No. 56 Kenyam.1985; P 90.
5. Kraal MH, Kraak MHS ,DE Groot GJ, Davids C. Uptake and tissue distribution of dietary and aquaerous cadmium by carp (Cyprinus carpio). Ecotoxicol Environ Saf,1995; 31 : 179 - 183.
6. Vigh P,Mastala Z, Balogh KV. Comparsion of heavy metal concentration of grass carp(Ctenopharyng ondon idella Cuv.et val.). ashallow eutrophic lake and fish pon(possible effects of food contamination).Chemosphere.1996; 32:691-701.
7. Melgar MJ, Perez M, Garcia MA, Alonson J, Miguez B. The toxic and accumulative effects of short – term exposure to cadmium in rain bow trout (Oncorhynckus mykiss).Vet Hum Toxicol.1997;39 : 79 - 83.
8. Giesy JP Jr,Leversee GL , Williams DR. Effects of naturally occurring aquatic organic fractions on cadmium toxicity;1977.
9. Dave GK, Anderson R, Bergland and Hasselal B. Toxicity of eight solvent excration chimecals and cadmium to water fleas, Daphnia magna –rain bow trout, Salmo gair denri and zebra fish, Brachydanio.J Comp BiochemPhysiol.1981; 69, C, 83 - 98.
10. Khalil ABA. Effect of some heavy metals on survival, respiration and bioaccumulation in the freshwater fish Cyprinus macrostomus. (master's thesis) Univ.of Mosul..1988.
11. Hattink J, De Boeck G, Blust R. The toxicokintics of cadmium in carp under nomoxic and hypoxic condition. Aquat Toxicol. 2005; 75 (1) : 1 - 15.
12. Viarengo A. Biochemical effect of trace metals. Mar Pollut Bull. 1985; 16(4) : 153 - 158.
13. Jastrzebska B E, Protasowicki M. Elimination Dynamics of cadmium, Administered by asingle intraperitoneal injection, in Common carp Cyprinus carpio L. ACTA Icthyologica ET Pis catoria.2004;34(2) : 167-179.
14. Gill TS, Epple A. Stress – related changes in the hematological profile of the American eel(Anguilla rostrata). Ecotoxicol. Environ Saf. 1993; 25 : 227 - 235.
15. Žikić RV, Štajn AŠ, Pavlovi SZ, Ognjanovi BI Sai ZS. Activities of superoxide dimutase and catalase in erythrocytes of gold fish(Carassius auratus gibelio Bloch). Exposed to cadmium. Physiol Res. 2001; 50 : 105 - 111
16. Pruell RJ ;Engelhardt FR.Liver cadmium uptake ,catalase inhibition and cadmium thionein production in the Kill fihs(Fundulus

heteroclitus) induced by experimental cadmium exposure.Mar Environ.Res. 1980;3:101-111.
17. Žikić RV, Štajn A, Sai ZS ,Spasi MB, Ziemnicki K, Petrović VM. The activities of superoxide dimutase ,catalase and ascorbic acid content in the liver of gold fish(Carassius auratus gibelio Bloch) exposed to cadmium physio Res.1996;45 : 479 - 481.
١٨.محمد، فؤادقاسم، الخفاجي، نزار جبار. علم السموم البيطرية. جامعة الموصل، الموصل، العراق2001.
19. Coles EH. Veterinary clinical pathology. 4th ed., W.B.Saunders Company Philadelphia, London , Toronto.1986;PP.43 – 64.
20. SAS, Institute. SAS Users Guide : statistics version. 12 edition SAS Instistute INC Cary NC. 1997.
21. Kargin F, Cogun HY Metal interactions during accumulation and elimination of zinc and cadmium in tissues of the freshwater fish Tilapianilotica. Bull Environ Contam Toxicol.1999;63:511- 51921-
22. Nussey G. Metal Ecotoxicology of the upper Olifants River at Selected Localities and the effect of copper and zonc on Fish Blood Physiology.Ph.D - thesis, Rand Afrikaans University South Africa;1998.
23. Suresh A, Sivaramakrishna B, Radhakrishnaiah K. Effect of lethal and sublethal concentration of cadmium on energetics in the gills of fry and fingerlings of cyprinus carpio. Bull Environ. ContamToxicol.1993; 51: 920-926.
24. Lin H.C, Dunson WA. The effect of salinitry on the acute of cadmium to tropical, estuarine, hermaphroditic fish, Rivulus marmoratus :acomparison of Cd, Cu and Zn tolarence with Fundulus heteroclitus. Arch Environ Contam Toxicol.1993; 25 : 41 - 47.
25. Negilski DS. Acute toxicity of zinc, cadmium and chromium to the marine fishes, yellow – eye mullet (Aldrichette forsteri C.and V.) and small – mouthed hardyhead(Atherinasoma microstoma Whitley). CSIRO – Publishing – Marine and Freshwater Research..2006; 27(1) :137 –149.
26. Sastry KV ,Shukla V. Influence of protective agent in the toxicity of cadmium to freshwater fish(Channa punctatus). Bull. Environ. Contam Toxicol. 1994;53:711 – 717.
27. Ellgaard EG, Tusa JE, Malizia AA. Locomotor activity of the bluegill Lepomis macrochirus, hyperactivity induced by sublethal concentration of cadmium, chromium and zinc.J Fish Biol.1978;1:19-23.
28. Galgani F, Bocquené G. Molecular biomarkers of exposure of marine organisms to organophosphorus pesticides and carbamates. In:Lagadic, L.(Ed), Use of Biomarkers for Environmental Quality Assessment. Elsever Science Publisher. 2000; pp.113-137.
29. Rangsayatorn N, Kruatrachue M, Pokethitiyook P, Upatham ES, Lanza GR. Ultrastructural changes in various organs of the fish Puntius gonionotus fed Cadmium – Enriched Cyanobacteria.Environ Toxicol. 2004; 19 : 585 - 593.
30. Gargiulo G,de Girolamo P,Ferrara L,Soppelsa O, Andereozzi G, Antonucci R, Battaglin P. Action of cadmium on the gills of Carassius auratus L. in the presence of catabolic NH_3. Arch.Environ Contam Toxicol.1986; 30 : 235 – 240.
31. Sokolova Im, Ringwood AH , Johnson C. Tissue specific accumulation of cadmium in subcellular compartments of Oysters Crassostrea virginica Gmelin(Bivalvia :Ostreidae). Aquatic Toxicology.2005; 74: 218-228.
32. Slauson DO, Cooper BJ. Mechanisms Of Disease A textbook Of Comparative General Pathology.3rd edition. Mosby Philadelphia USA. 2002; p.83.
33. Kumar VM, Cotran MD, Robbins MD. Basic pathology.7th editionSauners Philadelphia. (2003);p.4.
34. Oliveira Ribeiro CA, Fanta E, Turcatti NM ,Cardoso RJ, Carvalho CS. Lethal effects of inorganic mercury on cells and tissues of Trichomycterus brasiliensis *(*Pisces; Siluroidei). Biocell. 1996; 20: 171–178.
35. Hughes GM, Perry SF. Morphometric study of trout gills : Alight microscopic method for the evaluation of Pollutant action.J Exp Biol. 1976; 63:447-460.
36. Randi AS, Monserrat JM, Rodriguez EM, Romano LA.Histopathologicaleffects of cadmium on the gills of the freshwater fish, Macropsobrycon uruguayanae Eigenmann(Pisces, Atherinidae). Blackwell Synergy – J Fish Diseases. 1996;19(4) : 311 – 322.
37. Tophonon SS, Kruatrachue M, Upatham ES, Pokethitiyook P,Sahaphong S, Jaritkhua S. Histopathological alterations of white seabass, Lates calcarifer, in acute and subchronic cadmium exposure. Environmental Pollution.2003; 121, 307-320.
38. Wong CKC , Wong MH. Morphological and biochemical changes in the gills of Tilapia (Oreochromis mossambicus) to ambient cadmium exposure. Aquatic Toxicology.2000;48, 517-527.
39. Rez G. Electron microscopic approaches to environmental toxicity. Acta Bioll Hung. 1986; 37 :13 – 45.
40. Bucher F, Hofer R.The effects of treated domastic sewage on three organs (gill, kidney, liver)of brown trout (Salmo trutta). Water Res.1993;27:255 - 261.
41. Ferri S ,Macha N. Lysosomal enhancementin hepatic cells of ateleost fish induced by cadmium. Cell Biol Int Rep. 1980;4:357-363.
42. Berntssen MH,Aspholm OO, Hylland K, Wendelaar Bonga SE ,Lundebye AK. Tissue metallothionein, apoptosis cell and proliferation response in Atlantic Salmon (Salmo salar L.) fed elevated dietary cadmium.Comp. Biochem. Physiol C: Toxicol Pharmacol.2001; 128:299-310.
43. Wanda MH, Colin GR, Matthew AW. Handbook of toxicologic Pathology.2nd ed Vol 1 2, USA.2002.
44. Gill TS, Epple A. Impact of cadmium on the mummichog Fundulus heteroclitus and the role of calcium in suppressing heavy metal toxicity. Comp Biochem Physiol. 1992;101, 519-523.
45. Verbost PM, Senden MH MN , Van os C.H. Nanomolar concentrations of Cd^{2+} inhibit Ca^{2+} transport systems in plasma membranes and in Ca^{2+} stores in intestinal epithelium. Biochimica et Biophysica Acta.1987;902, 247-252.
46. Roberts RJ. Fish Pathology.3rd ed.W.B.Saunders Edinburgh.2003.
47. Jastrzebska EB,Protasowicki M. Effects of Cadmium and Nickel Exposure on Haematological Parameters of Common Carp,Cyprinus carpio L.Acta Icthologica Et Piscatoria. 2005; 35 (1) : 29 - 38.
48. Thomas, P.; Bally, M.; Neff, J.M. Ascorbic acid status of mullet,Mugil cephlus Linn., exposed to cadmium. J. Fish. Biol. 1982. 20 : 183 - 196.
٤٩.عبد الامير، هناء عبد العباس. تأثير الكادميوم على وظيفة الكبد والكليتين في الجرذان. رسالة ماجستير. بغداد: جامعة بغداد،2004.
50. Godowicz B, Godowicz W. Effect of cadmium on the thickness of compact bone and on bone repair in cadmium – sensitive mice.Folia.Biol (Poland).1990; 38 : 63 - 66.
51. Tomaszewski J. Diagnostykal Laboratoryjna (Laboratory diagnostics) PZWL, Warszawa.1997
52. Denny JM.,John, WH. Veterinary Laboratory Medicine. Interpretation and Diagnosis.3th ed. Printedin the United State of America.2004.
53. Funakoshi T, Ohta O, Shimada H, Kojima S. Effects of dithiocarbamates and cadmium on the enzymatic activities in the liver, kidney and blood of mice. Toxicol Lett.1995; 78 : 183 - 188.
54. Revnders H, Van Comenhout K, Bervoets L,De Coen WM, Blust R. Dynamics of cadmium accumulation and effects in common carp (Cyprinus carpio) during simltaneous exposure to water and food (Tubifex tubifex). Environ Toxic Chem. 2006; 25(6) : 1558 - 67.
55. Kenneth SL, Edward AM, Keith WP. Veterinary Laboratory Medicine, Clinical Pathology.4th ed., Iowa State Press, Ablack well Publishing Company.2003.
56. Almeida JA, Diniz YS, Marques SF, Faine LA, Ribas BO,Burneiko RC, Novelli EL. The useof oxidative stress responses as biomarkers in the Nile tilapia (Oreochromis niloticus) exposed to in vivo cadmium contamination.Environ Int.2002; 27(8):673 –679.