جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

دراسة تأثير جلد الاسماك على التئام الجروح في الارانب

بحث مقدم من قبل الطالبان

انفال عادل النعيمي **سنان محمد شريف الخفاجي**

الى

مجلس كلية الطب البيطري

كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في الطب والجراحة البيطرية

بإشراف

د.شهباء خليل إبراهيم الطائي

1442 هـ **2021 م**

دراسة تأثير جلد الاسماك على التئام الجروح في الارانب

بحث مقدم من قبل الطالبان

انفال عادل النعيمي **سنان محمد شريف الخفاجي**

الى

مجلس كلية الطب البيطري

كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في الطب والجراحة البيطرية

بإشراف

د.شهباء خليل إبراهيم الطائي

1442 هـ **2021 م**

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

﴿ يَرْفَعِ ٱللَّهُ ٱلَّذِينَ ءَامَنُواْ مِنكُمْ وَٱلَّذِينَ أُوتُواْ ٱلْعِلْمَ دَرَجَٰتٍۚ وَٱللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ﴾

صدق الله العظيم

سورة : المجادلة
الاية : 11

إقرار المشرف

اشهد ان اعداد هذا البحث قد جرى تحت إشرافي في كلية الطب البيطري /جامعة الموصل وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في الطب والجراحة البيطرية.

التوقيع:
المشرف:د.شهباء خليل ابراهيم

اقرار رئيس الفرع

بناء على التوصية المقدمة من قبل المشرف أرشح البحث للمناقشة

أ.د. هناء خليل إسماعيل
رئيس فرع الامراض وامراض الدواجن

الاهداء

الى .....

نبينا (صلى الله عليه وسلم) باب العلم ، هو العلم ان تجسدا

الى.....

من وضع لنا اول اسس الحياة ممهدا

الى.....

الى من شارك الايام معنا

الى.....

من كان في الصعاب سندا وعونا لنا

نهدي إليهم جميعهم ثمرة تعبنا وجهدنا

الباحثان

الشكر والتقدير

ونحن ننهي بحثنا لا يسعنا الا ان نحمد الله عز وجل على نعمه وعطاياه فيارب لك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك ، ثم الصلاة على نبينا الكريم خير الأنام ومصباح الظلام محمد صلى الله عليه وسلم.

نتقدم بالشكر الى عمادة كلية الطب البيطري والمتمثلة بالسيد عميد الكلية **د. ظافر محمد عزيز .**

والشكر الى رئاسة فرع الامراض وامراض الدواجن كل الشكر والعرفان للجهود الدؤوبة من قبل مشرفتنا في البحث **د. شهباء خليل ابراهيم** لما قدمته لنا من نصائح ومعلومات ولم تبخل بحرف نسال الله ان يبارك فيها ولها في قلوبنا خالص الامتنان والشكر الجزيل.

ونتقدم بالشكر الى **ا. م . د . عمر يونس محمد** كلية التربية للعلوم الصرفة/ قسم الكيمياء / فرع الكيمياء الحياتية والى **د. محمد زيارة اسكندر** كلية الزراعة / جامعة البصرة /قسم علوم االاغذية.

والى كل من ساعدنا في مسيرتنا الدراسية نتقدم لهم بجزيل الشكر والتقدير

الباحثان

الخـــــــلاصـــــــة

هدفت هذه الدراسة الى تقييم فعالية جلد اسماك الكارب والكولاجين المستخلص منه على سرعة وتحسين التئام الجروح في ذكور الارانب بالاعتماد على الطرق الحسابية والفحص العياني والنسجي وباستخدام الصبغات الروتينية والصبغة الخاصة للنسيج الضام. جلبت سمكة الكارب *Cyprinucs carpio* من الأسواق المحلية لبيع السمك في مدينة الموصل وبعد تخديرها ازيلت الحراشف من المنطقة الجدعية واخذت قطعة الجلد وقسمت الى قسيمن القسم الاول تم تقطيعه الى قطع بحجم (2×2) سم وتعقيمه(كيمائيا واشعاعيا) اما القسم الثاني من الجلد فقد تم وزن 6 غم منه وأجريت عليه عملية استخلاص الكولاجين، بعدها وضعت الارانب تحت التخدير العام لإزالة الجلد من منطقة حول القطنيةPara lumber وقسمت الى ثلاث مجموعات، تركت المجموعة الأولى بدون علاج واعتبرت مجموعة السيطرة، اما المجموعة الثانية فقد تم تثبيت قطعة من جلد السمكة على منطقة الجرح باستخدام طريقة الخياطة المتقطعة والمجموعة الثالثة تمت معاملتها بوضع الكولاجين المستخلص على الجرح كل ثلاث ساعات.

أظهر الفحص العياني ونتائج التحليل الاحصائي لمعدل مساحة الجرح بان لجلد سمكة الكارب والكولاجين المستخلص منه تأثير على معدل مساحة الجرح فقد انخفض معنويا ($P\leq0.05$) عند اليوم الثالث للمجموعة المعاملة بالجلد(65.60) سم واليوم الثاني للمجموعة المعاملة بالكولاجين المستخلص (69.13) سم مقارنة مع اليوم الأول اذ كانت المساحة(100.00) سم اما مجموعة السيطرة فقد كان معدل مساحة الجرح منخفضا معنويا عند اليوم الخامس(71.17) سم. وللمقارنة بين المعاملات فقد أظهرت المجموعة المعاملة بالكولاجين تفوق معنوي في قلة معدل المساحة وارتفاع النسبة المئوية لتقلص الجرح ابتداء من اليوم الثاني عند مقارنتها مع كل من مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بالجلد والتي تفوقت معنويا عن مجموعة السيطرة في قلة معدل المساحة ابتداء من اليوم الرابع وارتفعت النسبة المئوية لتقلص الجرح لهذه المجموعة ابتداء من اليوم الثالث عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة.

وعند اجراء الفحص المجهري النسجي والتقييم اللوني باستخدام صبغة الماسون تراي كروم لوحظ تغييرات نسجية كدلائل لحدوث الالتئام في كل مجموعات التجربة كارتشاح الخلايا التهابية وتكون الكولاجين مع تكاثر الارومة الليفية fibroblast وتكون الاوعية الدموية حديثة التكوين angiogenesis مع نضوج النسيج الحبيبيmature granulation tissue وقد تفوقت المجموعة المعاملة بالجلد والمجموعة المعاملة بالكولاجين المستخلص بحدوث هذه التغييرات الديناميكية بوقت اسرع وكانت الأفضلية للمجموعة المعاملة الكولاجين المستخلص. استنتج من خلال هذه الدراسة إمكانية استخدام مخلفات اسماك الكارب مثل الجلد كضمادات حيوية لعلاج الجروح فضلا عن استخدامه كمصدر لاستخلاص الكولاجين والذي استخدم كجل علاجي في التحسين والإسراع من عملية التئام الجروح.

قائمة المحتويات

ت	الموضوع	رقم الصفحة
	قائمة الجداول	I
	قائمة الاشكال والصور	II
	الفصل الأول	
	المقدمة	
	المقدمة	1
	الفصل الثاني	
	استعراض المراجع	
1-2	الجلد	3
1-1-2	تعريف الجروح وتصنيفها	3
2-2	التئام الجروح	3
3-2	تقنيات غلق والتئام الجروح	4
4-2	الضمادات	4
1-4-2	استخدام جلد الأسماك كضمادات علاجية	4
5-2	مكونات جلد الاسماك	5
	الفصل الثالث	
	المواد وطرائق العمل	
1-3	حيوانات التجربة	7
2-3	العملية الجراحية	8
3-3	تصميم التجربة	8
3-4	التحليل الاحصائي	9
	الفصل الرابع	
	النتائج	
1-4	الفحص العياني	10
2-4	القياسات الحسابية	12

3-4	الفحص المجهري النسجي	14
	الفصل الخامس	
	المناقشة	
1-5	المناقشة	17
	الفصل السادس	
	الاستنتاجات والتوصيات	
1-6	الاستنتاجات	19
2-6	التوصيات	19
	المصادر	
	المصادر العربية	20
	المصادر الاجنبية	

قائمة الجداول

رقم الجدول	الموضوع	رقم الصفحة
الجدول(1)	مساحة الجرح سم/يوم (الوسط الحسابي±الخطا القياسي)	13
الجدول(2)	النسبة المئوية لانكماش وتقلص الجرح/ يوم (الوسط الحسابي ± الخطا القياسي)	13

قائمة الاشكال والصور

رقم الشكل	الموضوع	رقم الصفحة
الشكل(1)	الكولاجين المستخلص من جلد سمكة الكارب الشائع	8
الصورة(1)	مقطع عياني لمنطقة الجرح في ذكور الارانب وللمجموعات الثلاث	11
الصورة (2)	مقطع نسجي لالتئام الجرح للمجموعتين (السيطرة والمعاملة بجلد سمكة الكارب) وخلال ثلاثة وثمانية أيام من المعاملة باستخدام صبغة H&E	14
الصورة (3)	مقطع نسجي لالتئام الجرح للمجموعة المعاملة بجل الكولاجين المستخلص و خلال خمسة وسبعة أيام من المعاملة باستخدام صبغة H&E	15
الصورة (4)	مقطع نسجي لالتئام الجرح للمجموعتين(السيطرة والمعاملة بجلد سمكة الكارب) وخلال ثلاثة وثمانية أيام من المعاملة باستخدام صبغة الماسون تراي كروم	16
الصورة(5)	مقطع نسجي لالتئام الجرح للمجموعة المعاملة بجل الكولاجين المستخلص و خلال خمسة وسبعة أيام من المعاملة باستخدام صبغة الماسون تراي كروم	16

الفصـــــــــل الأول
المقـــــدمـــة

يعد الجلد العضو الأساس والاكبر كخط الدفاع الأول للجسم وبنفس الوقت العضو الأكثر عرضة للجروح والتي تكون ناتجة عن الحوادث العرضية accident او قد تكون بسبب عوامل مرضية، تعرف الجروح على انها تلف او تحطم في التركيب التشريحي والذي يؤدي الى خلل وعدم توازن في الوظيفة الحيوية، قد تكون الجروح خارجية او داخلية وتشمل الاحشاء والأعضاء المتنية او تكون من النوع البسيط أي ان الأذى يشمل الطبقة الظهارية للجلد فقط او من النوع المعقد ويشمل الانسجة تحت الجلد(Robson *et al*, 2001) .

تصنف علاجات الجروح الى العلاجات التقليدية traditional therapy والتي تؤدي الى تكوين الندبة وفقدان جزئي بالوظيفة او العلاجات التجددية conventional therapyويقصد بها اصلاح الأذى من نفس نوع النسيج مع الحفاظ على الوظيفة الحيوية (Mao & Mooney, 2015).

يهدف الطب التجددي Regenerative Medication الى استخدام الضمادات الحيوية biological adressing في علاج الجروح والمشتقة من المصادر الطبيعية الحيوية مثل جلد الأسماك والذي يعد قاعدة علاجية نسجية – خلوية tissue – cellular base لعلاج الحروق من الدرجة الثانية والثالثة (Patel&Lantis, 2019)، يمتلك جلد الأسماك من الخصائص الحيوية التي تجعل منه احد أنواع الضمادات المتقدمة advance adressing اذ يمتلك مواد مضادة لنمو الاحياء الدقيقة واحتوائه على عوال المحفزة لنمو النسيج ويعد مصدر جيد للخلايا الجذعية والاحماض الدهنية غير المشبعة والتي لها دور مضاد للالتهاب فضلا عن البروتينات وخاصة الكولاجين والذي يساعد بتكوين الأساس الخارجي الخلوي (السدى) extracellular matrix (Sorough *et al*., 2020).

يعد الكولاجين بروتين الهيكل الرئيسي خارج الجسم في كثير من الانسجة الرابطة ويشكل حوالي 28.13% من مكونات جلد اسماك الكارب الشائع، يمتاز الكولاجين بانه من المواد التوافقية الحيوية biological biocompatibility ذات التاثير المناعي الواطئ وله دور في اسناد الانسجة وترميمها واستقرار الهيكل النسجي وتكوين الاوعية الدموية، فضلا عن كونه مضاد للاحياء الدقيقة anti-microbialومضاد للالتهاب anti-inflammatory وبالتالي فانه يحسن من عملية التئام الجروح (Mo *et a*l., 2018; Stevens *et al*., 2018 and Lopes, 2015).

ونظرا "لان اسماك الكارب الشائع هي أكثر الأنواع المستزرعة في العراق وبالتالي فان نسبة عالية من مخلفاتها ترمى في البيئة ولغرض الاستفادة من هذه المخلفات وتحويلها الى منتج حيوي وبالاعتماد لما أشار اليه الباحث (Ibrahim *et al*., 2020) من قلة المصادر التي تشير الى استخدام جلد الأسماك في علاج الجروح .... وعدم توفر مصادر محلية لاستخدام الكولاجين كجل علاجي للجروح هدفت هذه الدراسة الى: –

1–إمكانية استخدام جلد اسماك الكارب الشائع كضماد حيوي (مادة للترقيع) للجروح.

2–استخلاص الكولاجين من جلد اسماك الكارب الشائع واستخدامه كجل علاجي للجروح.

3–تقييم عملية التئام الجرح بالاعتماد على:

*الطرق الحسابية

* الفحص العياني والنسجي

الفصـــل الثانـــــــي
استـــــعراض المــراجـــع

1-2 الجلـــــد

هو أكبر عضو في جسم الكائن الحي يؤدي وظائف حيوية كحماية الجسم من المواد الكيميائية والعوامل الممرضة وله دور في تصنيع فيتامين D وعملية التنظيم الحراري والافراز (Fiakos & Lo, 2020)، للجلد تركيب نسجي معقد يتكون بالأساس من ثلاث طبقات (الادمة epidermis والبشرة dermis والطبقة تحت البشرة hypoderms) وبما ان الجلد هو خط الدفاع الأول للجسم وأكثر الأعضاء تماسا" مع البيئة الخارجية لذا قد يتعرض للاذى (الحرق، السحجات والقطع والجروح .... الخ) والتي تؤدي الى تحطم وفقدان لنسيج الجلد.

2-1-1 تعريف الجروح وتصنيفها

هو تلف اوتحطم في البنية التشريحية الطبيعية للجلد وبالتالي خلل في الوظيفة الحيوية للجلد (Robson *et al*,2001)، وهذا الأذى قد يكون ناتج عن حادث عرضي خارجي external accident او نتيجة مسبب مرضيpathological agent، هنالك تصنيفات عديدة للجروح اما قد تعتمد على العامل المسبب او مكان الجرح والمدة الزمنية لحدوث الجرح وشدة التلوث، وقد يكون الجرح من النوع البسيط ويشمل فقط طبقة الظهارة epithelial layer او يكون من النوع المركب ويشمل الانسجة تحت الجلد (الاوتار والاوعية الدموية والعضلات واحيانا الأعضاء المتنية).

2-2 التئام الجروح

هي مجموعة من العمليات الفسلجية والمناعية المعقدة والتي تؤدي الى غلق الجرح والتئامه التام اما بتكوين نسيج جديد من نفس نوع خلايا النسيج المتأذي وهذه العملية تسمى التجدد Regeneration او قد تؤدي الى تكوين النسيج الليفي الضام Fibrous connective tissue وهذه العملية تسمى التليف Fibrosis والعوامل المؤثرة على نوع الالتئام هو نوع النسيج المتأذي وكمية النسيج المفقودة (حجم الجرح)، (Öztürk & Ermertcan, 2011)

وبصورة عامة فان عملية الالتئام تبدأ بمرحلة التغييرات الوعائية الدموية (توسع الاوعية الدموية ومن ثم تقلصها وبطيء جريان الدم وهذا يساعد على نضوح الصفيحات الدموية وتراصها وتكوين الفبرين لتكوين السدادة في مكان الجرح) وبعدها تبدأ مرحلة الالتهاب والارتشاح الخلوي وتكوين النسيج الحبيبي granulation tissueومرحلة تكوين الندبة وإعادة تشكيل النسيج الطبيعي Remolding (Zachary, 2017).

3-2 تقنيات غلق والتئام الجروح (Hosgood, 2012):

(1) تقنية الغلق الابتدائية Primary wound closure

يحدث هذا النوع من غلق الجرح عندما تكون كمية النسيج المفقودة قليلة بحيث يمكن وضع حافات الجرح بتماس مع بعضها تتميز هذه التقنية بسرعة الالتئام.

(2) تقنية الغلق الثانوية Secondary wound closure

في هذا التقنية لايمكن الاعتماد على الخياطة الجراحية في غلق حافات الجرح بسبب كبر حجم الجرح وتباعد حافاته، ان عملية الالتئام في هذا النوع من الجروح تعتمد على تكوين النسيج الحبيبي granulation tissue وتقلص حافات الجرح فضلا عن إعادة تكوين الظهارة re– epithelization وتكوين الندبة وتستغرق عملية امتصاصها من اشهرالى سنوات، ومن اهم العوامل المساعدة على غلق هذا النوع من الجروح هو استخدام الضمادات او الاعتماد على الترقيع graft

4-2 الضمادات Addressing (Tottoli *et al*., 2020)

هي مواد علاجية طبية تصنف الى نوعين: النوع الأول traditional addressing وهذه الضمادات لها دور في منع حدوث الأذى وليس لها دور في التسريع من عملية الالتئام (Dhivya, 2015)، اما النوع الثاني Advance addressingهذا النوع من الضمادات لها دور في الحماية من الكدمات والعوامل الخارجية بالإضافة الى دورها المهم في التسريع من عملية الالتئام واحد اهم هذه الأنواع هي الضمادات المشتقة من مصادر بشرية وحيوانية كجلد الأسماك.

1-4-2 استخدام جلد الأسماك كضمادات علاجية

يهدف الطب التجددي الى استخدام الضمادات الحيوية والمشتقة من مصادر حيوانية والتي تتميز بكونها امنة صحيا" وغير مكلفة وتعد هذه الضمادات أحد أنواع الترقيع المتغاير xenograft وتسمى أيضا بـ zoograft اذ استخدمت قسم من الاحشاء والجلود من الخنازير والدواجن والحمام

والمجترات .... الخ كضمادات لعلاج الجروح في الانسان ولكن أحد اهم مساوئها انها قد تكون سبب في انتقال الامراض المشتركة(Soroush *et al*., 2020) .

وقد أشار الباحث (Hu *et al*., 2017) الى ان جلود اسماك المياه المالحة والعذبة marine and freshwater fish لاتؤدي الى انتقال الامراض الى الانسان فضلا" عن خصائص ومكونات جلد الأسماك والتي لها دور مهم في استخدامه كضمادات حيوية وعلاج الجروح الناتجة عن الحروق في الانسان (Soroush *et al*., 2020; Costa *et al*., 2019; Norbury, 2016) وفي الحيوانات التي تعرضت لحروق غابات كاليفورنيا (Hicks, 2018).

2-5 مكونات جلد الأسماك

I. **الببتيدات والاحماض الدهنية :** ان من اهم الببتيدات هو البيسيدين Piscidin وهي احد مكونات اغلب أنواع الأسماك ومنها اسماك البلطي Tilipia والتي لها دور في تسريع الالتئام وخاصة مرحلة الارتشاح الخلوي Cellular filtrationوتحفيز عوامل النمو (Huang *et al*., 2015)، فضلا عن احتواء جلد الأسماك على نسبة عالية من الاحماض الدهنية غير المشبعة والتي لها دور بتثبيط العوامل والسايتوكينات المحفزة للالتهاب (Woodrow *et al*.,2019) وتعد هذه المكونات الببتيدية والدهون غير المشبعة الثلاثية مواد مضارة للنمو الجرثومي(Alexander & Supp, 2014 ; Huang & Chen, 2013).

II. **قابلية الالتصاق:** من أفضل الضمادات الحيوية هي جلود الأسماك لما لها قابلية للالتصاق بحافات الجرح وبهذا يمنع دخول المسببات المرضية للجلد، فضلا عن بقاء جلد الأسماك معقم وحيوي خلال 48–72 ساعة (Costa *et al*., 2019).

III. **التوافق الحيوي:** المحتوى القليل من الاحماض الامينية الارومية في جلد الأسماك تجعل منه ضمادة جيدة للتأقلم مع جلد الانسان واللبائن (Pati *et al*., 2012).

IV. **الكولاجين:** هو البروتين الهيكلي الرئيسي خارج الخلايا في الكثير من الانسجة الرابطة ويشكل حوالي 30٪ من البروتين الكلي من جسم الانسان والحيوان (Silvipriya *et al* ,2015)، ويشكل 28-38% من مكونات جلد اسماك الكارب (Mahboob *et al*,2014)، له وظائف مهمة في الجسم منها اسناد واستقرار الانسجة وتماسك وثبات الخلية وتكوين الاوعية الدموية وترميم الانسجة والمحافظة على استقرار الهيكل النسجي (Kadler *et al*, 2007).

تمتاز الاحياء المائية مثل قنديل البحر Jelly fish واسماك القرش Shark ونجم البحر Starfish بانها ذات محتوى كولاجيني عالي (Coppola *et al*.,2020) يدخل الكولاجين المستخلص من الأسماك وخصوصا الأجزاء غير المأكولة في المجالات الطبية فقد اشار الباحث (Ge *et al*., 2020) الى إمكانية استخدام ضمادة جل الكولاجين في الإسراع من عملية التئام الجروح العميقة الناتجة عن الحروق من الدرجة الثانية وفي إيقاف النزف وأيضا يدخل في تركيب بعض المواد الدوائية ليسرع من عملية امتصاصها في الجسم (Patra *et al*., 2018) فضلا عن كونه احد المكونات الأساسية التي تدخل في تركيب مواد التجميل وأهميته في إعادة اصلاح وترميم الانسجة (Lim *et al*., 2019 & Lee *el al*,2019)

الفصـــــل الثالـــــث

المـــــواد وطرائـــــق العمـــــل

3-1حيوانات التجربة

I-الارانب

أخذت ذكور الارانب البالغة نوع Newzelandعدد15 وبوزن 2 كغم ±100 غم من حقل الارانب / كلية الطب البيطري –جامعة الموصل، وكانت ذات صحة جيدة واستمرت تغذية الارانب على الاعلاف المصنعة طول مدة التجربة.

II- الأسماك

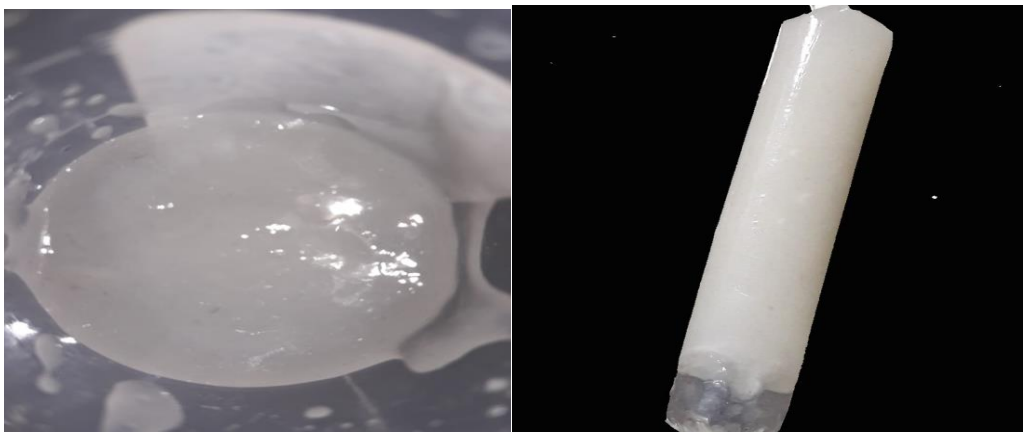
جلبت سمكة الكارب الشائع (*Cyprinus carpio*) من الأسواق المحلية لبيع الأسماك في مدينة الموصل وكانت بوزن (2 كغم ±20 غم) وبطول 100 سم، وتم تخدير السمكة باستخدام حمام مائي مضاف اليه مادة التخدير ترايكان ميثانوسلفيت (MS-222) وبتركيز 150ملغم /لتر (Al-Taee *et al*.,2020)، بعدها نزعت الحراشف من منطقة الجذع مابين الزعنفة الظهرية و باتجاه الجهة البطنية وامتدادا" الى المنطقة الذيلية وتم نزع الجلد باستخدام المشرط الجراحي وغسل بالماء المقطر وقسم الى قسمين:

***القسم الأول من الجلد*:** –قطع الى احجام صغيرة (2×2) سم بعدها عقمت قطع الجلد باستخدام povidone Iodine 10% لمدة 5 دقائق بعدها وضعت قطع الجلد في تراكيز تصاعدية لمادة الكليسيرول(50% و 70%) لمدة 5 دقائق لكل تركيز وعند التركيز (99%) تم وضعها في حمام مائي بدرجة حرارة (32) مئوية ولمدة نصف ساعة بعدها غسلت قطع الجلد بالمحلول الملحي normal saline 0.9 بعدها وضعت في أكياس البولي اثيلين وتم تعريضها للتعقيم الاشعاعي باستخدام اشعة فوق البنفسجية Ultraviolate (UV) لمدة 15 دقيقة (Lima *et al*., 2017).

***القسم الثاني من الجلد*:** – اخذت عينة من جلد السمكة بوزن 6 غم واستخلص منها الكولاجين بالطرق الكيمائية حسب طريقة(Nagai &Shzuki, 2000) وكما يلي:

غسلت قطع الجلد بالماء المقطر ثم وضعت بمحلول هيدروكسيد الصوديومNaOH بتركيز 0.1مولاري وتم استبدال المحلول كل 8 ساعات ولمدة 24 ساعة، بعدها وضعت قطع الجلد بكحول البيوتانول 10% لمدة 24 ساعة، بعدها استخدم حامض الخليك الثلجي(0.5 مولاري) لمدة 48 ساعة رشح المحلول وحفظ بالثلاجة وتم إعادة نقع الراسب بمحلول حامض الخليك الثلجي لمدة 24 ساعة رشح المحلول ومزج مع الراشح الأول ومن ثم تمت إضافة محلول كلوريد الصوديوم NaCL (2.6 مولاري) في محلول Tris-HCl (0.05مولاري) وللحصول على الراسب وضع

محلول الاستخلاص بجهاز الطرد المركزي تحت التبريد10000 دورة /دقيقة لمدة 30 دقيقة(كلية التربية للعلوم الصرفة/ قسم الكيمياء) جامعة الموصل.اخذ الراسب ووضع في أكياس الديلزة المنشطة ذات وزن جزيئي 14 كيلودالتون ووضع الكيس في الماء المقطر لمدة 48 ساعة مع استبداله كل 4 ساعات. جمع الكولاجين ووضع في انابيب الاختبار وحفظ بالتجميد الى حين استخدامه، الشكل(1).



الشكل (1) يوضح الكولاجين المستخلص من جلد سمكة الكارب الشائع.

3-2 العملية الجراحية

تم تخدير الارانب بمزيج من الكيتامين –هيدروكلورايد (50 ملغم/كغم) والزايلازين (5ملغم/كغم) عن طريق الحقن العضلي (Lemo *et al*., 2010) وتهيئة المنطقة حول القطنية Para lumber بإزالة وقص الشعر وتعقيمها بـ10% Povidone Iodine وإزالة الجلد بحجم (2x2)سم.

3-3 تصميم التجربة

قسمت الارانب عشوائيا الى ثلاث مجموعات: –

المجموعة الاولى (السيطرة): –أحدث الجرح في المنطقة حول القطنية وترك بدون معاملة الشكل (2A1)

المجموعة الثانية (المعاملة بجلد السمكة): –بعد احداث الجرح تم تثبت قطعة من جلد السمكة على منطقة الجرح وبالاعتماد على الخياطة البسيطة المتقطعة واستخدام الخيوط الجراحية نوع الفيركل، الشكل(2A2)

المجموعة الثالثة (المعاملة بالكولاجين المستخلص): –وضع الكولاجين المستخلص من جلد السمكة على منطقة الجرح كل ثلاث ساعات الشكل، (2D1).

تمت المتابعة اليومية للجرح عيانيا واخذت قياساته (الطول والعرض) لغرض تقييم الالتئام حسابيا Mathmatical methods بالاعتماد على المعادلات الحسابية:

$$\text{مساحة الجرح} = \frac{\text{مساحة الجرح عند اليوم}(0)}{\text{مساحة الجرح عند اليوم }(X)} \times 100 \quad \text{(Ravishankar } \textit{et al.}\text{, 2018)}$$

$$\text{النسبة المئوية لتقلص الجرح \%} = 100 - \left[\frac{\text{المساحة عند اليوم }(X) \times 100}{\text{المساحة عند اليوم }(0)}\right]$$

ولغرض التقييم النسجي لالتئام الجرح فقد اخذت الخزعة من منطقة الالتئام عند اليوم الثالث والثامن للمجموعتين (الأولى والثانية) وبعد خمسة وسبعة أيام للمجموعة 3، وضعت العينات بالفورمالين المتعادل 10% لغرض التثبيت ، ومن ثم وضعت العينات بتراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي (70–90–100)% وبعدها استخدم الزايلول للحصول على شفافية وتصلب النسيج ومن ثم تم تمرير العينات بالشمع ووضعت بعدها في قوالب شمعية لغرض تقطيعها بواسطة المايكروتوم للحصول على شرائح نسجية بسمك 5 مايكرون ومن ثم تم استخدام الصبغات الروتينية (H&E) والصبغة الخاصة للنسيج الضام ماسون تراي كروم(Luna, 1968).

3-4 التحليل الاحصائي

تم تحليل البيانات باستخدام تحليل التباين العشوائي CRD ولتجربة عاملية (ذات عاملين) لمعرفة الفروق المعنوية بين متوسطات المعاملات وباستخدام اختبار دنكن (داؤود وعبد الياس ،1990) لتحديد التفوق المعنوي بين المجاميع حسب البرنامج (SAS, 2003).

الفصـــــــل الرابـــــــع

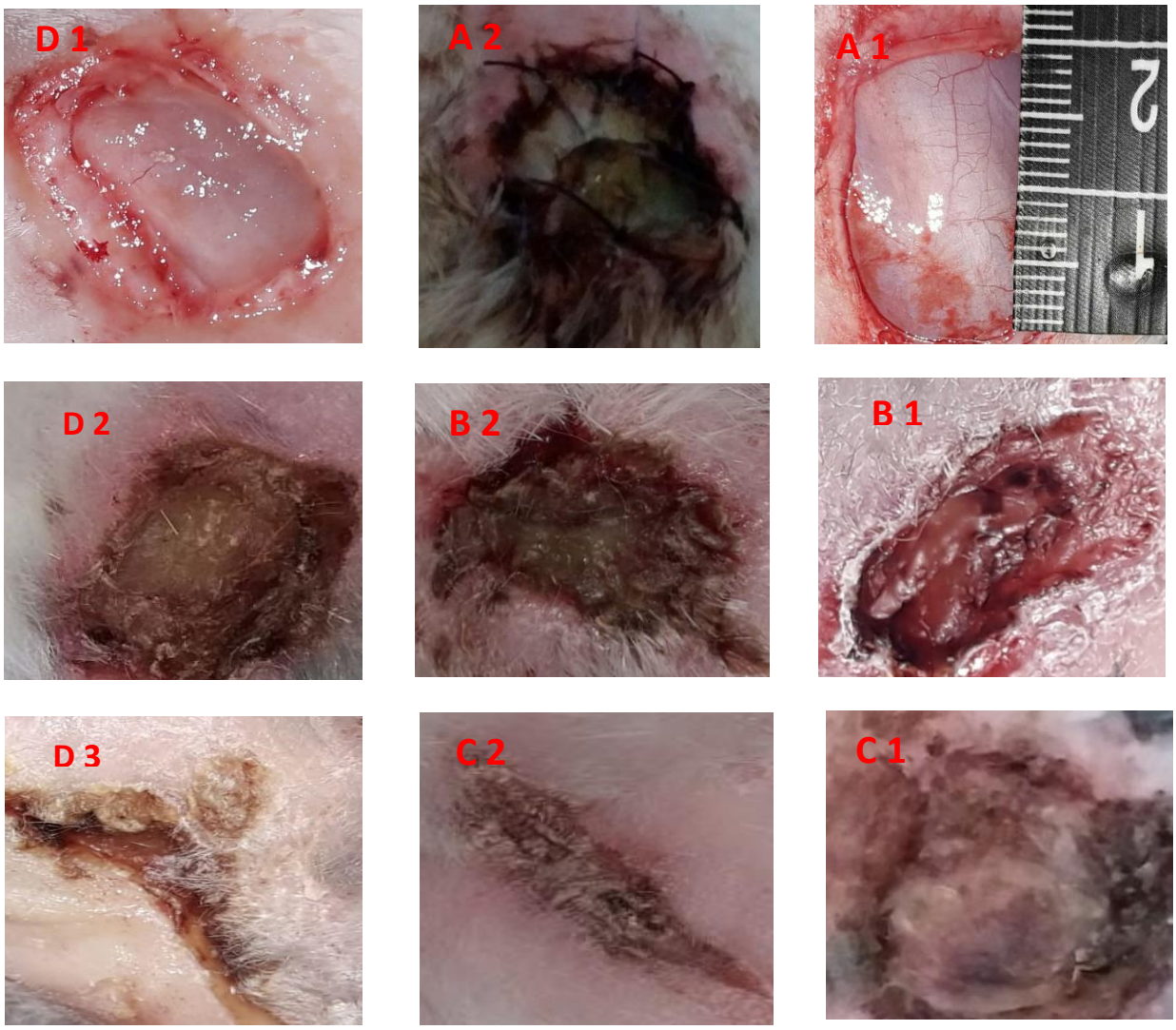
النـتـــــائـــــــج

4-1 الفحص العياني

اظهر الفحص العياني لمنطقة الجرح ان لاستخدام جلد اسماك الكارب دور في عملية التسريع من التئام الجرح، اذ لوحظ تكون طبقة بيضاء سميكة من الكولاجين وتثخن حافات الجرح عند اليوم الثالث من اجراء العملية الشكل (2-B2) مقارنة مع مجموعة السيطرة اذ لوحظ احمرار واحتقان منطقة الجرح الشكل (2-B1)، في حين لوحظ تكون الندبة عند اليوم الثامن من اجراء العملية الشكل (2-C2) وحدوث الالتئام التام مع بدء نمو الشعر عند اليوم الحادي عشر مقارنة مع مجموعة السيطرة والتي استغرقت عملية غلق الجرح ونمو الشعر الى ما بعد اليوم الرابع عشر الشكل (2-C1).

اما بالنسبة للمجموعة التي استخدم فيها الكولاجين المستخلص من جلد الأسماك فقد كانت عملية الالتئام أسرع اذ لوحظ تكون طبقة سميكة جدا من الكولاجين في منطقة الجرح خلال اليوم الأول الى اليوم الثاني من اجراء العملية الشكل (2-D2) وتقرب حافات الجرح عند اليوم السادس من العملية الشكل (2-D3) وحدوث الالتئام التام عند اليوم التاسع من اجراء العملية.

مجموعة السيطرة المجموعة المعاملة بجلد الأسماك المجموعة المعاملة بالكولاجين



الصورة(1) مقطع عياني لمنطقة الجرح المحدث في ذكور الارانب عند اليوم الأول اذ يمثل (A1) الجرح غير المعامل (A2) المعامل بجلد الأسماك،(B1) يمثل منطقة الجرح بعد 3ايام اذ يلاحظ الاحتقان اما (B2) فيمثل الجرح المعامل بجلد الأسماك بعد 3ايام اذ يلاحظ تثخن حافات الجرح مع وجود طبقة سميكة من الكولاجين (C2&C1)، يمثل منطقة الجرح بعد ثمانية أيام اذ يلاحظ الفرق في مساحة الجرح لكلا المعاملتين .D1 توضح وضع جل الكولاجين المستخلص على الجرح، D2 تكون طبقة سميكة من الكولاجين خلال48 ساعة من وضع جل الكولاجين المستخلص على الجرح ويلاحظ صغر مساحة الجرح وتقرب حافات الجرح عند اليوم السادس من المعاملةD3.

2-4 القياسات الحسابية

تم من خلال المتابعة اليومية للجرح تحديد تأثير جلد السمكة وجل الكولاجين المستخلص على عملية الالتئام وذلك من خلال تحديد مساحة الجرح، اذ تبين من نتائج التحليل الاحصائي ان صغر مساحة الجرح اختلفت حسب الأيام والمعاملات، اذ بدء الانخفاض المعنوي ($P\leq0.05$) في مجموعة السيطرة عند اليوم الخامس (71.17) سم مقارنة مع اليوم الأول في حين كان الانخفاض معنويا عند اليوم الثالث واليوم الثاني للمجموعتين المعاملة بجلد السمكة والمعاملة بالكولاجين المستخلص المستخلص(65.60 و69.13) سم على التوالي مقارنة مع مساحة الجرح عند اليوم الأول 100سم.

وبالنسبة للمقارنة بين المعاملات فقد كانت مساحة الجرح منخفضة معنويا بدءا من اليوم الرابع للمجموعة المعاملة بجلد السمكة مقارنة مع مجموعة السيطرة، اما المجموعة المعاملة بالكولاجين المستخلص المستخلص فقد بدء الانخفاض المعنوي عند اليوم الثاني بعد العملية مقارنة مع مجموعة السيطرة الجدول(1).

في حين كانت النسبة المئوية لانكماش وتقلص الجرح مرتفعة معنويا($P\leq0.05$) عند اليوم العاشر لمجموعة (1) واليوم الثامن والخامس للمجموعتين (2 و3)، وعند المقارنة بين المعاملات فقد لوحظ تفوق معنوي لمجموعة (2) عند اليوم الثالث وعند اليوم الثاني لمجموعة(3) مقارنة مع مجموعة(1)، الجدول (2).

الجدول (1) مساحة الجرح سم /يوم (الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي).

الأيام / المعاملة	اليوم 1	اليوم2	اليوم3	اليوم4	اليوم5	اليوم6	اليوم7	اليوم8	اليوم9	اليوم10	اليوم11	اليوم12
مجموعة السيطرة	100.00±0.00 a	98.53 ±2.54 a	83.60 ±6.15 ab	79.23 ±9.94 a-c	71.17 ±15.36 b-d	65.03±19.05 b-e	58.80±24.34 e-f	39.37±0.55 f-j	27.50 ± 6.33 h-l	25.67± 3.20 h-m	21.30 ± 2.94 j-m	16.32± 1.81 k-m
المجموعة المعاملة بجلد الأسماك	100.00 ±0.00 a	84.53 ± 6.96 ab	65.60 ±11.81 b-e	50.60 ± 5.02 d-g	46.68 ±10.60 e-g	42.50 ± 7.15 f-i	34.18 ± 7.85 i-k	30.28 ±6.39 h –l	27.13±7.94 h-m	23.43±9.88 i-m	18.98±13.80 j-m	11.68± 8.23 k-m
االمجموعة المعاملة بالكولاجين المستخلص	100.00 ±0.00 a	69.13 ±26.83 cd	59.30±30.38 c-f	55.63±28.23 De	30.07 ± 7.47 g-l	22.23 ±6.98 i-m	14.17 ± 7.35 k-m	10.90± 9.46 l-m	16.35 ± 1.06 k-m	9.71 ± 0.42 lm	6.65 ± 0.64 m	

الاحرف المختلفة على المتوسطات تعني وجود فروق معنويةعند مستوى احتمالية($P\leq0.05$).

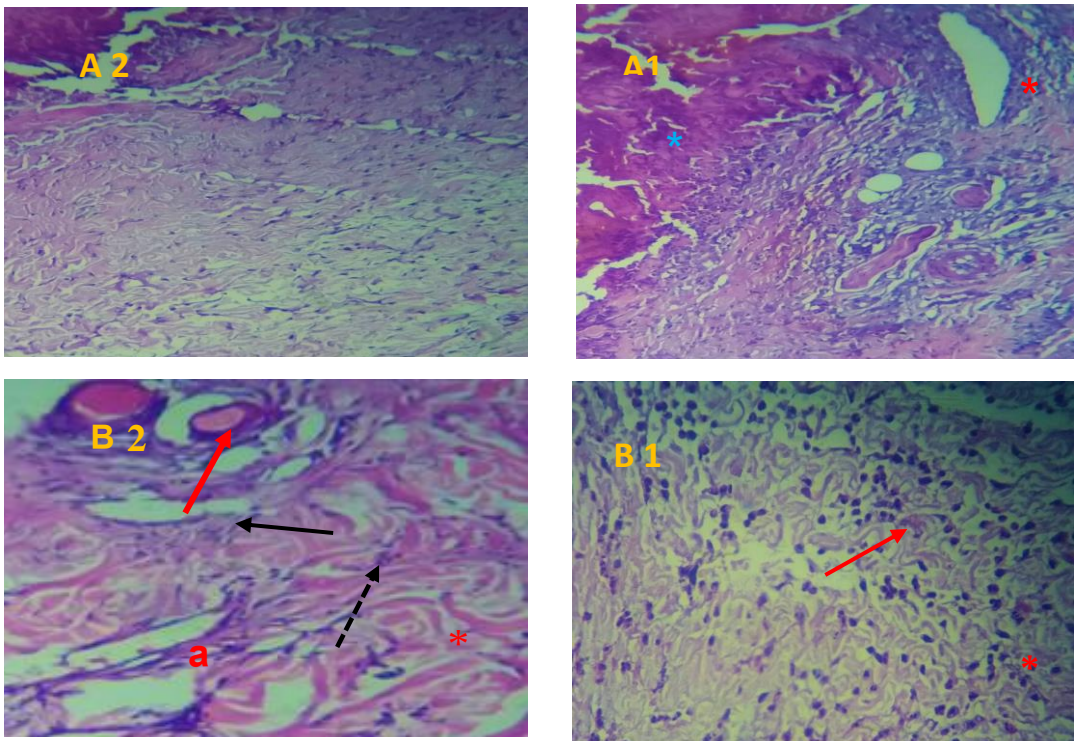
الجدول (2) النسبة المئوية لانكماش وتقلص الجرح/ يوم (الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي).

الأيام / المعاملة	اليوم 1	اليوم2	اليوم3	اليوم4	اليوم5	اليوم6	اليوم7	اليوم8	اليوم9	اليوم10	اليوم11	اليوم12
مجموعة السيطرة	0.00 ± 0.00 n	1.47 ±0.54 n	4.37 ± 1.56 n	16.40±6.15 i-n	20.77±9.94 i-k	28.83±10.36 j-m	34.97± 10.05 h-l	57.13 ± 3.34 d-i	59.10 ± 2.47 c-i	74.43 ± 3.09 a-f	78.7± 1.62 a-e	79.80 ± 7.49 a-e
المجموعة المعاملة بجلد الأسماك	0.0 ± 0.00 n	15.48±6.96 l-n	34.38±11.86 h-l	49.33±5.07 f-j	53.30±10.62 e-j	57.55 ± 7.15 d-i	65.80 ± 7.88 b-f	69.73 ±6.39 a-f	72.88 ± 7.94 a-f	76.55 ±9.90 a-f	81.03 ±7.33 a-b	-
المجموعة المعاملة بالكولاجين المستخلص	0.00 ± 0.00 n	32.83±3.22 i-k	42.67 ± 7.44 g-k	61.03±1.50 c-h	69.93 ± 7.47 a-f	77.77 ± 6.98 a-e	85.83 ± 7.35 a-c	89.10 ±9.46 ab	83.65 ± 1.06 a-c	90.30 ±0.41 ab	96.68±0.64 a	-

الاحرف المختلفة على المتوسطات تعني وجود فروق معنويةعند مستوى احتمالية($P\leq0.05$)

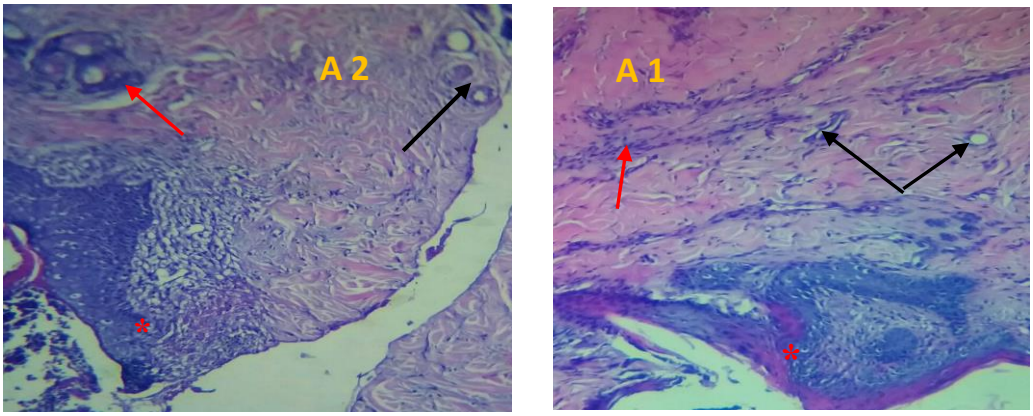
3-4 الفحص المجهري النسجي

عند اجراء الفحص المجهري النسجي للعينات المأخوذة من منطقة الالتئام لوحظ بان لاستخدام جلد الأسماك والكولاجين المستخلص دور مهم في تحسين والإسراع من عملية الالتئام مقارنة مع مجموعة السيطرة. اذ لوحظ ارتشاح للخلايا الالتهابية وتكاثر الارومة الليفية عند اليوم الثالث وبداية تكون الاوعية الدموية حديثة التكوين angiogenesis وتكون الكولاجين بكثافة اعلى (على شكل مجموعة خيوط) مما هو عليه في مجموعة السيطرة والتي اظهر الفحص المجهري للمقاطع الماخوذة من هذه المجموعة ارتشاح كثيف للخلايا الالتهابية وترسب خيوط خفيفة من الكولاجين، الشكل (3 A1-A2). وكانت هذه التغييرات أكثر وضوحا عند اليوم الثامن من المعاملة بجلد الأسماك مع بدء تكون جريبات الشعر مقارنة مع مجموعة السيطرة وكما موضح في الشكل (3 B1-B2).



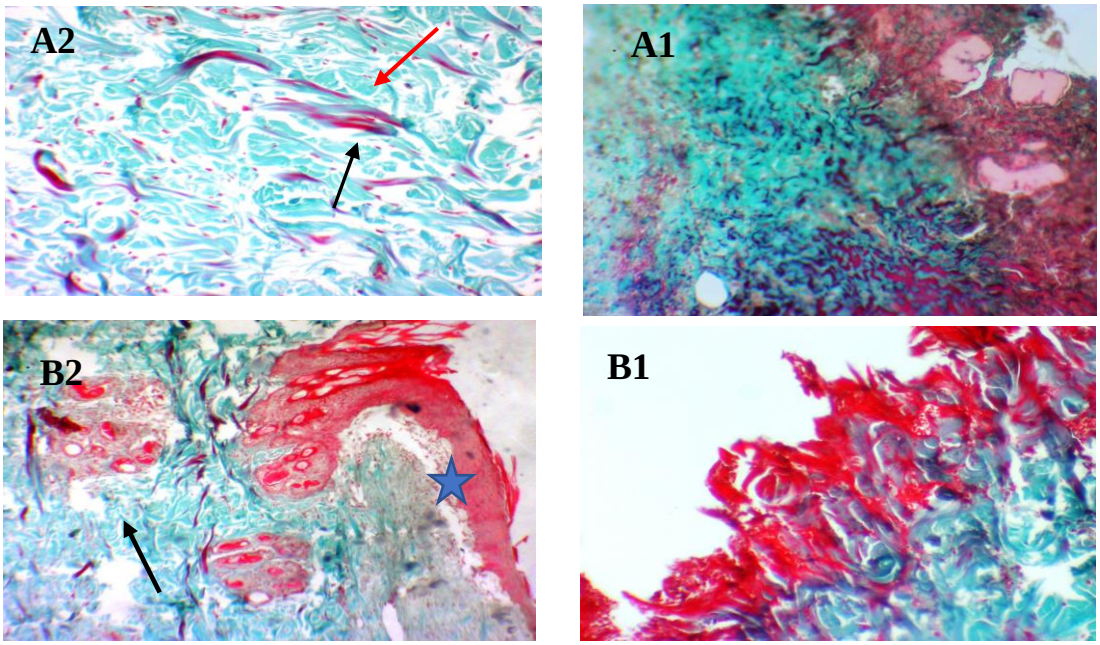
الصورة(2) مقطع نسجي لمنطقة التئام الجرح في الارانب بجلد الأسماك عند اليوم الثالث من اجراء العملية اذ يلاحظ ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية* مع وجود النسيج المتنخر*(A1)40X*2.6 وارتشاح بسيط للخلايا الالتهابية والارومات الليفية وترسب بسيط للكولاجين (A2)اما(B2,B1) فيمثلان مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بجلد الأسماك على التوالي عند اليوم الثامن من اجراء العملية اذ يلاحظ ارتشاح الخلايا الالتهابية* وتكون خيوط الكولاجين(السهم الأحمر) (B1) 40X*1 ، اما(B2) فيوضح ارتشاح بسيط للخلايا الالتهابية(السهم الأسود المتقطع) وتكاثر الاورمة الليفية(السهم الأسود) مع ترسب خيوط سميكة للكولاجين * وتكون الاوعية الدموية حديثة التكوين (a) وبداية تكون جريبات الشعر(السهم الأحمر) 4X*10.4، H&E.

ولوحظت نفس هذه التغييرات في المقاطع النسجية الماخوذة من المجموعة المعاملة بالكولاجين المستخلص ولكن بفترة زمنية اقل فضلا عن بدء نمو الخلايا الظهارية للجلد عند اليوم الخامس وتكون الشريينات arteriolesونمو جريبات الشعر مع تكون طبقات الجلد عند اليوم السابـع الشكل(4 A1-A2) .



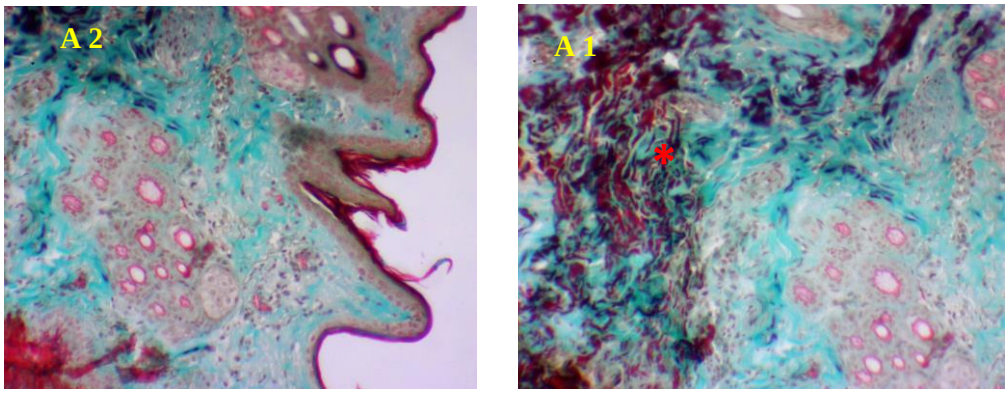
الصورة (3): مقطع نسجي لمنطقة الجرح في الارانب المعاملة بالكولاجين بعد خمسة اذ يلاحظ ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية السهم الأحمر وتكاثر الارومة الليفية وتكون الاوعية الدموية حديثة التكوين السهم الاسود مع نمو الخلايا الظهارية *(A1) 10X*2.4، و فرط تنسج الخلايا الظهارية *ونمو جريبات الشعر السهم الاحمر وتكون الشريينات السهم الأسود عند اليوم السابع من اجراء العملية (A2) 10X*2. H&E.

وكانت هذه النتائج متطابقة مع نتائج التقييم اللوني للمقاطع النسجية باستخدام صبغة الماسون تراي كروم اذ كان الكولاجين المتكون ذات لون اخضر وبكثافة عالية عند اليوم الثالث والثامن مع وجود الخلايا الليفية المغزلية والالياف الغراوية بلون احمر الشكل(5 A2) مقارنة مع مجموعة السيطرة والتي كانت نتائج التقييم اللوني كدليل لوجود الخلايا الليفية باشكال غير منتظمة مع شدة اقل للون الأخضر الشكل (5 A1)، فضلا عن بداية لنمو جريبات الشعر والغدد الزهمية عند اليوم الثامن الشكل(5 B2) ، اما الشكل (5 B1) فيمثل بقاء النسيج الحبيبي في المقاطع المأخوذة من مجموعة السيطرة.



الصورة(4)مقطع نسجي لمنطقة التئام الجرح في الارانب :(A1)مجموعة السيطرة عند اليوم الثالث من العملية يلاحظ ارتشاح الخلاياالالتهابية والنسيج الحبيبي غير الناضج 10X، (A2) المجموعة المعاملة بجلد الأسماك عند اليوم الثالث من العملية يلاحظ الالياف الغراوية(السهم الأسود) مع ترسب الكولاجين(السهم الأحمر) 10X،(B2،B1) مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بجلد الأسماك عند اليوم الثامن من العملية على التوالي يلاحظ منطقة الالتئام والخلايا الالتهابية في (B1) 10X، وبداية نموجريبات الشعر والغدد الزهمية (السهم الأسود)مع نمو ظهارة الجلد ★ وجود الخلايا الليفية وترسب الكولاجين في(B2) 4X، ماسون ترايكروم .

وكان التئام الجرح وإعادة ترميم الجلد بمكوناته التركيبية والشكلية اكثر وضوحا في مجموعة الارانب المعاملة بالكولاجين المستخلص المستخلص من جلد الأسماك بعد 5ايام من العملية اذ لوحظ تكون الكولاجين بكثافة عالية مع بدء نمو جريبات الشعر والغدد الزهمية مع تكون النسيج الحبيبي الشكل (6-A1) وكانت هذه التغييرات اكثر نضوجا" في المقاطع النسجية المأخوذة من منطقة التئام الجرح عند اليوم السابع بعد العملية الشكل(6-A2).



الشكل(5)مقطع نسجي لمنطقة التئام الجرح في الارانب المعاملة بالكولاجين المستخلص المستخلص يوضح النسيج الحبيبي غير الناضج * عند اليوم الخامس(A1)10X مقارنة مع (A2) 10X، ماسون تراي كروم

الفصـــــل الخامـــــــــــس

المنـــــاقشـــــــــة

لوحظ من خلال هذه الدراسة صغر مساحة الجرح مع ارتفاع النسبة المئوية لشدة التقلص والانكماش خلال الخمسة أيام الأولى للمجموعة المعاملة بجلد الأسماك وخلال الثلاثة أيام الأولى للارانب المعاملة بالكولاجين المستخلص مقارنة مع مجموعة السيطرة وقد سجل الباحث Jawad) (et al., 2013ان عملية الالتئام مع تناقص نسبة تقلص الجرح في الارانب تحدث بعد سبعة أيام من العملية.

ان عملية التئام الجرح تضم مجموعة معقدة من العمليات تبدء خلال الساعات الأولى من حدوث الجرح بالتغييرات الوعائية والتي تتمثل ببطئ جريان الدم hemostasis والتي تساعد بتراصف وتجمع الصفيحات الدموية وترسب خيوط الفبرين لتكوين سدادة أولية للجرح وإيقاف النزف وخلال 5–7 أيام تبدء مرحلة الارتشاح الخلوي وتكوين النسيج الحبيبي(من اهم مكوناته الخلايا الليفية التي تساعد بتكوين الكولاجين وخلايا البطانة الوعائية لتكوين الاوعية الدموية حديثة التكوين)ومن ثم تبدء مرحلة تكوين الندبة والاندمال وتستغرق عملية الالتئام من 14– 21 يوم او اشهر حسب حجم الجرح (Zachary, 2017).

اما عند استخدام جلد الأسماك والكولاجين المستخلص لعلاج الجرح المحدث تجريبيا في الارانب فقد كانت عملية الالتئام اسرع اذ لوحظ الالتئام واكتساب الجلد الشكل التركيبي العياني والنسجي الطبيعي خلال احدى عشرا يوما للمجموعة المعاملة بجلد الأسماك وتسعة أيام في المجموعة المعاملة بالكولاجين، في حين أشار الباحث (Lemo *et al*., 2010) الى ان عملية التئام وشفاء الجروح في الارانب تستغرق 21 يوما، وقد أشار الباحث Ibrahim وجماعته (2020) ان لجلد اسماك البلطي دور فعال في التئام جرح الجلد في الحمير، وقد اكد الباحثون (Stone *et al*., 2021& Lima-Junior, 2019) الى إمكانية استخدام جلد الأسماك في علاج الجروح.

قد يكون لارتفاع نسبتي الرطوبة والكولاجين في جلد الأسماك أهمية في توفير البيئة الملائمة لحدوث الالتئام بشكل افضل ومن دون تكون الندبة (Hu *et al*., 2017) كذلك المكونات الحيوية الأخرى لجلد الأسماك مثل الاحماض الدهنية غير المشبعة والتي تعد مضادة للالتهاب فضلا عن احتواء جلد الأسماك على الاحماض الامينية يساعد على إعادة تكوين النسيج والظهارة والتصاق وتماسك الخلايا ومن اهم الاحماض الامينية المكونة لجلد الأسماك البرولين Prolineوالالنين

Alanine والتي لها أهمية بتحفيز تكاثر الارومة الليفية وتكوين السدى والذي يعد العنصر الأساس لحدوث الالتئام (Torkaman *et al*., 2021).

وتطابقت نتائج استخدام الكولاجين المستخلص في علاج الجروح لهذه الدراسة مع نتائج الباحث (Elbialy *et al*., 2020) والذي أشار الى الدور الحيوي والفعال للكولاجين المستخلص من اسماك البلطي في علاج والإسراع من التئام الجرح في الجرذان، يحفز الكولاجين مجموعة من عوامل النمو والتي لها دور مهم في تكوين النسيج الحبيبي وبالتالي حدوث الالتئام مثل(1) عوامل نمو الارومة الليفية Fibroblast Growth Factors(FGF) وهذه تعمل على تحفيز تكاثر ونضوج الارمة الليفية والتي لها دور بتكوين السدى (2) عوامل نمو الخلايا البطانية الوعائية Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) وهذه تساعد على تكوين الاوعية الدموية حديثة التكوين والتي توفر الاوكسجين والمواد الضرورية لنمو النسيج والخلايا المناعية فضلا عن (3) عوامل النمو المتنقلة بيتا(Transforming Growth Factor- β1 (TGF-β1 وهذه العوامل لها دور حيوي في تكاثر الارومة الليفية وتمييزها الى الارومة الليفية العضلية Myofibroblast والتي تساعد في تقلص الجرح فضلا عن تحفيز نمو الخلايا الظهارية لتقريب حافات وغلق الجرح(Darby et al., 2014).

استخدمت صبغة الماسون تراي كروم للتقييم اللوني اذ كلما كان اللون الأخضر اكثر شدة دل هذا على الكثافة العالية لتكون الكولاجين وكلما كان النسيج اكثر نضوجا فان الالياف الغراوية(Proteglycan و Elastic) تأخذ اللون الأحمر وهذا الاختلاف اللوني قد يعود الى الاختلافات في تصنيع الحامض النووي الرايبوسومRibosomal Nuclic Acid RNA والفعالية الخلوية(Baccari *et al*., 1992) .

الفصـــــــل الســـــــادس

الاستنتـــاجـــات والتـــوصيـــــات

6-1 الاستنتاجات

(1) يمكن استخدام جلد اسماك الكارب لترقيع الجروح كضمادة بيولوجية بدون حدوث تلوث جرثومي.

(2) ساعد جلد الأسماك على تسريع الالتئام وشفاء الجروح.

(3) لايحصل رفض مناعي عند استخدام جلد السمك كترقيع.

(4) ان للكولاجين المستخلص من جلد اسماك الكارب الشائع دور مهم في تسريع عملية الالتئام وكانت نتائجه أفضل من استخدام الجلد.

6-1 التوصيات

(1) استخدام جلد اسماك من أنواع أخرى وملاحظة مدى فاعليتها في التئام الجروح

(2) التعرف على نوع الكولاجين الموجود في تركيب جلد اسماك الكارب الشائع

(3)إضافة الفحوصات المصلية لتحديد مؤشرات الالتهاب.

المصادر العربية

داؤود، خالد محمد وعبد الياس، زكي. (1990). الطرق الاحصـــائية للابحاث الزراعية. الطبعة الثانية. دار الكتب للطباعة والنشر، الموصل–العراق.

References

Alexander, J.W. and DM Supp. (2014). "Role of Arginine and Omega-3 Fatty Acids in Wound Healing and Infection". Advances in Wound Care 3.11: 682-690.http://doi: 10.1080/07420528.2018.1541901

AL-Taee, S.; Anaz, M.T.; Al-Badrany, M.S. and ALHamdani, A.H. 2020. Biochemical and Behavioral Responses of Tricaine Methane-Sulfonate Usage in *Cyprinus Carpio*. Iraqi Journal of Veterinary Sciences. (In Press).

Baccari, C.G.; Marmorino, C.; Minacci, S.L.; Matteo, D.I.; Varriale, B.; D'istria, M. and Chieff,i G. (1992). Mallory stain may indicate differential rates of RNA synthesis: I. A seasonal cycle in the harderian gland of the green frog (Rana esculenta). Eur. J. Histochem. 36, 81-90.

Coppola, D.; Oliviero, M.; Vitale, G.A.; Lauritano, C.; D'Ambra, de Pascale, and D., I, (2020). Marine Collagen from Alternative and Sustainable Sources: Extraction, Processing and Applications. Mar. Drugs., 18, 214. http://doi: 10.3390/md18040214

Costa, B.A.; Junior, E.M.L.; Filho, M.O.D; Fechine, F.V.; De Moraes, M.E.A.; Junior, F.R.S.; Soares, M.F.A.D. and Rocha, M.B.S.(2019). Use of tilapia skin as a xenograft for pediatric burn treatment: a case report. J Burn Care Res., 40:714–7. http:// doi: 10.1093/jbcr/irz085

Darby, I.A.; Laverdet, B.; Bonté, F. and Desmoulière, A. (2014). Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. Clin Cosmet Investig Dermatol. 7: 301. http://doi: 10.2147/CCID.S50046

Dhivya, S.; Padma, V.V. and Santhini, E. (2015). Wound dressings—A review. BioMedicine, 5(4): 22. http://doi: 10.7603/s40681-015-0022-9.

Eliably, Z.; Atiba, A.; Abdelnaby, A.; Al-Hawary, Elsheshtawy, A.; El-Serehy, H.A. and Abdel-Daim, M.M. (2020). Collagen extract obtained from Nile tilapia (Oreochromis niloticus L.) skin accelerates wound

healing in rat model via up regulating VEGF, bFGF, and α-SMA genes expression. BMC Veterinary Research .16:352 http://doi:10.1186/s12917-020-02566-2

Fiakos, G.; Kuahg, Z. and Lo, E. (2020). Imoproved skin regeneration with acellular fish skin grafts.Engineered Regeneration, 1:95-101.http:// doi. :10.1016/j.engreg.2020.09.002

Ge, B.; Wang, H.; Li, J.; Liu, H.; Yin, Y.; Zhang, N. and Qin, S.(2020). Comprehensive Assessment of Nile Tilapia Skin (Oreochromis niloticus) Collagen Hydrogels for Wound Dressings. Marine drugs. 18, 178; http://doi: 10.3390/md18040178.

Hicks, J. (2018). Fish skin healed bears' paws burned in the California fires. Available from: http://www.vice.com/en/article/us_/article/ne4x3k/ burned-bear-paws-fish-skin.

Hosgood, G. (2012). Open wounds. . In:Tobias KM, Johnston SA, editors.Veterinary surgery : small animal, Vol. 1,1st ed.St Louis(MO): Saunders, p.1210-20.

Hu, Z.; Yang, P.; Zhou, C.; Li, S. and Hong, P. (2017). Marine collagen peptides from the skin of Nile Tilapia (Oreochromis niloticus): characterization and wound healing evaluation. Mar Drugs.15:102.http:// doi: 10.3390/md15040102

Huang, H.N; Chan Y.L.; Hui C.F.; Wu J.L. Wu C.J. and Chen

J.Y. (2015). Use of tilapia piscidin 3(TP3) to protect against MRSA infection in mice with skin injuries.Oncotaget.6 (15):12955-12969. http:// doi: 10.18632/oncotarget.4102

Huang, T.C. and Chen, JY. (2013). "Proteomic and functional analysis of zebra fish after administration of antimicrobial peptide epinecidin-1. Fish Shellfish Immunology.34 (2):593-598.http:// doi: 10.1016/j.fsi.2012.11.032

Ibrahim, A; Soliman, M.; Kotb, S. and Ali M.M. (2020). Evaluation of fish skin as a biological dressing for metacarpal wounds in donkeys. BMC Veterinary Research, 16:472. http:// doi:10.1186/s12917-020-02693-w.

Jawad, M.M.; Alam, M.K.; AbdulQader, S.T; Al-Azzawi, L.M.; Husein, A. and Mahmood, A.S. (2013). Histological Evaluation of Incision

Healing Response Made by Metallic Scalpel on Rabbits Skin: Preliminary Study. International Medical Journal, 20 (4): pp. 496 - 498

Kadler, K.E; Baldock, C.; Bella, J. and Boot-Handford R.P. (2007). Collagens at a glance. J. Cell Sci., 120: 1955-1958.http:// doi: 10.1242/jcs.03453

Lee, A.; Hudson, A.; Shiwarski, D.; Tashman, J.; Hinton, T.; Yerneni, S.; Bliley, J.; Campbell, P.and Feinberg, A. (2019). 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human heart. Science. 365, 482–487. http://doi: 10.1126/science.aav9051.

Lemo, N.; Marignac, G.; Reyes-Gomez, E.; Lilin, T.; Crosaz, O. and Ehrenfest, D.M.D. (2010). Cutaneous reepithelialization and wound contraction after skin biopsies in rabbits: a mathematical model for healing and remodelling index. VETERINARSKI ARHIV 80 (5), 637-652.

Lim, Y.-S.; Ok, Y. J.; Hwang, S.Y.; Kwak, J.Y.; Yoon, S. (2019).Marine Collagen as A Promising Biomaterial for Biomedical Applications. Mar. Drugs .17, 467. http://doi: 10.3390/md17080467

Lima-Junior, E.M.; de Moraes, F. M.O, Costa, B.A.; Fechine, F.V.; de Moraes, M.E.A.; Silva-Junior, F.R.; do Nascimento, S.M.F.A.; Rocha, M.B.S. and Leontsinis, C.M.P. (2019). Innovative treatment using tilapia skin as a xenograft for partial thickness burns after a gunpowder explosion. Journal of Surgical Case Reports, 6, 1–4. http://doi: 10.1093/jscr/rjz181.

Lima –Junior, E.M.; Picollo, N.S.; Miranda, M.J.B.; Ribeiro, W.L.C.; Alves, A.P.N.N.;.Ferreira,G.E., Aguiar, P.E and l Odorico de, M.F.M.(2017). Uso da pele de tilápia (Oreochromis niloticus), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. Rev Bras Queimaduras .6:10–7.

Lopes, C.; Antelo, L.T.; Franco-Uría, A.; Alonso, A.A. and Pérez-Martín, R. (2015). Valorisationoffishby-productsagainstwastemanagement treatments—Comparison of environmental impacts. Waste Manag. 46, 103–112. http:// doi: 10.1016/j.wasman.2015.08.017.

Luna, L.G. (1968).Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces I nstitute of Pathology.3rd ed., New York,McGraw-Hill Book Company.pp:38-76

Mahboob, S.; Haider, S. S.; Al- Ghanim, K.A.; Al-Misned, F.; Al-Balawi, H.F.A. and Ahmad, Z. (2014). Isolation and Characterisation of Collagen from the Waste Material of Two Importnt Freshwater Fish Species. The Journal of Animal & Plant Sciences, 24(6): 1802-1810.

Mao, A.S. and Mooney, D.J. (2015). Regenerative medicine: current therapies and future directions. Pro.NatI.Acad.Sci.U.S.A.112 (47):14452-14459. http:// doi:10.1073/pnas.1508520112.

Mo, W.Y.; Man, Y.B. and Wong, M.H. (2018). Use of food waste, fish waste and food processing waste for China's aquaculture industry: Needs and challenge. Sci. Total Environ. 2018, 613, 635–643. http:// doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.321.

Nagai, T. and Suzuki, N. (2000). Isolation of Collagen from Fish Waste Material—Skin, Bone and Fins. Food Chemistry.68: 277-281. https://doi:10.1016/S0308-8146(99)00188-0

Norbury, W.; Herndon, D.N.; Tanksley, J.; Jeschke, M.G. and Finnerty, C.C.(2016). Infection in burns. Surg Infect., 17:250–5. http://doi: 10.1089/sur.2013.134

Öztürk, F. and Ermertcan, A.T. (2011).Wound healing: a new approach to the topical wound care.Cutan Ocul Toxicol,30:92-9.http:// doi: 10.3109/15569527.2010.539586

Patel, M. and Lantis, J.C. (2019). Fish skin acellular dermal matrix: potential in the treatment of chronic wounds. Chronic Wound Care Management and Research.6:59–70.http:// doi:10.2147/CWCMR.S157211

Pati, F.; Datta, P.; Adhikari, B.; Dhara, S.; Ghosh, K. and Mohapatra, P.K.D. (2012). Collagen scaffolds Derived from Fresh Water Fish Origin and Their Biocompatibility". Journal of Biomedical Materials Research Part A 100.4: 1068-1079. http:// doi:10.1002/jbm.a.33280.

Patra, J.K.; Das, G.; Fraceto, L.F.; Campos, E.V.R.; del Pilar Rodriguez-Torres, M.; Acosta-Torres, L.S.; Diaz-Torres, L.A.; Grillo, R.; Swamy, M.K. and Sharma, S. (2018). Nano based drug delivery systems: Recent developments and future prospects. J. Nanobiotechnol. 16, 71. http://doi:10.1186/s12951-018-0392-8.

Ravishankar, K.; Kiranmayi, G.V.N., Prasad, Y.R. and Devi, L. (2018). Wound healing activity in rabbits and antimicrobial activity of Hibiscus

hirtus ethanolic extract. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. ; e17075:(4) 54. http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902018000417075

Robson, M.C.; Steed, D.L. and Franz, M.G. (2001). Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. Curr Probl Surg., 38: 72 – 140. http://doi: 10.1067/msg.2001.111167.

SAS Institute. (2003).SAS Statistical guide for perssonalcomputers, 6th ed.Cary, Nourth Carolina.

Silvipriya, K.; Kumar, K.K.; Bhat, A.; Kumar, B.D.; John, A. and Lakshmanan, P. (2015). Collagen: Animal sources and biomedical application. J. Appl. Pharm. Sci., 5: 123–127. http://doi: 10.7324/JAPS.2015.50322

Soroush, M.J.; Navid, Z.D.; Fatemeh, S. and Siamak, M.J. (2020). Fish Skin as an Alternative Biological Wound Dressing in the Wound Healing Process. EC VETERINARY SCIENC. 5(3):1-8.

Stevens, J.R.; Newton, R.W.; Tlusty, M. and Little, D.C. (2018).The rise of aquaculture by-products: Increasing food production, value, and sustainability through strategic utilisation. Mar. Policy.90, 115–124. http:// doi: 10.1016/j.marpol.2017.12.027

Stone, R.; Saathoff, E.C.; Larson, D.A.; Wall, J.T.; Wienandt, N.A.; Magnusson, S.; Kjartansson, H.; Natesan S and Christy RJ.(2021). Accelerated Wound Closure of Deep Partial Thickness Burns with Acellular Fish Skin Graft. Int. J. Mol. Sci., 22, 1590. https://doi:10.3390/ ijms22041590.

Torkaman, S.; Rahmani, H.; Ashori, A. and Najafi, S.H.M. (2021). Modification of chitosan using amino acids for wound healing purposes: A review. Carbohydrate Polymers, 258(15):117675. https://doi:0.1016/j.carbpol.2021.117675

Tottoli, E.M.; Dorati, R.; Genta, I.; Chiesa, E.; Pisani, S. and Conti, B. (2020). Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. Pharmaceutics. 12, 735; http:// doi: 10.3390/pharmaceutics12080735.

Woodrow, T.; Chant, T. and Chant, H. (2019).Treatment of diabetic foot wounds with acellular fish skin graft rich in omega-3:a prospective

evaluation.Journal of Wound Care.28(2):76-80.
http://doi: 10.12968/jowc.2019.28.2.76.

Zachary, J.F. (2017). Pathological basis of veterinary diseases. 6th (ed).ELSEVER, 122.

Abstract

The study aimed to evaluate the efficacy of carp fish skin and collagen extracted from it to rapidly improve wound healing in male rabbits depending on mathematical methods, macroscopic and histological examination and by using routine and special stain for connective tissue. The *Cyprinus carpio* was brought from the local markets to sell the fish in the city of Mosul, and after its anesthesia, the scales were removed from the trunk of the body and the skin was taken and divided into two parts:the first part was cut around (2 x 2) cm in size and exposed to sterilization and irradiation wheras 6 gram of the second part of the skin was weighed for a collagen extraction process. The rabbits were put under general anesthesia to remove the skin from the para lumber region and divided into three groups, the first group was left without treatment and considered the control group, while the second group treated by the fish skin which fixed it on the wound area by using the intermittent suturing method, the third group was treated by applying extracted collagen to the wound every three hours.

The gross and the results of the statistical analysis of the wound area rate showed that the carp skin and collagen extracted from it had an effect on the wound area rate, as it was significantly decreased ($P \leq 0.05$) on the third day of the group treated with skin (65.60) cm, and the second day of the group treated with collagen extract (69.13 cm) compared to the first day which the area was (100.00) cm, as for the control group, the rate of wound area was significantly decline on the fifth day (71.17) cm.

For comparison between the treatments, the group treated with collagen showed a significant superiority in the small area rate and the high percentage of wound contraction starting from the second day when compared with both the control group and the skin treated group, which significantly outperformed the control group in the decline area rate starting from the fourth day, and elevated in the percentage of the wound contraction starting on the third day when compared with the control group.

Microscopicall examination and colorimetric estimation by using Masson's trichrome revealed histological alteration in the all experimental groups which are indicators for healing as infiltration of inflammatory cells, collagen deposition with proliferation of fibroblast, angiogenesis and maturation of granulation tissue, there was outperformed in this dynamic changes in the group treated with fish skin and collagen extracted treated group and the preference for the extracted collagen group.

The conclusion of this study was that the carp fish residues as skin could be used as biological addressing for treat wound and it can be used for collagen extraction which is used as therapeutic gel for improving and accelerating the wound healing processes.

University of Mosul

College of Veterinary

Study of the effect of fish skin on wound healing in rabbits

Research by

Anfal Adel Al _Nuaimy **Sinan Mohamed Sharif Al_Khafaji**

To

The Council of College of Veterinary Medicin

University of Mosul

In

Partial fulfillament of Requirements

For Degree of Bacheloeismin Veterinary Pathology

Supervised by

Dr.Shahbaa Khalil Ibraheem AL_Taee

1442 H.A. **2021 A.D.**

Study of the effect of fish skin on wound healing in rabbits

Research by

Anfal Adel Al _Nuaimy **Sinan Mohamed Sharif Al_Khafaji**

To

The Council of College of Veterinary Medicin

University of Mosul

In

Partial fulfillament of Requirements

For Degree of Bacheloeismin Veterinary Pathology

Supervised by

Dr.Shahbaa Khalil Ibraheem AL_Taee

1442 H.A. **2021 A.D.**