جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

التأثيرات التطورية السمية في صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول

مها عبد الكريم طاهر العبيدي

رسالة ماجستير
الطب البيطري / الأدوية والسموم البيطرية

بإشراف
الأستاذ الدكتور
محمد خالد شندالة

١٤٤٣هـ ٢٠٢٢م

التأثيرات التطورية السمية في صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول

رسالة تقدمت بها

مها عبد الكريم طاهر العبيدي

إلى

مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في اختصاص الأدوية والسموم البيطرية

بإشراف

الأستاذ الدكتور

محمد خالد شندالة

١٤٤٣هـ **٢٠٢٢م**

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿رَبِّ هَبْ لِي حُكْمًا وَأَلْحِقْنِي بِالصَّالِحِينَ*
وَاجْعَلْ لِي لِسَانَ صِدْقٍ فِي الآخِرِينَ * وَاجْعَلْنِي
مِن وَرَثَةِ جَنَّةِ النَّعِيمِ﴾

صدق الله العظيم
سورة الشعراء ، الآيات (83-85)

إقرار المشرف

أشهد بان إعداد هذه الرسالة قد جرى بإشرافي في جامعة الموصل، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص الطب البيطري / الأدوية والسموم البيطرية.

التوقيع:

المشرف: **أ.د. محمد خالد شندالة**

التاريخ: 23 / 6 /2022

إقرار المقوم اللغوي

أشهد بان هذه الرسالة الموسومة " **التأثيرات التطورية السمية في صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول** " تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

الاسم: **أ.م.د. هلال علي محمود**

التاريخ: **3 / 7 /2022**

إقرار رئيس فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والأدوية

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

التوقيع :

الاسم: **أ.د. نشأت غالب مصطفى**

التاريخ: 14 / 7 /2022

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات المقدمة من قبل المشرف والمقوم اللغوي ورئيس فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والأدوية ، أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع :

الاسم: **أ.د. رعد عبد الغني بشير**

التاريخ: 24 / 7 /2022

إقرار لجنة المناقشة

نشهـــد باننا اعضاء لجنـــــة التقويم والمناقشـــة قد اطلعنا على هذه الرسالـــة وناقشنا الطالبة (مها عبد الكريم طاهر) في محتوياتها وفي ماله علاقة بها / /2022 وانها جديرة بنيل شهادة الماجستير في اختصاص الأدوية والسموم البيطرية.

عضو لجنة المناقشة
أ.م.د.دياري هيوا عثمان
التاريخ: / /

عضو لجنة المناقشة
أ.م.د.ياسر محمد أمين
التاريخ: / /

رئيس لجنة المناقشة
أ.م.د.يعرب جعفر موسى
التاريخ: / /

عضو لجنة المناقشة (المشرف)
أ.د.محمد خالد شندالة
التاريخ: / /

قرار مجلس الكلية

إجتمع مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل بجلسته ( ) والمنعقدة بتاريخ / /2022 وقرر منحها شهادة الماجستير في الأدوية والسموم البيطرية.

مقرر مجلس الكلية
أ.د رعد عبدالغني بشير السنجري
التاريخ: / /

عميد الكلية
أ.د. ظافر محمد عزيز
التاريخ: / /

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على خير خلق الله سيدنا محمد (ﷺ) وعلى آله وصحبه أجمعين.

لا يسعني في البدء إلا ان أحمد الله عز وجل على توفيقه لي في إتمام مشروع البحث ومنحه لي القوة والصبر على تجاوز الصعوبات التي واجهتني.

كما أقدم شكري وامتناني لأستاذي الفاضل المشرف على موضوع البحث الأستاذ الدكتور **محمد خالد شندالة** لاقتراحه موضوع البحث ودعمه غير المحدود في تزويدي بالمصادر الحديثة، ولما أبداه من تعاون كبير وتوجيهات علمية وعملية ومتابعته الجادة التي كان لها أثر بالغ في إتمام هذه الدراسة.

وأتقدم بجزيل الشكر والثناء إلى **عمادة كلية الطب البيطري** للتسهيلات التي أبداها طوال مدة الدراسة.

كما أقدم شكري وعرفاني **لرئيس فرع الفسلجة والأدوية** ومنتسبيه، ولن انسى شكري ودعواتي **لوالدتي ووالدي وإخوتي وزوجي** لما قدموه لي من دعم وتشجيع طوال مدة الدراسة.

وأستميح عذرا من غابت أسمائهم في هذا المقام، فذكرهم باقٍ، وأجرهم موقوف على الله.

ومن الله التوفيق

مها

الخلاصة

كان الهدف من دراسة التأثيرات التطورية السمية في صغار الجرذان الرضع المعرضة للفلورفينيكول عن طريق الحليب بالاعتماد على التغيرات في كل من معدل وزن الجسم ومعدل مقياس النمو وظهور علامات النضوج واختبار منعكس تصحيح وضع الجسم والتحدي الدوائي لها مع دراسة التغيرات في صورة الدم فضلاً عن الكشف عن التغيرات النسجية المرضية في الكبد والكلى والطحال والقلب والبنكرياس .

أظهرت صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50،0،100،200،400،600،800،1000 ملغم/كغم،بالعضل أثناء الخمسة أيام الأولى بعد الولادة واعتمادا على الجرعة ارتفاع معنوي في النسبة المئوية للبقاء من (100%) للصغار من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100 ملغم/كغم ،بالعضل إلى صفر% بالنسبة للصغار من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 200،400،600،800،1000 ملغم/كغم ، بالعضل .

وأظهرت صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 و100 ملغم/كغم ، بالعضل، أثناء الخمسة أيام الأولى بعد الولادة واعتمادا على الجرعة انخفاضا معنويا في كل من معدل وزن الجسم ، ومقياس النمو، فضلا عن ذلك فقد أظهرت زيادة معنوية في الوقت اللازم لأنهاء اختبار منعكس تصحيح وضع الجسم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. وفيما يخص مدة ظهور علامات النضوج فقد أظهرت الصغار من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100ملغم/كغم،بالعضل انخفاضا معنويا في كل من فتح العيون، ظهور القواطع، ظهور الشعر مصحوبة بارتفاع معنوي في مدة فتح الأذن مقارنة بالصغار من أمهات مجموعة السيطرة.

أحدث التحدي الدوائي بالكيتامين (50 ملغم/كغم،بالخلب) مع الزيلازين (5 ملغم/كغم،بالخلب) انخفاضا معنويا في مدة بدء النوم بالمقارنة بمجموعة السيطرة المعاملة بالكيتامين والزيلازين, وكما أظهرت المسحة الدموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق أمهات معاملة بجرعة (100 ملغم/كغم) نتج عنه سمية دموية شديدة سببها عبور تراكيز عالية من الفلورفينيكول في الحليب إلى الصغار الرضع مما تمثلت بظهور خلايا الانولسايت (شحوب مركزي واسع) بوصفه مؤشراً على نقص الصبغات في حالة مشابهة لمرض الثلاسيميا ومصحوبة بظهور خلايا الستوماتوسايت وخلايا الهدف، في حين أظهرت

المسحة الدموية من الصغار المعرضين للفلورفينكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بجرعة 50 ملغم/كغم،بالعضل في اليوم الثالث بعد الولادة خلايا ذات نتؤات تشبه الأصابع والتي تعد مؤشراً على اعتلال الهيموغلوبين.

أدى تعرض الصغار الرضع لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 و100ملغم/كغم،بالعضل الى حدوث تغيرات نسجية اعتمدت في شدتها على الجرعة حيث تمثلت في حدوث تنخر شديد في كل من الخلايا الكبدية والخلايا القلبية وخلايا العنبات البنكرياسية والخلايا اللمفية في اللب الابيض في الطحال رافقها حدوث ضمور الفصيصات البنكرياسية والطحال في اللب الأبيض والكلى مع ضمور النبيبات الكلوية.

نستنتج من دراستنا الحالية ان تعرض صغار الجرذان لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة أدى الى حدوث تأثيرات سمية تطورية صاحبها حدوث تأثيرات سمية دموية و مناعية فضلاً عن التغيرات النسجية – المرضية، لذلك نوصي مربي الحيوانات الابقار والاغنام والماعز والدواجن الالتزام بمدة انسحاب الدواء من الجسم Withdrawal period قبل تسويق هذه الحيوانات وبيعها وذلك بغية التقليل من مخاطر تعرض المستهلكين للمنتجات الحيوانية اللحوم والبيض والحليب، لبقايا المضاد البكتيري البيطري الفلورفينيكول وماتحمله هذه البقايا من تأثيرات سمية.

ثبت المحتويات

الموضوع	الصفحة
الخلاصة	أ
ثبت المحتويات	ج
ثبت الاشكال	ز
ثبت الجداول	ل
ثبت المصطلحات	م–ن
الفصل الاول : المقدمة	**2–1**
الفصل الثاني استعراض المراجع	**16–3**
2–1: الفلورفينيكول Florfenicol	**3**
2-1-أ: الخصائص الكيميائية والفيزيائية للفلورفينيكول	3
2-1-ب: فعالية الفلورفينيكول المضاد للبكتريا	4
2-1-ت: آلية عمل الفلورفينيكول	5
2-1-ث: الحركة الدوائية للفلورفينيكول	5
2-1-ج: الأستعمالات السريرية للفلورفينيكول	6
2-1-ح: دور الفلورفينيكول في أحداث الأجهاد التأكسدي وموت الخلايا المبرمج	6
2-1-خ: علاقة أذى الميتوكوندريا بألتأثيرات السمية الخلوية للفلورفينيكول	7
2-1-د:ا لتأثيرات السمية الدموية والسمية المناعية للفلورفينيكول	9
2-1-ذ: التأثيرات التطورية السمية للفلورفينيكول بأستخدام نموذج الأحياء المائية	10
2-1-ر: تعرض المستهلكين لبقايا الفلورفينيكول	11
2-1-ز: استخدام الحيوانات المختبرية (الجرذان) نموذجا لدراسة تأثير انتقال المركبات الدوائية عبر الحليب في الصغار الرضع.	11
2-1-س: اليات انتقال المركبات الدوائية عبر الحليب	12

الموضوع	الصفحة
2-1-ش: التداخلات الدوائية وتاثيراتها على انتقال المركبات الدوائية الى الحليب	13
2-1- ص: التاثيرات السمية لأنتقال المركبات الدوائية عن طريق الحليب في الصغار الرضع	14
2-1-ض: مواصفات الحركية الدوائية في الصغار حديثي الولادة	15
الفصل الثالث: مواد وطرائق العمل	**23-17**
3-1: الحيوانات المستعملة	17
3-2: الأدوية والمواد الكيميائية المستخدمة	17
3-3: الأجهزة المستخدمة	18
3-4: تحضير جرع الفلورفينيكول	18
3-5: تحديد عدد المواليد الرضع لكل أم من أمهات الجرذان المعاملة بالدواء	18
3-6:التجارب	18
3-6:التجربة الأولى تحديد النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100،200،400،600،800،1000 ملغم/كغم,بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	18
3-7: التجربة الثانية دراسة التأثيرات التطورية السمية في صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة صفر،50،100ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة .	20
3-7-أ: دراسة التغييرات في معدل أوزن جسم المواليد الرضع وبصورة دورية في الأيام (صفر،3،7،14،21) لمعرفة التغيرات في معدل أوزان جسم المواليد نتيجة التعرض لبقايا الدواء عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرع 0،50،100ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	20
3-7-ب: دراسة التغييرات في معدل مقياس النمو لجسم المواليد الرضع (مؤشر النمو) وذلك عن طريق قياس طول الجسم من قمة الرأس الى قمة الذيل بصورة دورية في	20

الموضوع	الصفحة
الأيام(صفر،21،14،7،3) لمعرفة التغيرات في معدل نمو جسم المواليد الرضع نتيجة التعرض لبقايا الدواء عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة0،50 ،100ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	
3-7-جـ: دراسة التغيرات في مدة ظهور علامات النضوج بالأيام مثل فتح الأذن والعيون وظهور الشعر والقواطع في المواليد الرضع لمعرفة التغيرات في مدة ظهور علامات النضوج في مواليد الرضع نتيجة التعرض للدواء عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50 ،100 ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	20
3-7-د: دراسة التغيرات في اختبار منعكس تصحيح وضع الجسم في المواليد الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50 ،100 ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	20
3-7-هـ: دراسة حدوث السمية الدموية في الصغار الرضع وفي الأيام 21،14،7،3 بعد الولادة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0 ،50 ،100ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	21
3-7-و: دراسة التحدي الدوائي بالزيلازين والكيتامين لصغار الجرذان التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة أمهات معاملة 0 ،50، 100ملغم/كغم ،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	21
3-7-ي: دراسة التغيرات النسجية المرضية في أعضاء: الكبد،القلب،الكلى،الطحال،البنكرياس في صغار الجرذان التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100 ملغم/كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة	22
3-8: التحليل الإحصائي	22
الفصل الرابع : النتائج	**47-24**
4-1:التجربة الأولى:	24

الموضوع	الصفحة
تحديد النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0 ،50،100،200،400،600،800،1000ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	
4-2:التجربة الثانية: دراسة التأثيرات التطورية السمية في صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة .	27
4-2-أ: دراسة التغييرات في معدل أوزن جسم المواليد الرضع وبصورة دورية في الأيام صفر،3،7،14،21 لمعرفة التغيرات في معدل أوزان جسم المواليد نتيجة التعرض لبقايا الدواء عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرع 0،50،100ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	28
4-2-ب: دراسة التغييرات في معدل مقياس النمو لجسم المواليد الرضع (مؤشر النمو) وذلك عن طريق قياس طول الجسم من قمة الرأس الى قمة الذيل بصورة دورية في الأيام صفر،3،7،14،21 لمعرفة التغيرات في معدل نمو جسم المواليد الرضع نتيجة التعرض لبقايا الدواء عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50 ،100ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	28
4-2-جـ: دراسة التغيرات في مدة ظهور علامات النضوج بالأيام مثل فتح الأذن والعيون وظهور الشعر والقواطع في المواليد الرضع لمعرفة التغيرات في مدة ظهور علامات النضوج في مواليد الرضع نتيجة التعرض للدواء عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50 ،100 ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	30
4-2-د: دراسة التغيرات في اختبار منعكس تصحيح وضع الجسم في المواليد الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50 ،100 ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	32
4-2-هـ: دراسة حدوث السمية الدموية في الصغار الرضع وفي الأيام (3،7،14،21)	32

الموضوع	الصفحة
بعد الولادة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50 ،100ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	
4-2-و: دراسة التحدي الدوائي بالزيلازين والكيتامين لصغار الجرذان التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة أمهات معاملة (0 ،50، 100ملغم/كغم ،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	36
4-2-ي: دراسة التغيرات النسجية المرضية في أعضاء: الكبد،القلب،الكلى،الطحال،البنكرياس في صغار الجرذان التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100 ملغم/كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	37
الفصل الخامس: المناقشة	**55-48**
الفصل السادس: الاستنتاجات والتوصيات	**57-56**
6-1:الاستنتاجات	56
6-2:التوصيات	57
المصادر	**72-58**
المصادر العربية	58
المصادر باللغة الإنكليزية	58
Abstract	A-B

ثبت الأشكال

الشكل	العنوان	الصفحة
1-2	التركيب الكيميائي للكلورامفينيكول والفلورفينيكول	4
2-2	السمية الخلوية التي يسببها الفلورفينيكول في الخلايا L (في الزجاج) في المايتوكوندريا	8
1-4	النسب المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام (21 يوماً)	24

	من أمهات معاملة بالفلور فينيبكول بجرعة 0، 50، 100، 200، 400، 600، 800، 1000ملغم /كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	
2-4	توضح التاثيرات السمية الدموية في صغار الجرذان الرضع الهالكة (بعمر 3 يوم) من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 1000ملغم /كغم /بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة بالمقارنة مع الصغار الرضع التابعة للمجموعة السيطرة .	26
3-4	توضح مجموعة السيطرة بعمر ثلاثة أيام.	26
4-4	توضح التاثيرات السمية الدموية في صغار الجرذان الرضع الهالكة (بعمر عشرة أيام) من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 600 ملغم /كغم /بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة الاعلى بالمقارنة مع الصغار الرضع التابعة للمجموعة السيطرة .	26
5-4	توضح مجموعة السيطرة بعمر عشرة أيام.	26
6-4	توضح التأثيرات التطورية السمية المتمثلة في معدل كل من أوزان ومقياس نمو جسم الصغار الرضع بعمر 14 يوم من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم/كغم.	28
7-4	توضح تأثير تعرض الصغار الرضع للفلورفينيكول عن طريق الحليب على حدوث الانخفاض المعنوي في معدل مقياس نمو جسم الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 100 ملغم/كغم اليمين بالمقارنة بالصغار الرضع من أمهات مجموعة السيطرة اليسار.	30
8-4	توضح الأختلاف المعنوي بالأيام في ظهور علامات النضوج للشعر في الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم/كغم بالمقارنة بمجموعة السيطرة.	31
9-4	مسحة دموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة 50 ملغم/كغم أثناء	

	الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة التي تظهر التأثيرات السمية الدموية المتمثلة بالاختلافات في احجام واشكال خلايا الدم الحمر مثل خلايا تشبه الأصابع وخلايا الدم الحمر متعددة الألوان وخلايا الدم الحمر المجزءه.	33
10-4	مسحه دموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة 100 ملغم/كغم أثناء الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة التي تظهر التأثيرات السمية الدموية المتمثلة بالأختلافات في أحجام واشكال خلايا الدم الحمر مثل خلايا الانولسايت وخلايا الانولسايت نقص الصبغين وخلايا الهدف.	34
11-4	مسحة دموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة 50 ملغم/كغم أثناء الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة التي تظهر استمرار السمية الدموية لغاية عمر 21 يوماً بعد الولادة المتمثلة في تجزيىء وتحطيم خلايا الدم الحمر مصحوبة بخلايا الانولسايت (شحوب مركزي واسع) وخلايا الستوماتوسايت وخلايا الهدف.	35
12-4	مسحة دموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة 100 ملغم/كغم أثناء الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة التي تظهر استمرار السمية الدموية لغاية عمر (21 يوماً) بعد الولادة المتمثلة في تجزيىء وتحطيم خلايا الدم الحمر مصحوبة بخلايا الانولسايت (شحوب مركزي واسع).	36
13-4	مقطع نسجي لكبد أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يظهر وجودالتنخر الشديد للخلايا الكبدية والتنكس الفجوي لبعضها الأخر واحتقان الوريد المركزي والوريد البابي .	38
14-4	مقطع نسجي لكبد أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يظهر وجود التنكس الفجوي المنتشر للخلايا الكبدية وتنخر البعض منها واحتقان الوريد المركزي والوريد البابي.	38
15-4	مقطع نسجي لكبد أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات مجموعة السيطرة والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يظهر المعالم النسيجية الطبيعية لنسيج الكبد متمثلاً بالوريد المركزي والمنطقة	39

	البوابية والخلايا الكبدية .	
16-4	مقطع نسجي لقلب أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح وجود التنخر والتنكس الزجاجي للخلايا العضلية القلبية والوذمه بينهما واحتقان الأوعية الدموية والنزف.	40
17-4	مقطع نسجي لقلب أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (50 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح وجود الوذمه بين الالياف والخلايا العضلية القلبية واحتقان الأوعية الدموية.	40
18-4	مقطع نسجي لقلب أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات مجموعة السيطرة والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يظهر المعالم النسيجية السوية لنسيج القلب متمثلة بالألياف والخلايا العضلية القلبية والأوعية الدموية.	41
19-4	مقطع نسجي لبنكرياس أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح وجود ضمور الفصيصات البنكرياسية وصغر حجمها وتنكس وتنخر خلايا العنبات البنكرياسية وخلايا جزر لانكرهانز.	42
20-4	مقطع نسجي لبنكرياس أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح وجود ضمور النسيج البنكرياسي وضغر حجمه مع تنكس وتنخر خلايا العنبات البنكرياسية وخلايا جزر لانكرهانز والقنوات الفصية.	42
21-4	مقطع نسجي لبنكرياس أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات مجموعة السيطرة والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يظهر المعالم النسيجية السوية لنسيج البنكرياس متمثلة بالعنبات البنكرياسية وجزر لانكرهانز والقنوات الفصية.	43
22-4	مقطع نسجي لطحال أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يظهر ضمور الطحال وصغر حجمه من خلال	44

	فقدان وتنخر الخلايا اللمفية في اللب الأبيض وخلايا اللب الأحمر وزيادة النسيج الليفي وزيادة اعداد وضخامة البلعميات.	
23-4	مقطع نسجي لطحال أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح عدم انتظام المعالم النسجية للطحال عن طريق ضمور اللب الأبيض وتنخر وفقدان الخلايا فيه وزياد اعداد وضخامة البلعميات.	44
24-4	مقطع نسجي لطحال أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات مجموعة السيطرة والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح المعالم النسيجية الطبيعية متمثلة باللب الأبيض المتكون من الخلايا اللمفية والشريان المركزي والمحاط باللب الأحمر.	45
25-4	مقطع نسجي لكلية أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يظهر وجود ضمور الكبيبات الكلوية وتوسع محفظة بومان والتكيس الكلوي والنزف وتنخر الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية مع عدم أنتظامها.	46
26-4	مقطع نسجي لكلية أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يظهر وجود ضمور الكبيبات الكلوية وتوسع محفظة بومان والتكيس الكلوي وارتشاح الخلايا الألتهابية واحتقان الأوعية الدموية.	46
27-4	مقطع نسجي لكلية أحد صغار الجرذان الرضع من أمهات مجموعة السيطرة والتي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح المعالم النسيجية الطبيعية متمثلة بالكبيبات الكلوية المحاطة بأنتظام بالنبيبات الكلوية الدانية والنبيبات الكلوية القاصية.	47

ثبت الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
1-4	نسبة البقاء للصغار الرضع الى عمر الفطام من امهات معاملة بالفلورفنكول بجرعة 1000,800,600,400,200,100,50,0 ملغم /كغم	25
2-4	التغيير في معدل أوزان جسم الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50 ، 100 ملغم/كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	27
3-4	التغير في معدل مقياس نمو جسم صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100ملغم/كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	29
4-4	مدة ظهور علامات النضوج ونموها بالأيام في صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100ملغم/كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	31
5-4	اختبار منعكس تصحيح وضع الجسم لصغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100 ملغم/ كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	32
6-4	مدة بدء النوم وزمن التخدير المحدث بالزيلازين والكيتامين في صغار الجرذان التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50، 100 ملغم/ كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.	37

ثبت المصطلحات

المصطلح بالانكليزية	المصطلح بالعربية
Aquaculture	الأحياء المائية
AMP/ATP(Adenin tri phosphat)	ادنين احادي الفوسفسيت/ ادنين ثلاثي الفوسفيت
AMPK activation(Adenin monophosphat)	ادنين احادي الفوسفيت كانيز المفعل
ROS (Reactive Oxygen species)	اصناف الأكسجين التفاعلية
BRD (Bovin respiratory diseases)	أمراض الجهاز التنفسي البقري
P21(protein)	بروتين يوقف دورة الخلية
Subcutaneous	تحت الجلد
Liver toxicity	تسمم الكبد
Kidney toxicity	تسمم الكلى
Dermatitis	التهاب الجلد
Bovine mastitis	التهاب الضرع البقري
G0/G1 arrest	توقف مراحل انقسام الخلية
Thamfenicol	الثايمفينكول
prokaryote	جراثيم بدائية النواة
P53(protein)	جين مثبط الورم 53
Blood brain barrier	الحاجز الدموي الدماغي
Target cell	خلايا الهدف
Stomatocyt	خلايا تشبه الفم
Eukaryotes	خلايا حقيقة النواة
Furunculosis	داء الدمامل في السلمون
Intramammary	داخل الضرع
Lactation	الرضاعة

Cerebrospinal fluid	السائل المخي ألشوكي
Hemotoxicity	السمية الدموية
Neurotoxic	السمية العصبية
Immunotoxicity	السمية المناعية
Anulocyte	شحوب مركزي واسع
Premature neonates	الصغار حديثي الولادة
Florfenicol	الفلورفينيكول
Intramuscular	في العضل
Intravenous	في الوريد
Hypochromia	قلة صبغة الدم
Chloramphenicol	الكلورامفينيكول
Gray baby syndrome	متلازمة الطفل الرمادي
Bactriostatic	مثبط للجراثيم
Apoptosis	موت الخلايا المبرمج

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1-1: الفلورفينيكولFlorfenicol:

هو أحد مضادات البكتريا الواسعة الطيف Broad spectrum المستخدمة بشكل واسع في مجال الطب البيطري لعلاج الحيوانات المنتجة للغذاء ومنها اللحوم والحليب مثل الأبقار، الأغنام والدواجن ،(Papich *et al*., 2016).

لقد حل الفلورفينيكول بديلا عن الكلورامفينيكول Chloramphenicol المحرم استخدامه في الحيوانات المنتجة للغذاء بسبب إحداثه تأثيرات سمية دموية Hematotoxicity وذلك عن طريق استبدال مجموعة النيترو (-NO2) المسؤولة عن التأثيرات السمية الدموية hematotoxicity للكلورامفينيكول بمجموعة السلفوميثيل Methylsulfone (Stefan et al.,2004). ولكن مع هذا الاستبدال فقد أشارت بعض الابحاث العلمية (Hu *et al*., 2014;Hu *et al*., 2016;Hu *et al*., 2017). إلى امتلاك الفلورفينيكول تأثيرات سمية دموية ومناعية فكان من الضروري معرفة السبب الرئيسي المسؤول عن حدوث سمية الفلورفينيكول المضاد للجراثيم ، التي ترتبط بميل الفلورفينيكول إلى الإرتباط وتثبيط كل من الريبوسوم البكتيري،(آلية عملها المضاد للجراثيم) وريبوسومات المايتوكوندريا في الثديات (Hu *et al*., 2017)، هذا يرجع إلى التشابه في التركيب والخصائص الكيميائية للريبوسوم في الجراثيم (بدائية النواة) prokaryote والميتوكوندريا (حقيقية النواة) eukaryotes (O'Brien *et al*.,2003)، ومن هنا تأتي مخاطر التعرض لبقايا المضاد البكتيري للفلورفينيكول لأنه لايمتلك سمية انتقائية ضد البكتريا وحسب بل ان آثاره السامة تمتد إلى المايتوكوندريا في خلايا الجسم للثديات وقد يكون سبب هذه التأثيرات السمية المناعية immuntoxicity للفلورفينيكول مرتبط بميله الى الأرتباط وتثبيط كل من الرايبوسوم البكتيري ورايبوسوم المايتوكوندريا في الثدييات .

ومن هنا تكمن خطورة الفلورفينيكول بسبب استخدامه في الحيوانات المنتجة للغذاء مماقد يعرض المستهلكين لبقايا هذا الدواء في اللحوم والحليب والبيض، لذلك كان الهدف من دراستنا هو البحث عن نموذج حيواني animal model لكشف التأثيرات السمية للفلورفينيكول ومن الجدير بالذكر أن الفلورفينيكول يفرز عن طريق الحليب، (Soback *et al*.,1995;Ruiz

et al., 2010; Power *et al*., 2014;Sadeghi *et al*., 2018) ، وبسبب طبيعته المحبة للدهون (Stefan *et al*.,2004)، إذ يستمر افراز الفلورفينيكول في الحليب لمدة طويلة (Power et al.,2014) إلا ان بقايا الفلورفينيكول تبقى لمدة 27 يوماً في حليب الأبقار المعالجة بالفلورفينيكول بجرعة (20 ملغم/كغم بالعضل) لمرتين بينهما 48 ساعة، لذلك ارتئينا استخدام صغار الجرذان الرضع كنموذج لكشف التأثيرات السمية للفلورفينيكول وسبب أختيار هذا النموذج لامتلاكه المواصفات التالية من ضمنها أن نموذج الصغار الرضع يمتلك عملية أيض وطرح دوائية تختلف عن البالغين (Shindala &Al-Jobory,2009;Shemiis &Shindala ,2010). كما أن الأيض في الكبد غير مكتمل النمو والتطور وان حجم توزيع الدواء كبير جداً وذلك لأن جسم الصغار يحتوي على مستويات عالية من الماء مصحوبة بنسبة منخفضة من ارتباط بروتين البلازما لان نسبة بروتينات البلازما في هذه الصغار تكون منخفضة ممايؤي إلى زيادة تركيز الدواء الغير مرتبط Drug protein not binding ،(Kaartinen *et al*., 1997).

وبسبب مواصفات هذا النموذج المذكور اعلاه لذلك فعند تعرض الصغار الرضع لبقايا المركبات الدوائية يؤدي إلى تراكمها في أنسجتها المختلفة وظهور التأثيرات السمية وبسبب محدودية الدراسات البحثية حول تأثير تعرض الصغار الرضع لبقايا المركبات الدوائية عن طريق الرضاعة ارتئينا أختيار هذا الموضوع.

ولتحقيق هذا الهدف شملت الدراسة محاور مختلفة توزعت كما يلي:

1- دراسة النسبة المئوية للبقاءإلى عمر الفطام.
2- دراسة التغيرات في معدل أوزان الجسم و معدل نمو الجسم و مدة ظهور علامات النضوج مثل فتح الأذان، العيون، ظهور الشعر، والقواطع، و دراسة التغيرات في صورة الدم المحيطي و التحدي الدوائي بالزيلازين والكيتامين.
3- دراسة التغيرات النسجية المرضية في اعضاء(الكبد،الكلى،القلب،الطحال،البنكرياس).

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Review of Literature

1-2 الفلورفينيكول Florfenicol

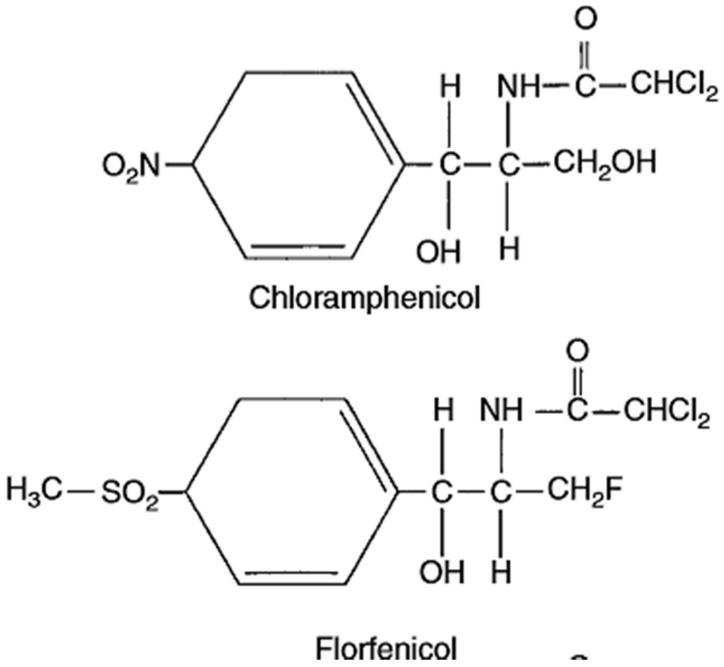
يعد الفلورفينيكول من مضادات البكتريا المثبطة للنمو Bacteriostatic الواسعة الطيف Broad-spectrum والذي يستخدم بشكل واسع في مجال الطب البيطري لعلاج إصابات الجهاز التنفسي في الحيوانات المنتجة للغذاء (الابقار والاغنام والدواجن) (Papich, 2016). وحل الفلورفينيكول بديلا عن الكلورمفينيكول Chloramphenicol بعد ان تم منع استخدام الأخير في الحيوانات المنتجة للغذاء (Settepani,1984) بسب احداثه للسمية الدموية والتي تتفاوت من فقر دم خفيف الى فقر دم اللاتنسجي Aplastic anemia وقد تصل الى احداثه اللوكيما (Leukemia)، (Balbi *et al*., 2004 ; Xiao *et al*., 2015).

1-2-أ: الخصائص الكيميائية والفيزيائية للفلورفينيكول

يعد الفلورفينيكول من مشتقات الثايمفينيكول المفلورة الصناعية Fluorinated synthetic analog of thiamphenicol والتي تنتمي الى مجموعة امفينيكول Amphenicol والتي تضم أيضا الكلورمفينيكول ويمتلك الصيغة الكيميائية C12H14Cl2FNO4S والوزن الجزئي له 358.21 دالتون، والفلورفينيكول عبارة عن مسحوق بلوري ابيض White crystalline powder قابل لذوبان في الدهون Lipid-Soluble وغير ذائب بالماء (Sweetman ,2005; Florfenicol Product Data Sheet,2020)

أن التركيب الكيميائي للفلورفينييكول يكون مشابها للكلورمفينيكول ولكنه يختلف عن الأخير باستبدال مجموعة النيترو (–NO2) Nitro group في الكلورمفينكول المسؤولة عن حدوث السمية الدموية (hematotoxicity) بمجموعة (–SO2 CH3) Sulfomethyl group (Turton *et al*.,2002)

وبسبب طبيعة الفلورفينيكول الذائبة في الدهون زاد ذلك من قابليته على الانتشار في الانسجة وعبوره الى الحليب (Stefan *et al* ., 2004) .وبسب استبدال مجموعة الهيدروكسيل (hydroxyl group) بمجموعة الفلورين (fluorine molecule) وبذلك اصبح الفلورفينيكول اقل حساسية لمقاومة البكتيريا (Patricia,2013).



الشكل رقم (2-1) التركيب الكيميائي للكلورامفينيكول والفلورفينيكول

2,2-Dichloro-N-[(αS,βR)-α-(fluoromethyl)-β-hydroxy-4- methanesulfo-nylphenethyl] acetamide. (Sweetman, 2005)

2-1- ب: فعالية الفلورفينيكول المضادة للبكتريا :

يعد الفلورفينيكول مضاداً حيوياً فعالاً ضد مسببات الأمراض، مثل Salmonella ، Proteus spp، Citrobacter spp ، Shigella spp، *Eschericha coli* ،*Pasteurella hemolytica* ،*Pasteurella multocida* ، Providencia spp، *Staphylococcus aureus* ، Enterococcus spp، وضد أمراض الجهاز التنفسي البقري (Bovin respiratory diseases) (Varma *et al.,* 1986)، وضد أمراض الجهاز التنفسي

التي تسببها Mycoplasma، والمستدمية الطفيلية Haemophilus، وكذلك الاضطرابات الهضمية التي تسببها الإشريكية القولونية والسالمونيلا (Ueda *et al.,* 1995; Priebe & Schwarz,2003; Shin *et al.,* 2005).

2-1- ت: آلية عمل الفلورفينيكول

ان اليه عمل الفلورفينيكول كمثبط لنمو البكتريا تحدث عن طريق ارتباطه برايبوسوم البكتريا من نوع 50S ribosomal subunit مما يؤدي الى تثبيط انزيم transpeptidyl-transferase المسؤول عن انتاج البروتين البكتيري مؤديا الى حدوث تثبيط لنمو البكتريا الموجبة والسالبة الكرام Gram-negative and positive bacteria لأنه مضاد واسع الطيف . (Cannon *et al*., 1990)

2-1- ث: الحركة الدوائية للفلورفينكول

لتقدير تركيز الفلورفينيكول في حليب الابقار بالإضافة الى حساب مدة انسحاب الدواء من الحليب (post-treatment milk withdrawal) قام الباحث (Ruiz *et al*., 2010) وجماعته بتقسيم 12 بقرة حلوب على مجموعتين الأولى سيطرة والثانية تم معاملتها بالفلورفينيكول بجرعة (20 ملغم/كغم ، في العضل) وتوصل الى ان اعلى تركيز (C max) وصله الدواء في الحليب كان 2.86 ملغم/ لتر وكان الوقت الاعلى هو بعد 6 ساعات (T max) من الاعطاء وعمر نصف الطرح Elimination half-life (t1/2) كان 19.8ساعة ومدة انسحاب الدواء من الحليب كان 7 أيام .

ينتشر الفلورفينيكول بصورة جيدة الى معظم الانسجة ومنها الرئة والعضلات والصفراء والكلية والبول وعند إعطائه عن طريق الوريد يصل تركيزه في السائل المخي-الشوكي Cerebrospinal fluid الى 46% بالنسبة لتركيزه في البلازما . .(De Craene *et al*., 1997)

وعند إعطائه لعجول الابقار في العضل فان تركيزه في المصل يبقى اعلى من 1 مايكروغرام/مل ولمدة 22 ساعة (Lobell *et al*., 1994) .

يعتبر الفلورفينيكول امين Florfenicol amine من ابطأ النواتج الايضية للفلورفينيكول استنفاذا من الكبد لذلك يستخدم كمؤشر عند حساب مدة انسحاب بقايا الدواء من جسم الحيوان (Patricia, 2013).

2-1- ج: الاستعمالات السريرية للفلورفينكول

1. يستعمل محفزاً للنمو في تربية الأحياء المائية وفي علاج الأمراض البكتيرية، مثل المكورات العقدية fish-streptococus، ومرض الماء البارد البكتيري Bactiral cold water diseas، وتسمم الدم المعوي Enteric septesemia . (Zhang *et al.,* 2015)
2. يستعمل الفلورفينيكول لعلاج أمراض الجهاز التنفسي البقري الناتجة عن البكتيريا شديدة الحساسية مثل Mannheimia، *Pasteurella*، *Histophilus*. (Hoar *et al.,* 1998)
3. يعالج التهاب الجلد الناجم عن *Fusobacterium necrophorum* و*Bacteroides melaninogenicus* والتهاب القرنية والملتحمة البقري المعدي الذي يسببه *Morexella bovis* (Wilson *et al.,* 1996).
4. يستعمل في دجاج اللحم لعلاج والسيطرة على التهاب الحويصلات الهوائية بسبب جرثومة E.coli (Mckellar & Varma,1996) .
5. يستعمل في علاج الأمراض البكتيرية الحساسة في الأسماك وتشمل داء الدمامل furunculosis في السلمون وvibriosis في السلمون وسمك القد وتسمم الدم المعوي في أسماك السلور، والفم الأحمر المعوي في التراوت (Gaikowski, *et al.,* 2003).
6. يستعمل لعلاج مجموعة واسعة من الأمراض المعدية، مثل التهاب الجهاز التنفسي في الأبقار (Aslan *et al.,* 2002;Shin *et al.,* 2005; Priebe, & Schwarz,2003).

2-1-ح: دور الفلورفينيكول في احداث الأجهاد التاكسدي وموت الخلايا المبرمج :

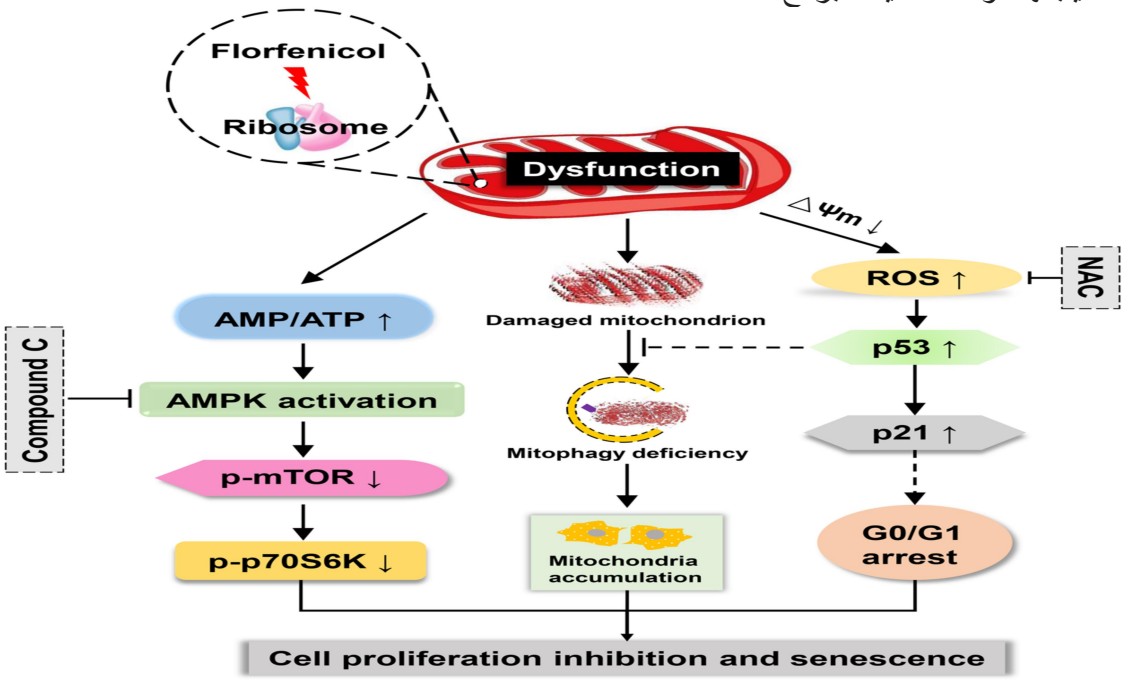
توصل الباحث (Han *et al*., 2021) وجماعته من خلال دراستهم حول قدرة الفلورفينيكول على احداث الاجهاد التاكسدي (oxidative stress) وموت الخلايا المبرمج (apoptosis) في نسيج كبد دجاج اللحم المعامل بالفلورفينيكول بالجرع (0.15 و0.3 و0.6

و1.2 و1.8 غرام/لتر) عن طريق ماء الشرب ولمدة خمسة أيام متتالية الى حدوث زيادة معنوية في تركيز المالونالديهاد (malondialdehyde (MDA) في الخلايا الكبدية الذي يعتبر كمؤشر على حدوث الاجهاد رافقها انخفاض معنوي في كل من glutathione (GSH) Superoxide dismutase (SOD) و(CAT) catalase وسبب هذا الانخفاض في مضادات الاكسدة يعود الى التاثير المثبط للفلورفينيكول على نسخ الرنا المرسال mRNA transcription والتعبير البروتيني لمضادات الأكسدة protein expression of antioxidant proteins مثل nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), heme oxygenase-1 (HO-1) and NAD(P)H dehydrogenase quinone-1 (NQO-1) كما سجل تعزيز الفلورفينيكول لمعدل موت الخلايا المبرمج (apoptosis) في الخلايا الكبدية مع تنشيط في نسخ الرنا المرسال والتعبير البروتيني لكل من caspase-3 and caspase-6

2-1- خ: علاقة اذى الميتوكوندريا بالتأثيرات السمية الخلوية للفلورفينيكول

يستخدم الفلورفينيكول على نطاق واسع ليس فقط للأغراض العلاجية والوقائية (therapeutic and prophylactic purposes) في الطب البيطري ولكن أيضًا كمحفز للنمو (promoting animal growth) في الحيوانات المنتجة للغذاء (الابقار والاغنام والدجاج) (Papich , 2016) لذلك هناك خطورة في تعرض المستهلكين لبقايا الفلورفينيكول في المنتجات الحيوانية (اللحوم والحليب والبيض) لذلك اصبحت بقايا المضادات الحيوية البيطرية في المنتجات الحيوانية مشكلة عالمية (global problem) واصبح من الواجب البحث عن الية حدوث السمية الخلوية للفلورفينيكول للحفاظ على سلامة المستهلكين من التاثيرات السمية لهذه البقايا ومن اجل ذلك قام الباحث (Hu *et al*.,2017) باجراء دراسة موسعة في الزجاج (in vitro) وعلى خلايا من نوع (L cell) لمعرفة التأثيرات السمية للفلورفينيكول على الميتوكوندريا ولماذا أصبحت الميتوكوندريا كعضو هدف للفلورفينيكول ويعزى سبب ذلك الى ان الميتوكوندريا في خلايا حقيقة النواة Eukaryotic تنشا من endosymbiosis from α-proteobacteria لذلك فان ريبوسومات الميتوكوندريا (mitoribosomes) تشترك في البنية والموصفات الكيمائية مع ريبوسومات البكتريا (O'Brien, 2003) مما يؤدي الى ان يفقد المضاد البكتيري الفلورفينيكول السمية الانتقائية Selective toxicity ضد ريبوسومات البكتريا فقط بل يتعدى ذلك الى الارتباط بريبوسومات الميتوكوندريا وقد اثبت هذه الدراسة ذلك حيث توصل الباحث (Hu *et al*.,2017) الى ان الفلورفينيكول يرتبط بالوحدة الفرعية الكبيرة لرايبوسوم الميتوكوندريا مما يؤدي الى حدوث انخفاض في البروتينات المشفرة large)

subunit of mitoribosome could significantly decrease mtDNA-encoded proteins) وزيادة كبيرة في انتاج أصناف الاوكسجين الفعالة Reactive oxygen species الضارة (Bell *et al.*,2007)، كنتيجة ذلك يحدث اجهاد الميتوكوندريا مؤثراً بذلك على وظائف الميتوكوندريا الفسلجية مثل التنفس الخلوي وإنتاج الطاقة والنمو والتطور الخلوي مما يتبعها موت الخلايا المبرمج.



الشكل رقم (2-2) يوضح الية السمية الخلوية (cytotoxicity) التي يحدثها الفلورفينيكول في خلايا نوع (L cells) في الزجاج (in- vitro) . (Hu et al.,2017).

ولتوضيح الية تأثير الفلورفينيكول المثبط لنمو وتطور الخلايا وحدوث السمية الخلوية المرتبط بعدم امتلاك الفلورفينيكول سمية انتقائية لريبوسومات البكتريا بل تعدى ذلك الى ارتباطه وتثبيطه لريبوسومات الميتوكوندريا (حقيقة النواة) لأنسجة الجسم لذلك تم الاستعانة بهذا المخطط لتوضح ذلك

1- بسبب عدم امتلاك الفلورفينيكول لسمية انتقائية ضد ريبوسومات البكتريا (بدائية النواة) بل يترابط أيضا بريبوسومات الميتوكوندريا (حقيقة النواة) للجسم مما يؤدي الى حدوث خلل في وظيفية الميتوكوندريا المسؤولة عن انتاج ATP مما يؤدي الى حدوث انخفاض انتاج ATP الخلوي

2- يؤدي الانخفاض في انتاج ATP الى حدوث تحفيز فسفرة (induced AMPK phosphorylation) والذي يلعب دور في تنظيم نمو وتطور الخلايا ولكن عند تحفيزه

بسب الانخفاض في مستويات ATP سوف يؤدي ذلك الى تثبيط مسار (mTOR/p70S6K pathway) وحدوث تثبيط في نمو وتتطور الخلايا .

3- وفي مسار ثاني لحدوث السمية الخلوية للفلورفينيكول تقوم الميتوكوندريا المحطمة بتوليد أصناف الاوكسجين الفعالة ذات التأثير الضار مؤدية الى حدوث ارتفاع في مستويات بروتينات (p53 and p21) مما يؤدي الى توقف دورة الخلية (cell cycle arrest) وتثبيط نمو وتطور الخلايا.

4- وفي مسار ثالث لحدوث السمية الخلوية للفلورفينيكول يؤدي الدواء الى حدوث إعاقة لعملية التخلص من الميتوكوندريا التالفة بواسطة (بلعمة الميتوكوندريا) mitophagy مؤديا إلى تراكم المايتوكوندريا التالفة وتثبيط نمو وتتطور الخلايا ويعزز شيخوخة الخلايا (promotes cell senescence) (Hu.,*et al.,* 2017).

2-1- د: التأثيرات السمية الدموية والمناعية للفلورفينيكول

وكما معروف ان المضاد البكتيري الكلورامفينيكول قد حظر استخدامه في الحيوانات المنتجة للغذاء الابقار والاغنام والدواجن بسب احداثه للتأثيرات السمية الدموية (Settepani,1984 ;Xia *et al*.,2015) لذلك فقد حل الفلورفينيكول بديلا عنه والذي ينتمي الى نفس مجموعته ضمن مجموعة الامفينيكول Amphenicols ولمعرفة هل يحدث الفلورفينيكول ايضا تأثيرات سمية دموية قام الباحث (Hu *et al*.,2016) وجماعته بأجراء دراسة للكشف عن حدوث التأثيرات السمية الدموية hemotoxicity والسمية المناعية immunotoxicity لثلاثة انواع من المضادات البكتيرية والتي تنتمي الى مجموعة الامفينيكول وهي الفلورفينيكول والكلورامفينكول والثيمفينكول في الفئران من نوع Kunming mice المحفزة مناعية بواسطة Ovalbumin-immunized ولأنها دراسة مقارنة لذلك تم تجريع المجاميع الثلاثة بنفس الجرع وهي 500و1000 و1500 ملغم/كغم، عن طريق الفم ولمدة سبعة أيام متتالية وتوصلو الى ان الفلورفينيكول قد احدث تأثيرات سمية دموية وسمية مناعية اكثر شدة مقارنة بالكلورمفينيكول والثيمفينكول اذ تمثلت في حدوث توقف لدورة الخلية وموت الخلايا المبرمج في الانسجة المكونة للدم مثل نخاع العظم صاحبها انخفاض في عدد خلايا الدم المحيطي فضلاً عن ذلك فقد سجلت الدراسة حدوث ضمور في الطحال سببه حدوث توقف لدورة الخلية وموت الخلايا المبرمج لخلايا الطحال مع انخفاض في تكاثر الخلايا اللمفية وحيوتها في اللب الأبيض للطحال ولان هذه الخلايا هي المسؤولة عن المناعة لذلك أدت هذه التأثيرات الى

حدوث انخفاض في المناعة الخلطية والخلوية humoral and cellular immunity في هذه الفئران .

كما أشار (Tuttle *et al*., 2006) وجماعته في تقرير حالة (case report) عن غزال من نوع الطمسون Gazella thomsonii وزنه 24 كغم تم علاجه بجرعة 400 ملغم/كغم ، تحت الجلد وهي تعادل 10 اضعاف الجرعة العلاجية 40 ملغم/كغم لمرتين مما أدى الى حدوث انخفاض شامل في خلايا الدم البيض panleukopenia وفقر دم وبعد هلاك الحيوان واجراء التقطيع النسجي-المرضي لنخاع العظم تبين ان نخاع العظم يعاني من نقص تنسج hypoplasia والطحال اصبح خاليا من اللب الأبيض white pulp الغنية بالخلايا اللمفية المسؤولة عن المناعة الخلطية والخلوية مصحوبة بالتهاب الكلية nephritis .

2-1- ذ: التأثيرات التطورية السمية للفلورفينكول باستخدام نموذج الاحياء المائية

لدراسة تاثير الفلورفينيكول على نمو والتطور والسلوك الحركي قام الباحث (Guo et al.,2020) وجماعته باستخدام نموذج يرقات الأسماك من نوع *P. olivaceus* في مرحلتين من النمو تضمنت مرحلة ما قبل اليرقات بعد يوم واحد من الاخصاب ومرحلة بعد اليرقات بعد 20 يوم من الاخصـــاب إذ تم تعريضها الى 5 تراكيز من الفلورفينيكول (10, 1, 0.01, 0.1,0 ملغم / لتر) ولفترات (0 و96 و168) ساعة وقد تم تصميم التجربة بهذا الشكل لمعرفة تأثير كل من الجرعة وفترة التعرض للدواء على نمو وتتطور السلوك الحركي للأسماك، لقد كان تأثير الفلورفينيكول على النمو والتطور اليرقات معتمدة على فترة التعرض فقد حفز النمو عند التعرض لفترة (96 ساعة) في حين ثبط نمو اليرقات عند زيادة فترة التعرض لدواء الى (168 ساعة) وفيما يخص تأثير الدواء على السلوك الحركي فقد كان معتمدا على الجرعة في كلا النوعين من اليرقات فمع زيادة الجرعة انخفض السلوك الحركي (الحركة اثناء السباحة) (Mobility of Swimming) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وقد عزى الباحث سبب هذا الانخفاض في النشاط الحركي ليرقات الأسماك الى تأثير الفلورفينيكول على الجهاز العصبي المركزي لهذه اليرقات .

2-1- ر: تعرض المستهلكين لبقايا الفلورفينيكول

تعد مشكلة بقايا المضادات الحيوية البيطرية في المنتجات الحيوانية (اللحوم والحليب والبيض) والتأثيرات السمية لهذه البقايا على صحة المستهلكين مشكلة عالمية والتي يعود احد أسبابها الاستخدام المفرط لهذه المضادات لغرض علاج الحيوانات المريضة او كمحفز للنمو بسبب الطلب الكبير على هذه المنتجات الحيوانية لسد حاجة الزيادة الكبيرة في عدد السكان (Nisha, 2008 ; Vragović *et al.*,2011) .

وبسبب خطورة بقايا الادوية قام الباحث (Wang *et al.*, 2016) وجماعته بأجراء دراسة مسحية حول بقايا أنواع من المضادات الحيوية البشرية والبيطرية في عينة بول لـ (586) من طلاب المدراس الابتدائية في مدينة شنغهاي الصينية والتي تتروح أعمارهم مابين (8-11) سنة وباستخدام جهاز تحليل السوائل الكروماتوغرافي عالي الدقة High performance liquid chromatography (HPLC) مثال على المضادات الحيوية البشرية (Azithromycin) –(Macrolides) و(β- Lactams)- Cefaclor – Tetracyclines (Ciprofloxacin) -Fluoroquinolones (Tetracyclines) – والمضادات الحياتية البيطرية مثال Sulfamethoxazole– (Sulfonamides) و(Phenicols) – Florfenicol وتوصلو الى أن 10% من عينات البول كانت محتوية على بقايا من المضاد البكتيري البيطري الفلورفينيكول وتعكس هذه النتيجة أهمية موضوع بقايا المضادات الحياتية البيطرية في المنتجات الحيوانية وتأثيراتها السمية على المستهلكين المعرضين لهذه البقايا .

2-1- ز: استخدام الحيوانات المختبرية(الجرذان) نموذجا لدراسة تأثير انتقال المركبات الدوائية عبر الحليب في الصغار الرضع

تعتبر أناث الجرذان المرضعات نموذج مثالي لدراسة تأثيرات انتقال المركبات الدوائية عبر الحليب الى الرضع(Kari *et al.*,1997;Alcorn *et al.*,2002) فقد تم عن طريق استخدام هذا النموذج من الحيوانات اكتشاف اليات حديثة لانتقال المركبات الدوائية تدعى آلية انتقال الدواء من خلال النسيج الطلائي للغدد اللبنية Lactating mammary epithelial drug transport(LMEDT) تم اكتشافها من قبل (Gerk et al.,2001;Gerk *et al.*,2002) وقد ساعد هذا الاكتشاف كثيرا في تفسير اليات انتقال كثير من المركبات الدوائية فضلا على أن الجرذان تمتلك خاصية كبر حجم صغارها مقارنة مع الفئران مما يسهل التعامل معها في التجارب فضلا عن سهولة تربيتها ورخص ثمنها (Hood *et al.*,2001).

2-1- س: آليات انتقال الأدوية عبر الحليب

ان آليات انتقال الدواء من الدم إلى الحليب تكون متماثلة لما يحدث لعبور المواد خلال الأغشية الحيوية، وتشمل عبور المواد ذات الوزن الجزئي الصغير خلال فتحات مائية صغيرة، وعبور المركبات الذائبة في الدهن أو انتشارها خلال الأغشية الدهنية أو الانتقال بواسطة ناقل Carrier mediated transport (Berglund,1981)، هناك عدد من العوامل التي تؤثر على طرح الدواء في الحليب مثل الجرعة ، وطريقة الإعطاء وتعد من العوامل المهمة في تحديد كمية الدواء التي يتم طرحها في الحليب، كما هو معروف تكون عادة نواتج ايض الدواء قطبية ومتأينة ويكون عبورها عبر الأغشية ضعيفاً ولذلك فأن الأس الهيدروجيني وpka للدواء يعدان مهمين جدا لانتقال الدواء إلى الحليب ، ويعد الحليب أكثر حامضية من البلازما (Wilson,1981a)، وبما أن الجزء غير الأيوني فقط من الدواء سوف يعبر وكذلكpka هي التي سوف تحدد كم يعبر من الدواء إلى الحليب ، وبناء على ماذكر سابقا على أن الحليب هو الأكثر حامضية مقارنة مع البلازما فأن نسبة الحليب : البلازما للأحماض الضعيفة مثل البنسلين penicillin تكون أقل من 1 أما القواعد الضعيفة مثل الارثرومايسين Eyrethromycin فتكون النسبة أكثر من 1 (Wilson,1981b) ، وقد يرتفع تركيز القواعد الضعيفة بشكل كبير في الحليب الذي يعد حامضيا وهذا مايسمى بمصيدة التأين (Ion trapping)، قد يعاد امتصاص الدواءإلى البلازما، ولكن بسبب وجود هذه الظاهرة (مصيدة التأين) فأنها سوف تمنع رجوع الدواء إلى البلازما ويرتفع تركيزه بالحليب.

إن نموذج الانتشار (Diffussion model) الذي كان يستخدم لتوقع نسبة انتقال المركبات الدوائية الى الحليب اعتمادا على نسبة ارتباط الأدوية ودرجة التأين في الحليب والمصل فضلا عن درجة ذوبانه بالدهن، وبالرغم من أن هذا النموذج حدد وبنجاح تركيز العديد من المركبات الدوائية في الحليب نسبة الى المصل (M/S) وخاصة تلك التي تنتقل بواسطة الانتشار الفعال (passive diffusion) (Fleishaker & McNmara,1988) في حين لم يكن بالإمكان الاعتماد على نموذج الانتشار السابق الذكر لتوقع التراكيز العالية للعديد من المركبات الدوائية في الحليب نسبة الى المصل (M/S) وخاصة تلك التي تنتقل بواسطة الانتقال الفعال في الحليب مثل السيميتدين (Cimitidine)، والرانتيتدين(Ranitidine)، والنايتروفيوران(Nitrofurantoin).(McNamara *et al*.,1996; Kari *et al*.,1997).

لاحظ (Kari *et al*.,1997) أن النايتروفيوران وهو دواء مضاد للجراثيم حامضي يعبر إلى الحليب بتركيز 75مرة أكثر من المتوقع بواسطة نموذج الانتشار السابق الذكر، ان هذا الفرق الكبير مابين المتوقع والملاحظ لتركيز النايتروفيوران جلب الانتباه الى احتمال وجود آلية في

نسيج الغدد اللبنية تحوي نواقل بروتينية مسؤلة عن انتقال المركبات الدوائية الى الحليب تدعى آلية انتقال الدواء من خلال النسيج الطلائي للغدد اللبنية تم اكتشافها من قبل (Gerk *et al*.,2001) وهي مشابهة لما موجود في الكلية ، حيث تحتوي كلية الجرذان على آلية تكون مسؤولة عن انتقال المركبات الدوائية بصورة فعالة وتحوي نوعان من النواقل البروتينية نوع خاص للمركبات العضوية السالبة الشحنة Rat organic anion transporters (ROAT) وهذا بدوره يتكون من 3 انواع (ROAT1،ROAT2،ROAT3) (Sweet *et al*.,1997) والنوع الأخر من النواقل البروتينية وهو خاص للمركبات العضوية الموجبة الشحنة Rat organic cation transporters (ROCT) وهذا كذلك يتكون من 3 انواع (ROCT1،ROCT2،ROCT3)،(Gerk *et al*.,2001) الى أن آلية انتقال الدواء من خلال النسيج ألطلائي للغدد اللبنية تحوي نوعان فقط من النواقل البروتينية وهي (ROCT1,ROCT3) بالمقارنة بالأنواع الستة الموجودة في الكلية وقد تم الكشف عنها باستخدام طريقة تفاعل البلمرة المتسلسل – انزيم الاستنساخ الانعكاسي (PCR-RT) polymerase chain reaction – real time وقد أكد (Gerk *et al*.,2002) الى الحاجة الى دراسات موسعة أخرى للكشف عن المزيد من النواقل البروتينية في النسيج ألطلائي للغدد اللبنية لتفسير آلية انتقال الكثير من المركبات الدوائية، ويعد هذا الاكتشاف مهم جدا لتفسير المستويات العالية للمركبات الدوائية في الحليب نسبة الى المصل.

2-1- ش: التداخلات الدوائية وتأثيراتها على انتقال الأدوية الى الحليب

توصل (Gerk *et al*.,2002) الى أن معاملة الأمهات المرضعات بالنايتروفيوران وتداخله مع داي بيرادامول(dipyridamole) أدى إلى حدوث انخفاض كبير في تركيز النايتروفيوران في الحليب نسبة الى المصل من (29±5.0) مايكروغرام/ مل لوحده إلى (6.3±11.0) مايكروغرام/ مل عند إعطاءه مع داي بيرادامول وقد استنتج الباحثون من هذه النتيجة على ان النايتروفيوران يعبر الى الحليب بواسطة الانتقال الفعال المعتمد على الصوديوم والذي تم تثبيطه بواسطة داي بيرادامول.

كما أدى التداخل الدوائي مابين السيميتدين والنايتروفيوران الى إحداث انخفاض معنوي في تركيز السيميتدين في الحليب نسبة الى المصل في الجرذان المرضعات من (4.9±26.6) مايكروغرام/ مل السيميتدين لوحده الى (5.6±17.7) مايكروغرام/ مل عند إعطاءه مع النايتروفيوران وقد عزى الباحث ذلك الى أن الآلية الموجودة في النسيج ألطلائي للغدد اللبنية والمسؤولة عن الانتقال الفعال للسيميتدين الى الحليب قد تم تثبيطها بواسطة النايتروفيوران بواسطة التداخل التنافسي على نفس النواقل البروتينية (Gerk *et al*.,2001). كما أن نظام

الانتقال الفعال للسيميتدين الموجود في الغدد اللبنية قد تم تشبعه وتثبيطه بواسطة الرانتدين(McNamara *et al.*,1996) .

أشار الباحث (Burt *et al.*,2001) انه يجب أن نأخذ بنظر الاعتبار عند كتابة الوصفة الطبية للمرضعات التداخلات بين المركبات الدوائية وتأثيراتها السمية على الرضع عند انتقالها عبر الحليب فمثلا يجب تجنب المركبات الدوائية التي تتأيض بشكل كبير في الكبد مثل اسيت امينوفين(Acetaminophen) وذلك لانه عند انتقال هذه المركبات الدوائية عبر الحليب الى الرضع التي أساسا تعاني من نقص تطور وتكامل الانزيمات الأيضية تؤدي الى تراكم هذه المركبات في أنسجة الرضع.

2-1- ص: التأثيرات السمية لانتقال المركبات الدوائية عن طريق الحليب في الصغار الرضع

أشار(Spigsest *et al.*,1998) إلى انه حتى عند انتقال المستويات الواطئة من المركبات الدوائية عبر الحليب الى الرضع قد تحمل خطورة كبيرة وذلك لأنه قد يكون العضو الهدف لهذه المركبات الدوائية هو الجهاز العصبي المركزي وذلك لعدم اكتمال نمو الحاجز الدموي– الدماغي في الرضع.

أن معاملة الأمهات المرضعات بالمركبات الدوائية خلال فترة الرضاعة قد يؤدي الى انتقالها عن طريق الحليب الى الصغار الرضع وبسبب امتلاك بعض المركبات الدوائية تأثيرات جانبية سوف يؤدي ذلك الى حدوث تأثيرات سمية في الرضع (Rozman et al.,2001) فمثلا عند عبور عقار الكلورامفينيكول إلى الحليب سوف تحدث حالة الاعتلال الدموي (Blood dyscrasias) في الصغار الرضع مما قد يؤدي الى موتها مما يعكس خطورة انتقال المركبات الدوائية الى الحليب (Riviere and Sundlof, 2001) فضلا عن ذلك قد تحدث تأثيرات سمية اخرى في الرضع من أمهات معاملة بالمضادات الحيوية مثل تفاعلات الحساسية (Allergic reaction) أو حدوث تغيرات في المايكروفلورا الطبيعية الموجودة في الجهاز الهضمي للرضع (Edson and Terrell,1999)، كما أن حامضية المعدة في المواليد الرضع تكون منخفضة (تميل الى القاعدية) ناتجة من انخفاض تركيز حامض الهيدروكلوريك وينتج عن ذلك زيادة في امتصاص الأدوية القاعدية الضعيفة مثل مركبات Macrolides (Chin *et al.*,2000)، اذ سجلت حدوث حالات مثل التضيق ألبوابي في الصغار الرضع من أمهات معالجة بالايرثرومايسين (Stang,1986)، فضلا عن ذلك فقد اظهر انخفاض كبير في نمو العظم مع تغير دائمي في لون الأسنان للصغار الرضع من أمهات معاملة بالتتراسايكلين (Dillon et al.,1997)، كما وسجلت حالات من الإسهال الدموي (Bloody diarrhea) في الصغار

الرضع من أمهات معالجة بالسلفاسلازين Sulfasalazine (Branski *et al.*,1986) والكلندامايسين (Clindamycin) (Matsuda,1984). وأشار (شندالة وجماعته ، 2006) إلى أن معاملة إناث الجرذان المرضعات بالبندازول بجرعة (50,25,12.5,6.25 ملغم/كغم) من وزن الجسم عن طريق الفم لمدة 21 يوما متتالياً (طيل فترة الرضاعة) أدت الى أحداث تأثيرات سمية على الصغار الرضع واعتمادا على الجرعة ، وقد تمثل ذلك بانخفاض معنوي في النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام من (89.1%,86.1%,%) بالنسبة لصغار من أمهات معاملة بجرعة صفر (مجموعة السيطرة) و12.5,6.25ملغم/كغم) إلى(54.7%,0%) للصغار من أمهات معاملة بجرعة (50,25 ملغم/كغم) وعلى التوالى وهذا يظهر التأثير الواضح للجرعة ، فضلا عن حدوث انخفاض معنوي في معدل وزن جسم الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة (25,12.5 ملغم/كغم) في اليوم العشرين بعد الولادة وقد أظهر التحدي الدوائي باستخدام الزيلازين والكيتامين على الصغار التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام من إمهات معاملة بجرعة (25,12.5 ملغم/كغم) زيادة معنوية في زمن التخدير(النوم).

2-1- ض: مواصفات الحركية الدوائية في الصغار حديثي الولادة

وتعتبر الصغار الرضع (حديثي الولادة) الأكثر حساسية للتأثرات السمية للمركبات الدوائية وذلك لان سلوك الحركية الدوائية في الرضع والتي تشمل عمليات الأيض في الكبد وطرح الدواء عن طريق الكلية تكون غير مكتملة النمو لذلك فأن المركبات الدوائية التي قد تنتقل عن طريق الحليب الى الرضع سوف تتراكم في معظم أنسجة الجسم اضافة الى ان تطور الحاجز الدموي- الدماغي لم يكتمل في الصغار حديثي الولادة مما يسهل عبور معظم الأدوية إلى الجهاز العصبي المركزي مؤديا الى ظهور التأثيرات السمية والعصبية عليها(Short,1984).

كما أن فعالية الإنزيمات الايضية Cytochrome P-450 في المواليد الرضع هي نصف فعاليتها في البالغين ، وان النظام الإنزيمي في الكبد يتطور بمعدلات مختلفة في المواليد الرضع النامية وهذا سيؤدي الى حدوث اختلافات واضحة في ايض الأدوية المختلفة فمثلا إن نشاط إنزيم Glucuronyl transferase قد تطور بشكل كافي لكي يؤيض البليريوبين في اليوم الثالث بعد الولادة ولكن لايستطيع أن يؤيض الكلورامفينكول حتى اليوم العاشر وان الإنزيمات الغير ناضجة تكون سائدة في الرضع حتى الأسبوع الثاني (Morselli,1980).

لاحظ الباحث (Buist et al.,1990) بالرغم من أن وزن الكلى الى وزن الجسم في الرضع تعادل مرتين مقارنة بالبالغ ولكنها في الصغار الرضع تكون غير مكتملة وظيفيا وان معدل الترشيح الكبيبي يعادل فقط 30-40% مقارنة بالبالغين والإفراز النبيبي يساوي فقط 20-

30% مقارنة بالبالغين لذلك ستكون عملية الطرح الكلوي قليلة وعليه ستتراكم المركبات الدوائية في الرضع مسببة تأثيرات سمية،كما ان الترشيح الكبيبي قد يتكامل تقريبا بعد 2-5 اشهر بعد الولادة في الرضع (Murray *et al*.,1994).

كما أن الحاجز الدموي- الدماغي في المواليد الرضع يكون غير مكتمل وظيفياً لذلك فان المركبات الدوائية عالية الذوبان بالدهن سوف تتراكم وتتركز من 10-30 مرة في السائل المخي-الشوكي مقارنة بالمصل (Nurnberg,1981)، وبما أن نسبة الدهون تكون محدودة في المواليد الرضع لذلك سوف تتراكم المركبات الدوائية الذائبة بالدهون بنسبة كبيرة في الجهاز العصبي المركزي للرضع مقارنة بالبالغين (Rivera-Calimlin,1987).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3-1: الحيوانات المستخدمة

استعملت في هذه الدراسة جرذان مختبرية بيضاء اللون Albino rats بواقع (39 اناث الجرذان المرضعات مع صغارها وعددهم 312) تم تربيتها في بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري/جامعة الموصل وانحصرت أوزانها بين (195-280)غم للحيوانات البالغة و (4-44) غم بالنسبة للصغار من كلا الجنسين، مع مراعاة كون أوزان الجرذان متقاربة في التجربة الواحدة، وتمت تربية الحيوانات في ظروف مختبرية خاصة تميزّت بدورة ضوئية (12) ساعة ضوء و(12) ساعة ظلام، وكانت درجة حرارة المختبر الذي تمت فيه التربية (22±2) °م، إذ وضعت الجرذان في أقفاص بلاستيكية خاصة معدة لهذا الغرض ومزودة بالماء والعلف بكميات وافرة وعلى نحو متواصل، وقد تم الحصول على العلف من بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري /جامعة الموصل (Mohammad,2000).

3-2: الأدوية والمواد الكيميائية المستخدمة

1. الفلورفنيكول Florfenicol، (300 ملغم/مل)، بتركيز 30% انتاج شركة interchemie الهولندية.
2. الزايلازين Xylazine(20ملغم/مل)، بتركيز 2% انتاج الشركة Inter chemie، الهولندية.
3. الكيتامين Ketamine (50ملغم/مل)، بتركيز 5% انتاج شركة Dutch Farm، الهولندية.
4. المحلول الملحي الفسلجي (Physiological saline solution) ، انتاج شركة المملكة العربية السعودية.
5. انابيب شعرية Micro haematocrit.
6. الميثانول، انتاج شركة 6GCC ، الانكليزية.
7. الفورمالين تركيز 10%.
8. صبغة كيمزا May-Grunwald Giemsa، انتاج شركة Atom-syntific الانكليزية.
9. صبغة H&E

3-3: الأجهزة والعدد المستخدمة

1. ميزان لوزن الحيوانات (seca Germany) ، الصين.
2. جهاز الطرد المركزي Centrifuge، انتاج شركة shanghai الصين .
3. مجهر ضوئي ذو عدستين انتاج شركة (Xsz-N107)،اليابان.
4. Vernia(Digital-Caliper) انتاج شركة InGco، الصين.
5. مايكروبابيت انتاج شركة Gilson فرنسا.
6. كاميرا(SONY IMX3) ، اليابان
7- Microtome (Leica) الصين

3-4: تحضير جرع الفلورفينيكول

تم استعمال محلول الدواء الأصلي لتحضير جرع (100، 200، 400، 600، 800، 1000ملغم/كغم) من الفلورفينيكول، بينما تم استعمال زيت الزيتون (لتحضير جرع (50ملغم/كغم) للفلورفينيكول عن طريق الحقن بالعضلة، في حين استعمل محلول الملح الفسلجي في تحضير جرع الكيتامين والزيلازين وكان بجرعة (الزيلازين 5ملغم/كغم، بالخلب + الكيتامين بجرعة 50 ملغم/كغم، بالخلب).

3-5: تحديد عدد المواليد الرضع لكل من أمهات الجرذان المعاملة بالدواء

لكي يتم تعرض المواليد الرضع للدواء عن طريق الحليب بصورة متساوية تم تحديد ثمانية مواليد لكل أم فالأمهات التي تمتلك أكثر من ثمانية مواليد تم الإبقاء على ثمانية مواليد فقط ، وقد تم إهمال الأمهات التي تمتلك أقل من ثمانية مواليد، وقد عد يوم الولادة للمواليد باعتباره اليوم صفر (Flagel *et al.,* 2001; De vries *et al.,* 2002; Scheepens *et al.,* 2003) . **مع ملاحظة ان** مدة الرضاعة في الجرذان 20 يوما وتفطم بعمر 21 يوماً (Kohn and Barthold, 1984).

3-6: التجارب:

3-6: التجربة الأولى:

تحديد النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0، 50، 100، 200، 400، 600، 800، 1000 ملغم/كغم ، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة (بالاعتماد على دراسات سابقة).

صممت هذه التجربة لغرض تحديد سمية عقار الفلورفينيكول بالاعتماد على النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالدواء وبجرعات مختلفة، وبعد

ذلك يتم اختيار الجرع التي أدت إلى حدوث زيادة معنوية في النسبة المئوية للبقاء(100%) في التجارب اللاحقة وهي تجارب الاختبارات السلوكية العصبية ، والتحدي الدوائي وغيرهما من التجارب، والتي تستوجب جرعات واطئة لا تحدث تأثيرات سمية (McDaniel and Moser, 1993; Mohammad,1984).

1.المجموعة الأولى(مجموعة السيطرة): اشتملت على (24) من صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالملح الفسيولوجي وبحجم جرعة(2مل/كغم) عن طريق الحقن بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

2.المجموعة الثانية: اشتملت على (24) من صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50ملغم/كغم من وزن الجسم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

3.المجموعة الثالثة: اشتملت على (24) من صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة100 ملغم/كغم من وزن الجسم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

4.المجموعة الرابعة: اشتملت على (24) من صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 200ملغم/كغم من وزن الجسم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

5.المجموعة الخامسة: اشتملت على (24)من صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 400ملغم/كغم من الجسم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة .

6.المجموعة السادسة: اشتملت على (24) من صغار الجرذان من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 600ملغم/كغم من وزن الجسم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

7.المجموعة السابعة: اشتملت على (24) من صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 800 ملغم/كغم من وزن الجسم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

8.المجموعة الثامنة: اشتملت على (24) من صغار الجرذان الرضع من أمهات بالفلورفينيكول بجرعة 1000ملغم/كغم من وزن الجسم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

وبعد معاملة الأمهات المرضعات في المجاميع كافة تم متابعة الصغار الرضع حتى عمر الفطام البالغ 21 يوماً، وذلك عبر متابعة الصغار الرضع يوميا وتسجيل أية حالة هلاك تحصل للصغار الرضع وتم في هذه التجربة تحديد النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام (شميس،2000).

3-7: التجربة الثانية:

دراسة التأثيرات التطورية السمية في صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100 ملغم/كغم، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

تم اختيار الجرع المذكورة أعلاه اعتمادا على نتائج التجربة الأولى، إذ بلغت النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام إلى 100% من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 و100 ملغم/كغم، من وزن الجسم.

في هذه التجربة قسمت الأمهات المرضعات إلى ثلاث مجاميع وبواقع خمسة أمهات لكل مجموعة ولكل أم 8 من صغار الجرذان الرضع.

1.المجموعة الأولى (مجموعة السيطرة): اشتملت على (40) من صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالملح الفسيولوجي وبحجم جرعة (2مل/كغم) عن طريق الحقن بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

2.المجموعة الثانية: اشتملت على (40) من صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 ملغم/كغم من وزن الجسم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

3.المجموعة الثالثة: اشتملت على (40) من صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100ملغم/كغم من وزن الجسم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

بعد معاملة الأمهات المرضعات في المجاميع السابقة تم دراسة المعايير الآتية على صغار الرضع:

3-7-أ: دراسة التغييرات في معدل أوزان جسم المواليد الرضع وبصورة دورية في الأيام (صفر،3، 7،14،21) لمعرفة التغييرات في معدل أوزان جسم المواليد .

3-7-ب: دراسة التغييرات في معدل نمو الجسم المواليد الرضع مؤشر النمو (Growth index) وذلك عن طريق قياس طول الجسم من قمة الرأس إلى قمة الذيل بصورة دورية في الأيام (0،3،7،14،21) لمعرفة التغييرات في معدل نمو جسم المواليد الرضع نتيجة التعرض للدواء عن طريق الرضاعة (Flagel *et al.,* 2001 & Scheepens, *et al*., 2003).

3-7-ج: دراسة التغييرات في مدة ظهور علامات النضوج (بالأيام) مثل فتح الآذن والعيون وظهور الشعر والقواطع في المواليد الرضع لمعرفة التغييرات في مدة ظهور علامات النضوج في المواليد نتيجة التعرض للدواء عن طريق الرضاعة (Flagel *et al* .,2001).

3-7-د: دراسة التغييرات في اختبار منعكس تصحيح وضع الجسم في المواليد الرضع وذلك وبواسطة إجراء هذا الاختبار Loss of Righting reflex (Mohammad,1984).

ويبين هذا الاختبار تكامل وظائف الجهاز العصبي وقابلية الصغار في تعديل وضع جسمها، إذ يتم وضع المولود على سطح مضطجعا على ظهره، ويتم حساب الوقت اللازم لكي يستطيع المولود تصحيح وضعيته بوقت لا يتجاوز 2 ثانية لكل مولود، وتم إجراء الاختبار على المواليد الرضع للمجاميع كافة في الأيام (2،3،4،5) بعد الولادة (Mohammad,1984).

3-7-هـ: دراسة حدوث السمية الدموية (hematotoxicity) في الصغار الرضع في الأيام(3،7،14،21) بعد الولادة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50، 100ملغم/كغم،بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

تم اخذ مسحة الدم من صغار الجرذان الرضع في الأيام(3، 7، 14، 21) بعد الولادة من الضفيرة الوريدية للعين وتم عمل مسحات الدم (Blood film) بوضع قطرة دم على حافة شريحة زجاجية ونشرها باستعمال شريحة زجاجية أخرى ثم تركت الشريحة لتجف ثم تم تثبيتها باستعمال الكحول المثيلي وتم صبغها بصبغة (May-Grunwald Giemsa) التي قد تم تحضيرها مسبقا (Coles،1986;Gregg، 2000) ، وتمت قراءة الشريحة تحت المجهر باستعمال العدسة الزيتية تكبير ×100 لمشاهدة التغيرات في أحجام وأشكال خلايا الدم الحمراء وصورت المسحات الدموية باستخدام الكاميرة، وبعد الانتهاء من دراسة التغيرات في المعايير (أ، ب، ج، د،هـ) المذكورة سابقا على المواليد الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (0، 50 و100ملغم/كغم) من وزن الجسم التي امتدت من اليوم الأول للولادة حتى عمر الفطام البالغ (21) يوما تم تقسيم صغار الجرذان كل على وفق مجموعته إلى ثلاثة مجاميع انحصرت أوزانها بين (24-38) غراماً.

وبعد الانتهاء من تقسيم الحيوانات التي بقيت إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0 و50 و100ملغم/كغم من وزن الجسم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة إلى المجاميع الثلاثة السابقة الذكر تم دراسة التغيرات التي طرأت عليها في وفق المعايير الآتية:

3-7-و: دراسة التحدي الدوائي بالزيلازين والكيتامين لصغار الجرذان التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام من أمهات معامله بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100ملغم /كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

يعد التحدي الدوائي أو السمي أحد الوسائل المستعملة في كشف التأثيرات الكامنة أو المخفية للمواد الكيميائية أو السموم على وظيفة الجهاز العصبي (Osman and Mohammad,2001).

تم اختيار 15 من صغار الجرذان اختياراً عشوائياً وبواقع خمسة حيوانات لكل مجموعة من المجاميع المذكورة سابقا (الأولى والثانية والثالثة) وقد عوملت صغار جميع المجاميع البالغة بالزيلازين بجرعة 5ملغم/كغم، بالخلب + الكيتامين بجرعة 50ملغم/كغم، بالخلب (Green *et al*.,1981)، وبعد الانتهاء من جميع المعاملات ثم مراقبة الصغار، وسجل وقت بدء النوم الذي يعرف من فقدان منعكس تصحيح وضع الجسم (loss of right reflex) وطول مدة النوم.

3-7-ي: دراسة التغيرات النسجية-المرضية في أعضاء: الكبد، القلب، الكلى، الطحال، البنكرياس في الصغار الجرذان التي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام (21يوما) من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0 ،50،100 ملغم/ كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

بعد إجراء الصفة التشريحية لصغار الجرذان بعمر الفطام تم أخذ عينات الكبد والقلب والكلى والطحال والبنكرياس وتثبيتها في محلول الفورمالين الدارىء المتعادل 10% Neutral Buffer Formalin لمدة 72ساعة، ثم عوملت العينات بتراكيز متصاعدة من الكحول الأثيلي لغرض الأنكاز Dehydration ابتداء بتركيز 70% مدة 24 ساعة، ثم 90% مدة 4 ساعات، ثم بتركيز 100% بتمريرتين وبمعدل ساعتين لكل تمريرة، وبعدها تم وضع العينات في الكلوروفورم لغرض الترويق Clearing بثلاث تمريرات بمعدل ساعة لكل تمريرة، ثم مررت العينات في شمع البرافين ذي درجة انصهار 56م لغرض الطمر Embedding بتمريرتين وبمعدل ساعة لكل تمريرة وبعدها تم صب العينات في قوالب شمعية ثم قطعت النماذج باستعمال جهاز المشراح الدوار Microtome للحصول على شرائح نسجية بسمك 5 مايكروميتر، وبعدها ثبتت النماذج على شرائح زجاجية بواسطة طبقة خفيفة من لاصق ماير، وبعدها تم صبغ الشرائح الزجاجية باستعمال صبغة الهيماتوكسيلين والايوسين H&E (Luna,1968).

3-8: التحليل إحصائي Statistical Analysis

حللت البيانات المعلمية Parametric إحصائياً باستعمال اختبار التباين analysis of variance (ANOVA) one or two way analysis of variance و طبق عليها اختبار الفرق المعنوي الأدنى least significant difference (LSD) اعتمادا

على برنامج التحليل الاحصائي SPSS (USA،ver·11·5) ،(جودة،2008)، أما البيانات الواردة على شكل نسب مئوية فقد تم تحليلها باستخدام اختبار Chi-sequare (Runyon,1977). وكان مستوى الاختلاف المعنوي للاختبارات كافة عند مستوى احتمال (أ<0 · 05)(P<0·05).

الفصل الرابع

النتائج

Results

4-1:التجربة الأولى

تحديد النسب المئوية لبقاء صغار الجرذان الرضع إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة: (صفر، 50، 100، 200، 400، 600، 800، 1000 ملغم/كغم ، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

أظهرت الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول ارتفاعاً معنوياً بالنسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام من 100% بالنسبة للصغار من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (0، 50،100 ملغم/كغم، بالعضل) على التوالي انخفاضاًمعنوياً إلى صفر% بالنسبة للصغار من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 200، 400، 600، 800، 1000ملغم/كغم، بالعضل من وزن الجسم (شكل 3).

الشكل (4-1) النسب المئوية للصغار الرضع إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلور فينكول بجرعة 0،50،100،200،400،600،800،1000ملغم /كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

* القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية أ< 0.05.

أ-القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 50 ملغم/ كغم بالعضل من الفلورفينيكول عند مستوى معنوية أ< 0.05.

ب- القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة100ملغم/ كغم بالعضل من الفلورفينيكول عند مستوى معنوية أ< 0.05.

جدول رقم (4-1): يبين نسبة البقاء للصغار الرضع الى عمر الفطام من امهات معاملة بالفلورفنكول بجرعة 1000,800,600,400,200,100,50,0 ملغم /كغم من وزن الجسم

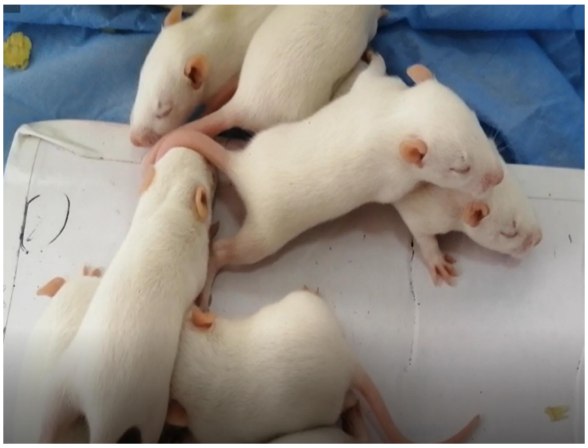
الايام / الجرعة	اليوم 1	اليوم 2	اليوم 3	اليوم 4	اليوم 5	اليوم 6	اليوم 7	اليوم 8	اليوم 9	اليوم 10	اليوم 11	اليوم 12	اليوم 13	اليوم 14	اليوم 15	اليوم 16	اليوم 17	اليوم 18	اليوم 19	اليوم 20	اليوم 21
السيطرة	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
1000	24	24	18	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
800	24	18	12	11	11	11	11	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
600	24	24	24	24	24	24	15	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
400	24	24	24	24	24	24	18	15	12	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
200	24	24	24	24	24	24	24	24	12	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
50	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40

ملاحظة: 0= تعني هلاك

الشكل(4-2):نلاحظ التاثيرات السمية الدموية (في صغار الجرذان الرضع الهالكة (بعمر 3 أيام) من أمهات معاملة بالفلورفينكول بجرعة (1000 ملغم /كغم /بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة بالمقارنة مع الصغار الرضع التابعة للمجموعة السيطرة (اليسار)

الشكل (4-3) : مجموعة السيطرة بعمر 3 أيام.

الشكل (4-4): نلاحظ التاثيرات السمية الدموية (في صغار الجرذان الرضع الهالكة (بعمر 10 أيام) من أمهات معاملة بالفلورفينكول بجرعة (600ملغم /كغم /بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة بالمقارنة مع الصغار الرضع التابعة للمجموعة السيطرة (اليسار)



الشكل(4-5) : مجموعة السيطرة بعمر 10 أيام.

4-2:التجربة الثانية

دراسة التأثيرات التطورية السمية في صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50و100ملغم/ كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

تم اختيار جرع الفلورفينيكول (50،100ملغم/ كغم) اعتمادا على نتائج التجربة الأولى، لان النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بهذه الجرع السابقة الذكر كانت 100% و100% على التوالي.

وقد اشتملت التجربة على المعايير الآتية:

4-2-أ: دراسة التغيرات في معدل أوزان جسم المواليد الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (0،50،100ملغم /كغم، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

أظهرت الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100ملغم/كغم من وزن الجسم انخفاضا معنويا في معدل وزن الجسم في اليوم السابع والرابع عشر والحادي والعشرين مقارنة بالصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 0 و50 ملغم/كغم بالعضل في حين أظهرت الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 ملغم/كغم انخفاضا معنويا في وزن الجسم في اليوم الرابع عشر والحادي والعشرون مقارنة بمجموعة السيطرة.الجدول (1)

الجدول (4-2): التغيير في معدل أوزان جسم الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول (0،50 ، 100 ملغم/كغم، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

الأيام	الفلورفينيكول (ملغم/كغم، بالعضل)		
	السيطرة	50	100
صفر	0.09 ± 5.51	0.09 ± 5.96	0.11 ± 5.90
3	0.10± 6.92	* 0.27± 7.18	0.27 ± 7.09
7	0.18 ± 12.0	0.57 ± 11.5	أ* 0.62 ± 8.20
14	0.49 ± 23.4	*0.89 ± 17.3	أ*1.76 ± 10.7
21	0.64 ± 38.4	*2.64 ± 20.4	أ*2.73± 16.5

القيمة تمثل المعدل ± الخطأ القياسي بالغرام لـ (مواليد خمس أمهات/ مجموعة).

* القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات مجموعة السيطرة في اليوم نفسه عند مستوى معنوية أ< 0.05.

أ.القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 50 ملغم/ كغم من الفلورفينيكول في اليوم نفسه عند مستوى معنوية أ< 0.05.

الشكل (4-6): التأثيرات التطورية السمية المتمثلة في معدل كل من أوزان ومقياس نمو جسم الصغار الرضع (بعمر 14 يوم) من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

4-2-ب: دراسة التغييرات في معدل نمو جسم المواليد الرضع (مؤشر النمو)Growth index وذلك عن طريق قياس طول الجسم من قمة الرأس إلى قمة الذيل بصورة دورية في الأيام(صفر،3،7،14،21) لمعرفة التغيرات في معدل نمو جسم المواليد الرضع نتيجة التعرض للدواء عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرع (0 ،50،100ملغم/كغم) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

أظهرت الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100ملغم/كغم انخفاضا معنويا في معدل مقياس النمو على حسب الأيام وعلى النحو الآتي:

سجلت في اليوم السابع انخفاضاً معنوياً مقارنة بالصغار من أمهات معاملة بجرعة 50ملغم/كغم وفي الأيام الرابع عشر والحادي والعشرين انخفاضا معنويا مقارنة بالصغار من أمهات معاملة بجرعة 0 و50ملغم/ كغم، أما فيما يخص مجموعة الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 50ملغم/ كغم فقد أظهرت هذه الصغار انخفاضاً معنوياً في معدل مقياس النمو باليوم الرابع عشر والحادي والعشرين مقارنة بمجموعة السيطرة، كما في (الجدول 2).

الجدول (4-3): التغير في معدل مقياس نمو جسم صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول. (0،50، 100ملغم/كغم، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

(الفلورفينيكول ملغم/كغم، بالعضل)			
الأيام	**0(مجموعة السيطرة)**	**50**	**100**
صفر	0.336 ± 38.4	0.494 ± 39.6	0.398 ± 40.0
3	0.418± 45.4	* 0.560 ± 48.1	* 0.517 ± 48.4
7	1.16 ± 53.6	*1.10 ± 56.3	أ 0.47 ± 52.1
14	2.97 ± 65.1	*2.01 ± 59.3	*أ 4.93 ± 55.7
21	0.879 ± 88.1	*ب1.19 ± 70.9	*أ 0.88 ± 62.2

القيمة تمثل المعدل ± الخطأ القياسي بالملم لـ (مواليد خمس أمهات/ مجموعة).

* القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات مجموعة السيطرة في اليوم نفسه عند مستوى معنوية أ< 0.05.

أ- القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 50 ملغم / كغم من الفلورفينيكول في اليوم نفسه عند مستوى معنوية أ< 0.05.

الشكل (4-7) تأثير تعرض الصغار الرضع للفلورفينكول عن طريق الحليب بعمر (21 يوم) على حدوث الانخفاض المعنوي في معدل مقياس نمو جسم الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100ملغم/كغم) (اليمين) بالمقارنة بالصغار الرضع من أمهات مجموعة السيطرة (اليسار)

4-2-ج: دراسة التغيرات في مدة ظهور علامات النضوج بالأيام مثل فتح الأذنين والعيون وظهور الشعر والقواطع في المواليد الرضع لمعرفة التغيرات في مدة ظهور علامات النضوج في المواليد الرضع نتيجة التعرض للدواء عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرع (0،50،100ملغم/كغم) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

أظهرت الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100ملغم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنوياً في مدة ظهور الشعر والقواطع وفتح العيون مقارنة بالصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة صفر و50 ملغم/كغم في حين أظهرت مدة ظهور فتح الآذان لهذه المجموعة زيادة معنوية بالمقارنة بمجموعة السيطرة ومجموعة(50 ملغم/كغم)، (الجدول 3).

الجدول (4-4): مدة ظهور علامات النضوج ونموها بالأيام في صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول (0،50،100 ملغم/كغم، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

فترة ظهور علامات النضوج (بالأيام)				
جرعة الفلورفينيكول (ملغم/كغم، بالعضل)	فتح الأذان	ظهور الشعر	ظهور القواطع	فتح العيون
مجموعة السيطرة	0.11 ± 3.5	0.104 ± 6.5	0.0 ± 9	0.20 ± 16.91
50	0.10 ± 3.3	0.01 ± 6.66	0.09 ± 8.66	0.13 ± 15
100	*أ 0.19 ± 4.1	*أ 0.65 ± 4.33	*أ 0.88 ± 6	*أ 1.57 ± 10.6

القيمة تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لـ (مواليد خمس أمهات/ مجموعة).

* القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية أ< 0.05.

أ- القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 50 (ملغم/ كغم، بالعضل) عند مستوى معنوية أ< 0.05.

الشكل (4-8): الاختلاف بالأيام في ظهور علامات النضوج (الشعر) في الصغار الرضع (بعمر 6 يوم) من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم) بالمقارنة بمجموعة السيطرة

4-2-د : دراسة التغيرات في اختبار منعكس تصحيح وضع الجسم لصغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (0 ،50،100 ملغم/ كغم، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

أظهرت الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة50و100ملغم/كغم من وزن الجسم زيادة معنوية في الوقت اللازم لتصحيح وضع الجسم في اليوم الثاني والثالث والرابع والخامس مقارنة بمجموعة السيطرة (الجدول 4).

الجدول (4-5): اختبار منعكس تصحيح وضع الجسم لصغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول (0،50،100، ملغم/ كغم، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

جرعة الفلورفينيكول (ملغم/كغم، بالعضل)	منعكس تصحيح وضع الجسم (ثانية)			
	اليوم الثاني	اليوم الثالث	اليوم الرابع	اليوم الخامس
مجموعة السيطرة	1.11 ± 5.08	2.40 ± 6.68	0.86 ± 4.12	0.23 ± 3.06
50	* 2.49 ± 10.8	*2.31 ± 10.62	* 3.77 ± 15.8	* 3.21 ± 12.06
100	*2.28 ± 9.62	*3.88 ± 11.12	*4.21 ± 16.1	* 5.47 ± 17.9

القيمة تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لـ (مواليد خمس أمهات/ مجموعة).

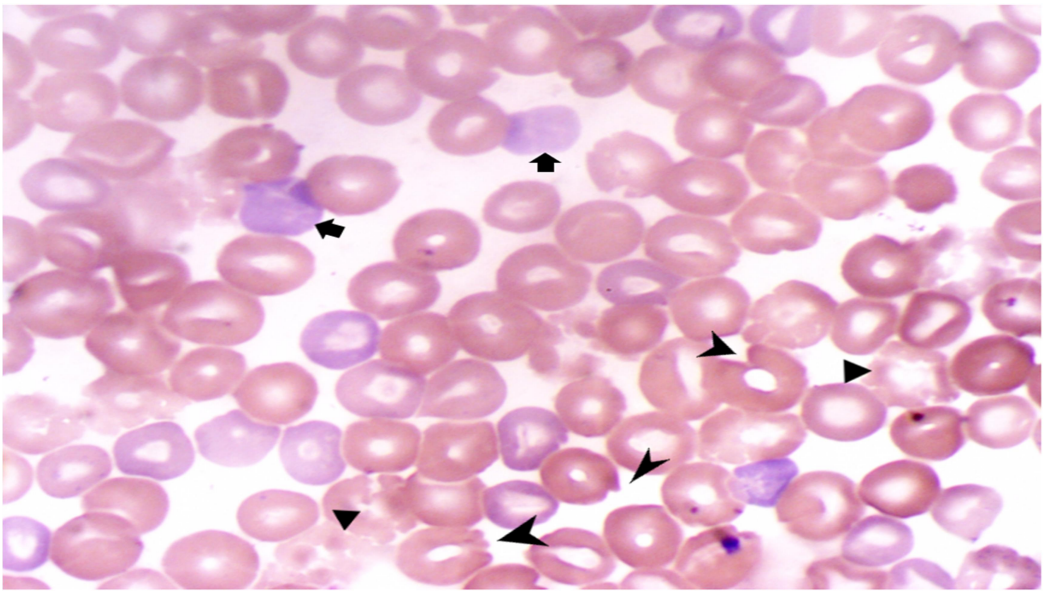
* القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية أ< 0.05.

4-2-هـ: دراسة التغيرات في صورة الدم المحيطي في الصغار الرضع في الأيام (3،7،14،21) من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0،50،100 ملغم/كغم، بالعضل في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

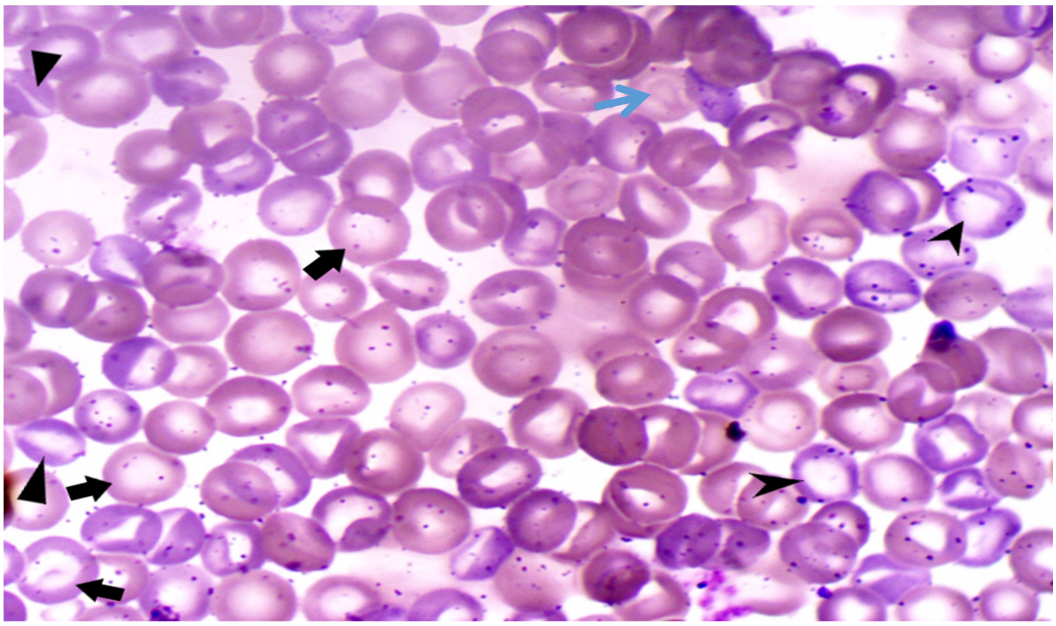
أدى تعرض صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 و100ملغم/كغم إلى حدوث تأثيرات سمية دموية تمثلت في حدوث تغيرات في صور الدم على النحو الآتي:

أظهرت المسحة الدموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة (50 ملغم /كغم،بالعضل) أثناء الأيام الخمسة

الأولى بعد الولادة التأثيرات السمية الدموية المتمثلة بالاختلافات في أحجام (anisocytosis) وأشكال (poikilocytosis) خلايا الدم الحمر مثل خلايا ذات نتوات شبيهة بالأصابع (cell with finger like projections) وظهور خلايا الدم الحمراء متعددة الألوان (polychromatophil erythrocyte) وخلايا الدم الحمراء المجزءه (fragmented erythrocyte) ، في حين أظهرت المسحة الدموية بجرعة 100ملغم/كغم بعمر(3 يوم) بعد الولادة التأثيرات السمية الدموية (hypochromia) تمثلت بحدوث اختلاف في احجام (anisocytosis) واشكال (poikilocytosis) خلايا الدم الحمر مثل (anulocyte cell) (شحوب مركزي واسع) و (anulocyte cell with basophilic cytoplasm) و خلايا الهدف (target cell) و خلايا تشبه الفم (stomatocytes).



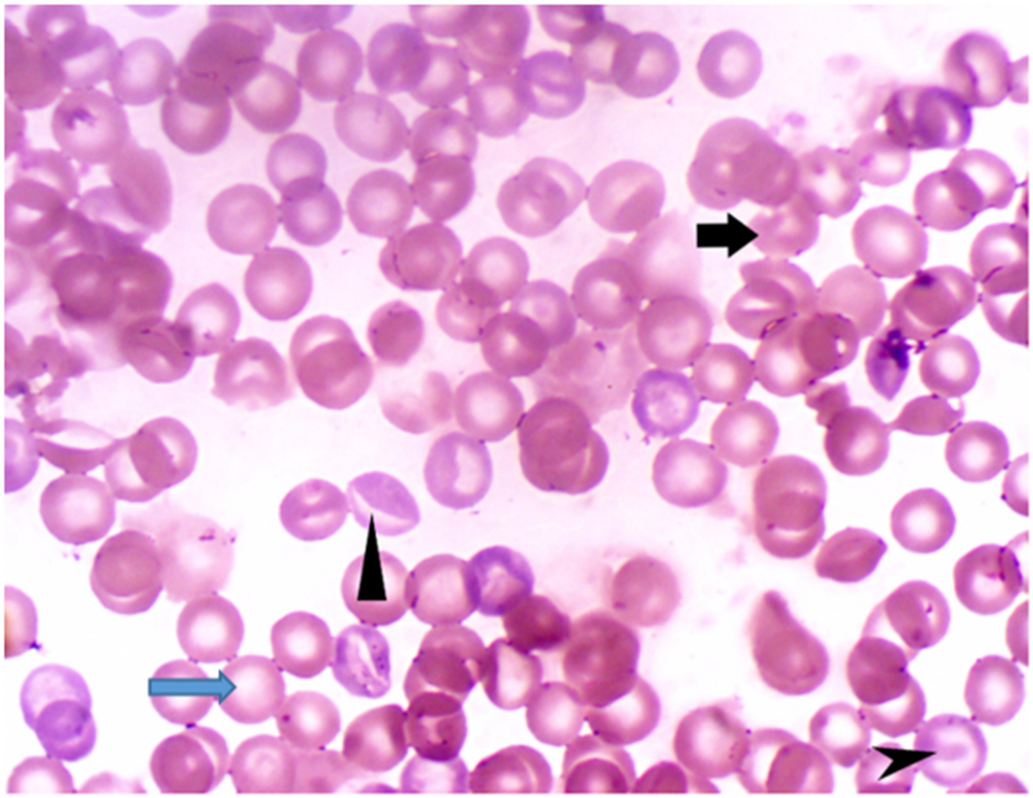
الشكل (4-9) مسحة دموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة (50 ملغم /كغم , عن طريق العضل) أثناء الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة التي تظهر التأثيرات السمية الدموية المتمثلة بالاختلافات في أحجام (anisocytosis) وأشكال (poikilocytosis) خلايا الدم الحمر مثل (cell with finger like projections) (رأس السهم) و (polychromatophil erythrocyte)) (سهم) و (fragmented erythrocyte) (مثلث) May-Grunwald Giemsa stain x,1000.



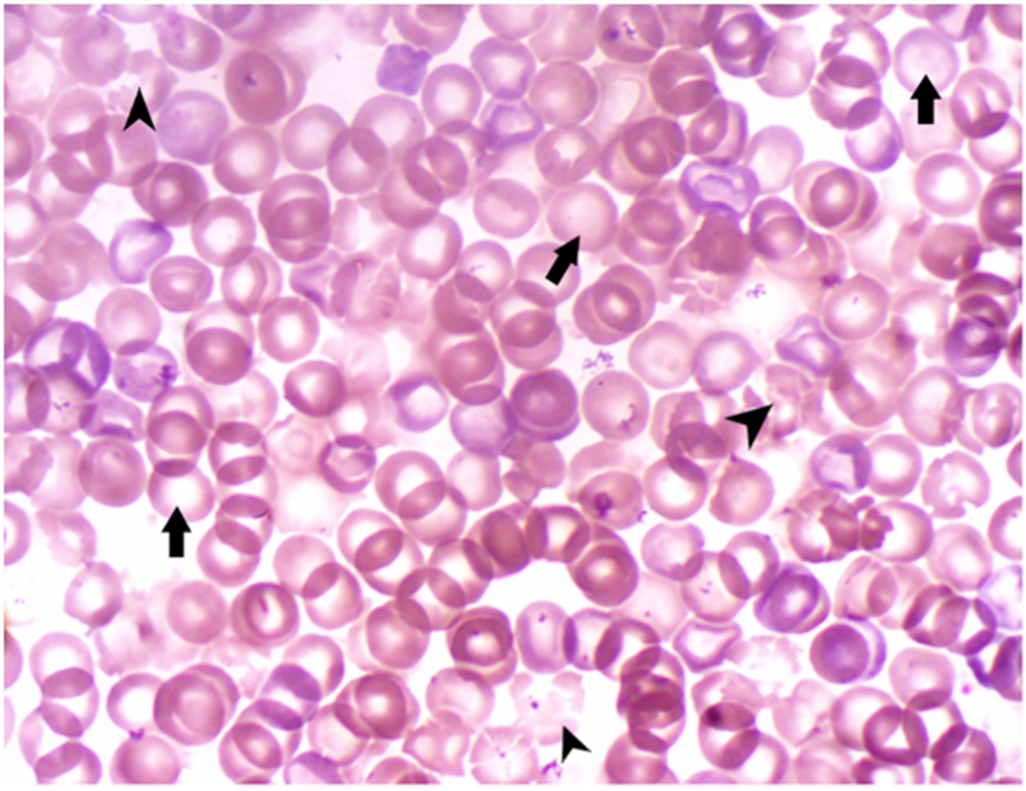
الشكل (4-10) مسحة دموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة (100 ملغم /كغم , عن طريق العضل) أثناء الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة التي تظهر التأثيرات السمية الدموية (hypochromia) المتمثلة بالاختلافات في احجام (anisocytosis) واشكال (poikilocytosis) خلايا الدم الحمر مثل (anulocyte cell) (شحوب مركزي واسع) (سهم) و(anulocyte cell with basophilic cytoplasm) (رأس السهم) و(target cell) (السهم الأزرق) و(stomatocytes)(مثلث). May-Grunwald Giemsa stain x,1000.

أظهرت مسحة دموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة (50 ملغم /كغم، بالعضل) أثناء الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة استمرار السمية الدموية (hypochromia) لغاية عمر 21 يوماً بعد الولادة المتمثلة في تجزيئ وتحطيم خلايا الدم الحمر(fragmentd erethrocyts) مصحوبة بخلايا (**anulocyte**)(شحوب مركزي واسع) وخلايا الستوماتوسايت (تشبه الفم) وخلايا الهدف (target cell)، في حين أظهرت المسحة الدموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة (100 ملغم /كغم , بالعضل) أثناء الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة التي تظهر استمرار السمية الدموية

(hypochromia) لغاية عمر 21 يوماً بعد الولادة المتمثلة في تجزيئ وتحطيم خلايا الدم الحمر (fragmentd erethrocyts) مصحوبة بخلايا (**anulocyte**) (شحوب مركزي واسع) .



الشكل(4-11) مسحة دموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة (50 ملغم /كغم، عن طريق العضل) أثناء الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة التي تظهر استمرار السمية الدموية (hypochromia) لغاية عمر 21 يوماً بعد الولادة المتمثلة في تجزيئ وتحطيم خلايا الدم الحمر(fragmentd erethrocyts) (السهم) مصحوبة بخلايا (anulocyte) (شحوب مركزي واسع) (سهم ازرق) وخلايا (stomatocytes) (سهم مثلث) وخلايا الهدف (target cell) (سهم مدبب) ، May-Grunwald Giemsa stain x,1000.



الشكل (4-12) مسحة دموية من الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة (100 ملغم /كغم , عن طريق العضل) أثناء الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة التي تظهر استمرار السمية الدموية (hypochromia) لغاية عمر 21 يوماً بعد الولادة المتمثلة في تجزيئ وتحطيم خلايا الدم الحمر(السهم المدبب) مصحوبة بخلايا (anulocyte) (شحوب مركزي واسع) (سهم).May-Grunwald Giemsa stain x,1000.

4-2-و : دراسة التحدي الدوائي بالزيلازين والكيتامين في صغار الجرذان التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (صفر،50،100 ملغم/ كغم، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

تبين من حقن مزيج الزيلازين بجرعة 5 ملغم/ كغم، بالخلب، والكيتامين بجرعة 50 ملغم/ كغم، بالخلب، في صغار الجرذان الرضع التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 و100 ملغم/ كغم، بالخلب انخفاض معنوي في مدة بدء النوم فضلاً عن الانخفاض في طول مدة النوم بالمقارنة بمجموعة السيطرة (الجدول 5).

الجدول (4-6): يوضح مدة بدء النوم وزمن التخدير المحدث بالزيلازين والكيتامين في صغار الجرذان التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول (0، 50، 100 ملغم/ كغم، بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

جرعة الفلورفينيكول (ملغم/كغم، بالعضل)	بدء النوم (بالدقيقة)	طول مدة التخدير(بالدقيقة)
مجموعة السيطرة	0.42 ± 3.2	1.92 ± 84.9
50	* 0.22 ± 1.6	7.7 ± 74.6
100	*0.25 ± 1.8	10.9 ± 71.5

القيمة تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لـ (مواليد خمس أمهات/ مجموعة).

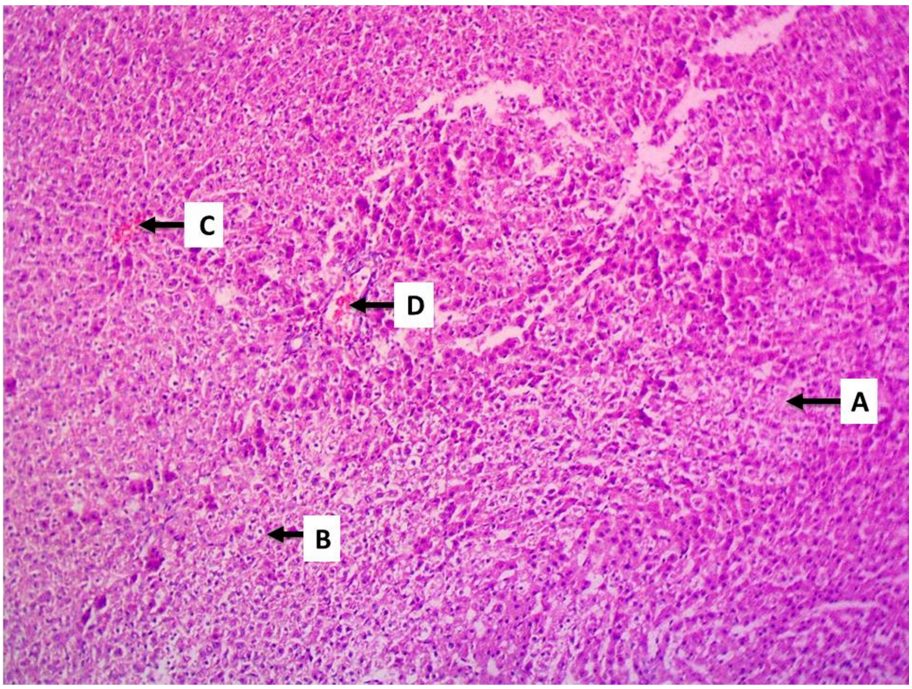
* القيمة تختلف معنويا مقارنة بقيم الصغار الرضع من أمهات مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية أقل من 0.05.

4-2-ي : دراسة التغيرات النسجية المرضية في أعضاء : الكبد،القلب ،الكلى،الطحال،البنكرياس في صغار الجرذان التي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام 21يوماً من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 0 ،50،100 ملغم/كغم في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة.

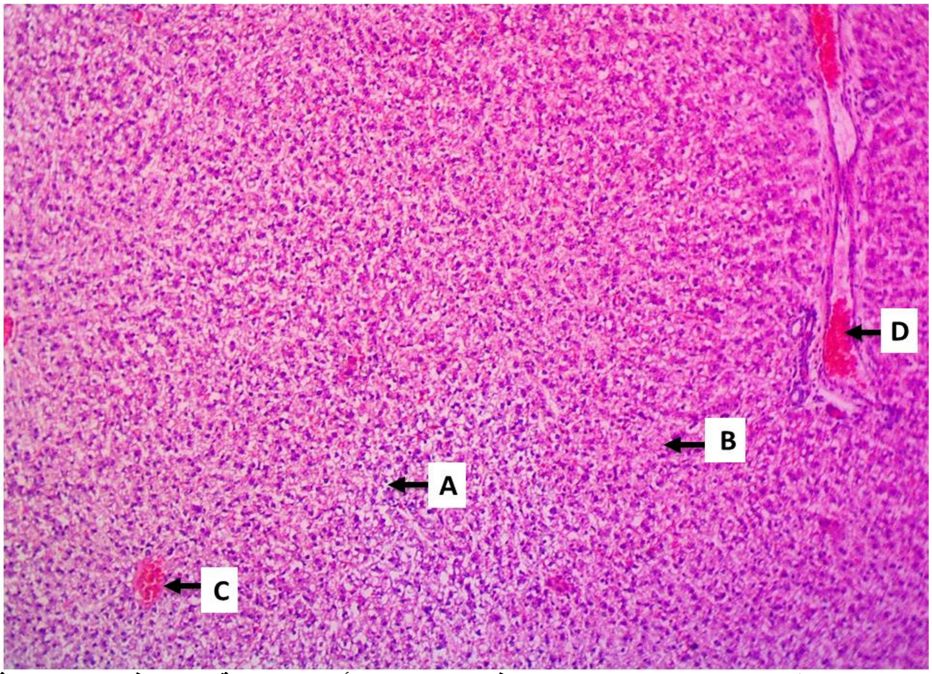
أدى تعرض صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 50 و100 ملغم/ كغم إلى حدوث تغيرات نسجية- مرضية وبطريقة معتمدة على الجرع وحسب الأعضاء، على وفق التفصيل الآتي:

أ. الكبد:

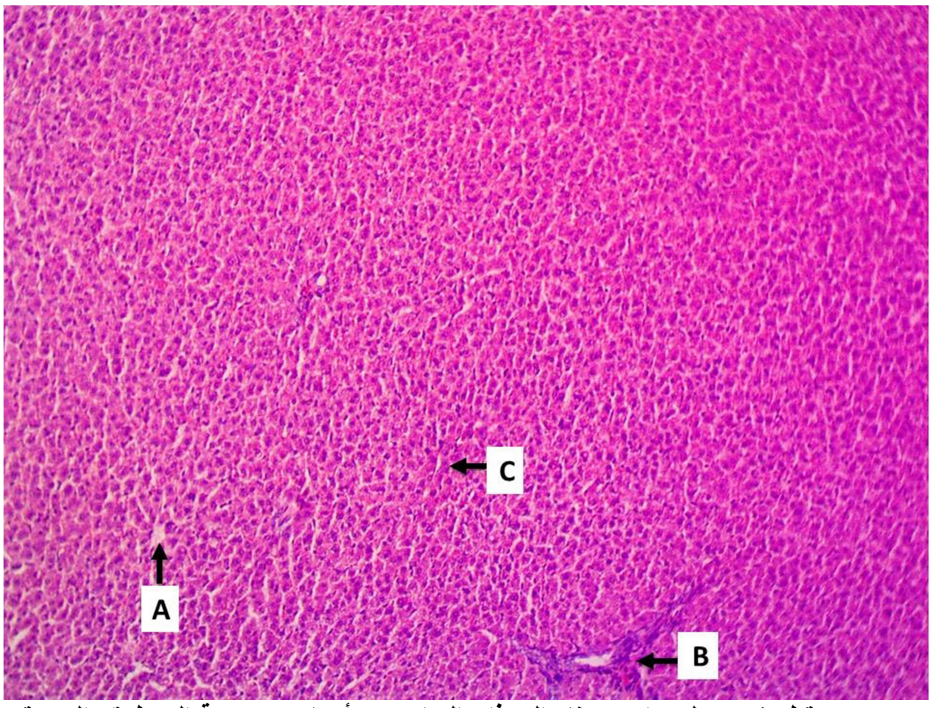
أظهر التقطيع النسجي لكبد الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21يوماً) تنخر شديد للخلايا الكبدية والتنكس الفجوي لبعضها الأخر واحتقان الوريد المركزي والوريد البابي في حين كانت التغيرات النسجية في كبد الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 50 ملغم/كغم تمثلت بوجود التنكس الفجوي المنتشر للخلايا الكبدية وتنخر البعض منها واحتقان الوريد المركزي والوريد البابي مقارنة بمجموعة السيطرة حيث أظهر التقطيع النسيجي للكبد المعالم النسجية الطبيعية لنسيج الكبد متمثلاً بالوريد المركزي والمنطقة البوابية والخلايا الكبدية.



الشكل(4-13): مقطع نسجي لكبد احد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يُظهر وجود التنخر الشديد للخلايا الكبدية (A)والتنكس الفجوي لبعضها الاخر (B) واحتقان الوريد المركزي (C) والوريد البابي (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين X100.



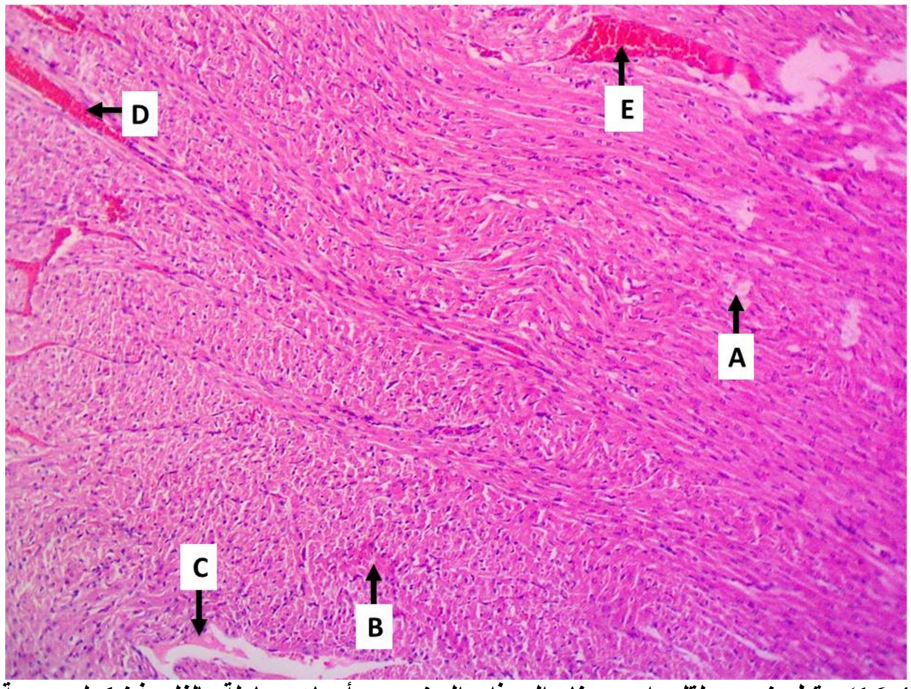
الشكل(4-14): مقطع نسجي لكبد احد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (50 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يُظهر وجود التنكس الفجوي المنتشر للخلايا الكبدية (A) وتنخر البعض منها (B) واحتقان الوريد المركزي (C) والوريد البابي (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين X100.



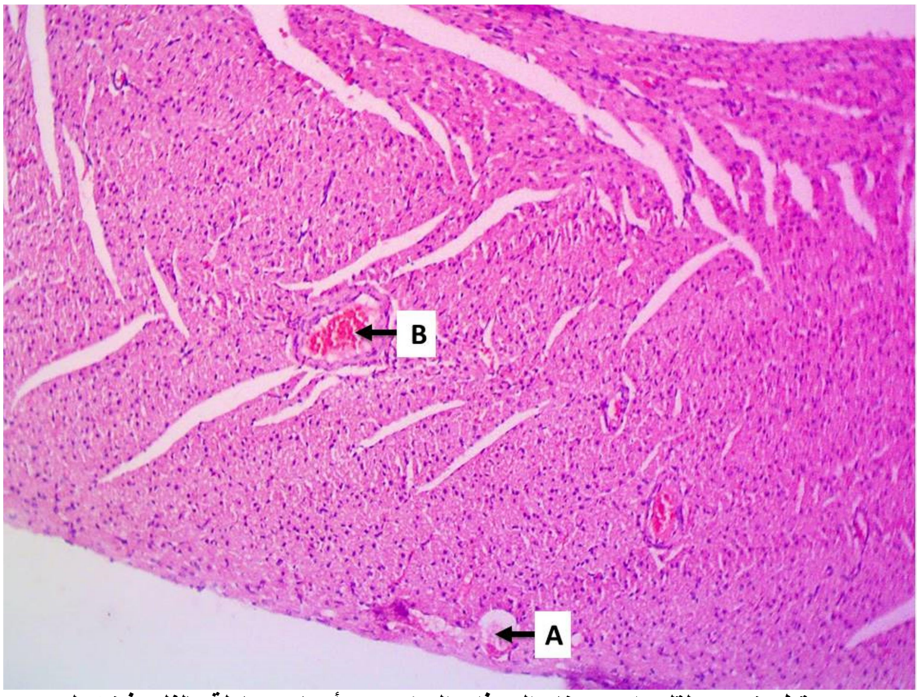
الشكل (4-15): مقطع نسجي لكبد احد صغار الجرذان الرضع من أمهات مجموعة السيطرة والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يُظهر المعالم النسيجية الطبيعية لنسيج الكبد متمثلا بالوريد المركزي (A) والمنطقة البوابية (B) والخلايا الكبدية (C). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين X100.

ب. القلب:

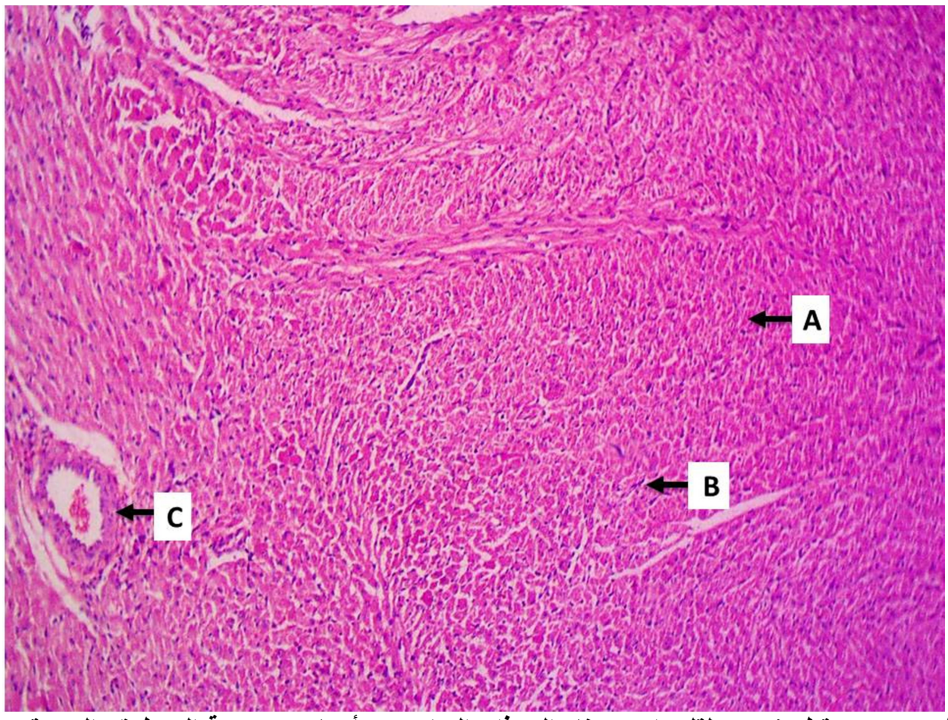
أظهر التقطيع النسجي لقلب الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) التنخر والتنكس الزجاجي للخلايا العضلية القلبية والوذمة بينها واحتقان الأوعية الدموية والنزف في حين كانت التغيرات النسيجية في قلب الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 50 ملغم/كغم تمثلت بوجود الوذمة بين الالياف والخلايا العضلية القلبية واحتقان الأوعية الدموية مقارنة بمجموعة السيطرة حيث أظهر التقطيع النسجي للقلب المعالم النسجية السوية لنسيج القلب متمثلة بالألياف والخلايا العضلية القلبية والأوعية الدموية.



الشكل(4-16) مقطع نسجي لقلب احد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح وجود التنخر(A) والتنكس الزجاجي (B) للخلايا العضلية القلبية والوذمة بينها (C) واحتقان الأوعية الدموية (D) والنزف (E). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، X100.



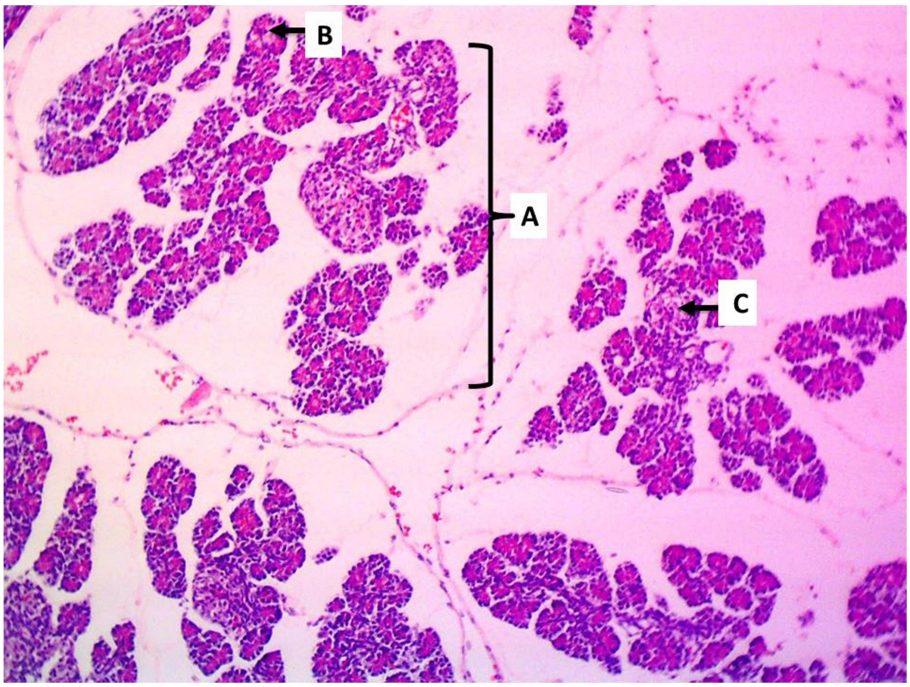
الشكل (4-17): مقطع نسجي لقلب احد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (50 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح وجود الوذمة بين الألياف والخلايا العضلية القلبية (A) واحتقان الأوعية الدموية (B). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، X100.



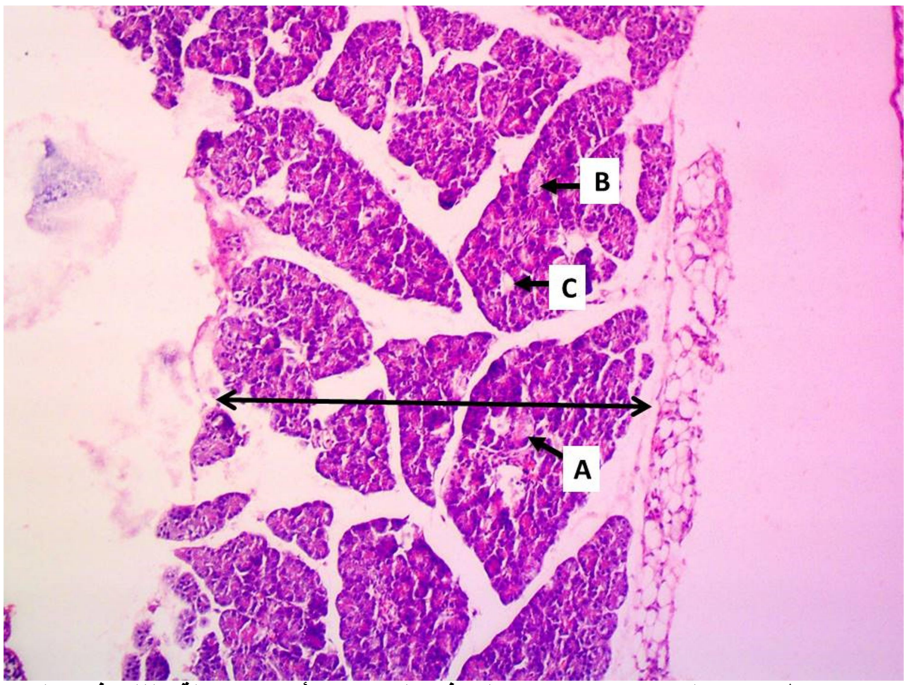
الشكل(4-18): مقطع نسجي لقلب احد صغار الجرذان الرضع من أمهات مجموعة السيطرة والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح المعالم النسيجية السوية لنسيج القلب متمثلة بالألياف (A) والخلايا العضلية القلبية (B) والأوعية الدموية (C) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، X100.

ج. البنكرياس :

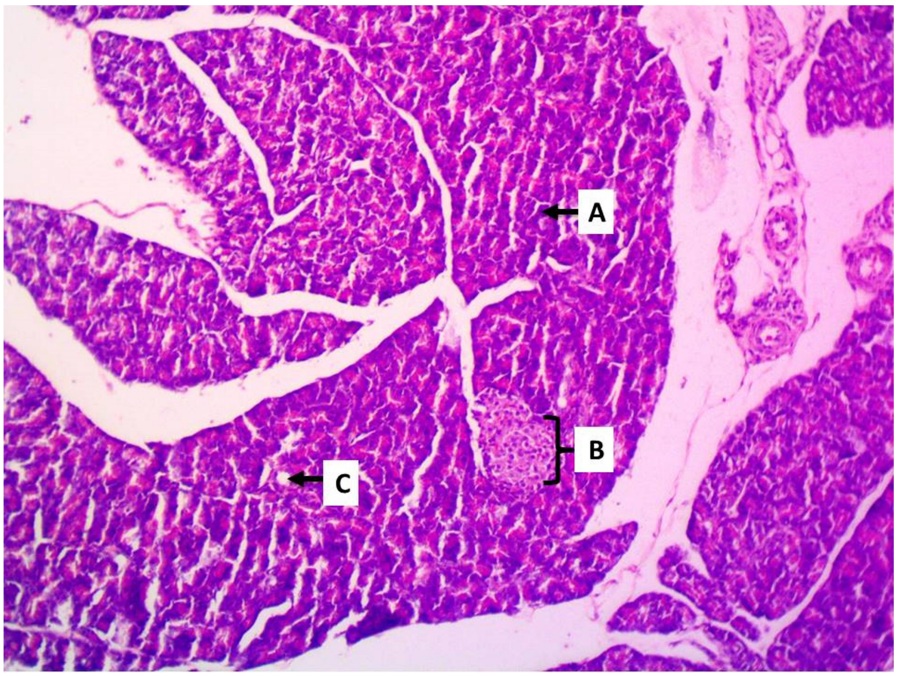
أظهر التقطيع النسيجي لبنكرياس الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21يوماً) ضمور الفصيصات البنكرياسية وصغر حجمها وتنكس خلايا العنبات البنكرياسية وتنخرها وخلايا جزر لانكرهانز في حين كانت التغيرات النسيجية في بنكرياس الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 50 ملغم/كغم ضمور النسيج البنكرياسي وصغر حجمه (↔) مع تنكس وتنخر خلايا العنبات البنكرياسية وخلايا جزر لانكرهانز والقنوات الفصية مقارنة بمجموعة السيطرة حيث أظهر التقطيع النسيجي للبنكرياس المعالم النسجية السوية لنسيج البنكرياس متمثلة بالعنبات البنكرياسية وجزر لانكرهانز والقنوات الفصية.



الشكل(4-19): مقطع نسجي لبنكرياس احد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام بعمر (21 يوماً) يوضح ضمور الفصيصات البنكرياسية وصغر حجمها (A) وتنكس وتنخر خلايا العنبات البنكرياسية (B) وخلايا جزر لانكرهانز (C) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، X100.



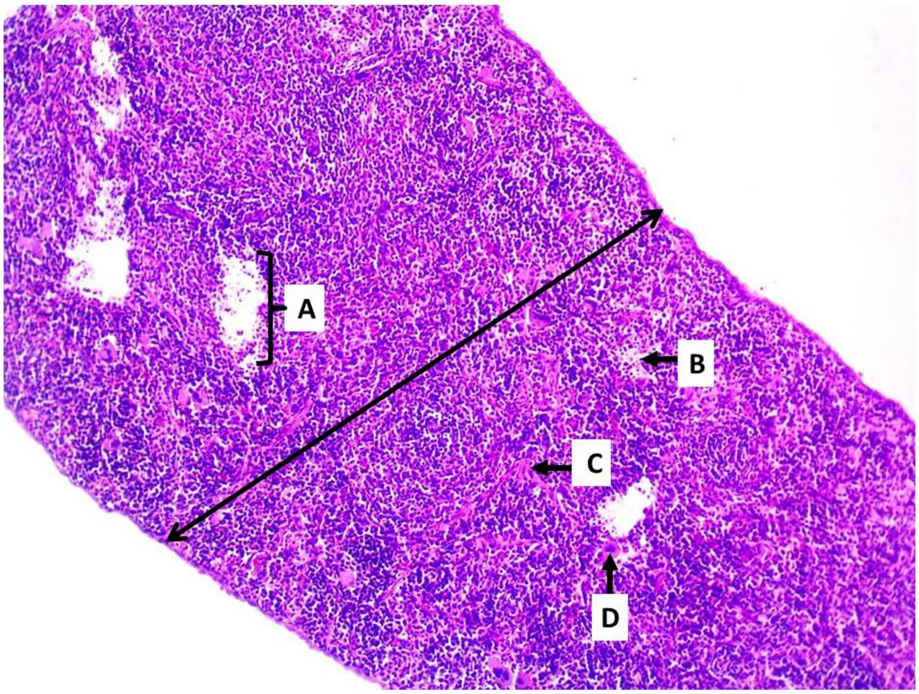
الشكل(4-20): مقطع نسجي لبنكرياس احد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (50 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح ضمور النسيج البنكرياسي و صغر حجمه (↔) مع تنكس و تنخر خلايا العنبات البنكرياسية (A) وخلايا جزر لانكرهانز (B) والقنوات الفصية (C) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، X100.



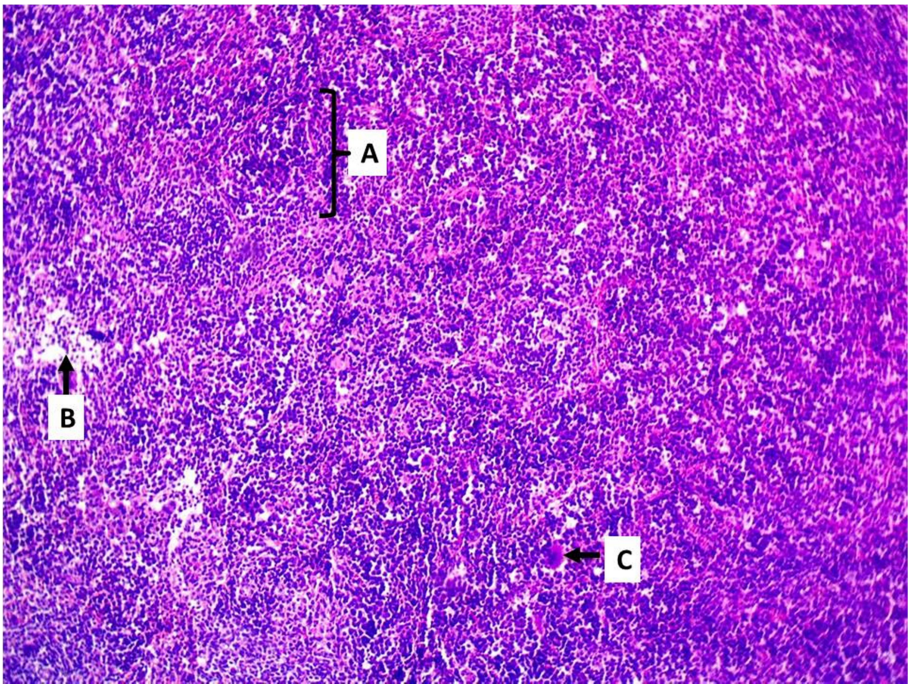
الشكل(4-21): مقطع نسجي لبنكرياس احد صغار الجرذان الرضع من أمهات مجموعة السيطرة والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح المعالم النسيجية السوية لنسيج البنكرياس متمثلة بالعنبات البنكرياسية (A) وجزر لانكرهانز (B) والقنوات الفصية (C) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، X100.

د. الطحال:

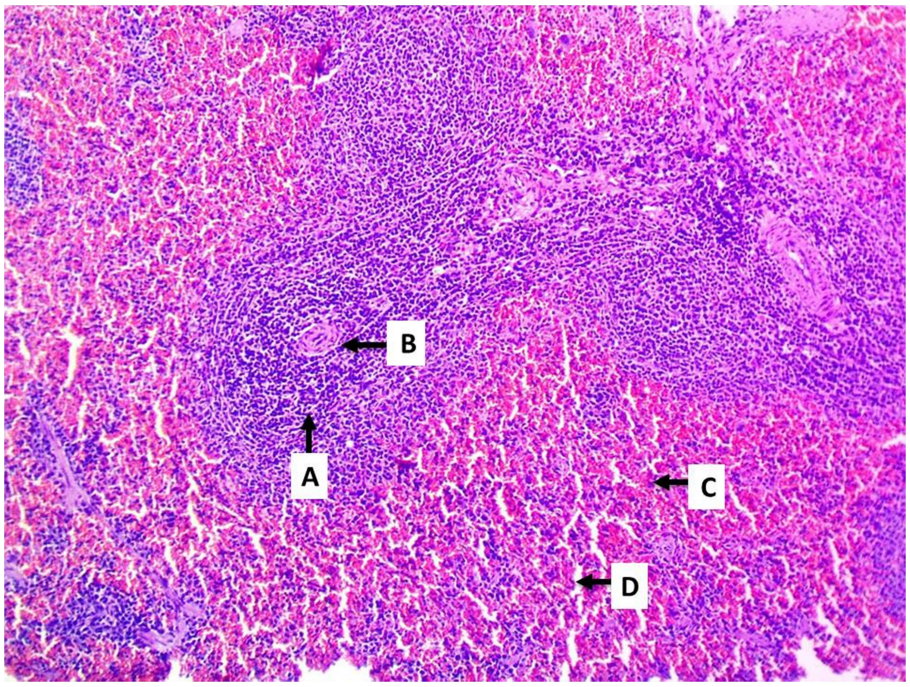
أظهر التقطيع النسيجي لطحال الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21يوماً) حدوث ضمور الطحال وصغر حجمه (↔) عن طريق فقدان وتنخر الخلايا اللمفية في اللب الأبيض وخلايا اللب الأحمر وزيادة النسيج الليفي وزيادة أعداد وضخامة البلعميات في حين كانت التغيرات النسيجية في طحال الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 50 ملغم/كغم عدم انتظام المعالم النسجية للطحال عبر ضمور اللب الأبيض وتنخر وفقدان الخلايا فيه وزيادة اعداد وضخامة البلعميات مقارنة بمجموعة السيطرة حيث أظهر التقطيع النسيجي للطحال المعالم النسجية الطبيعية متمثلة باللب الأبيض المتكون من الخلايا اللمفية والشريان المركزي المحاط باللب الأحمر وفيه الجيبانيات.



الشكل(4-22): مقطع نسجي لطحال احد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام بعمر (21 يوماً) الذي يُظهر ضمور الطحال وصغر حجمه (↔) من خلال فقدان وتنخر الخلايا اللمفية في اللب الأبيض (A) وخلايا اللب الأحمر (B) و زيادة النسيج الليفي (C) وزيادة اعداد وضخامة البلعميات (D) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين. X100.



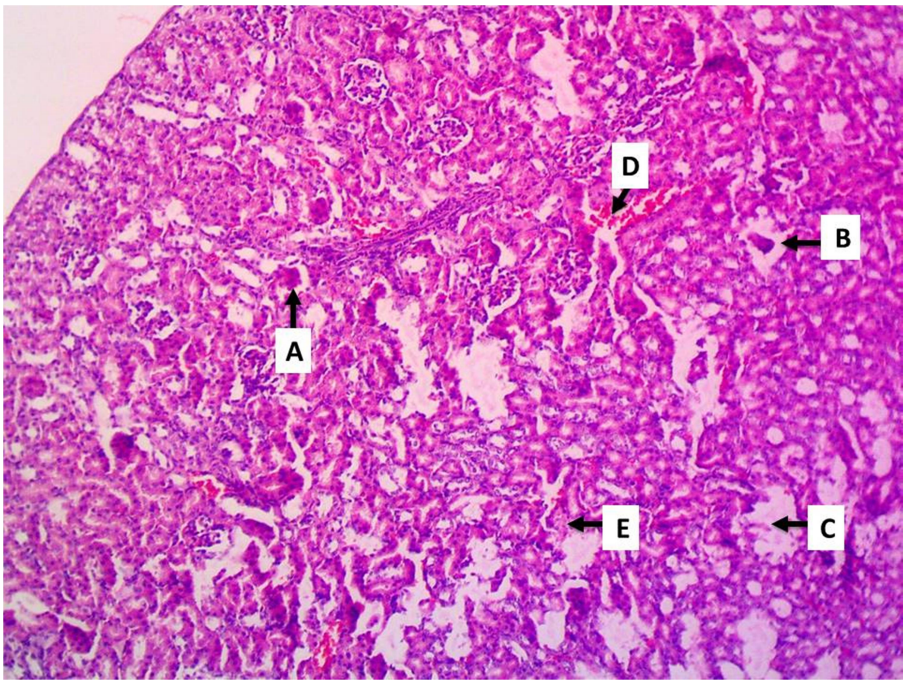
الشكل(4-23): مقطع نسجي لطحال احد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (50 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح عدم انتظام المعالم النسجية للطحال عن طريق ضمور اللب الأبيض (A) وتنخر وفقدان الخلايا فيه (B) وزيادة أعداد و وضخامة البلعميات (C) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، X100.



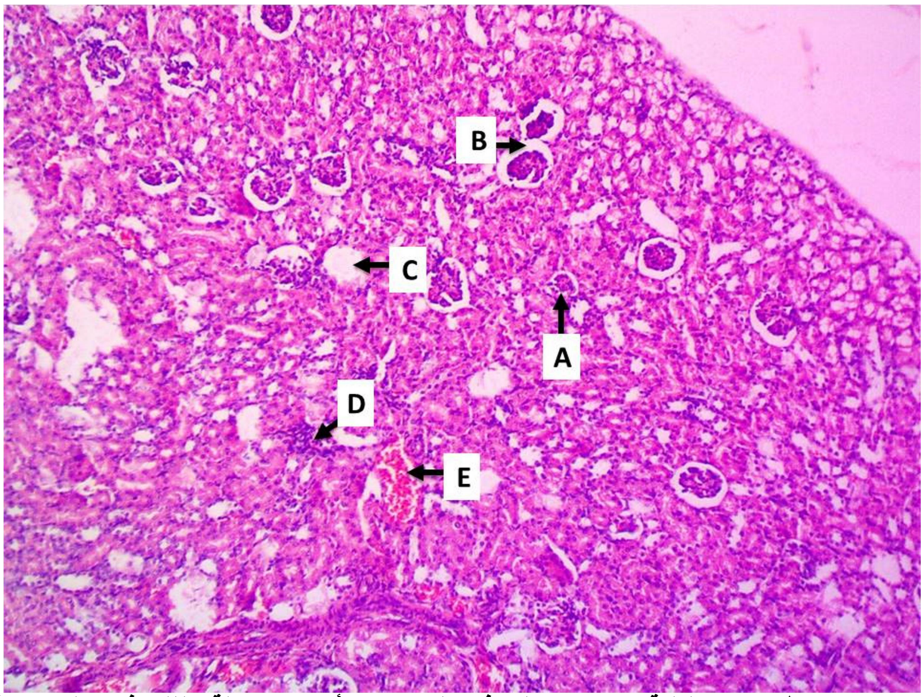
الشكل(4-24): مقطع نسجي لطحال احد صغار الجرذان الرضع من أمهات مجموعة السيطرة والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح المعالم النسيجية الطبيعية متمثلة باللب الأبيض المتكون من الخلايا اللمفية (A) والشريان المركزي (B) والمحاط باللب الأحمر (C) وفيه الجيبانيات (D) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، X100.

هـ. الكلى:

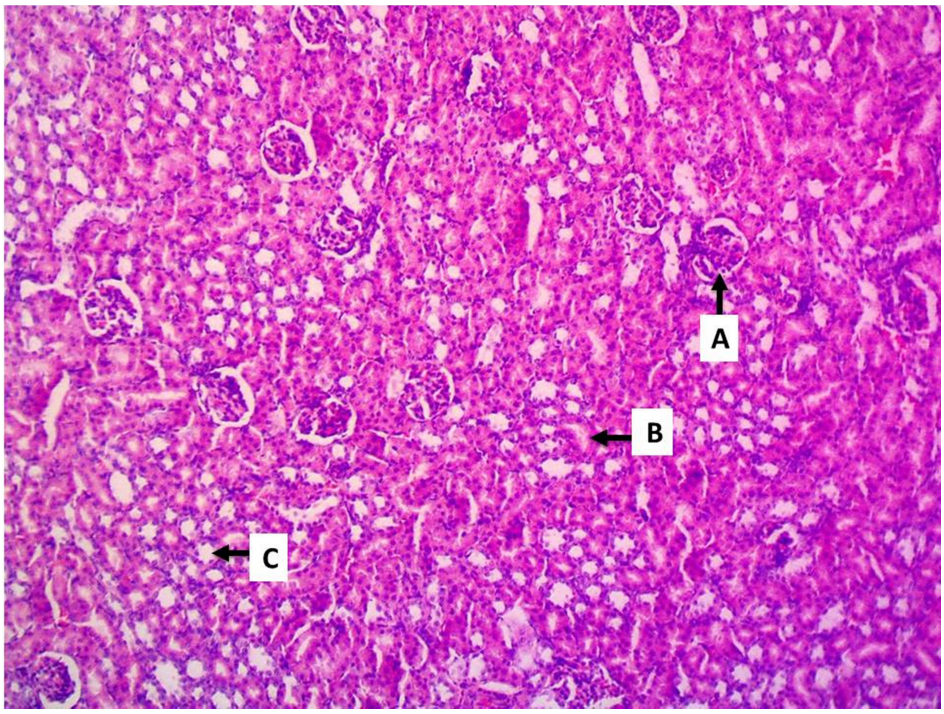
أظهر التقطيع النسيجي لكلية الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم/كغم والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21يوماً) حدوث ضمور الكبيبات الكلوية وتوسع محفظة بومان والتكيس الكلوي والنزف وتنخر الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية مع عدم انتظامها في حين كانت التغيرات النسيجية في كلية الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة 50 ملغم/كغم أظهرت حدوث ضمور الكبيبات الكلوية وتوسع محفظة بومان والتكيس الكلوي وارتشاح الخلايا الالتهابية واحتقان الأوعية الدموية مقارنة بمجموعة السيطرة حيث أظهر التقطيع النسيجي للكلية المعالم النسجية الطبيعية متمثلة بالكبيبات الكلوية المحاطة بانتظام بالنبيبات الكلوية الدانية والنبيبات الكلوية القاصية.



الشكل (4-25): مقطع نسجي لكلية احد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) الذي يُظهر وجود ضمور الكبيبات الكلوية (A)وتوسع محفظة بومان (B) والتكيس الكلوي (C) والنزف (D) وتنخر الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية مع عدم انتظامها (E) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين X100.



الشكل (4-26): مقطع نسجي لكلية احد صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (50 ملغم/كغم) والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يُظهر وجود ضمور الكبيبات الكلوية (A) وتوسع محفظة بومان (B) والتكيس الكلوي (C) وارتشاح الخلايا الالتهابية (D) واحتقان الأوعية الدموية (E) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين. X100.



الشكل (4-27): مقطع نسجي لكلية احد صغار الجرذان الرضع من أمهات مجموعة السيطرة والتي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام (21 يوماً) يوضح) الذي يوضح المعالم النسيجية الطبيعية متمثلة بالكبيبات الكلوية (A) المحاطة بانتظام بالنبيبات الكلوية الدانية (B) والنبيبات الكلوية القاصية (C) صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين، X100.

الفصل الخامس
المناقشة
Discussion

5-1:كان الهدف من الدراسة معرفة تأثير معاملة إناث الجرذان المرضعات بالفلورفينيكول على حدوث التأثيرات التطورية السمية في الصغار الرضع بالاعتماد على دراسة النسبة المئوية للبقاء والتغيرات في كل من معدل وزن الجسم ومعدل مقياس النمو وظهور علامات النضوج واختبار منعكس تصحيح وضع الجسم ودراسة التغيرات في صورة الدم والتحدي الدوائي ودراسة التغيرات النسجية – المرضية حيث أظهرت نتائج التجربة الأولى تحديد النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (0،50،100،200،400،600،800،1000 ملغم/كغم بالعضل) في الأيام الخمسة الأولى بعد الولادة، انخفاضاً معنوياً في النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بالفلورفينيكول، وبشكل يعتمد على الجرعة المعاملة بها الأمهات المرضعات، إذ بلغت هذه النسبة في الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرع 200 و400 و600 و800 و1000 ملغم/كغم الى صفر % (بحيث لم يبقَ أي صغير على قيد الحياة إلى عمر الفطام) وقد يعزى سبب ذلك إلى ان زيادة جرعة الفلورفينيكول المعاملة بها الأمهات المرضعات بهذه الجرع في دراستنا الحالية أدت إلى زيادة كمية الدواء الذي يطرح عن طريق الحليب مؤدية إلى تعرض الصغار الرضع الى مستويات عالية من الفلورفينيكول عن طريق الحليب.

وجاءت هذه النتيجة متفقة مع (Briggs, 1995) الذي أشار الى ان زيادة جرعة المركبات الدوائية المستعملة من قبل المرضعات يؤدي ذلك إلى انتقال تراكيز عالية من الدواء عبر الحليب إلى الرضع مقارنة بالجرع الواطئة، وبناء على هذا الاستنتاج فان معاملة أمهات الجرذان المرضعات بالجرع العالية من الفلورفينيكول (200 و400 و600 و800 و1000) ملغم/ كغم من وزن الجسم يؤدي الى عبور العقار الى الحليب بتراكيز عالية مقارنة بالجرع الواطئة (50 و100 ملغم /كغم)، وكما هو معروف فان آلية أيض الدواء في الكبد والطرح في الكلية غير مكتملة النمو والتطور مما يؤدي إلى حدوث انخفاض كبير في عملية تصفية الفلورفينيكول من جسم الصغار الرضع (Short, 1984;Pipach and Davis,1988) (Araymayona *et al* ., 1996;Kaartinen *et al*.,1997; Fraile *et al*.,1997 ، Bermingham *et al* .,2000); ، بالاضافة لذلك فان حجم توزيع المركبات الدوائية يكون كبيرا جدا في الصغار الرضع، وذلك لوجود نسبة عالية من الماء في جسم الصغار فضلا عن انخفاض نسبة ارتباط الأدوية ببروتين البلازما مؤديا إلى زيادة تركيز الدواء بالشكل الحر الفعال

(غير المرتبط ببروتين البلازما)، وانتشاره على نحو واسع في انسجة الجسم المختلفة للصغار، كما ان نمو الحاجز الدموي- الدماغي لم يكن كاملا أثناء الأيام الأولى من الولادة مما يسهل عبور الدواء إلى الجهاز العصبي المركزي (Short , 1984) وكل هذه الاسباب مجتمعة تؤدي إلى زيادة تركيز الدواء وتراكمه في انسجة الجسم المختلفة لصغار الرضع خصوصاً عند تعرضها للمستويات عالية من العقار مما يؤدي إلى حدوث هلاك في الصغار الرضع المعرضة للدواء عن طريق الحليب مؤدية إلى انخفاض في النسبة المئوية لبقاء الصغار (Short, 1984; Pipach & Davis, 1988).

كما يمكن ان يعزى الانخفاض المعنوي في النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام إلى صفر % إلى التأثيرات السمية الدموية (Hematotoxicity) للفلورفينكول، فقد أظهرت صورة المسحة الدموية للصغار الرضع المعرضة إلى بقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة (من مجموعة الأمهات المرضعات المعاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم/كغم) حدوث نقص صبغة الدم (hypochromia) المتمثلة بخلايا (anulocyte) الانيولسايت (شحوب مركزي واسع) في حالة مشابهة لمرض الثلاسيميا (thalassemia) بوصفه مؤشراً على حدوث خلل واضطراب في عملية صنع الهيموكلوبين الذي يعد ضرورياً لنقل الأوكسجين إلى الخلايا وسوف يؤدي هذا الاضطراب إلى حدوث حالة فقر الدم التحللي (Hemolytic anemia) وإذا كانت هذه التغيرات في صورة الدم المحيطي للصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100 ملغم /كغم فكيف سوف تكون صورة الدم في الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرع عالية (200 و400 و 600 و800 و1000 ملغم/ كغم)، من المؤكد سوف تكون التأثيرات السمية الدموية عالية جدا مما يؤدي الى هلاك الصغار الرضع بمدة قصيرة، ومن ثم تنخفض النسبة المئوية لبقاء الرضع إلى عمر الفطام إلى صفر %، وما يؤكد هذا التفسير صور الرضع المعرضة لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرع العالية (1000و600 ملغم/كغم) (كما موضح في صورة رقم 1 و3)، إذ أدى معاملة الأمهات المرضعات بهذه الجرعة العالية إلى عبور تراكيز عالية جدا من الدواء عبر الحليب إلى الصغار الرضع، ولان الايض في الكبد والطرح في الكلية غير كامل النمو والتطور أدى ذلك إلى تراكم الدواء بمستويات عالية في انسجة هذه الصغار ثم أدى الى هلاك هذه الصغار في اليوم الثالث بعد الولادة وظهور حالة شبيهة بحالة متلازمة الطفل الرمادي (Gray baby syndrome)، تلك المتلازمة التي تحدث في الصغار الرضع neonates premature المعرضة للكلورامفينكول (الذي ينتمي إلى مجموعة الفلورفينيكول نفسها) مباشرة أو عن طريق الحليب ومن أحد علاماته ازرقاق الجلد Cyanosis ويعود سبب ذلك إلى عدم اكتمال انزيمات الأيض في الكبد مصحوبة بعدم قدرة هذه الصغار على طرح الدواء عن طريق الكلية مما أدى

تراكمه بتراكيز عاليا في انسجة الجسم ومحدث(transport electron the of Blockade) إلى توقف عملية نقل الالكترون في كل من الكبد والعضلات القلبية والهيكلية مما يسبب تثبيط في عملية التنفس الخلوي Cellular respiration ومحدثا بذلك تحطيم لخلايا الجسم التي تنتهي بالموت المبرمج للخلايا (Mcintyre & Choonara , 2004).

كما يمكن للتغيرات المرضية النسيجية المحدثة في أعضاء الجسم مثل (الكبد والكلية والقلب والطحال والبنكرياس) دور في الانخفاض المعنوي في النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام، ولاسيما في كل من الكبد المسؤول عن أيض الأدوية والكلية المسؤولة عن طرحها مما يؤدي الى تراكم بقايا الفلورفينيكول في انسجة الصغار الرضع مثل القلب وحدوث التأثيرات السمية مما يؤدي إلى هلاكها، ومما يؤكد هذا التفسير التغيرات النسيجية المرضية في كل من (القلب والكلية والكبد والطحال والبنكرياس) في الصغار المعرضة لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بالدواء بجرعة 100 ملغم في دراستنا الحالية، فإذا كانت هذه التغيرات النسيجية في الصغار الرضع من أمهات معاملة بجرعة (100ملغم) فمن الطبيعي ان تكون هذه التغيرات المرضية النسيجية (القلب الكلية والكبد والطحال والبنكرياس)على أشدها في الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرع عالية (200و400و600و800 و1000 ملغم/ كغم) مما أدى إلى عدم بقاء أي من الصغار الرضع من أمهات معاملة بهذه الجرع على قيد الحياة إلى عمر الفطام.

أما فيما يخص التغيرات في معدل وزن الجسم فقد أظهرت الصغار المعرضة لبقايا الفلورفنيكول عن طريق الحليب انخفاضاً معنوياً في معدل وزن الجسم ومعدل مقياس النمو، ولاسيما في مجموعة الجرذان الرضع من أمهات معاملة بجرعة 100 ملغم/كغم وقد يعزى سبب هذا إلى التغيرات المرضية النسجية في البنكرياس التي تمثلت بحدوث ضمور في الفصيصات البنكرياسية و صغر حجمها وتنكس و تنخر خلايا العنبات البنكرياسية وخلايا جزر لانكرهانز ومن المؤكد ان تؤثر هذه التغيرات النسيجية على وظائف البنكرياس المهمة جدا لجسم الصغار ومن الملاحظ من التغيرات المرضية النسيجية في البنكرياس قد شملت تحطم خلايا بيتا (β-cells) المسؤولة عن إفراز الانسولين مما يؤدي إلى انخفاض في مستوى هرمون الانسولين وحدوث ارتفاع في سكر الدم (hyperglycaemia) ونتيجة لذلك سوف تحدث تغيرات عميقة في أيض الطاقة (energy metabolism) ، مما يؤدي إلى حالة تقويضية catabolic (condition) مع "استنفاذ شديد لكل من مخازن الطاقة وكتلة البروتين" (Hebert & Nair 2010). تؤدي حالة نقص الانسولين (insulin-deficient state) هذه إلى فقدان الوزن، إذ يضطر الجسم إلى تكسير الأحماض الدهنية للحفاظ على وظائف العضلات والانسجة الطبيعية. (Hall et al., 2021).

كما يمكن ان يعزى سبب الانخفاض في معدل مقياس النمو الى التغيرات المرضية – النسجية في الكبد مما يؤدي إلى حدوث انخفاض انتاج البروتين مما ينعكس على معدل النمو (Paulusma *et al.,* 2022)، فضلاً عن ذلك ولان الحاجز الدموي الدماغي غير مكتمل النمو والتطور في صغار الجرذان الرضع (short ,1984; Roa & Mason,1988) لذلك فمن المحتمل بان جزء من بقايا الفلورفينيكول التي عبرت الى الصغار عن طريق الحليب من أمهات معاملة بالدواء قد عبرت الى الجهاز العصبي المركزي لهذه الصغار فاحدثت هذه التأثيرات على معدل مقياس النمو (Paulusma *et al.,* 2022) . وكانت نتيجة الانخفاض المعنوي في الأوزان للصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الحليب مطابقة لما توصل اليه حديثا (Han *et al.,* 2021) من حدوث انخفاض معنوي في أوزان دجاج اللحم المعرضة للفلورفينكول عن طريق ماء الشرب وبتركيز 150ملغم/لتر ولمدة 5 أيام متتالية وقد عزى الباحث وجماعتة سبب هذا الانخفاض بانه مرتبط بتأثيرات السمية للفلورفينكول على نسيج الكبد.

أما بالنسبة للتغيرات السلوكية العصبية فان تأثير الفلورفينيكول على الجهاز العصبي للصغار الرضع المعرضة له عن طريق الحليب فقد تم كشفها بالاختبارات السلوكية العصبية (Osman & Mohammed ,2001)، إذ أظهرت الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (50 و100 ملغم/كغم) زيادة معنوية في الوقت اللازم لأنهاء اختبار منعكس تصحيح الجسم بالمقارنة مع الصغار من مجموعة السيطرة ان هذه التغيرات في السلوك العصبي تعد مؤشراً على حدوث خلل واضطراب في الجهاز العصبي للصغار الرضع الناتجة من التعرض لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الحليب، وذلك لان جميع الأعضاء الداخلية يكتمل نموها أثناء الحمل في ما عدا الجهاز العصبي والجهاز المناعي والجهاز التناسلي إذ لا يكتمل نموهما وتطورها أثناء مدة الحمل بل تستمر هذه الأجهزة بالنمو إلى ما بعد الولادة (Hood, *et al*., 2001) ، لذلك من المحتمل عند تعرض الصغار الرضع لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الحليب وبتراكيز عالية من الرضاعة سوف يؤثر على عمليات النمو والتطور للجهاز العصبي المركزي مؤدية إلى عدم اكتمال وظائف الدماغ الذي ظهر على شكل تأخير معنوي في الوقت اللازم لأنهاء اختبار منعكس تصحيح الجسم (Paulusma *et al.,* 2022).

وأدى تعرض الصغار إلى بقايا الفلورفينيكول عن طريق الحليب إلى حدوث انخفاض معنوي في مدة ظهور علامات النضوج مثل ظهور كل من الشعر والقواطع وفتح العيون، ولان ظهور هذه العلامات في الصغار الرضع مرتبط بهرمون النمو (Toriz *et al.,* 2019). لذلك من المحتمل تعرض الرضع لبقايا الفلورفينيكول أدى الى حدوث تأثير على هذا الهرمون .

وفي دراستنا الحالية أدى تعرض صغار الجرذان عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بجرعة (100 ملغم/كغم) الى حدوث سمية دموية تمثلت بظهور نقص الصبغين في خلايا

الانولسايت في حالة تشبه مرض الثلاسيميا ، وقد يُعزى سبب ذلك إلى معاملة الأمهات المرضعات بجرع عالية من الفلورفينيكول (100 ملغم/كغم) مما ادى إلى عبور تراكيز عالية من الفلورفينيكول عبر الحليب إلى الصغار الرضع ولأن سلوك الحركية الدوائية لهولاء الصغار تختلف عن سلوك البالغين من حيث حجم التوزيع وارتباط الأدوية ببروتينات البلازما وعملية الأيض في الكبد والطرح في الكلية غير مكتملة النمو (Kaartinen, *et al.,*1997) مما يؤدي الى تراكم الدواء في أنسجتها المختلفة بما في ذلك نخاع العظم الذي يحتوي على اسلاف كريات الدم الحمر الغنية بالمايتوكوندريا ، المسؤولة عن تخليق الهيموغلوبين، إذ يتم تحفيز عملية ربط الحديد مع(protoporphyrin IX) المحفز بواسطة انزيم (ferrochelatase) لتكوين الهيم، بعد ذلك يترك المايتوكوندريا إلى السايتوبلازم ليتحد مع سلسلة الغلوبين لتكوين الهيموغلوبين وبما أن المضاد البكتيري الفلورفينيكول له ميل كبير للارتباط وتثبيط المايتوكوندريا حقيقية النواة (الثديات) ولأن المايتوكوندريا كما ذكر اعلاه هي المسؤولة عن صنع الهيموغلوبين (Shetty & Corson, *et al.,* 2020) و (Hu *et al.,*2017) ، مما أدى إلى حدوث خلل في صنع الهيموغلوبين وظهور حالة hypochromia (الأنولسايت) في حالة شبيه بالثلاسيميا في المسحة الدموية في الصغار الرضع المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الحليب (مجموعة الأمهات المعاملة بـ 100 ملغم/كغم) وما يثبت هذا التفسير هو ظهور خلايا الهدف (target cell) في المسحة الدموية لصغار هذه المجموعة والتي تعتبر كمؤشر (marker) لحدوث امراضية الهيموغلوبين (Hb pathey) ، (Shirlyn *et al.,*2015).

في حين سجلت المسحة الدموية من صغار الجرذان المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بجرغة (50 ملغم/كغم) ظهور خلايا لها بروزات تشبه الأصابع (finger like projection) تبدو مثل القفاز وتعتبر كمؤشر على حدوث أمراضية الهيموغلوبين. هذه البروزات تمثل تجمع لبلورات الهيموغلوبين Hb SC ممايؤدي الى بروزها من غشاء كريات الدم الحمر تسمى هذه الحالة SC ، (Rodak &Carr ,2013).

حيث أشارت (Sathi,2020) إلى ان سبب ظهور هذه الحالةHb SC قد يعزى إلى حدوث طفرة في الجين المسؤول عن الغلوبيولين من نوع بيتا Beta globuline ممايؤدي الى تكوين هيموغلوبين من نوع Hb S وHb C وهذه الأنواع من الهيموغلوبين لها ميل الى التبلور يصاحبها حدوث جفاف dehydration المحدث بواسطة Hb C محدثا بذلك فقدان البوتاسيوم والماء وهذه التغيرات تشبه الجفاف الخلوي (cellular dehydration) يتبعه حدوث تجزىء وتحطم خلايا الدم الحمر، (Nagel, *et al.,*2003). وبالاعتماد على ما ذكر أعلاه فأن من الممكن في دراستنا الحالية أن بقايا الفلورفينيكول قد أحدث نوع من الطفرة في الهيموغلوبين في

خلايا الدم الحمرللصغار المعرضة له عن طريق الحليب، مما أدى إلى ظهور الخلايا التي لها نتوءات تشبه الأصابع (finger like projection) مثل القفاز.

ومن الجدير بالذكر إلى ان خلايا الستوماتوسايت (stomatocyte) في مسحة الدم في الصغار المعرضين لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من أمهات معاملة بجرعة (50 و100ملغم/كغم)، تعتبر كمؤشر على حدوث تأثيرات سمية على خلايا الكبد (Rodak & Carr ,2013) ، فهذا يعني ان تعرض صغار الجرذان المرضعة لبقايا فلورفينيكول عن طريق الحليب أدى إلى حدوث تأثيرات سمية على خلايا الكبد عند هؤلاء الرضع حديثي الولادة و يؤكد هذا التغيرات النسجية المرضية في خلايا كبد الصغار التي بقيت على قيد الحياة إلى عمر الفطام من أمهات معاملة بجرعة (50 و100 ملغم/كغم) وجود تنخر شديد في الخلايا الكبدية، المصدر(Hu *et al.,* 2016) الذي أشار إلى حدوث الضمور وموت الخلايا المبرمج للخلايا نخاع عظم الجرذان المعاملة بالفلورفينيكول بجرعة(1500 ملغم /كغم،عن طريق الفم) لمدة 7 أيام متتالية إلى ما توصلنا إليه في تفسير أسباب السمية الدموية في صغار الجرذان الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة 100ملغم/كغم على انه بزيادة الجرعة المعاملة بها الأمهات المرضعات من 50ملغم/كغم إلى 100ملغم/كغم أدى ذلك إلى حدوث تراكم كبير لبقايا الفلورفينيكول في انسجة الرضع ومن ضمنها نخاع العظم الغني بالخلايا المولدة لدم (Haemopiotic cell–erythroid cell) مما أدى إلى حدوث خلل واضطراب في صنع الهيموكلوبين الذي ظهر على شكل (hypochromia).

لقد أكدت لنتيجة التي توصل إليها المذكور اعلاه (Hu *et al.,*2016) وجماعته حول التأثيرات السمية على نخاع عظم الجرذان المعاملة مباشرة بالفلورفينيكول وبجرعة (1500 ملغم/كغم ،عن طريق الفم) حساسية نموذج صغار الجرذان الرضع الذي تم استخدامه في دراستنا الحالية حين ظهرت السمية الدموية في الصغار الرضع في اليوم الثالث بعد الولادة عند التعرض لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الرضاعة من الأمهات وليس مباشرة كما في البحث وبجرعة 50 إلى 100ملغم/كغم مقارنة بجرعة 1500 ملغم/كغم في نموذج الفئران.

لقد كشف التحدي الدوائي بالزايلازين والكيتامين في الصغار التي بقيت على قيد الحياة الى عمر الفطام وبعمر (21) يوما عن وجود تغيرات في استجابة الجهاز العصبي لهذا التحدي تمثلت في الأنخفاض المعنوي في فترة بدء النوم بالمقارنة بمجموعة السيطرة وقد يعزى سبب ذلك انه مرتبط بالتاثيرات السمية للفلورفينيكول على الكبد والتي ظهرت في نتائجنا الحالية على شكل تنخر شديد في الخلايا الكبدية للصغار الجرذان ولان الكبد هو المسؤول عن انتاج بروتينات البلازماوالتي ترتبط بالدواء (plasma protein binding) وبسبب هذه التغيرات النسيجية في

الخلايا الكبدية سوف ينخفض انتاج هذه البروتينات مما الى زياد نسبة الشكل الحر الفعال (unbound) للدواء الذي يستطيع العبور الى الجهاز العصبي بالمقارنة بالشكل المرتبط (bound) (Zi et al.,2020) وبذلك سوف يعبر الدواء بشكله الحر بتراكيز عالية الى الجهاز العصبي للصغار ويحدث تثبيط للجهاز العصبي والذي ظهر على شكل انخفاض معنوي في مدة بدء النوم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وبذلك تكون هذه النتيجة متفقة مع (Guo et al.,2020) الذي أشار الى تاثير الفلورفينيكول المثبط للجهاز العصبي المركزي .

كما أدى تعرض الصغار الرضع إلى بقايا الفلورفينيكول عن طريق الحليب إلى التغيرات المرضية النسجية، إذ أظهر التقطيع النسيجي لكل من (الطحال والبنكرياس والكبد والكلية القلب) لصغار الجرذان بعمر الفطام المعرضة لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الحليب تأثيرات نسيجية مرضية بطريقة معتمدة على الجرعة المعاملة بها الأمهات المرضعات، إذ أظهرت الصغار من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (100 ملغم/كغم)، تأثيرات نسيجية مرضية شديدة بالمقارنة بالصغار من أمهات معاملة بجرعة (50 ملغم/كغم) وقد يعود سبب ذلك الى انه بزيادة الجرعة المعاملة بها الأمهات المرضعات سوف يزداد عبور تراكيز عالية من الفلورفينيكول عبر الحليب الى الصغار التي تعاني من ان الأيض في الكبد والطرح في الكلية غير مكتمل النمو والتطور (Papworth and Clubb,1995) مما يؤدي إلى تراكم بقايا في انسجة هذه الصغار ومحدثة بذلك تغيرات مرضية نسيجية في هذه الأعضاء.

ان التأثيرات السمية لبقايا المضاد البكتيري البيطري الفلورفينيكول على هذه الأعضاء(الطحال والبنكرياس والكبد والكلية القلب) قد تكون مرتبطة بآلية عمل هذا المضاد البكتيري التي تتلخص بارتباطه بريبوسومات البكتريا وتثبطيه لنشاط انزيم (ribosomal peptidyl transferase activity) مما يؤدي إلى توقف انتاجها من البروتين وتثبيط نموها (bacteriostatic) (Sidhu et al.,2014)، ولان ريبوسومات المايتوكوندريا لثدييات تشبه في التركيب والخصائص الكيميائية ريبوسومات البكتريا (O'Brien, 2003;Pel and Grivell,1994) لذلك سوف يتربط الفلورفينيكول أيضا بريبوسومات المايتوكوندريا للثدييات ويؤدي هذا الارتباط إلى تثبيط المايتوكوندريا وتحطيمها (Hu *et al.*,2017)، وينتج عن ذلك ان المايتوكوندريا المتحطمة سوف تعمل على توليد أصناف الأوكسجين الفاعلة الضارة (generate harmful reactive oxygen species) (ROS) والتي تقوم بمهاجمة أغشية خلايا الأعضاء الداخلية ومحدثة بذلك تغيرات نسيجية مرضية في هذه الأعضاء التي ظهرت في دراستنا الحالية فضلاً عن حدوث تثبيط لتكاثر الخلايا (cell proliferation inhibition) والذي ظهر على شكل ضمور في كل من الطحال

والبنكريـاس (Onyango *et al.,*2017; Nagiec,2005)، وكمـا هـو معـروف ان المايتوكوندريا هـي المسؤولة عن التنفس الخلوي وانتـاج الطاقـة فـي الخليـة، لـذلك فـان التثبـيط المايتوكوندريا بواسطة الفلورفينيكول سوف يؤثر على هذه الوظائف الحيوية ويؤدي إلى موت الخلايا (Hu *et al.,*2014).

ومن الأسباب الأخرى المسؤولة عن حدوث التغيرات المرضية النسيجية في أعضاء الصغار المعرضة لبقايا الفلور عن طريق الحليب هو، وكما معروف بانه في الحالة الطبيعة فان الجسم يقوم بازلة الميتوكوندريا المحطمة والتالفة بعملية يطلق عليها البلعمة الذاتية للمايتوكوندريا (mitochondrial autophagy) للمحافظة على التوزان الخلوي (cell homeostasis)، إلا انه وجد الباحثين ان الفلورفينيكول يعرقل انجاز هذه العملية مما يؤدي بالتالي إلى حدوث أمراض التنكس بالأعصاب (neurodegenerative diseases) شيخوخة الخلايا العضلية القلبية (cardiac aging) ونقص التروية الدموية للانسجة(ischemia) ويطلق على هذه التأثيرات المرضية المحدثة بواسطة الأدوية (drug-induced tissue injury) ولاسيما الأذى الخلوي المحدث بواسطة الدواء (Dutta *et al.,*2012).

ان التغيرات النسيجية المرضية في نسيج الطحال في الصغار المعرضة لبقايا الفلورفينيكول عن طريق الحليب التي سجلت في دراستنا الحالية أظهرت ضمور الطحال وصغر حجمه من خلال فقدان وتنخر الخلايا اللمفية في اللب الأبيض وخلايا اللب الأحمر وزيادة النسيج الليفي وزيادة اعداد وضخامة البلعميات في مجموعة 100ملغم/كغم ، وكذلك أظهرت عدم أنتظام المعالم النسجية للطحال عن طريق ضمور اللب الأبيض وتنخر وفقدان الخلايا فيه وزيادة اعداد وضخامة البلعميات في مجموعة 50ملغم/كغم التي تعكس خطورة التعرض لبقايا هذا الدواء على الجهاز المناعي، وبذلك تكون متفقة مع ما توصل إليه الباحثون حول تأثير الفلورفينيكول المثبط للاستجابة المناعية. (Hassanin *et al.,*2014;Lis *et al.,*2011;Shuang *et al.,*2011)

وبناء على هذه النتيجة فمن الضروري عدم استعمال المضاد البكتيري البيطري الفلورفينيكول أثناء مدة إعطاء التلقيحات للحيوانات سواء الابقار والأغنام والماعز والدواجن، لان ذلك سوف يؤثر على الاستجابة المناعية لهذه الحيوانات.

كما يمكن ان يعزى سبب الضمور الحاصل في طحال في صغار الجرذان إلى قدرة الفلورفينيكول على إحداث موت الخلايا المبرمج (apoptosis) (Dongfang,2016)، وبناء على التفسير فان الضمور الذي ظهر في خلايا البنكرياس قد يعزى الى هذا السبب نفسه .

الاستنتاجات والتوصيات

6-1:الاستنتاجات:

أثبتت نتائج دراستنا الحالية نجاح نموذج صغار الجرذان الرضع في الكشف عن التأثيرات التطورية السمية لبقايا المضاد البكتيري البيطري الفلورفينيكول إذ أظهرت هذه الصغار الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول تأثيرات تطورية سمية تمثلت بالآتي:

1. الانخفاض المعنوي في النسبة المئوية لبقاء الصغار الرضع إلى عمر الفطام إلى صفر% في الرضع من أمهات معاملة بالفلورفينيكول بجرعة (200و400و600 و800 و1000 ملغم/كغم).
2. الانخفاض المعنوي في معدل وزن جسم ومعدل مقياس نمو الصغار الرضع التي قد تكون مرتبطة بالتغيرات المرضية – النسجية في البنكرياس والكبد.
3. سجلت الدراسة حدوث تأثيرات سلوكية عصبية في الصغار تمثلت في الإطالة المعنوية في الوقت اللازم لأنهاء منعكس تصحيح وضع الجسم.
4. الانخفاض المعنوي في مدة ظهور علامات النضوج ظهور الشعر والقواطع وفتح العيون لدى الصغار.
5. أثبت دراستنا الحالية ان الفلورفينيكول يعمل على حدوث السمية الدموية (hematotoxicity) التي تمثلت بالتغيرات في أشكال وأحجام خلايا الدم الحمر بحالة شبيهة بالثلاسيميا في المسحة الدموية للصغار.
6. كما سجلت دراستنا الحالية حدوث تغيرات مرضية – نسجية في كل من الطحال والكبد والكلية والقلب والبنكرياس لصغار الجرذان.
7. ومن الجدير بالذكر ان التأثيرات التطورية السمية في النقاط (3 و4) مع التأثيرات المرضية – النسجية في البنكرياس المذكورة في أعلاه تسجل لأول مرة في دراستنا الحالية، إذ لم نجد أياً من المراجع العلمية أشارت إلى هذه التأثيرات السمية للفلورفينكول.

6-2:التوصيات:

1. دراسة التأثيرات التطورية السمية في انوع اخرى من الحيوانات المختبرية.
2. دراسة تأثير الفلورفينيكول المحدثة لإجهاد التأكسدي.
3. دراسة تأثير تداخل الفلورفينيكول مع مضادات الأكسدة.

المصادر

References

أ- المصادر العربية:

جودة، أحمد محفوظ (2008). التحليل الإحصائي المتقدم باستعمال SPSS . الطبعة الأولى، دار وائل للنشر، عمان الاردن.

شميس ، ليجيا ايليا متي (2006) . تقييم التأثيرات التطورية السمية في الجرذان المعرضة للاوكسفندازول خلال فترة الحمل الرضاعة . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري, جامعة الموصل, الموصل, العراق .

شندالة، محمد خالد، القاسم ، ناظم احمد حسن ، شعبان ، خالد احمد ، شهاب ، انتصار خزعل ، حسين ، الياس خضر، الياس ، حارث يونس (2006). دراسة التأثيرات السمية لطرح البندازول عن طريق الحليب على صغار الجرذان الرضع . منشور في المؤتمر العلمي الرابع ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق.

ب-المصادر باللغة الإنكليزية:

Alcorn, J., and McNamara, P. J. (2002). Acyclovir, ganciclovir, and zidovudine transfer into rat milk. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46(6): 1831-1836.

Araymayona, J. J. ,Mora, J.and Fraile , L .J .(1996). Pentration of enrofloxacin and ciprofloxacin into breast milk and pharmacokinetics of the drugs in lactating rabbits to eliminate enrofloxacin and ciprofloxacin. Veterinary Journal., 19:122-126.

Aslan, V., Maden, M., Erganis, O., Birdane, F. M., Corlu, M. (2002). Clinical efficacy of florfenicol in the treatment of calf respiratory tract infections. Veterinary Quarterly. 24:35–39.

Balbi, H . J. (2004). Chloramphenicol: a review. Pediatr. Rev.;25:284–288.

Berglund,F.(1981). Drug during pregnancy and breast-feeding. Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica.126(supp1):11.

Bermingham , E., Papich , M. G. and Virrette, S. L. (2000). Pharmacokinetics of enrofloxacin administration intravenously and orally to foals . American Journal of Veterinary Research.,(61)6 :9-706.

Bell, E. L., Klimova, T. A., Eisenbart, J., Moraes, C. T., Murphy, M. P., Budinger, G. S., & Chandel, N. S. (2007). The Qo site of the mitochondrial complex III is required for the transduction of hypoxic signaling via reactive oxygen species production. The Journal of cell biology, 177(6), 1029-1036.

Branski, D., Kerem, E., Gross-Kieselstein, E., Hurvitz, H., Litt, R., and Abrahamov, A. (1986). Bloody diarrhea--a possible complication of sulfasalazine transferred through human breast milk. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 5(2), 316-317.

Briggs, G. C (1995). Teratogenicity and Drug in Breast Milk. In: Yong,L.Y. and Koda-Kimbles,M.A (eds).6th ed.,Applied Therapeutic., Inc.Vancover,WA.,45:1-4.

Buist,A.,Norman,T.R. and Dennerstein,L.(1990).Breastfeeding and the use of psychotropic medication. Journal of Affective Disorders, 19: 197-206.

Burt, V. K., Suri, R., Altshuler, L., Stowe, Z., Hendrick, V. C., and Muntean, E. (2001). The use of psychotropic medications during breast-feeding. American Journal of Psychiatry, 158(7): 1001-1009.

Cannon, M., Harford S, Davies J. (1990).A comparative study on the inhibitory actions of chloramphenicol, thiamphenicol and some

fluorinated derivatives. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 26:307–317.

Chin,K.G.,Haaf, C. M., and McPherson,C.E.(2000).Use of anti-infective agents during lactation:part 1-beta-lactam antibiotics,vancomycin, quinupristin-dalfopristin, and linezolid. Journal of Human lactation, 16:351-358.

Coles, E .H. (1986). Veterinary clinical pathology. 4th ed.W.B. Saunders. Co. Philadelphia, London. Toronto., pp.10-86.

De Craene, B. A., Deprez, P., D'Haese, E., Nelis, H. J., Van den Bossche, W., and De Leenheer, P. (1997). Pharmacokinetics of florfenicol in cere- brospinal fluid and plasma of calves. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 41(9):1991-1995.

De vries , W.B . , Van der ,F .R . , Bakker , J . M . , Kamphuis , P. J . , Vanoosterhout , M .F . , Schipper , M .E . , Smid , G .B . ,Bartelds , B . and Vandel , F .(2002) . Alteration in adult rat heart after neonatal dexomethasone therapy . Pediatric Research, 52(6):900-906.

Dillon,A .E., Wagner,C .L.,Wiest,D.and Newman,R .B.(1997).Drug therapy in the nursing mother. Obstetrics and Gynecology Clinics of North America, 24:675-697.

Dutta, D., Calvani, R., Bernabei, R., Leeuwenburgh, C. & Marzetti, E. (2012). Contribution of impaired mitochondrial autophagy to cardiac aging: mechanisms and therapeutic opportunities. Circulation Research, 110: 1125-1138.

Edson, R. S. and Terrell, C. L.(1999). Symposium on antimicrobial agents-part VIII:the aminoglycosides . Mayo Clinic Proceedings, 74:519-528.

Flagel , S . B . , Vazquez , D . M . , Watson , S . J . and Neal , C. R . (2001) .Effect of tapering neonatal dexamethasone on rat growth , neurodevelopment , and stress response . American Journal of Physiology Regulatory Physiology, 282:55-63.

Fleishaker, J. C.and McNamara, P. J.(1988).In vivo evaluation in the lactating rabbit of a model for xenobiotic distribution in to breast milk . Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 244:919-924.

Fraile , L .J., Martinez , C. and Aramayona, J .J. (1997). Limited capacity of neonatal rabbits to eliminate enrofloxacin and ciproFloxacin. Veterinary Journal, 19(4): 7-162.

Gaikowski, M. P., Wolf, J. C., Endris, R. G., and Gingerich, W. H. (2003). Safety of Aquaflor (florfenicol, 50% type A medicated article), administered in feed to channel catfish, Ictalurus punctatus. Toxicologic Pathology, 31(6): 689-697.

Gerk, P. M., Paxton, E. W., Moscow, J. A., and McNamara, P. J. (2001). Interactions between cimetidine, nitrofurantoin, and probenecid active transport into rat milk. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 296(1): 175-180.

Gerk, P. M., Hanson, L., Neville, M. C., & McNamara, P. J. (2002). Sodium dependence of nitrofurantoin active transport across mammary epithelia and effects of dipyridamole, nucleosides, and nucleobases. Pharmaceutical Research, 19(3): 299-305.

Green, C. J. , Knight, J. , Precious, S. and Sinpkin, S. (1981) .Ketamine alone and Combined with diazepam or xylazine in laboratory animal . In:Hall, L. W., Clarke, K. W. and Trim, C. M. Veterinary Anaesthesia., 10th ed., Elesvier Science Limited ,New York, USA.pp.467.

Gregg, L .V. (2000). Hematology techniques and concepts for veterinary techniques. 1st ed. Iowa State Univ. Press., pp .97-100.

Guo, R., Zhang, Y., Zhang, X., Zhang, Q., Cheng, R., Md Mostafizur, R., and Liu, Y. (2020). Effects of Florfenicol exposure on growth, development and antioxidant Capacity of Flounder Paralichthys olivaceus larvae at different developmental stages. Journal of Oceanology and Limnology. 38(2), 550-559.

Hall, R., Keeble, L., Sünram-Lea, S. I., & To, M. (2021). A review of risk factors associated with insulin omission for weight loss in type 1 diabetes. Clinical Child Psychology and Psychiatry, 26(3): 606-616.

Han, C., Cui, Y., Guo, Y., Zhang, D., Wang, X., Geng, Y., Shi,W and Bao, Y. (2021). Proteome and transcriptome analysis revealed florfenicol via affected drug metabolism and lipid metabolism induce liver injury of broilers. Poultry Science, 100(9): 1-12.

Hassanin, O., Abdallah, F., and Awad, A. (2014). Effects of Florfenicol on the immune responses and the interferon-inducible genes in broiler chickens under the impact of E. coli infection. Veterinary Research Communications publishes, 38(1): 51-58.

Hebert, S. L., & Nair, K. S. (2010). Protein and energy metabolism in type 1 diabetes. Clinical Nutrition, 29(1): 13-17.

Hoar, B. R., Jelinski, M. D., Ribble, C. S., Janzen, E. D., & Johnson, J. C. (1998). A comparison of the clinical field efficacy and safety of Florfenicol and tilmicosin for the treatment of undifferentiated bovine respiratory disease of cattle in western Canada. Canadian Veterinary Journal, 39(3): 161.

Hood, R. D. , Rousseaux, C. G. and Blakley, P. M. (2001) . Embryo and fetus, In : Haschek, W. M., Rousseaux, C. G. and Wallig, A.(eds).Hand Book Toxicologic Pathology., 2nd ed .A Harrcourt Science and Technology Company, Academic Press. pp.895-932.

Hu, D., Cao, S., Zhang, G., Xiao, Y., Liu, S., and Shang, Y. (2017) Florfenicol-induced mitochondrial dysfunction suppresses cell proliferation and autophagy in fibroblasts. scientific reports, 7(1): 1-13.

Hu, D., Han, Z., Li, C., Lv, L., Cheng, Z., and Liu, S. (2016). Florfenicol induces more severe hemotoxicity and immunotoxicity than equal doses ofchloramphenicol and thiamphenicol in Kunming mice. Immunopharmacology and Immunotoxicology. 38 (6): 472-485.

Hu, D., Zhang, T., Zhang, Z., Wang, G., Wang, F., Qu, Y., and Liu, S. (2014). Toxicity to the hematopoietic and lymphoid organs of piglets treated with a therapeutic dose of florfenicol. Veterinary Immunology and Immunopathology,162(3-4), 122-131.

Kaartinen, L. , Pyorala, S.and Moilanen,M.(1997). Pharmacokinetics of enroFloxacin in newborn and one week old calves. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 20:82-479.

Kari,F.W,Weaver, R. and Neville, M.C.(1997). Active transport of nitrofurantion across the mammary epithelium in vivo. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 280:664-668.

Kohn, D. F. , Barthold , S. P.(1984). Biology and Diseeses of Rats .In: Fox,J.G.. editor. Labrotory Animal Medicine. Academic Press Inc. (London) Ltd. pp.95-97.

Lobell, R. D., Varma, K. J., Johnson, J. C., Sams, R. A., Gerken, D. F., and Ashcraft, S. M. (1994). Pharmacokinetics of Florfenicol following intravenous and intramuscular doses to cattle. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 17(4): 253-258.

Luna L.G. (1968). Manual of histological staining methods of armed forces instant of pathology. 3rd ed. McGraw . Hill Book Co. 3.

Mohammad, F.K. (2000). Laboratory Guide in Toxicology. 1st ed., College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq, pp. 1–3.

Matsuda, S.(1984).Transfer of antibiotics in to maternal milk. Biological research in pregnancy and perinatology, 5:57-60.

McDaniel , K. L. and Moser , V. C.(1993).Utility of aneurobehavioural screening battery for differentiating the effects of two pyrethroides, permethrin and cypermethrin. Neurotoxicology and Teratology, 15: 71-83.

McIntyre, J., and Choonara, I. (2004). Drug toxicity in the neonate. Neonatology, 86(4), 218-221.

McKellar, Q. A., & Varma, K. J. (1996). Pharmacokinetics and tolerance of florfenicol in equidae. Equine Veterinary Journal,28(3): 209-213.

McNamara,P.J.,Meece,J.A.and Paxton,E.(1996). Active transport of cimetidine and ranitidine in to the milk of Sprague dawley rat. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 277:1615-1621.

Mohammad, F. K. (1984) . Assessment of behavioral, neurochemical and development effects in developing rats, following utero exposusre to non teratogenic level of 2-4-D and 2,4.5.T.Ph.D. Thesis, University of Missouri – Columbia.

Morselli,P. L,(1980). Clinical pharmacokinetics in newborns and infants. Clinical Pharmacokinetics, 5:485-527.

Murray, L.and Sergar, D.(1994).Drug therapy during pregnancy and lactation. Emergency Medicine Clinics of North America, 12:129-1.

Nagel, R. L., Fabry, M. E., and Steinberg, M. H. (2003). The paradox of hemoglobin SC disease. Blood reviews, 17(3):167-178.

Nagiec, E. E., Wu, L., Swaney, S. M., Chosay, J. G., Ross, D. E., Brieland, J. K., and Leach, K. L. (2005). Oxazolidinones inhibit cellular proliferation via inhibition of mitochondrial protein synthesis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49(9), 3896-3902.

Nisha AR. (2008). Antibiotic residues—A global health hazard. Veterinary World, 1(12):375-377 .

Nurnberg,H. G.(1981). Breastfeeding and psychotropic agent. American Journal of Psychiatry, 138:120-121.

O'Brien, T. W. (2003). Properties of human mitochondrial ribosomes. International Union of Biochemistry and Molecular Biology life, 55(9), 505-513.

Onyango, I. G., Khan, S. M. & Bennett, J. P. Jr. (2017). Mitochondria in the pathophysiology of Alzheimer's and Parkinson's diseases. Frontiers in Bioscience, 22:854-872.

Osman, I. M. and Mohammad, F. K. (2001). Pharmacological and toxicological challenges reveal the depressant action of cadmium in rats. Iraqi Journal of Pharmacy, 1: 80- 88.

Papich, M. G . (2016). Saunders handbook of veterinary drugs : small and large animal . 4th ed. Elsevier ,pp.327-329.

Papworth, T. A. and Clubb, S. K. (1995). Clinical pathology in the neonatal rat. Comparative Haematology International , 5, 237–250.

Patricia, M.D.(2013). Chloramphenicol, Thiamphenicol, and Florfenicol.pp.269-277. *In*: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. Fifth Ed., John Wiley.pp:269-277.

Paulusma, C. C., Lamers, W., Broer, S., & van de Graaf, S. F. (2022). Amino acid metabolism, transport and signalling in the liver revisited. Biochemical Pharmacology, 1-16.

Pel, H. J., & Grivell, L. A. (1994). Protein synthesis in mitochondria. Molecular Biology Reports, 19(3), 183-194.

Pipach, M. G. and Davis, L. E.(1988). Drug therap during pregnancy and neonate. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice .16:525-539.

Power, C., Sayers, R., Danaher, M., Moloney, M., O'Brien, B., Furey, A., and Jordan, K. (2014). Investigation of the persistence of

Florfenicol residues in bovine milk and fate during processing. International Dairy Journal, 39(2): 270-275.

Priebe, S., and Schwarz, S. (2003). In vitro activities of Florfenicol against bovine and porcine respiratory tract pathogens. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 47(8): 2703-2705.

Riviere, J. E. and Sundlof,S. F.(2001).Chemical residues in tissue of food animals .In:Vet Pharm Therap.Richard,H.D.(ed)8th Blakwell Publishing Company.Iowa State Press:948-953.

Rivera-Calimlin,L.(1987).The significance of drug in breast milk:pharma-cokinetic considerations. Clinics in Perinatology, 14:51-70.

Roa, D.N.R. and Mason, R.P. (1988). Reduction of nitroheterocyclic drugs by ascorbate and catecholamines: apossible mechanism for the neurotoxicity of nitroheterocyclic drugs. Basic Life Sciences, 49:787-794.

Rodak, B. F and Carr, H. J .(2013). Clinical Hematology Atlas. 4th ed .Elsevier Saunders . by Saunders, an imprint of Elsevier Inc, pp105-108.

Rozman,K. K., Klaassen,C. D.(2001).Absorption,distribution and excretion of toxicants.In:Casarett and Doulls Toxicology:The basic Science of Poisons .Klassen,C.D.,ed.6th ed.McGRAW-Hill Companies,Inc-Medical Publishing division 129.

Ruiz B, J., Zapata N, M., López C, C., and Gutiérrez H, F. (2010). Florfenicol concentrations in milk of lactating cows postreated by intramuscular or intramammary routes. Revista Medicina Veterinaria Zootecnia Córdoba, 15(2):2041-2050.

Runyon, R. P. (1977). Non paramatric statistic : Acontempoary Approach. Addison-Wesley Publishing Co., Reading, Masschussetts, pp.42-44., 83-87.

Sadeghi, A. S., Mohsenzadeh, M., Abnous, K., Taghdisi, S. M., & Ramezani, M. (2018). Development and characterization of DNA aptamers against Florfenicol: fabrication of a sensitive fluorescent aptasensor for specific detection of florfenicol in milk. Talanta, 182: 193-201.

Sathi,K.B. (2020). Hemoglobin SC Disease: Phenotypic Variability and Therapeutic Options. American Journal of Biomedical Science & Research, 5(7): 441-448.

Scheepens, A . , Waarenburg, M. V. , Hove, D. V. and Blanco, C. E. (2003) . Asingle course of prenatal betamethasone in the rat alters postnatal brain cell proliferation but not apoptosis . The Journal of Physiology, 552(1):163-175.

Schwarz, S., Kehrenberg, C., Doublet, B., & Cloeckaert, A. (2004). Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. Federation of European Microbiological Societies microbiology reviews, 28(5): 519-542.

Shemiis ,L.E and Shindala M. K. (2010). Developmental toxic effects in suckling pups of rats from dams treated with diclofenac . iraq journal of veterinary science, 24 (2): 155-161.

Shetty, T., and Corson, T. W. (2020). Mitochondrial heme synthesis enzymes as therapeutic targets in vascular diseases. Frontiers in Pharmacology, 11(1015):1-11.

Shin, S. J., Kang, S. G., Nabin, R., Kang, M. L., & Yoo, H. S. (2005). Evaluation of the antimicrobial activity of Florfenicol against

bacteria isolated from bovine and porcine respiratory disease. Veterinary Microbiology, 106(1-2): 73-77.

Shindala, M. K., and Al-Jobory, A. M. (2009). Developmental toxic effects in suckling pups of rats from dams treated with enrofloxacin. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, 23(Suppl. 1):33-40.

Shirlyn, B. ,McKenzie, J. Lynne Williams, & Piwowar K.L.(2015) . "Clinical laboratory hematology". 3rd ed . Pearson Education, Inc ,pp .201.

Short,C.R.(1984). Drug dispostion in neonate animale.J. American Veterinary Medical Association,184:11-1162 .

Shuang, G., Yu, S., Weixiao, G., Dacheng, W., Zhichao, Z., Jing, L., & Xuming, D. (2011). Immunosuppressive activity of Florfenicol on the immune responses in mice. Immunological Investigations, 40(4): 356-366.

Sidhu, P., Rassouli, A., Illambas, J., Potter, T., Pelligand, L., Rycroft, A., & Lees, P. (2014). Pharmacokinetic–pharmacodynamic integration and modelling of florfenicol in calves. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics, 37(3): 231-242.

Soback, S., Paape, M. J., Filep, R., and Varma, K. J. (1995). Florfenicol pharmacokinetics in lactating cows after intravenous, intramuscular and intramammary administration. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 18(6): 413-417.

Spigset,O.and Hagg,S.(1998).Excretion of psychotropic drug in to breast milk:pharmacokinetic overview and therapeutic implication CNS drug, 9(2):111-134.

Stang, H. (1986). Pyloric stenosis associated with erythromycin ingested through breast milk. Minnesota Medicine , 69: 669-670.

Stefan S. S., Corinna ,K. A., Benoıt . B. and Axel C., B.(2004) Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. FEMS Microbiology Reviews, 28: 519–542.

Settepani, J.A. (1984) The hazard of using chloramphenicol in food animals. Journal of the American Veterinary Medical Association, 184(8): 930–931.

Sweet,D.H.,Walff,N.A.and Pritchard,J.B.(1997).Expression cloning and characterization of ROAT1,the basolateral organic anion transporter in rat kidney . Journal of Biological Chemistry, 272:30088-30095.

Sweetman ,S.C. (2005). Martindale the complete drug reference .34th ed , pharmaceutical press , great Britain by William clowes ,Suffolk.pp.690-692.

Toriz, C. G., Melo, A. I., Solano-Agama, C., Gómez-Domínguez, E. G., Martínez-Muñoz, M. D. L. A., Castañeda-Obeso, J., and Mendoza-Garrido, M. E. (2019). Physiological changes of growth hormone during lactation in pup rats artificially reared. Plos one, 1-26.

Turton, J. A., Andrews, C. M., Havard, A. C., Robinson, S., York, M., Williams, T. C., and Gibson, F. M. (2002). Haemotoxicity of thiamphenicol in the BALB/c mouse and Wistar Hanover rat. Food and Chemical Toxicology, 40(12): 1849-1861.

Turton, J. A., Havard, A. C., Robinson, S., Holt, D. E., Andrews, C. M., Fagg, R., & Williams, T. C. (2000). An assessment of chloramphenicol and thiamphenicol in the induction of aplastic

anaemia in the BALB/c mouse. Food and Chemical Toxicology, 38(10): 925-938.

Tuttle, A. D., Papich, M. G., and Wolfe, B. A. (2006). Bone marrow hypoplasia secondary to Florfenicol toxicity in a Thomson's gazelle (Gazella thomsonii). Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 29(4): 317-319.

Ueda, Y., Ohtsuki, S., and Narukawa, N. (1995). Efficacy of Florfenicol on experimental Actinobacillus pleuropneumonia in pigs. The Journal of Veterinary Medical Science, 57(2): 261-265.

Varma, K. J., Adams, P. E., Powers, T. E., Powers, J. D., and Lamendola, J. F. (1986). Pharmacokinetics of Florfenicol in veal calves. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 9(4), 412-425.

Vragović N, Bažulić D, Njari B. (2011).Risk assessment of streptomycin and tetracycline residues in meat and milk on Croatian market. Food and Chemical Toxicology. 49:352-355.

Wang ,H , Wang,Na , Wang,Bin , Fang,Hong , Fu, Chaowei, Chuanxi Tang , Feng Jiang , Ying Zhou , Gengsheng He , Qi Zhao , Yue Chen , Qingwu Jiang . (2016) . Antibiotics detected in urines and adipogenesis in school children. Environment International, 89: 204–211.

Wilson, D. J., Sears, P. M., Gonzalez, R. N., Smith, B. S., Schulte 3rd, H. F., Bennett, G. J. & Johnson, C. K. (1996). Efficacy of Florfenicol for treatment of clinical and subclinical bovine mastitis. American Journal of Veterinary Research, 57(4), 526-528.

Wilson,J. T.(1981a).pharmacokinetic of drug excretion .In:Wilson,J.T.(ed). Drug in Breast Milk.Sydney:ADIS press;pp.15-31.

Wilson,J. T.(1981b). Producing and characteristic of breast milk.In:Wilson,J.T. (ed).Drug in Breast Milk.Sydney:ADIS press;pp.4-15.

Xiao, Z., Song, R., Rao, Z., Wei, S., Jia, Z., Suo, D.,and Fan, X. (2015). Development of a subcritical water extraction approach for trace analysis of chloramphenicol, thiamphenicol, Florfenicol, and Florfenicol amine in poultry tissues. Journal of Chromatography A, 1418:29–35.

Zhang, Q., Cheng, J., and Xin, Q. (2015). Effects of tetracycline on developmental toxicity and molecular responses in zebrafish (Danio rerio) embryos. Ecotoxicology, 24(4): 707-719.

Zi,Q, Y. ; Chun, Qi ; Zhi-C, Ya ; Lei, Y ; Lu,N S ;Yi ,Q ; Xue,H Z ;Ling, M ; Xiao,Y .Z and Yong, Wa .(2020) .The Impact of Plasma Protein Binding Characteristics and Unbound Concentration of Voriconazole on Its Adverse Drug Reactions .Frontiers in Pharmacology, 11(505):1-11 .

Abstract

The aim of the research was to study the developmental toxic effects in young pups of rats exposed to florfenicol through milk based on the changes in both body weight rate, growth scale rate, appearance of signs of maturation, body righting reflex test and the pharmacological challenge besides studying changes in blood picture as well as detecting the histopathological changes in the liver, kidneys, spleen, heart and pancreas.

Young pups of rats from mothers treated with florfenicol at a dose 0, 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000 mg/kg in muscel during the first five days after birth and depending on the dose showed a significant decrease in the percentage of survival from 100% for the young of mothers treated with florfenicol at a dose of 0,50,100 mg/kg in muscel to 0% for the young of mothers treated with Florfenicol at a dose of 200,400,600,800 and 1000 mg/kg in muscel.

Young pups of rats from mothers treated with florfenicol at a dose of 50 and 100 mg/kg in muscel during the first five days after birth, and depending on the dose, showed a significant decrease in both average body weight and growth scale, in addition, it showed a significant increase in the time required to complete the test righting reflex. With regard to the duration of the appearance of signs of maturation, the suckling pups of dams treated with florfenicol at a dose of 100 mg/kg showed a significant decrease in opening eyes, appearance of incisors, appearance of hair accompanied by a significant increase in the duration of ear opening compared to pups of dams of the control group.

The drug challenge with ketamine (50 mg/kg, intraperitoneal) with xylazine (5 mg/kg, intraperitoneal) significantly reduced sleep onset time compared to the control group, and as shown by the blood smear from pups exposed to florfenicol residues through dams treated with the drug

at a dose100 mg/kg resulted in the crossing of high concentrations of the drug in milk to pups, which resulted in severe hematological toxicity represented by the appearance of anulocytes (wide central pallor) as an indicator of hypochromicity in a case similar to thalassemia and accompanied by the appearance of stomatocytes and target cells, while the blood smear from the pups exposed to florfenicol through lactation from dams treated with a dose 50 mg/kg on the third postnatal day showed cells with finger-like protrusions which are an indication of hemoglobinopathy.

Exposure of pups to florfenicol residues through lactation from dams treated with florfenicol at a dose of 50 and 100 mg/kg led to. histopathological changes depended on the severity of the dose, as represented in the occurrence of severe necrosis in each of the hepatocytes, cardiac cells, pancreatic vasculature cells and lymphocytes in the white pulp of the spleen, accompanied by atrophy of the pancreatic acini and spleen in the white pulp and kidneys, atrophy of the renal tubules.

We conclude from our current study that exposure of pups to Florfenicol residues through milk led to developmental toxic effects, accompanied by hematological and immunotoxic effects besides the histopathological changes Therefore, we recommend the owner of cows, sheep, goat, poultry, following the withdrawal period from body before marketing and selling these animals, in order to reduce the dangerous exposure of a consumers to animals products (meat, milk, and eggs) to the residues of the veterinary antibactrial Florfenicol and the toxicity of these residues.

.

Developmental toxic effects in suckling pups of rats from dams treated with florfenicol

A Thesis Submitted
By

Maha Abed Alkareem Taher Al-Obaidi

To
The Council of College of Veterinary Medicine
University of Mosul
In Partial Fulfillment of the Requirement for
the Degree of Master of Science
In
Veterinary Medicine / VeterinaryPharmacology and Toxicology

Supervised By
Professor
Dr. Mohammed Khalid Shindala

2022 A.D. **1443 A.H.**

University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Developmental Toxic Effects In Suckling Pups of Rats from Dams Treated With Florfenicol

Maha Abed Alkareem Taher Al-Obaidi

MSc/Thesis

Veterinary Medicine/Veterinary Pharmacology and Toxicology

Supervised By

Professor

Dr. Mohammed Khalid Shindala

2022 A.D. **1443 A.H.**