

تقييم التأثير الوقائي للدايفينهيدرامين ضد التسمم الحاد بالليفاميزول في ذكور الفئران

مهى يعقوب متي وغادة عبد المنعم فارس

فرع الفلسفة والكيمياء الحياتية والادوية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الإستلام ١٣ شباط ٢٠١٤؛ القبول ٢٦ آذار ٢٠١٤)

الخلاصة

تهدف الدراسة الحالية الى تقييم التأثير الوقائي للجرع المختلفة من الدايفينهيدرامين ضد التسمم بالجرعة الحادة من الليفاميزول وفحص تأثير الدايفينهيدرامين والليفاميزول لوحدهما أو معا على مستوى نشاط خميرة الكولين أستراز لمعرفة آلية التسمم بالليفاميزول والآلية التي يوفرها الدايفينهيدرامين ضد التسمم بالليفاميزول. أدى حقن ذكور الفئران بالليفاميزول بجرعة ١٠٠ ملغم/كغم، تحت الجلد الى ظهور علامات التسمم الكولينية وموت الحيوانات ونسبة ١٠٠% ولم يترافق ذلك بالانخفاض المعنوي في نشاط خميرة الكولين أستراز في بلازما الدم وكريات الدم الحمر والدماغ. وفرت الجرعة الواطنة من الدايفينهيدرامين ٢,٥ ملغم/كغم، تحت الجلد والمحقونة قبل ١٥ دقيقة من حقن الجرعة السامة من الليفاميزول حماية ضد التسمم وقللت من شدة التسمم ومنعت الموت في ١٠٠% من الحيوانات ولم يسبب حقن الجرعة الواطنة من الدايفينهيدرامين لوحده او مع الجرعة الحادة من الليفاميزول اي انخفاض معنوي في نشاط خميرة الكولين أستراز. نستنتج من الدراسة الحالية أن سمية الليفاميزول غير مرتبطة بتنشيطه لنشاط خميرة الكولين أستراز. وان الجرعة الواطنة من الدايفينهيدرامين توفر حماية كفاءة ضد التسمم الحاد بالليفاميزول بألية غير مرتبطة بالتنشيط الوقائي لنشاط الخميرة ولا يوجد تداخل ضار بين العقارين.

Evaluation the protective effect of diphenhydramin against acute toxicity induced by levamisole in male mice

M.Y. Matti and G.A.M. Faris*

Department of Physiology, Biochemistry & Pharmacology, College of Veterinary Medicine, University of Mousl, Mousl, Iraq

* Corresponding author: gadafaris@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to evaluate the protective effect of different doses of diphenhydramin against acute toxicosis with Levamisole. The Mechanism of levamisole induced acute toxicosis and that of protective effect of diphenhydramin against Levamisole toxicosis also examined on the level of cholinesterase (ChE) activity. Subcutaneous injection of 100mg/kg levamisole in male mice with induced cholinergic over stimulation and death in 100% of animals. The Toxicosis was not related to the significantly decreased in plasma, red blood cells and brain ChE activity. Injection low dose of diphenhydramin 2.5mg/kg S.C. 15 min before levamisole produced protective effect against acute toxicity with levamisole. Significantly decreased the severity of toxicosis and increased survival rates to 100%. Diphenhydramin at low dose alone or with acute dose of levamisole did not Produced Significantly inhibition in ChE activity. The data suggested that the toxic effect of Levamisole was not related to inhibition of ChE. The low dose of diphenhydramin protected mice from Levamisole toxicity. The antidoatal effect of diphenhydramin not at the level of protection from ChE inhibition. There was no adverse interaction between two drugs.

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

المقدمة

الحقن ٥ مل/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد (volume of injection).

التأثير الوقائي للجرع المختلفة من الدايفينهايدرامين عند حقنها قبل ١٥ دقيقة من حقن الجرعة الحادة السامة لليفاميزول

أستخدم في هذه التجربة (٢٥) من ذكور الفئران البالغة قسمت عشوائيا الى خمس مجاميع مختلفة تألفت كل مجموعة من خمس فئران. حقنت فئران المجموعة الأولى (السيطرة) بالمحلول الملحي الفسلجي (شركة النصر للكيماويات الدوائية، مصر)، تحت الجلد. في حين حقنت المجموعة الثانية والثالثة والرابعة والخامسة بالدايفينهايدرامين (مسحوق الدايفينهايدرامين، الشركة العامة للأدوية والمستلزمات الطبية، نينوى) بجرعة ٢,٥ و ١٠ و ٢٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد على التوالي وبعد مرور ١٥ دقيقة على الحقن في المجاميع كافة أعيد حقن المجاميع الخمسة بالليفاميزول (مسحوق الليفاميزول Ergamisol ٣٠%، شركة Damloran Razak، ايران) بجرعة ١٠٠ ملغم/كغم، من وزن الجسم، تحت الجلد. تم اختيار جرعة الليفاميزول اعتمادا على تجارب اولية حيث ادت الى ظهور جميع علامات التسمم الكولينية وحدثت الموت في ١٠٠% من الحيوانات، وتم الاعتماد على التجارب الاولية أيضا في تحديد جرع الدايفينهايدرامين لأختيار أفضل جرعة تؤدي الى الوقاية من التسمم الحاد بالليفاميزول فضلا عن الاعتماد على الدراسات السابقة في النموذج نفسه (٢٣) وفي نموذج أفراخ الدجاج (٢٤،٢٥) والتي أعمدت الدايفينهايدرامين كعلاج او للوقاية من التسمم ببعض العقارات السامة. وبعد الانتهاء من الحقن الاخير في المجاميع الخمسة نقلت الفئران الى اقصاف منفردة وتمت مراقبة كل فأر بصورة أفرادية وتسجيل وقت بدء ظهور علامات التسمم ووقت الموت فضلا عن تسجيل علامات التسمم الحاد وحسب مراتب شدة التسمم Toxicity scores لكل مجموعة وذلك بأعطاء مرتبة لكل علامة من علامات التسمم الحاد والتي تمثلت (بالتمع والعصبية وسرعة التنفس وأنتصاب الشعر وأنتصاب الذيل ومد الطرف الخلفي والأنبطاح على أرضية القفص والرجفة والشلل والاختلاجات العصبية والموت) وجمع المراتب لكل مجموعة للحصول على مرتبة التسمم وكانت مرتبة التسمم لمجموعة السيطرة (الليفاميزول لوحده ٤٤) وتم حساب مراتب التسمم، اعتمادا على الدراسات السابقة (٢٦،٢٧)، وكما يأتي: ١- ٢٥%، ٢٦-٥٠%، ٥١-٧٥%، ٧٦-١٠٠%، وتمت مراقبة الحيوانات في كل مجموعة لمدة ساعتين.

قياس نشاط خميرة الكولين أسترز داخل الجسم الحي in vivo
قسمت ذكور الفئران عشوائيا الى أربع مجاميع منفصلة تألفت كل مجموعة من خمس فئران، حقنت الفئران في المجموعة الأولى بالمحلول الملحي الفسلجي بحجم ٥ ملغم/كغم، من وزن الجسم تحت الجلد وبعد ١٥ دقيقة أعيد حقن الحيوانات بالمحلول الملحي الفسلجي أيضا (مجموعة السيطرة). حقنت حيوانات

يعد الليفاميزول Levamisole من المشتقات المصنعة لل Imidazothiazole (١). ويستخدم العقار بكفاءة في علاج الديدان الاسطوانية في قناة المعدة والأمعاء والجهاز التنفسي في الانسان والحيوانات المختلفة (١-٦) فضلا عن أستخدامه كمحفز للمناعة (٢،٧-٩). غير ان العقار يمتلك مدى امان ضيق Narrow therapeutic index وبالتالي فأن الفعالية العلاجية له عادة ما تكون مصحوبة بظهور اعراض جانبية سمية على الحيوانات خاصة عند أستخدامه بالجرع العالية (٦). وتشمل العلامات السمية علامات كولينية كالألعب Salivation والمغص Colic والتقيؤ Vomiting والتبول Urination والتغوط Defecation والترنح Ataxia والرجفة في عموم الجسم Whole body tremor واختلاجات عصبية Convulsion وتسارع التنفس Tachypnia والموت بسبب صعوبة التنفس Dyspnea (٢،٥،٦،١٠،١٢). وأشار الباحثون الى ان اسباب هذه العلامات قد يكون مرتبطا بتنشيط العقار لنشاط خميرة الكولين أسترز (١٣،١٤) او قد يكون مرتبطا بفعله المشابه للنيكوتين Nicotine-like action (٥،١٢،١٥،١٦). وفي دراسات أخرى أشير الى أن تأثيرات الليفاميزول السمية ناتجة عن عمله كشاد كوليني مشابه للاستيل كولين نفسه (١٧-١٩).

واستخدم الاثروبين لعلاج التسمم بالليفاميزول غير انه لم يمتلك كفاءة عالية ولم يعالج سوى العلامات السمية المسكرينية (١٥،١٦). لذا كان الهدف من الدراسة الحالية محاولة استخدام عقار الدايفينهايدرامين للوقاية والعلاج من التسمم بالجرع الحادة لليفاميزول في ذكور الفئران كونه يمتلك الخاصية المضادة للمستقبلات المسكرينية والنيكوتينية (٢٠-٢٢). والوقوف على آلية التسمم بالليفاميزول والالية التي يوفرها الدايفينهايدرامين في الحماية من التسمم بالليفاميزول.

المواد وطرائق العمل

أستخدمت هذه الدراسة ذكور الفئران البيضاء السويسرية الاصل Swiss albino male mice المجهزة من قِبل بيت الحيوانات في كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل. أستلمت الفئران بعد فطامها مباشرة وربيت في بيت الحيوانات تحت ظروف قياسية من تهوية ودرجة حرارة (٢٢±٢) م° ودورة ضوئية (١٠ ساعات ضوء/ ١٤ ساعة ظلام) وجهزت بالماء والعلف المركز على الدوام، وتم إجراء التجارب عليها عند عمر شهرين وبأوزان تراوحت ما بين (٢٥-٣٠) غم.

تحضير الادوية

تم تحضير جرع الليفاميزول والدايفينهايدرامين بأستخدام المحلول الملحي الفسلجي وقبل البدء بالتجارب مباشرة وكان حجم

التحليل الأحصائي

تم تحليل النتائج المعلمية Parametric data لنشاط خميرة الكولين أستراز ووقت بدء ظهور علامات التسمم ووقت الموت باستخدام تحليل التباين One way analysis of variance ثم أخضعت النتائج (الفرق بين المتوسطات) لأختبار الفرق المعنوي الأدنى Least significant difference (٣١،٣٠). أما النتائج غير المعلمية Non parametric data (النسب المئوية للتسمم) فأخضعت لأختبار فشر Fisher exact probability test والنتائج التي بشكل مراتب scores فأخضعت لأختبار مان وتني Mann-Whitny U- test (٣١،٣٠) وكان مستوى الأختلاف المعنوي لجميع التجارب عند مستوى احتمالية Level of significance (أ أقل من ٠،٠٥).

النتائج

أدى حقن الليفاميزول وحده بجرعة ١٠٠ ملغم/كغم، تحت الجلد (مجموعة السيطرة) الى معاناة الحيوانات من علامات التسمم الحاد والتي تمثلت بالتدمع وأنصباب الذيل والشعر والرجفة والعصبية وامتداد الطرف الخلفي Hind limb extention وسرعة التنفس Tachypnia والشلل والموت بنسبة ١٠٠% من الفئران، وحدث الموت خلال ٣٠،١٦ دقيقة من الحقن وكان مجموع مراتب التسمم ٤٤ الجدول (١) وبدء ظهور علامات التسمم عند ١،٣١ دقيقة من الحقن الجدول (١). في حين أدى حقن الحيوانات بالدايفينهيدرامين بجرعة ٢،٥ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد قبل ١٥ دقيقة من حقن الليفاميزول بجرعة ١٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد الى وقاية الحيوانات من معظم علامات التسمم الحادة فأخضعت وبشكل معنوي النسبة المئوية لأنصباب الذيل والتدمع والرجفة وامتداد الطرف الخلفي مقارنة مع المجموعة المعاملة بالدايفينهيدرامين بجرعة ٥ ملغم/كغم، تحت الجلد الجدول (١). ومنعت جرعة الدايفينهيدرامين ٢،٥ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد حدوث الموت كلياً وسرعة التنفس والاختلاجات العصبية والانبطاح على ارضية القفص والشلل وبذلك قللت معنوياً مرتبة التسمم أو شدة التسمم الى ٩ مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بالدايفينهيدرامين بجرعة ٥ و ١٠ و ٢٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد على التوالي الجدول (١). فضلاً عن أطالته وبشكل معنوي من الوقت اللازم لبدء ظهور علامات التسمم (٣،٥٥) دقيقة مقارنة مع مجموعة السيطرة (١،٣١) دقيقة ومع المجموعة المعاملة بالدايفينهيدرامين بجرع ١٠ و ٢٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد على التوالي. الجدول (١). في حين أدى حقن الفئران بالدايفينهيدرامين بجرعة ٥ ملغم/كغم، تحت الجلد الى انخفاض معنوي في النسبة المئوية لحدوث الموت وأنصباب الذيل والرجفة وسرعة التنفس والاختلاجات العصبية والانبطاح على ارضية القفص والشلل الى ٢٠% الجدول (١) وفي نسبة أنصباب الذيل والاختلاجات العصبية مقارنة مع المجموعة المعاملة بجرعة ٢٠ ملغم/كغم، تحت الجلد الجدول

المجموعة الثانية بالدايفينهيدرامين بجرعة ٢،٥ ملغم /كغم من وزن الجسم، تحت الجلد وبعد مرور ١٥ دقيقة أعيد حقنها بالمحلول الملحي الفلسخي، في حين حقنت حيوانات المجموعة الثالثة بالمحلول الملحي الفلسخي وبعد ١٥ دقيقة أعيد حقنها بالليفاميزول بجرعة ١٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد. وحقنت المجموعة الرابعة بالدايفينهيدرامين بجرعة ٢،٥ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد وأعيد حقنها بعد ١٥ دقيقة بالليفاميزول بجرعة ١٠٠ ملغم /كغم من وزن الجسم، تحت الجلد. تم اختيار جرعة الدايفينهيدرامين اعتماداً على نتائج التجربة السابقة حيث نجحت هذه التجربة في توفير أفضل حماية ضد التسمم بالجرع الحادة من الليفاميزول ١٠٠ ملغم/كغم، تحت الجلد عند أعطائها قبل ١٥ دقيقة من حقن الليفاميزول، وللتعرف على الآلية الوقائية التي وفرتها جرعة الدايفينهيدرامين ضد التسمم بالليفاميزول قمنا بتجربة قياس نشاط خميرة الكولين أستراز. وبعد مرور ٣٠ دقيقة على أخر حقن في المجاميع كافة تم سحب الدم من الزاوية الانسية للعين ووضع في أنابيب أختبار زجاجية جافة مغمورة بالتلج المجروش وحاوية على مانع التخثر الهيبارين (١٠٠٠ وحدة دولية/ مل) من انتاج شركة LEO، Dinamarca، Ballerup، الدنمارك. بنسبة (١: ١٠) وتم مباشرة فصل البلازما عن كريات الدم الحمر باستخدام جهاز الطرد المركزي (شركة Shanghai، الصين) وبسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة ولمدة ١٥ دقيقة (٢٦،٢٧). وضعت عينات البلازما في حاويات بلاستيكية جافة ومعقمة في التجميد عند درجة - ١٨ م° لحين إجراء تجارب قياس نشاط خميرة الكولين أستراز عليها أما عينات كريات الدم الحمر فأجري عليها مباشرة قياس نشاط خميرة الكولين أستراز. بعدها تم قتل الفئران بفصل الرقبة cervical dislocation وأستخرج الدماغ الكلي. تم تجنيس الدماغ في محلول دارى فوسفات البوتاسيوم تنائي الهيدروجين KH2PO4 ذو الباهة (الأس الهيدروجيني) (pH 8.1) وبتركيز ١٠٠ ملغم من نسيج الدماغ / ٣ مل من محلول الدارى وأستخدم المحلول المجانس بعد ذلك لقياس نشاط الخميرة (٢٨) وأستخدم ٠،٢ مل من البلازما أو كريات الدم الحمر أو مجانس الدماغ لتحديد نشاط خميرة الكولين أستراز ChE activity باستخدام الطريقة الكهرومترية المحورة (٢٩،٢٨).

وعبر عن نشاط الخميرة كما في المعادلة الآتية:

(التغير في الباهة/٣٠ دقيقة) = الباهة ١ - الباهة ٢ - الباهة الكفاء
تحتوي عينة الكفاء على المحاليل كافة فيما عدا عينة كريات الدم الحمر والبلازما والدماغ حيث أستبدلت بالماء المقطر ٠،٢ مل
أما حساب النسب المئوية لتثبيط نشاط الخميرة تحسب كما يأتي:
(٢٩، ٢٨)

$$\text{النسبة المئوية لتثبيط نشاط الخميرة (السيطرة) - الخميرة (مع مثبط)} \times 100 = \frac{\text{معدل نشاط الخميرة (السيطرة)}}{\text{معدل نشاط الخميرة (مع مثبط)}}$$

من وزن، تحت الجلد الى ظهور علامات التسمم الحاد على الحيوانات ولم يترافق ذلك مع انخفاض معنوي في نشاط خميرة الكولين أستراز في بلازما الدم وكريات الدم الحمراء بعد ٣٠ دقيقة من الحقن مقارنة مع مجموعة السيطرة، وكانت النسبة المئوية لتثبيط نشاط خميرة في بلازما الدم وكريات الدم الحمراء والدمغ ٩,٠٢ و ٣,٥٧ و صفر % على التوالي، ولم يؤد حقن الدايفينهايدرامين لوحده بجرعة ٢,٥ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد الى أي انخفاض معنوي في نشاط خميرة وكانت النسبة المئوية لتثبيط نشاط خميرة في بلازما الدم وكريات الدم الحمراء والدمغ صفر و ٨,٣٣ و صفر % على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة، الجدول (٢). ولم يؤد حقن الدايفينهايدرامين بجرعة ٢,٥ ملغم/كغم، تحت الجلد قبل ١٥ دقيقة من حقن الجرعة السامة من الليفاميزول ١٠٠ ملغم/كغم، تحت الجلد الى أي تثبيط معنوي في نشاط خميرة الكولين أستراز في بلازما الدم وكريات الدم الحمراء والدمغ حيث كانت النسبة المئوية لتثبيط خميرة فيها ١٠,٥٣ و ١٣,٠٩ و ١,٦٠ % على التوالي الجدول (٢).

(١). وبذلك قلت مرتبة التسمم الى ٢٢ مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بجرعة ٢٠ ملغم/كغم، تحت الجلد. الجدول (١) ولم تسبب الموت سوى لأثنين من الفئران. وفشلت جرعة الدايفينهايدرامين ٥ و ١٠ و ٢٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد عند حقنها قبل ١٥ دقيقة من حقن الليفاميزول بجرعة ١٠٠ ملغم/كغم، تحت الجلد في الأظالة من وقت بدء ظهور علامات التسمم مقارنة مع مجموعة السيطرة الجدول (١). ولم تؤد جرعة الدايفينهايدرامين ١٠ و ٢٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد الى أي انخفاض معنوي في النسب المئوية لظهور علامات التسمم مقارنة مع مجموعة السيطرة وبالتالي لم تقلل من مرتبة التسمم وبشكل معنوي الجدول (١) وبذلك تفوقت جرعة الدايفينهايدرامين ٢,٥ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد لكونها افضل جرعة وقائية مقارنة مع باقي الجرعات وحمت الحيوانات من الموت ومن معظم علامات التسمم الحاد ولوحظ هدوء الحيوانات وعودتها الى حالتها الطبيعية خلال ساعتين من المراقبة. وأدى حقن الفئران بالليفاميزول بجرعة ١٠٠ ملغم/كغم

الجدول ١: تأثير الجرع الوقائية المختلفة من الدايفينهايدرامين في السمية الحادة لليفاميزول في ذكور الفئران

المجاميع المعاملة ملغم/كغم تحت الجلد				المعايير
الدايفينهايدرامين ٢٠+الليفاميزول	الدايفينهايدرامين ١٠+الليفاميزول	الدايفينهايدرامين ٥+الليفاميزول	الدايفينهايدرامين ٢,٥+الليفاميزول	ملح فسلجي+الليفاميزول ١٠٠
٠,٢٤±١,٤٥	٠,٣٢±١,١٦	٠,٢٤±١,٨٨	١,١٨±٣,٥٥ ج*	٠,٢٣±١,٣١
٣١,١٥	٣٧	٤١		٣٠,١٦
٤٠ (٥/٢)	٤٠ (٥/٢)	٢٠ (٥/١)	٠ * (٥/٠)	١٠٠ (٥/٥)
١٠٠	٦٠	٢٠ *	٢٠ *	١٠٠
١٠٠	١٠٠	١٠٠	٤٠	١٠٠
١٠٠	٦٠	٦٠	٦٠	١٠٠
١٠٠	١٠٠	١٠٠	٢٠ * ب ج د	١٠٠
٦٠	٦٠	٢٠ *	٢٠ *	١٠٠
٦٠	٦٠	٢٠ *	٠ *	١٠٠
١٠٠	٦٠	٢٠ *	٠ *	١٠٠
١٠٠	٦٠	١٠٠	٢٠ * ب ج د	١٠٠
٦٠	٦٠	٢٠ *	٠ *	١٠٠
٦٠	٦٠	٢٠ *	٠ *	١٠٠
٣٨	٣٤ *	٢٢ *	٩ * ب ج د	٤٤

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لخمسة فئران/مجموعة، تم إعطاء الدايفينهايدرامين قبل ١٥ دقيقة من حقن الليفاميزول بجرعة ١٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد، (*) القيمة تختلف معنويًا مقارنة بالمجموعة الأولى مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية (أ) >٠,٠٥، (ب) القيمة تختلف معنويًا مقارنة بالمجموعة المعاملة بالدايفينهايدرامين بجرعة ٢,٥ ملغم/كغم تحت الجلد عند مستوى احتمالية (أ) >٠,٠٥، (ج) القيمة تختلف معنويًا مقارنة بالمجموعة المعاملة بالدايفينهايدرامين بجرعة ٥ ملغم/كغم تحت الجلد عند مستوى احتمالية (أ) >٠,٠٥، (د) القيمة تختلف معنويًا مقارنة بالمجموعة المعاملة بالدايفينهايدرامين بجرعة ١٠ ملغم/كغم تحت الجلد عند مستوى احتمالية (أ) >٠,٠٥، (هـ) القيمة تختلف معنويًا مقارنة بالمجموعة المعاملة بالدايفينهايدرامين بجرعة ٢٠ ملغم/كغم تحت الجلد عند مستوى احتمالية (أ) >٠,٠٥، (٠) القيمة لفأر واحد (لم تدرج في التحليل الاحصائي)، (±) القيمة لفأرين (لم تدرج في التحليل الاحصائي).

الجدول ٢: نشاط خميرة الكولين استراز في كريات الدم الحمر وبلازما الدم والدماغ في الفئران المعاملة بالليفاميزول أو الدايفينهايدرامين لوحده أو العقارين معا داخل الجسم الحي In vivo

المجاميع المعاملة ملغم/كغم	كريات الدم الحمراء		بلازما الدم		الدماغ	
	نشاط الخميرة (التغير في الباهة/٣٠ دقيقة)	النسبة المئوية للتثبيط (%)	نشاط الخميرة (التغير في الباهة/٣٠ دقيقة)	النسبة المئوية للتثبيط (%)	نشاط الخميرة (التغير في الباهة/٣٠ دقيقة)	النسبة المئوية للتثبيط (%)
السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي)	٠,٢٥±٠,٨٤	—	٠,١٩٤±١,٣٣	—	٠,٠١٤±١,٢٥	—
الدايفينهايدرامين ٢,٥ + المحلول الملحي الفسلجي	٠,٠٣±٠,٧٧	٨,٣٣	٠,٢٠±١,٤	صفر	٠,٠٦±١,٢٥	صفر
المحلول الملحي الفسلجي + الليفاميزول ١٠٠	٠,٠٩±٠,٨١	٣,٥٧	٠,١٣±١,٢١	٩,٠٢	٠,٠٠±١,٢٧	صفر
الليفاميزول ١٠٠ + الدايفينهايدرامين ٢,٥	٠,٩٧±٠,٧٣	١٣,٠٩	٠,٢±١,١٩	١٠,٥٢	٠,٠٢±١,٢٤	١,٦٠

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لخمسة فئران/مجموعة، تم حقن الدايفينهايدرامين بجرعة ٢,٥ ملغم/كغم تحت الجلد قبل ١٥ دقيقة من حقن الليفاميزول بجرعة ١٠٠ ملغم/كغم، تحت الجلد.

المناقشة

يحدث الليفاميزول التسمم في الحيوانات بالجرع السامة لأن نطاق الامان للعقار ضيق (٦) وقد تكون الية التسمم بالعقار نتيجة لعمله المشابه للمركبات الفسفورية العضوية مؤديا الى تثبيط نشاط خميرة الكولين استراز وتراكم الناقل العصبي الاستيل كولين وظهور علامات التسمم المسكرينية والنيكوتينية (١٣،١٤). أو لكونه شادا كولينيا يعمل عمل الاستيل كولين (١٧) - (١٩) او يعمل عمل النيكوتين نفسه بتأثيراته المحفزة للعقد العصبية الذاتية ولمناطق الارتباط العصبي العضلي (٦،١٦). تم في الدراسة الحالية اختبار الدايفينهايدرامين وهو من ضادات الهستامين H1 من الجيل الأول (٣٢،٢٠). كمحاولة لتوفير الحماية ضد التسمم بالليفاميزول في نموذج ذكور الفئران، كونه يمتلك خواصا مضادة للمستقبلات المسكرينية النيكوتينية معا (٢٠-٢٢) وبذلك يتفوق على الاتروبين ذو الخواص الضادة للمستقبلات المسكرينية فقط (٣٢،٣٣). والذي لم يوفر حماية كفاءة ضد التسمم بالليفاميزول (١٦،٦) تم اختيار جرعة الليفاميزول ١٠٠ ملغم/كغم، تحت الجلد (اعتمادا على التجارب الأولية) حيث أدت هذه الجرعة الى ظهور علامات التسمم الحادة على الحيوانات بشكل واضح خلال دقيقة وأدت الى موت ١٠٠% من الحيوانات خلال ٣٠ دقيقة وتمثلت علامات التسمم بالتدمع وانتصاب الذيل وانتصاب الشعر والعصبية والرجفة والأختلاجات العصبية وأمتداد الطرف الخلفي والأنبساط على ارضية القفص وسرعة التنفس والشلل. واختير حقنه تحت الجلد كونه الطريق المستخدم في التطبيقات السريرية للتأكد من أمتصاص العقار عن هذا الطريق بشكل جيد وظهور العلامات بشكل واضح وهذا يتفق مع ما أشار اليه (٣٤). حيث أختير

طريق الحقن نفسه لدراسة التأثيرات السمية للتراميزول في ذكور الفئران وكانت العلامات السمية مشابهة لما أشارت اليه دراستنا ومشابهة للعلامات السمية المرافقة لحقن الجرعة السامة لليفاميزول في الارانب (٣٥). وفي الأفراخ (١٦) والفئران (١٥). وربطت جميع هذه البحوث سمية الليفاميزول بفعله المشابه للنيكوتين مسببا تحفيزا للمستقبلات الكولينية النيكوتينية في العقد العصبية ومناطق الارتباط العصبي - العضلي (٥،١٢). أو قد يكون بسبب عمله المماثل للناقل العصبي الاستيل كولين (١٣،١٤). ونفت دراستنا أن تكون التأثيرات السمية لليفاميزول مرتبطة بتثبيطه لنشاط خميرة الكولين استراز، اذ لم تؤد الجرعة السامة للعقار ١٠٠ ملغم/كغم، تحت الجلد الى أي تثبيط معنوي لنشاط الخميرة في بلازما الدم وكريات الدم الحمر والدماغ في الفئران. وهذا يتفق مع الدراسات السابقة في الارانب (٣٤). اذ أشارت الى أن الليفاميزول لم يؤد الى انخفاض معنوي لنشاط الخميرة في بلازما الدم وكريات الدم الحمر وفي الخنازير (٣٦) حيث لم يؤد أيضا الى انخفاض معنوي في نشاط الخميرة في بلازما الدم والدماغ. وأكدت (١٦) أن الليفاميزول لم يؤد الى انخفاض معنوي في نشاط الخميرة داخل الجسم الحي للافراخ. وأجرت دراستنا قياس نشاط الخميرة داخل الجسم الحي In vivo والذي يعد الأهم في القياسات السمية. وأكدت دراستنا على نجاح الدايفينهايدرامين وبالجرعة الواطنة (٥،٢ ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت الجلد في توفير أفضل حماية ضد التسمم بالجرعة السامة لليفاميزول مقارنة مع الجرعة الاعلى من الدايفينهايدرامين، حيث قللت هذه الجرعة من ظهور علامات التسمم وشدتها وأطالة زمن ظهور العلامات ومنعت الموت كليا وخفضت معنويا من مرتبة التسمم الى ٩ مقارنة مع المجموعة المعاملة بالليفاميزول لوحده. ولا توجد دراسة مماثلة حول تأثير الدايفينهايدرامين ضد

- (Morone chrysops x Morone saxatilis). *Aquaculture*. 2006;251:201-209.
2. Dalvi RR. Pharmacology and toxicology of levamisole in domestic Animal: A review. *Int J Anim Sci*. 1990;5:15-19.
 3. Krastev ZD, JeleV K, Antonov V, Alagozian, KotzeV I. Chronic HBV infection. Immunomodulation with levamisole in viremic HBeAg positive or anti-HBe positive patients-a pilot study. *Hepatogastroenterology*. 1999;46:3184-3188.
 4. Sanchez Bruni SF, Jones DJ, McKellar QA. Pharmacological approaches towards rationalizing the use of endoparasitic drugs in small animals. *J Vet Pharm Therap*. 2006;29:443-457.
 5. Coppoc GL. Antiparasitics. USA: Purdue Research Foundation, 1996.
 6. Aiello SE. The Merck Veterinary Manual. 8th ed. USA: Merck and Co Inc, Whitehouse, 1998.
 7. Irmak H, Buzgan T, Karahocagil MK, Evirgen O, Akdeniz H, Demir AP. The effect of levamisole combined with the classical treatment chronic brucellosis. *Tohoku J Exp Med Dec*. 2003;201:221- 228.
 8. Rojs OZ, Cerne M, Mrzel I, Urleb, Muraoka S. Immunostimulatory effects of the muramyl dipeptide analogus LK415 in Chickens Immunized with vaccine strain of bursal disease virus. *Acta. Vet Hung*. 2000;48:48. (Abstract).
 9. Donald C. Veterinary Drug Hand Book. 4th ed., Black Well publishing Company. Iowa State Press. St. Paul Minnesota. 2001:pp.476-480.
 10. Al-Dabagh II, Mohammed FK. Redution of dichlorvos induced toxicosis in rabbits by levamisole. *Veterinarski. Archiv*. 1999;69:37.
 11. Sahagun AM, Garcia JJ, Sierra M, Fernandez N, Diez MJ, Teran MT. Subcutaneous bioavailability of levamisole in goats. *J Vet Pharm Ther*. 2000;23:189- 192.
 12. Braund KG. Neurotoxic disorders. International Veterinary Information Service, phaea Ny. www.Ivis.Org. 2003.
 13. Barragry TB. Veterinary Drug Therapy. 1st ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1994:pp.125-146.
 14. De Silva HJ, Samarawickrema NA, Wickremasinghe AR. Toxicity due to organophosphorus compounds: What about chronic exposure? *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2006;100:803-806.
 15. Hsu WH. Toxicity and drug interaction of levamisole. *Am J Vet Res*. 1980;176:1166-1169.
 ١٦. النجار، أفرح سالم منصور. التأثيرات السمية العصبية للليفاميزول في أفرح الدجاج (رسالة ماجستير). الموصل: جامعة الموصل، ٢٠٠٥.
 17. Martin RJ. Modes of action of anthelmintic drugs. *Vet J*. 1997;154:11-34.
 18. Reinemeyer CR, Courtney CH. Chemotherapy of Parasitic Diseases. In: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, Richard H, Adams (Eds.). 8th ed. USA: Iowa State Press, 2001:pp. 947-978.
 19. Martin RJ, Verma S, Levandoski M, Clark CL, Qian H, Stewart M, Robertson AP. Drug resistance and neurotransmitter receptors of nematodes: Recent studies on the mode of action of levamisole. *Parasitology*. 2005;131:S71-S84.
 20. Brown NJ, Roberts LJ. Histamine, Bradykinin, and their antagonists. In: *Hardman J G, Limbird L E, and Gilman, A Ged, Goodman and Gilman's the Pharmacological basis of Therapeutics*. 10th ed. New York: McGraw-Hill Co., Inc., 2001:pp.645 - 667.
 21. Skidgel RA, Erdos EG. Histamine, Bradykinin, and their antagonists. In: *Brunton L L, Lazo J S, and Parker editors, (Goodman and Gilman's the Pharmacological basis Therapeutics*. 11th ed., New York: McGraw-Hill Co., Inc., 2006:pp.645 - 667.
 22. Katzung BG. Histamine, serotonin, and the ergot alkaloids: Introduction. In: *Katzung B G (editor), Basic and Clin Pharm*. 10th ed., USA: McGraw-Hill Co., Inc., 2006:pp.377- 410.
 ٢٣. فارس، غادة عبد المنعم. تأثير مضاد الهستامين الدايفينهيدرامين في سمية مبيدات الحشرات الفسفورية العضوية في الفئران. رسالة ماجستير، جامعة الموصل، الموصل، العراق. ١٩٩٥.
 ٢٤. الشمري، يعرب جعفر موسى. استعمال مضاد الهستامين H₁ الدايفينهيدرامين للوقاية والعلاج نموذج التسمم الحاد بالمبيدات

التسمم بالليفاميزول، غير أن دراستنا جاءت متوافقة مع ما أشار إليه الباحثون حول فعالية الدايفينهيدرامين في الوقاية من التسمم بالمركبات الفسفورية العضوية في الفئران (٢٣) والأفراخ (٢٤) والجرذان (٢٧) و ضد التسمم بالأميدوكارب في الأفراخ (٢٥) والذي يعد عقار مثبط لنشاط خميرة الكولين أستراز. غير أن جميع هذه البحوث أشارت الى استخدام جرعة أعلى من الدايفينهيدرامين لتحقيق الوقاية من التسمم بهذه المركبات السامة وقد يعود السبب الى أن المركبات الفسفورية العضوية (١٦، ٢١، ٢٢). والاميدوكارب (٢٥) تسبب تثبيطاً لنشاط خميرة الكولين أستراز وبالتالي نحتاج الى جرعة اعلى من الدايفينهيدرامين تسبب تثبيطاً معاكساً لنشاط الخميرة لتوفر حماية وقائية من التثبيط بهذه المركبات، إذ أكدت هذه البحوث أن الدايفينهيدرامين وعند هذه الجرعة يسبب تثبيطاً وقائياً لنشاط خميرة الكولين أستراز وبالتالي يوفر حماية من التسمم بهذه المركبات الفسفورية العضوية (٢٢) والاميدوكارب (٢٥). في حين لاحظنا في دراستنا ان استخدام جرعة ٢,٥ ملغم/كغم، تحت الجلد من الدايفينهيدرامين لم يسبب تثبيطاً معنوياً لنشاط الخميرة في بلازما الدم وكريات الدم الحمر والدماغ كم ان حقنها قبل ١٥ دقيقة من حقن الجرعة السامة من الليفاميزول ١٠٠ ملغم/كغم، تحت الجلد يسبب انخفاض معنوي في نشاط الخميرة مقارنة مع مجموعة السيطرة ومع المجموعة المعاملة بالليفاميزول لوحده (١٠٠ ملغم/كغم، تحت الجلد) وبالتالي فإن توفيرها للحماية ضد التسمم بالليفاميزول قد يكون بسبب كونه يعمل على غلق المستقبلات النيكوتينية المتموضعة في الدماغ في العقد العصبية الذاتية وتلك التي في مناطق الارتباط العصبي - العضلي في الجهاز المحيطي (٢٠-٢٢). ولاحظنا ان استخدامنا للجرع الاعلى من الدايفينهيدرامين (١٠ و ٢٠) ملغم/كغم، تحت الجلد أدت الى ظهور علامات تسمم على الحيوان مشابه لتلك المصاحبة لحقن الجرعة السامة من الليفاميزول وقد يعود السبب الى ان الدايفينهيدرامين بالجرع العالية يغلق المستقبلات المسكرينية نوع M2 المتموضعة الاشبك العصبي في الدماغ مؤدياً الى زيادة تحرير الناقل العصبي الأستيل كولين وزيادة حالة التسمم (٣٨)، أو انه يؤدي بالجرع العالية الى تثبيط عكوسي لنشاط خميرة الكولين استراز (٢٣). وبالتالي ظهور علامات التسمم المشابهة للتسمم بالمركبات الفسفورية العضوية. واختير حقن الدايفينهيدرامين، تحت الجلد اعتماداً على التجارب الاولية اذ أدى الى حماية افضل من الحقن بالعضل وهذا يتفق مع (٢٣) و (٢٥) إذ اشارت (٢٣) الى حقن العقار بالخلب قد يظهر فعله العلاجي بسرعة غير أنه يكون مصحوباً بأعراض جانبية سمية كالتهييج وتحفيز الجهاز العصبي بسبب سرعة الامتصاص من هذا الطريق.

المصادر

1. Li P, Wang X, Gatlin, D III. Evaluation of levamisole as a feed additive for growth and health management of hybrid stripe bass

31. Petrie A, Watson P. Statistics for Veterinary and Animal Sciences. Oxford: Blackwell Science, 1999:pp.90-140.
32. Adams HR. Veterinary pharmacology and therapeutics. 8th ed. A Blackwell Publishing CO. Iowa State Press, 2001:pp.1013-1014.
33. Faris GAM, Mohammad FK. Prevention and treatment of dichlorvos – induced toxicosis in mice by diphenhydramine. Vet Hum Toxicol. 1997;39:22-25.
34. Mohammad FK, Faris AG, Rhayma MSH, Ahmed K. Neurobehavioral effects of tetramisole in mice. Neurotoxicology. 2006;27:153-157.
35. Al-Dabagh II, Mohammed FK. Redduction of dichlorvos induced toxicosis in rabbits by levamisole. Veterinarski Archiv. 1999;69:37.
36. Hsu WH. Drug interactions of levamisole with pyrant tartrate and dichlorvos in pig. Am J Vet Res. 1981;42:1912-1914.
37. Faris GAM, Mohammad FK. Cholinesterase inhibition by dichlorvos and diphenhydramine in mice. Iraqi J Vet Sci. 1996;9:7-13.
38. Garrison CJ. Histamine, Bradykinin, 5-Hydroxytryptamine, and their antagonists. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, (eds). Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. New York: McGraw-Hill Co., Inc., 1990:pp.575-592.
- الحشرية الفسفورية العضوية في أفراخ الدجاج (رسالة ماجستير). الموصل: جامعة الموصل، ٢٠٠٨.
٢٥. أبراهيم، ندى خليل. سمية الأميدوكارب دايبوروبايونيت وتداخله مع الدايفينهيدرامين في أفراخ الدجاج (رسالة ماجستير). الموصل: جامعة الموصل، ٢٠١١.
26. AL-Baggou BKH, Mohammed FK. Antagonism of Methomyl-induced toxicosis by diphenhydramin in rats Environ. Toxicol Pharmacol. 1999;7:119-125.
27. Mohammad FK, Faris GAM, Shindala MKh. Comparative antidotal effects of diphenhydramine and atropine against dichlorvos –induced acute toxicosis in rats. Vet Arhiv. 2002;72:19- 28.
28. Mohammad FK, Faris GAM, Al-Kassim NA. A modified electrometric method for measurement of erythrocyte cetylcholinesterase activity in sheep. Vet Hum Toxicol. 1997;39:337.
29. Mohammad FK. Review of a practical electrometric method for determination of blood and tissue cholinesterase activities in anim. Vet Sci. 2007;2:1- 12.
30. Bruning JL, Kintz, BL. Computation and handbook of statistics. Scott, Foresman and Co., Glenview, Illinois. 1977:pp.18 – 143.